

Aus der Klinik für Neurologie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

**DISSERTATION**

Neurophysiologische Veränderungen bei Patienten mit wiederholten  
Schädelhirntraumata

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor rerum medicinalium (Dr. rer. medic.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von  
Skadi Wilke  
aus Wernigerode

Datum der Promotion: 06.03.2020

# **Inhaltsverzeichnis**

<b>Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>1</b>
<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>2</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>3</b>
<b>1 Einleitung .....</b>	<b>5</b>
<b>2 Zielstellung .....</b>	<b>7</b>
<b>3 Methodik .....</b>	<b>7</b>
3.1 Studienteilnehmer.....	7
3.2 Studiendesign .....	9
3.3 Neuropsychologische Testung .....	9
3.4 Transkranielle Magnetstimulation.....	10
3.5 Anodale transkranielle Gleichstromstimulation.....	11
3.6 Magnetresonanztomographie .....	12
3.7 Magnetresonanztomographie .....	14
3.8 Statistische Datenauswertung.....	14
<b>4 Ergebnisse .....</b>	<b>15</b>
<b>5 Diskussion .....</b>	<b>18</b>
<b>6 Literaturverzeichnis.....</b>	<b>22</b>
<b>Eidesstattliche Versicherung.....</b>	<b>26</b>
<b>Anteilerklärung.....</b>	<b>27</b>
<b>Ausgewählte Publikationen .....</b>	<b>28</b>
<b>Lebenslauf.....</b>	<b>76</b>
<b>Komplette Publikationsliste .....</b>	<b>77</b>
<b>Danksagung.....</b>	<b>78</b>

## Abkürzungsverzeichnis

<b>atDCS</b>	engl. <i>anodal transcranial direct current stimulation</i>
<b>BCAN</b>	engl. <i>Berlin Center for Advanced Neuroimaging</i>
<b>BDI</b>	engl. <i>Beck depression inventory</i>
<b>CSP</b>	engl. <i>corticomotor silent period</i>
<b>CI</b>	engl. <i>confidence interval</i>
<b>DTI</b>	engl. <i>diffusion tensor imaging</i>
<b>FA</b>	engl. <i>fractional anisotropy</i>
<b>fMRT</b>	Funktionelle Magnetresonanztomographie
<b>FWE</b>	engl. <i>family-wise error</i>
<b>ICC</b>	engl. <i>intraclass correlation</i>
<b>LTP</b>	engl. <i>long-term potentiation</i>
<b>MCI</b>	engl. <i>mild cognitive impairment</i>
<b>MD</b>	engl. <i>mean diffusivity</i>
<b>MEP</b>	Motorisch evoziertes Potenzial
<b>MRS</b>	Magnetresonanztomographie
<b>MRT</b>	Magnetresonanztomographie
<b>MT</b>	engl. <i>motor threshold</i>
<b>rMT</b>	engl. <i>resting motor threshold</i>
<b>SD</b>	engl. <i>standard deviation</i>
<b>Sham</b>	Scheinbedingung
<b>SHT</b>	Schädelhirntraumata
<b>TMS</b>	Transkranielle Magnetstimulation
<b>TE</b>	Echozeit
<b>TR</b>	Repetitionszeit
<b>VLMT</b>	engl. <i>Auditory Verbal Learning Test</i> ; Verbaler Lern- und Merkfähigkeitstest

## Zusammenfassung

Schädelhirntraumata (SHT) stellen eine der häufigsten Erkrankungen in der Europäischen Union dar. Vor dem Hintergrund früherer Studien, die Zusammenhänge mit neurodegenerativen Erkrankungen wie Alzheimer berichteten, stellt die Erforschung der Konsequenzen von SHT ein wichtiges Anliegen in unserer alternden Gesellschaft dar. Ziel der vorliegenden Dissertationsarbeit war es den Einfluss wiederholter leichter SHT auf neurophysiologische Prozesse in der chronischen Phase (>6 Monate) zu untersuchen.

