

2 Probanden und Methoden

2.1 Probanden

2.1.1 Rekrutierung

Mittels Kleinanzeigen in verschiedenen Berliner Tageszeitungen (Berliner Morgenpost, BZ, Tagesspiegel) wurden gesunde volljährige Personen rekrutiert. Beim telefonischen Erstkontakt erfolgte ein Screening der möglichen Probanden anhand einer Checkliste (siehe Anhang 1). Zum Ausschluss führten hierbei Hinweise auf neurologische und psychiatrische Erkrankungen, des weiteren Alkohol- und Drogenabusus, sowie die Einnahme von zentral wirksamen Medikamenten. 45 Probanden nahmen an der Untersuchung teil und erhielten eine Aufwandsentschädigung von je 50 DM.

2.1.2 Ausschlusskriterien

Die Festlegung der endgültigen Stichprobe erfolgte nach folgenden Ausschlusskriterien:

1. Hinweis auf psychiatrische Erkrankungen bei einem strukturierten psychiatrischen Kurzinterview (mini-SCID, Sheehan et al., 1998)
2. <20 artefaktfreie EEG-Segmente nach Belohnung, Bestrafung oder neutraler Bewertung im pORT

Bei letzterem Kriterium war für den Ausschluss in einem Fall die außergewöhnlich gute Testperformance verantwortlich, welche mit einer ungenügenden Anzahl von Segmenten nach Bestrafung einherging. Ansonsten sorgten Artefakte für eine Reduktion der verwertbaren Segmente unter die kritische Anzahl von 20. Eine Übersicht über Anzahl der Probanden und Häufigkeit der Gründe für den Ausschluss gibt Tabelle 1:

Gesamtzahl der Probanden	45
Gründe für den Ausschluss von Probanden	
1. Hinweis auf psychiatrische Erkrankung	-8
2. <20 EEG-Segmente	
a) zu viele Artefakte	-7
b) zu wenige EEG-Segmente vor Artefaktkontrolle	-1
Probanden der Stichprobe für die Auswertung	29

Tabelle 1: Anzahl der Probanden und Häufigkeit der Gründe für den Ausschluss

2.1.3 Beschreibung der Stichprobe

Von den verbleibenden Probanden waren 16 weiblich und 13 männlich, das Durchschnittsalter betrug 43,5 Jahre (Standardabweichung 15,7). Als höchsten Schulabschluss gaben 9 Probanden das Abitur an, 13 hatten einen Real- und 7 einen Hauptschulabschluss.

2.2 Ablauf der Untersuchung

2.2.1 Testablauf pORT

Beim „probabilistic Object Reversal Test“ (pORT) wurden dem Probanden in mehreren Durchgängen jeweils vier Buchstaben auf einem Bildschirm angeboten, wovon er einen auswählen musste (siehe Abbildung 2). Für seine Wahl erhielt der Proband ein Feedback in Form von Plus- oder Minuspunkten, auf dessen Basis im Laufe des Versuchs herauszufinden war, wie sich die meisten Punkte sammeln ließen.