Im Rahmen der *ersten Studie* haben wir ein Open-Source-Tool zur automatisierten Datendetektion der durch transkranielle Magnetstimulation (TMS)-induzierten kortikalen Innervationsstille (CSP) entwickelt, validierten es an der herkömmlichen manuellen Methode und stellten es kostenlos im Internet zur Verfügung. Das CSP-Protokoll wird zur Untersuchung der Gamma-Aminobuttersäure (GABA)<sub>B</sub>-Rezeptor-Aktivität z.B. nach leichten SHT genutzt. Da für eine manuelle CSP-Auswertung üblicherweise zwei Rater benötigt werden, um systematische Fehler zu verhindern, war es zudem unser Ziel eine ökologischere und zeitsparende Methode zu entwickeln. *cSPider* wurde an 91 Datensätzen validiert. Anhand von hohen Reliabilitätskoeffizienten konnte nachgewiesen werden, dass *cSPider* zuverlässig CSP-Daten verschiedener Patientengruppen zeitsparend detektiert.

Im Rahmen der *zweiten Studie* haben wir den Einfluss wiederholter leichter SHT auf kognitive Funktionen, das Hirnvolumen, die Integrität der weißen Substanz und der funktionalen Konnektivität in einer jüngeren und älteren Kohorte untersucht, um eine mögliche Altersaggravation zu überprüfen. Es wurden nur subtile Effekte offensichtlich. So zeigten jüngere Patienten schlechtere Leistungen in der verbalen Flüssigkeit. Zudem wurden Volumenreduktionen im Precuneus, medialen orbitofrontalen Kortex und eine Interaktion von Alter und Gruppe im rechten Hippocampus ersichtlich. Trotz des multimodalen Assessments konnten keine beträchtlichen Gruppenunterschiede zwischen Patienten nach wiederholten leichten SHT und gesunden Kontrollen aufgezeigt werden. Auch eine erwartete Altersaggravation blieb in den meisten untersuchten Parametern aus. An der *dritten Studie* nahm nur die jüngere Kohorte teil. Hier sollte der Einfluss wiederholter leichter SHT auf die GABA-Konzentration und GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-Aktivität im linken primären motorischen Kortex (M1) untersucht werden. Zudem testeten wir eine mögliche Intervention mittels anodaler transkranieller Gleichstromstimulation (atDCS) über dem linken M1 und deren Einfluss auf die GABA-Konzentration und GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-Aktivität. Auch hier konnten nur subtile Effekte der SHT nachgewiesen werden. Neben den bereits in *Studie 2* aufgezeigten schlechteren Leistungen in der verbalen Flüssigkeit konnten wir eine Assoziation zwischen

einer höheren Anzahl der SHT und einer höheren GABA-Konzentration innerhalb der Patientengruppe zeigen. Keine Gruppenunterschiede wurden hingegen in der GABA-Konzentration und GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-Aktivität ersichtlich. Eine Intervention mittels atDCS erbrachte keine Veränderungen in diesen Parametern. Merkmale der Stichprobe oder des Studiendesigns könnten für diese Datenlage (*Studie 2 und 3*) verantwortlich sein und sollten in zukünftigen Studien berücksichtigt werden.

## **Abstract**

Traumatic brain injuries (TBI) are one of the most common diseases in the European Union. Recent studies reported associations of TBI and neurodegenerative pathologies such as Alzheimer's disease, which highlights the importance of investigating the consequences of TBI especially with regard to an aging society.

Aim of this thesis was to evaluate the impact of recurrent mild TBI (mTBI) on neurophysiological processes in the chronic phase (>6 months).

For the *first study* we created an open source tool to automatically analyze transcranial magnetic stimulation (TMS)-induced corticomotor silent periods (CSP). The CSP-protocol is used to investigate gamma-aminobutyric-acid (GABA)<sub>B</sub> receptor activity in M1. As the manual method requires two independent raters for the data detection to avoid systematic errors, aim of this study was to obtain a more time-saving software. *cSPider* was validated on 91 datasets. High reliability coefficients were established for datasets of different patient cohorts.

In the *second study* we evaluated the impact of recurrent mTBI on cognitive abilities, regional brain volume, white matter integrity and resting state functional connectivity in younger and older participants. Two age cohorts were used to examine a possible aggravation. Only subtle effects were found. Younger participants with mTBI performed worse in verbal fluency tasks. Furthermore, group-specific differences in the regional volume of precuneus and medial orbitofrontal gyrus for both age groups were seen and a significant age by group interaction for the right hippocampal volume was noted. Despite our multimodal approach no extensive group-specific differences between participants with recurrent mTBI and healthy controls were revealed. In the *third study* only the younger cohort was examined. We investigated the impact of recurrent mTBI on GABA concentration and GABA<sub>B</sub> receptor activity. Furthermore, we evaluated a promising intervention method with anodal transcranial direct current stimulation (atDCS) and whether atDCS over M1 reduces GABA concentration and GABA<sub>B</sub> receptor activity. However, only subtle effects of recurrent mTBI in the chronic

phase were revealed. As already reported in *study 2* participants with recurrent mTBI scored significantly lower on verbal fluency tasks. Higher GABA concentration was associated with a higher number of mTBI, although no group differences in GABA concentration and GABA<sub>B</sub> receptor activity were obtained. No effects of atDCS on GABA concentration and receptor activity were seen in both patients with mTBI or healthy controls. Specifics of experimental design or characteristics of the respective samples may account for these findings (*study 2, 3*) and should be addressed in future studies.

## 1 Einleitung

Gehirnerschütterungen bzw. leichte Schädelhirntraumata (SHT) und deren Folgen rücken vor allem wegen ihrer prominenten Opfer immer wieder in den Fokus der medialen Aufmerksamkeit<sup>1</sup>. So musste z.B. der Kapitän der Berliner Eisbären Stefan Ustorf 2012 seine Karriere als erfolgreicher Eishockeyspieler aufgeben, nachdem er aufgrund von wiederholten leichten SHT bleibende Schäden und Beeinträchtigungen zurückbehielt<sup>2</sup>. In den letzten zwei Jahrzehnten konnten in vielen wissenschaftlichen Arbeiten Erkenntnisse über die Pathogenese und Folgen von wiederholten leichten SHT gewonnen werden, welche jedoch bisher kein einheitliches Bild zeichnen konnten. So wurde unter anderem eine Assoziation zwischen SHT und einem höheren Risiko an der Alzheimer-Krankheit oder einer Demenz im Alter zu erkranken beobachtet<sup>3,4</sup>. SHT stellen zudem die häufigste Ursache für erworbene Behinderungen in der Jugend dar. Die Inzidenzrate in Europa wird auf 775.500 geschätzt<sup>5</sup>. Hauptursachen für SHT umfassen Stürze, Autounfälle, tätliche Angriffe und Sportunfälle. Bei den meisten SHT – rund 80 % – handelt es sich um leichte SHT. Leichte SHT sind charakterisiert durch das vorübergehende Auftreten von Verwirrtheitszuständen (<24 Stunden) und/oder kurzfristige Bewusstlosigkeit (<30 min) (American Academy of Neurology Practice, 1997). Als Folge können kognitive, physische und emotionale Beeinträchtigungen als postkonkussionale Symptome auftreten<sup>6</sup>. Die Mehrheit der Patienten zeigt eine Remission hinsichtlich dieser Symptomatik innerhalb der ersten Tage oder Wochen nach einem einzelnen leichten SHT. Jedoch berichten einige Patienten persistierende klinische und kognitive Symptome über Monate und Jahre und leiden am sogenannten postkonkussionalen Syndrom<sup>7</sup>. Symptome wie unter anderem Kopfschmerzen, Schwindel, Schläfrigkeit, reduzierte Konzentration, Gedächtnisdefizite, sowie Depression und Angstzustände können auftreten<sup>8</sup>. Studien konnten zudem dauerhafte kognitive Beeinträchtigungen wie reduzierte Leistungen bei Gedächtnisaufgaben, in der Aufmerksamkeit und in den Exekutivfunktionen in der chronischen Phase (> 6 Monate) nach leichten SHT objektivieren<sup>6</sup>. Wiederholte leichte SHT scheinen zudem mit Symptomschwere<sup>9</sup>, verlängerter Genesung<sup>10</sup> und einem erhöhten Risiko für einen früheren Beginn einer Alzheimer-Erkrankung<sup>11</sup> assoziiert zu sein.