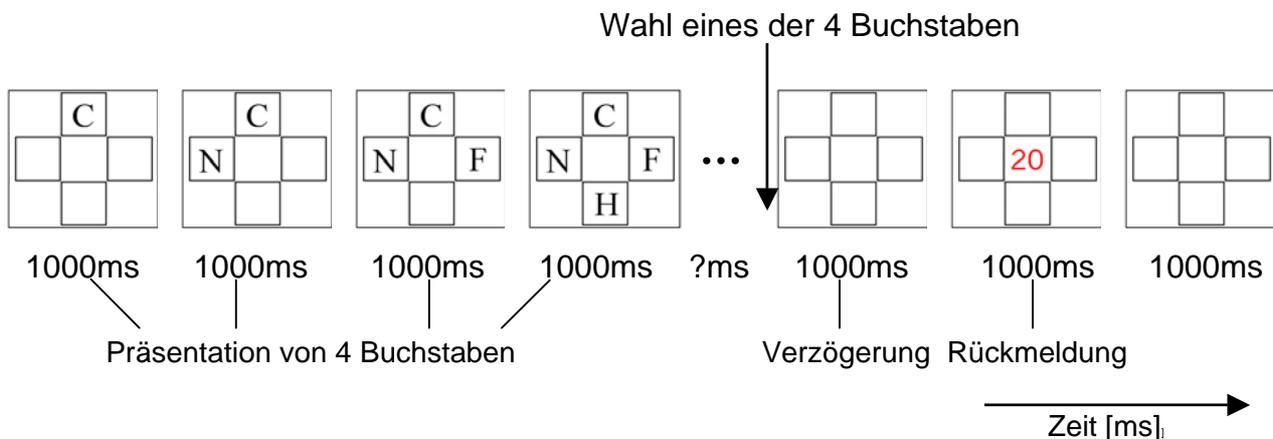


Abbildung 2: Beispiel für eine Bildsequenz des pORT bei einem Wahlversuch. ?ms = Zeit, die verstreicht, während der Proband sich für einen Buchstaben entscheidet (variabel)

Insgesamt wurden sechs verschiedene Buchstaben (R, N, S, F, C, H) in unterschiedlichen Kombinationen verwendet. Sie erschienen nacheinander im Abstand von 1000 ms in vier Quadraten, jeweils in der Reihenfolge oben, links, rechts, unten, so dass am Ende alle vier Buchstaben gleichzeitig zu sehen waren. Der Proband wählte einen Buchstaben mithilfe einer Eingabeeinheit durch Tastendruck aus und löschte damit gleichzeitig die Buchstaben vom Bildschirm. Die Punktzahl erschien 1000 ms später in roter Farbe (siehe Abbildung 2).

Die Patienten wurden vor Testbeginn aufgefordert, so oft wie möglich die Höchstpunktzahl 40 zu erreichen (bei den möglichen Punktzahlen von 40, 20, 0, -20 und -40). Sie erhielten die Information, dass die Position des Buchstabens keine Rolle spielte und dass es sich nicht um ein Rechenspiel handelte.

Das Bewertungsschema sah für jeden Buchstaben eine gewisse Punktzahl mit einer bestimmten Wahrscheinlichkeit vor, zu Beginn war beispielsweise R der „beste“ Buchstabe und erhielt in 80% der Fälle die Höchstpunktzahl 40, in 20% die Punktzahl 20. Nach jeweils 25 Durchgängen wechselte das Feedback-Schema mit einem neuen „besten“ Buchstaben, der wiederum durch Versuch und Irrtum herauszufinden war. Bei insgesamt 150 Durchgängen ergaben sich 6 Phasen mit unterschiedlichen Belohnungsschemata, welche für alle Probanden identisch waren (wie auch die Reihenfolge der erscheinenden Buchstaben). Ein Beispiel des Bewertungsschemas zeigt Tabelle 2, eine vollständige Übersicht findet sich im Anhang 3.

Feedback-Schema					
Buch- stabe	Punkte				
	+40	+20	0	-20	-40
R	80%	20%	--	--	--
H	--	80%	20%	--	--
S	--	--	100%	--	--
C	--	--	80%	20%	--
N	--	--	--	80%	20%
F	--	--	--	20%	80%

Tabelle 2: Beispiel für ein Bewertungsschema des pORT in einem Testabschnitt mit 25 Wahlversuchen, in welchem R der „beste“, F der „schlechteste“ Buchstabe war.

2.2.2 Kontrolltest

Der formale Aufbau des Kontrolltests entsprach dem pORT, die Sequenz der Buchstaben und die Aufgabenstellung unterschieden sich jedoch davon: Es wurde in jedem Durchgang ein H angeboten, welches der Proband wählen sollte. Danach erschien unabhängig von der Korrektheit der Wahl immer die Zahl 40. Dies wurde dem Probanden vor dem Test mitgeteilt und es wurde darauf hingewiesen, dass es sich bei der Zahl nicht mehr um Punkte handelte. Der Kontrolltest bestand aus 60 Durchgängen. Sowohl während des pORT als auch während des Kontrolltests fand eine EEG-Aufzeichnung statt (siehe Abbildung 3).



Abbildung 3: EEG-Aufzeichnung bei Probandin während der Durchführung des pORT

2.2.3 Ablauf der Untersuchung

Jeder Proband erhielt zuerst ein Informationsblatt über Ziel und Ablauf der Untersuchung, insbesondere wurde auf die Möglichkeit hingewiesen, die Studie jederzeit abubrechen. Nach Beantwortung von Rückfragen erfolgte die schriftliche Einverständniserklärung. Anschließend wurde von einem Arzt der Klinik ein standardisiertes psychiatrisches Kurzinterview (mini-SCID, Sheehan, 1998) durchgeführt, um psychiatrische Auffälligkeiten zu erfassen. Aus organisatorischen Gründen fand das Interview in einzelnen Fällen am Ende der Untersuchung statt. Es folgten

- Angaben zur Person ca. 2 min
- Aufsetzen der EEG-Haube ca. 45 min
- Testinstruktion und Durchführung des pORT ca. 25 min
- Testinstruktion und Durchführung des Kontrolltests ca. 10 min
- Test für eine andere Studie der Arbeitsgruppe ca. 10 min
- Abnahme der EEG-Haube ca. 5 min
- mehrere neuropsychologische Tests ca. 50 min
- Blutabnahme für eine andere Studie ca. 5 min

Insgesamt dauerte die Untersuchung ca. 3 Stunden.

2.3 EEG und evozierte Potentiale

2.3.1 EEG-Aufzeichnung

Für die EEG-Aufzeichnung saßen die Probanden in einem schallgedämpften und elektromagnetisch abgeschirmten Raum in einem leicht nach hinten geneigten Sessel mit Kopfstütze und Armlehnen. Im direkten Blickfeld des Probanden stand der Bildschirm (14'' Highscreen Multiscan Color Monitor). Die Eingabeeinheit verfügte über vier Wahltasten in gleicher Anordnung wie die Quadrate auf dem Bildschirm.

Die Ableitung erfolgte mit 32 Elektroden nach dem erweiterten 10/20-System mit den zusätzlichen Elektroden FC1, FC2, FC5, FC6, T1, T2, CP5, CP6, PO9, PO10 (Jasper, 1958). 29 Elektroden wurden dabei mittels einer Haube angebracht und A1 und A2 auf dem linken und rechten Mastoid platziert. Eine Elektrookulogramm (EOG)-Elektrode neben dem linken Auge diente der späteren Kontrolle von Augenartefakten, die Fpz-Elektrode der Erdung. Als Aufnahmeprogramm wurde der „Brain Vision Datamanager Version 0.91“ eingesetzt, als Verstärker der „SynAmps Modell 5083“ der Fa. Neuroscan.Inc. Die Abtastrate betrug 250 Hz, der Hautwiderstand der Elektroden (Impedanz) im Regelfall weniger als 5 k Ω .

2.3.2 Aufbereitung der EEG-Rohdaten

Die Aufbereitung der Rohdaten geschah mit dem „Brain Vision Analyzer Version 1.02“ (Brain Products GmbH, 1999). Dabei wurden zuerst alle Kanäle zu einer Referenz gemittelt und netzbedingtes Rauschen mittels eines 50 Hz Filters eliminiert. Sowohl für pORT als auch für den Kontrolltest wurden dann EEG-Segmente von 1150 ms Länge definiert, welche 350 ms vor dem Rückmeldestimulus begannen und 800 ms nach dessen Erscheinen endeten. Es folgte die computergestützte Artefakterkennung, wobei eine Aktivität von mehr als 100 μ V im Elektrookulogramm als Artefakt definiert und die entsprechenden Segmente von der weiteren Auswertung ausgenommen wurden.

2.3.3 Evozierte Potentiale und Grand Average

Die Kurven der evozierten Potentiale (EP-Kurven) ergaben sich für jeden Probanden aus der Mittelung aller artefaktfreien Segmente einer Bedingung des pORT. Die Bedingungen wurden folgendermaßen definiert:

1. Belohnung: Pluspunkte (20 bzw. 40 Punkte)
2. Bestrafung: Minuspunkte (-20 bzw. -40 Punkte)
3. Neutral: 0 Punkte

Der sogenannte Grand Average ergab sich aus der interindividuellen Mittelung der EP-Kurven der einzelnen Probanden für die jeweilige Bedingung. Auf eine detailliertere Auswertung getrennt nach Punktzahlen wurde verzichtet, da dies bei einer minimalen Anzahl von 20 Segmenten pro Bedingung zum Ausschluss von zusätzlichen Probanden geführt hätte. Zuvor wurde visuell ausgeschlossen, dass sich der Verlauf der Grand Average Kurven bei 20 Punkten und bei 40 Punkten wesentlich voneinander unterschieden. Für die Kontrollbedingung (Kontrolltest) erfolgte gleichermaßen die Berechnung von EP-Kurven und Grand Average.