Standard-Magnetresonanztomographie (MRT)- oder Computertomographie-Aufnahmen direkt nach einem leichten SHT zeigen in den meisten Fällen keine auffälligen strukturellen Hirnläsionen und tragen somit nicht zur Diagnose bei. Jedoch konnten mithilfe von neueren bildgebenden Verfahren wie der Diffusions-Tensor-MRT (engl. diffusion tensor imaging, DTI), funktionalen MRT (fMRT) des Ruhezustands (engl. Resting State MRI, Ruhe-fMRT)

und Magnetresonanztomographie (MRS) Veränderungen nach wiederholten leichten SHT nachgewiesen werden. Mithilfe von DTI-Messungen bzw. den Parametern der fraktionalen Anisotropie (engl. fractional anisotropy, FA) und der mittleren Diffusivität (engl. mean diffusivity, MD) können Veränderungen in der Mikrostruktur der weißen Substanz als Folge von Dehnungs- und Scherkräften dargestellt werden. Nach wiederholten leichten SHT in der chronischen Phase konnten Veränderungen beider Richtungen in diversen Faserverbindungen wie dem kortikospinalen Trakt (CST)<sup>12</sup>, dem Corpus Callosum (CC)<sup>13,14</sup>, dem superioren longitudinalen Fasciculus (SLF) und im uncinaten Fasciculus (UF)<sup>15</sup> nachgewiesen werden. Ähnlich heterogene Ergebnisse zeigen sich auch in den Untersuchungen zur MD. Hinsichtlich der funktionalen Konnektivität (Ruhe-fMRT) konnten vor allem für die akute Phase nach einem leichten SHT Veränderungen im motorstriatalen Netzwerk<sup>16</sup> und dem Default-Mode-Netzwerk (DMN)<sup>17</sup> gezeigt werden. Ein solcher Zusammenhang konnte bisher nicht für die chronische Phase nach wiederholten leichten SHT nachgewiesen werden. Auch im Volumen der grauen Substanz konnten Veränderungen nach wiederholten leichten SHT beobachtet werden. So berichteten zum Beispiel Monti und Kollegen eine signifikante Reduktion im hippocampalen Volumen aufgrund von wiederholten leichten SHT und Alter<sup>18</sup>. Darüber hinaus wurde ein Zusammenhang zwischen neurochemischen Prozessen nach wiederholten leichten SHT und kognitiven Beeinträchtigungen postuliert<sup>19</sup>. Ein potentiell wichtiger Neurotransmitter und Indikator für eine Störung im metabolischen System nach einem leichten SHT stellt die Gamma-Aminobuttersäure (GABA) dar<sup>20</sup>, dessen In-vivo-Detektion erst in den letzten Jahren aufgrund von technischen Neuerungen ermöglicht wurde. Berichte über Veränderungen in der GABA-Konzentration stammen bisher jedoch aus Tierexperimenten<sup>21</sup> und konnten in der Form nicht am Menschen gezeigt werden. Mithilfe von transkranieller Magnetstimulation (TMS) konnte in Studien darüberhinaus die GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-Aktivität wie z.B. mittels Protokollen zur kortikalen Innervationsstille (engl. corticomotor silent period, CSP) gemessen und Veränderungen wie eine erhöhte GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-Aktivität nach wiederholten leichten SHT nachgewiesen werden<sup>22</sup>. Anodale transkranielle Gleichstromstimulation (engl. anodal direct current stimulation, atDCS) gilt als vielversprechende Intervention bei pathologisch erhöhter GABA-Konzentration wie z.B. nach wiederholten leichten SHT berichtet<sup>23</sup>. Zudem zeigen Studien eine Reduktion der GABA<sub>B</sub>-vermittelten Hemmung<sup>24</sup>. Die meisten Studien konzentrierten sich jedoch bisher auf die Untersuchung einzelner durch leichte SHT betroffene Parameter und untersuchten diese in kleinen oder moderaten Stichproben.

## 2 Zielstellung

Im Rahmen einer Methodenstudie (*Studie 1*) entwickelten wir ein Open-Source-Tool zur automatisierten Detektion von CSP, validierten es an der herkömmlichen manuellen Methode und stellten es kostenlos im Internet zur Verfügung. Ziel war die Entwicklung einer reliablen, ökologischen und zeitsparenden Methode.

Ziel der *Studie 2* war es in einem multimodalen Ansatz den Einfluss von wiederholten leichten SHT auf umfangreiche kognitive Funktionen, das Hirnvolumen, die Integrität der weißen Substanz und funktionalen Konnektivität in jüngeren und älteren Studienteilnehmern zu untersuchen. Die zwei Alterskohorten wurden gewählt, um eine mögliche Altersaggravation aufzeigen zu können. Im Rahmen der *Studie 3* untersuchten wir den Einfluss von wiederholten leichten SHT ebenfalls auf die kognitive Leistungsfähigkeit und darüber hinaus auf die GABA-Konzentration und GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-Aktivität in der jüngeren Kohorte aus *Studie 2*. Des Weiteren testeten wir eine mögliche Intervention mittels atDCS über dem linken primären motorischen Kortex (M1) und deren Einfluss auf die GABA-Konzentration und GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-Aktivität.

## 3 Methodik

### 3.1 Studienteilnehmer

#### *Studie 1*

In die *erste Studie* gingen Daten von insgesamt 102 rechtshändigen Teilnehmern (32 Frauen, Alter: 44 Jahre, 19-80 Jahre (Mittelwert, Range)) ein. Elf Datensätze mussten aufgrund von schlechter Datenqualität ausgeschlossen werden, so dass schließlich 91 Datensätze von 50 gesunden Probanden, 33 Teilnehmern mit leichten SHT, vier Patienten mit leichten kognitiven Beeinträchtigungen (engl. mild cognitive impairment, MCI) und vier Patienten mit schwerer Okklusion der Arterie carotis interna (engl. internal carotid artery, ICA) eingeschlossen werden konnten. Studienteilnehmer dieser Studie nahmen bereits an anderen in unserer Arbeitsgruppe durchgeführten Studien teil. Die Diagnose MCI wurde von einer Neuropsychologin in der Gedächtnissprechstunde der Charité nach Kriterien von Petersen und Kollegen gestellt<sup>25</sup>. Patienten mit schwerer ICA-Okklusion diagnostiziert nach den Kriterien der European Carotid Surgery Trial (ECST) wurden mittels Datenbanken von vier Ultraschalllaboren des Fachbereichs Neurologie der Charité rekrutiert. Leichte SHT wurden wie nachfolgend bei *Studie 2 und 3* beschrieben diagnostiziert.

### *Studie 2*

In die *zweite Studie* wurden insgesamt 71 Probanden eingeschlossen. Die Kohorte bestand aus vier Gruppen: 17 jüngere Patienten (Alter: 24,2 Jahre  $\pm$  2,8 (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung (engl. standard deviation, SD), Bildungsjahre: 15,4 Jahre, 2 Frauen, 2 Linkshänder) mit wiederholten leichten SHT (Anzahl der SHT: 3,1  $\pm$  1,6; Zeit seit dem letzten SHT (Monate): 13,3  $\pm$  14,8 (Mittelwert  $\pm$  SD)), 21 gematchte jüngere gesunde Kontrollprobanden (Alter: 25,8 Jahre  $\pm$  5,4 (Mittelwert  $\pm$  SD), Bildungsjahre: 15,1 Jahre, 2 Frauen, 2 Linkshänder), sowie 17 ältere Patienten (Alter: 62,7  $\pm$  7,7 (Mittelwert  $\pm$  SD), Bildungsjahre: 15,7 Jahre, 8 Frauen) mit wiederholten SHT (Anzahl der SHT: 2,5  $\pm$  0,7; Zeit seit dem letzten SHT (Monate): 447,8  $\pm$  186,0 (Mittelwert  $\pm$  SD)) und 16 gematchte ältere gesunde Kontrollprobanden (Alter: 61,7  $\pm$  5,9 (Mittelwert  $\pm$  SD), Bildungsjahre: 15,5 Jahre, 8 Frauen).