2.3.4 Peakbestimmung

Eine Peakbestimmung erfolgte mithilfe der Software des Brain Vision Analysers Version 1.02 (Brain Products GmbH, 1999). Die Elektroden Fz, Cz und Pz wurden einzeln ausgewertet für die drei oben genannten Bedingungen des pORT. Dabei definierte sich ein Peak als der höchste positive Potentialwert innerhalb eines Zeitabschnitts. Die Abschnitte wurden anhand der Peaks der Grand Average Kurven wie folgt festgelegt:

1. Peak = P90 Zeitabschnitt: 70- 130 ms post Stimulus
2. Peak = P150 Zeitabschnitt: 130-250 ms post Stimulus
3. Peak = P350 Zeitabschnitt: 250-700 ms post Stimulus

Für jeden Probanden erfolgte die Festlegung der Peaks (Latenzen und Amplituden) zunächst mithilfe einer automatisierten Peakerkennung, die Ergebnisse wurden visuell von zwei Personen kontrolliert, im Falle eines unterschiedlichen Ergebnisses wurde ein Konsens erzielt.

2.3.5 Statistik der Peakanalyse

Die Analyse der Peaks erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS (SPSS Inc., Chicago, Ill., USA). Der Einfluss der Bedingungen, sowie von Geschlecht und Alter auf die Amplituden der Peaks P150 und P350 wurde mittels einer multivariaten Analyse mit Messwiederholung untersucht (Wilks-Lambda-Test), weiterhin wurden für P350 Innersubjektkontraste ermittelt.

2.4 Quellenlokalisierung mittels LORETA

Die zuerst von Pascual-Marqui et al. (1994) beschriebene Methode LORETA errechnet aus der Verteilung der Stromstärke auf der Kopfhaut die elektrischen Quellen im Gehirn in dreidimensionaler Form und löst somit das inverse Problem. Pascual-Marqui et al. zeigten (1994 und 1999), dass es LORETA gelingt, die vorhandenen Quellen korrekt zu lokalisieren. Hierbei wird ein unscharfes Bild, also eine relativ geringe Auflösung, in Kauf genommen.

2.4.1 Lösungsraum

Die verwendete LORETA-Software basiert auf einem drei-Schalen-Modell des Kopfes kombiniert mit dem Talairach-Atlas (Talairach und Tournoux, 1988), einem standardisierten MRT-Atlas, erhältlich beim Brain Imaging Centre, Montreal Neurologic Institute (Pascual-Marqui et al., 1999). Demnach wurde ein standardisiertes Kopfmodell verwendet, keine individuelle MRT-Darstellung von Kopf und Gehirn. Individuelle Unterschiede des Gehirns, sowie der Dicke des knöchernen Schädels und der Kopfhaut erfuhren somit keine Berücksichtigung. Bei der Umrechnung zwischen Schalenmodell und anatomischer Kopfform wurden die EEG-Elektrodenkoordinaten entsprechend dem Vorschlag von Towle et al. (1993) verwendet. Der Lösungsraum wurde folgendermaßen beschränkt: Nur Bereiche, die laut Talairach-Atlas Teil des Cortex oder des Hippocampus sind, gingen in die Analyse ein. Ein Punkt eines dreidimensionalen Gitternetzes (Voxel) wurde hierbei als graue Substanz definiert, wenn er folgende Bedingungen erfüllte: die Wahrscheinlichkeit für graue Substanz war höher als für weiße Substanz und für Liquor, und sie war höher als 33%. Auf diese Weise wurden 2394 Voxel mit einem Abstand von 7 mm festgelegt (Pascual-Marqui et al., 1999). Die elektrische Aktivität dieser Voxel kann als Amplitude der errechneten Stromdichte in $\mu\text{A}/\text{mm}^2$ graphisch dargestellt werden.