### *Studie 3*

In die *dritte Studie* wurden nur die 38 jüngeren Teilnehmer aus der *zweiten Studie* eingeschlossen (Stichprobendetails siehe oben unter *Studie 2*).

Rekrutiert wurde für *Studie 2 und 3* mittels Intranet-Werbung auf der Charité Webseite und in örtlichen Sportvereinen in Berlin. Für die Diagnose eines leichten SHT wurde ein standardisierter Fragebogen genutzt. Kriterien für die Diagnose eines leichten SHT umfassten Verwirrtheit für wenigstens 24 h und/oder Bewusstlosigkeit für weniger als 30 min nach der Kopfverletzung (American Academy of Neurology Practice, 1997). Teilnehmer der Patientengruppe gaben an mindestens zwei leichte SHT erlitten zu haben, wobei das letzte SHT mindestens sechs Monate vor Studienteilnahme stattgefunden haben musste.

Für alle drei Studien galten unter anderem folgende Ausschlusskriterien: unbehandelte medizinische, neurologische und psychiatrische Erkrankungen, Einnahme von zentralnervös wirkenden Medikamenten, Anzeichen für schwere kognitive Defizite (Mini-Mental-Status-Test  $\leq$  26/30 Punkten), Anzeichen für eine Depression (Beck-Depressions-Inventar<sup>26</sup>  $\geq$  12 Punkten), moderate oder schwere SHT in der Anamnese, Epilepsie, unzureichende deutsche Sprachkenntnisse sowie Alkohol- oder/und Drogenabusus.

Alle Probanden zeigten normale Befunde bei der neurologischen Eingangsuntersuchung und auch in den strukturellen MRT-Aufnahmen zeigten sich keine Läsionen wie Hirntumore oder Schlaganfälle. Alle Studien wurden von der Ethikkommission der Charité genehmigt. Die Teilnehmer wurden mündlich und schriftlich aufgeklärt und gaben ihr schriftliches Einverständnis zur Studienteilnahme. Am Ende erhielten alle Teilnehmer eine Aufwandsentschädigung.

### 3.2 Studiendesign

Alle Studienteilnehmer durchliefen vor Studieneinschluss eine medizinische Eingangsuntersuchung. Zudem wurden alle Teilnehmer der *Studien 2 und 3* gebeten Angaben zu postkonkussionalen Symptomen mittels eines Fragebogens zu machen.

#### *Studie 1*

Teilnehmer der *Studie 1* erhielten eine TMS- und eine strukturelle MRT-Messung.

#### *Studie 2*

Teilnehmer in dieser Querschnittsstudie erhielten eine umfassende neuropsychologische Testung und MRT des Kopfes. Es erfolgten strukturelle sowie funktionelle MRT-Aufnahmen.

#### *Studie 3*

In dieser Interventionsstudie wurden ebenfalls eine umfassende neuropsychologische Testung und eine MRT des Kopfes durchgeführt. Es erfolgte außerdem eine TMS-Messung und eine MRS des primären Motorkortex (M1) vor (Baseline, t0) und nach (t1) einer 20-minütigen atDCS bzw. Sham-Stimulation über dem linken M1. Sowohl die Reihenfolge der MRS- und TMS-Messung als auch der atDCS- und Sham-Bedingung wurden randomisiert. Eine Pause von sieben Tagen zwischen der atDCS- und der Sham-Bedingung wurde eingehalten, um Übertragungseffekte zu vermeiden.