2.4.2 Räumliche Auflösung

Bei Simulation mit künstlichen Daten gelang es der Original-Version der LORETA (ohne Integration des Talairach-Atlas) noch nicht, zwei Dipole im Abstand von 15 mm als getrennte Quellen zu lokalisieren. Erst bei einer Distanz von 31 mm konnten die beiden Quellen separat dargestellt werden (Pascual-Marqui et al., 1994). Die Integration des Talairach-Atlases bei der verwendeten Version dürfte die Genauigkeit noch verbessert haben, dementsprechend gibt Pascual-Marqui eine Auflösung von 14 mm an (Pascual-Marqui et al., 1999), basierend auf

Untersuchungen von Cohen et al. (1990). Diese Studie ging von der 1994 nachgewiesenen örtlichen Auflösung aus, demnach galten zwei Voxel mit maximalen Aktivitätsunterschieden als zu einer Quelle gehörend, falls ihr Abstand weniger als 31 mm betrug. Ansonsten wurde von zwei Quellen ausgegangen.

2.4.3 Statistik der Quellenlokalisierung

Für die LORETA-Analyse wählten wir die zu untersuchende Zeitspanne auf der Basis der zuvor erfolgten konventionellen Analyse der evozierten Potentiale und setzten sie fest auf 302-450 ms post Stimulus, da sich in diesem Bereich die größten Unterschiede zwischen den einzelnen Bedingungen zeigten (vgl. 3.1 Analyse der evozierten Potentiale).

Wie von Picton et al. (1999) vorgeschlagen, wurden statistische Methoden angewendet, um Informationen über die Signifikanz der ermittelten Quellen zu erhalten. Dazu erfolgte zunächst für die Bedingungen Belohnung und Bestrafung ein Vergleich der EEG-Grundlinie (ab 270 ms vor Stimulus) mit der Stromdichte der evozierten Potentiale (post Stimulus). Der dazu verwendete non-parametrische zweiseitige t-Test vergleicht die Stromdichtenwerte Voxel für Voxel (Holmes, 1996). Er löst das dabei auftretende Problem der multiplen Testung mit einem speziellen Randomisierungsverfahren. Liegt der Stromdichtewert eines Voxels oberhalb der 95. Perzentile dieser randomisierten Ergebnisse, dann ist p auf dem Niveau von 5% signifikant (Holmes, 1996). Da dieser t-Test Teil der LORETA-Software ist, lassen sich die signifikant aktivierten Voxel graphisch darstellen, von der LORETA-Software wird weiterhin für jedes Voxel die wahrscheinlichste Zuordnung zu Koordinaten des Talairach-Atlas und die jeweilige Brodmann-Area angegeben. In der Darstellung der Ergebnisse wurde jeweils das Voxel einer Quelle angegeben, das maximale Aktivitätsunterschiede aufwies.

Für den Gruppenvergleich zwischen den einzelnen Bedingungen wurde derselbe t-Test verwendet, dabei wurde zunächst der Zeitbereich von 302-450 ms als Ganzes analysiert und im Anschluss in Abschnitte von jeweils 16 ms aufgeteilt.

Weiterhin wurden explorativ diejenigen Gehirnbereiche dargestellt, welche nach positiver bzw. negativer Rückmeldung im Vergleich zu neutraler Rückmeldung Aktivitätsunterschiede zeigten. Hierzu diente ebenfalls der t-Test der LORETA-Software, mit dessen Hilfe der Zeitbereich von 58 ms bis 458 ms post Stimulus in Zeitabschnitten von 16 ms getestet wurde. Als Signifikanzgrenze galt jeweils $p < 0,05$, aufgrund der multiplen Testungen kann daher das Ergebnis nur als Hinweis gedeutet werden.

2.5 Ethik

Aus ethischer Sicht ist zu beachten, welche Belastungen den Probanden durch die Untersuchung entstehen. Es handelte sich um eine EEG-Untersuchung unter Durchführung eines neuropsychologischen Testes (pORT) sowie zusätzlicher Papiertests (s.o.) mit einer Dauer von ca. 3 Stunden. Diese Untersuchung ist nicht invasiv und mit keinen objektiven Nebenwirkungen verbunden. Zusätzlich wurde ausdrücklich vor Beginn der Studie in mündlicher und schriftlicher Form darauf hingewiesen, dass der Proband die Teilnahme an der Studie jederzeit ohne Angabe von Gründen abbrechen darf. Jeder Proband erteilte ein „informed consent“ (siehe Anhang 4). Alle Daten wurden in anonymisierter Form erfasst. Dazu erhielt jeder Teilnehmer eine Codenummer, die von den Testdaten getrennt aufbewahrt wird. Die Ethikkommission der Freien Universität Berlin hatte laut Votum vom 09.04.01 keine Bedenken bezüglich dieser Studie.