### 3.3 Neuropsychologische Testung

Zur Erhebung von SHT-assoziierten kognitiven Beeinträchtigungen in *Studie 2 und 3* wurde eine umfangreiche Batterie aus standardisierten kognitiven Tests zusammengestellt<sup>18,27</sup>. Verbales episodisches Gedächtnis wurde mithilfe des Verbalen Lern- und Merkfähigkeitstest (engl. Auditory Verbal Learning Test; VLMT) und den dazugehörigen Subskalen zur verbalen Lernfähigkeit, zur Konsolidierungs- und Wiedererkennungslleistung erfasst<sup>28</sup>. Der Trail Making Test (TMT) A und B wurde zur Erfassung der Verarbeitungsgeschwindigkeit verwendet<sup>29</sup>. Zur Auswertung wurde ein TMT Score berechnet:  $\text{TMT Score} = (\text{TMT-B} - \text{TMT-A}) / \text{TMT-A}$ . Der Regensburger Wortflüssigkeits-Test (RWT) wurde zur Untersuchung der phonematischen und kategorialen Wortflüssigkeit benutzt<sup>30</sup>. Für die Analyse (*Studie 2*) wurde ein Gesamt-Verbal-Fluency-Score über alle Subskalen hinweg gebildet. Zur Erhebung der visuokonstruktiven Fertigkeiten und dem episodischen Gedächtnis wurde der Rey-Osterrieth-Complex-Figure-Test durchgeführt<sup>31</sup>. Arbeitsgedächtnisleistungen wurden mittels Zahlenspanne vorwärts und rückwärts (engl. Digitspan forward and backward) aus dem Wechsler Gedächtnistest erfasst<sup>32</sup>. Zur besseren Vergleichbarkeit wurden pro

Teilnehmergruppe z-transformierte Summenwerte für die jeweiligen kognitiven Domänen gebildet.

### 3.4 Transkranielle Magnetstimulation

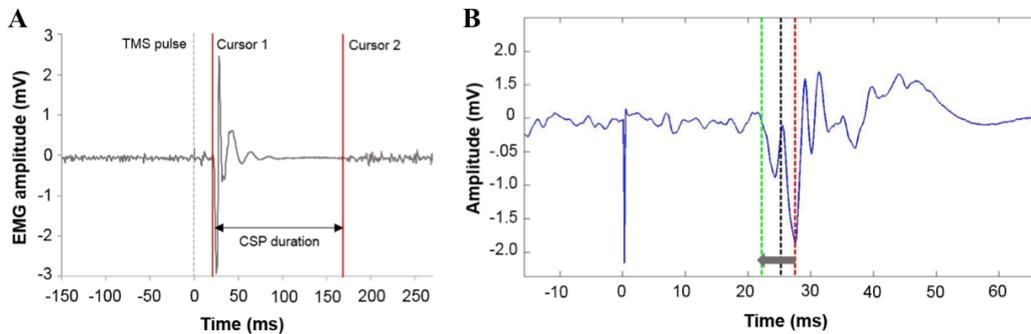
Die Erhebung der GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-Aktivität mittels TMS für *Studie 1 und 3* erfolgte mithilfe einer achtförmigen Spule (9 cm Durchmesser pro Rundspule), welche mit einem Magstim 200 Stimulator (Magstim, Whitland, UK) verbunden war. Die Spule wurde tangential über den linken M1 gehalten, wobei der Spulengriff nach postero-lateral und im 45°-Winkel zur Sagittallinie zeigte. Die optimale Position der Spule, der sogenannte „Hot Spot“, wurde in unserer Studie als die kortikale Repräsentation des Abductor Pollicis Brevis (APB) Muskels der kontralateralen Hand definiert. Motorisch evozierte Potenziale (MEP) des Muskels, ausgelöst durch moderate überschwellige Testreize, wurden mithilfe von Elektromyographie (EMG) und Oberflächenelektroden aufgezeichnet. Zur Messung der individuellen Erregbarkeitsschwelle wurde die kortikale Reizschwelle in Ruhe (engl. resting motor threshold, rMT) bestimmt. Sie ist definiert als diejenige Stimulationsintensität (in % des maximalen Stimulator-Outputs), welche erforderlich ist, um ein MEP des jeweiligen Muskels von mindestens 50 µV in mindestens fünf von zehn aufeinanderfolgenden Versuchen zu produzieren<sup>33</sup>.

Die GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-Aktivität wurde mittels eines TMS-Protokolls zur Erfassung der CSP gemessen. Als CSP bezeichnet man eine durch TMS ausgelöste Verringerung der EMG-Aktivität der kontralateralen Hand in einem tonisch aktivierten Muskel<sup>34</sup>. Die CSP wurde in *Studie 1 und 3* für zwei Stimulationsintensitäten erhoben. Dafür wurden insgesamt jeweils zehn Einzelpulsstimulationen (120% und 130% der rMT) über dem Hot Spot appliziert. Für ein Subset an Teilnehmern der *Studie 1* wurden darüberhinaus die CSP für zwei weitere Stimulationsintensitäten (110% und 140% der rMT) erfasst. Während des CSP-Protokolls waren die Probanden dazu angehalten eine isometrische Muskelanspannung des APB von etwa 20% ihrer maximalen EMG-Amplitude aufrechtzuerhalten. Für *Studie 1* wurden Beginn und Ende der jeweiligen CSP sowohl manuell als auch automatisiert mithilfe des AG-intern programmierten Open-Source-Tools *cSPider* ausgelesen<sup>35</sup>, für *Studie 3* nur unter Verwendung der automatisierten Methode.

#### *Manuelle CSP-Auswertung*

Zur manuellen Auswertung der CSP wurde das Programm Signal (Cambridge Electronic Design Ltd, Cambridge, UK) benutzt. Die Länge der CSP, definiert als die Zeit zwischen dem Beginn des MEP und der Reversion zum Ausgangslevel der kontinuierlichen EMG-

Aktivität<sup>36</sup>, wurde visuell von zwei verschiedenen Ratern ausgelesen und manuell markiert (Abb. 1A), um die Interrater-Variabilität zu messen. Die manuelle Auswertung basiert üblicherweise auf der Datendetektion zweier Rater, um systematische Fehler zu verhindern.



**Abb. 1:** **A)** Definition der CSP-Parameter anhand eines Beispiels für eine manuelle Detektion. CSP-On- und -Offset gekennzeichnet durch rote Linien. TMS=transkranielle Magnetstimulation, CSP=corticomotor silent period, EMG=Elektromyographie. **B)** Rote Linie: MEP-Minimum, Grüne Linie: CSP-Onset. mV=Millivolt, ms=Millisekunden. (Abbildungen aus Wilke und Groenveld et al. 2016)

#### *Automatisierte CSP-Auswertung mittels cSPider*

Im Rahmen der Methodenstudie (*Studie 1*) wurde die Software *cSPider* programmiert und validiert. *cSPider* wurde auf einem Windows-7-PC (3.0 GHz Intel® Core 2 Duo CPU, 4.0 GB RAM) benutzt. Programmiert wurde es in Matlab (The Mathworks Inc., Natick; MA) und der Signal Processing Toolbox. Die automatisierte CSP-Auswertung basiert im Wesentlichen auf den für die manuelle Detektion vordefinierten CSP-Parametern (Abb. 1A). *cSPider* orientiert sich dabei an den vorbekannten Zeitpunkten der TMS-Artefakte und definiert anhand dieser EMG-Abschnitte zur Frequenzanalyse. Um den CSP-Onset zu bestimmen wird zunächst das Minimum der MEP-Amplitude gesucht und ausgehend hiervon beginnt die rückwärts gerichtete Suche nach dem CSP-Onset (Abb. 1B). Der CSP-Onset ist definiert als der erste Datenpunkt, welcher größer als die gemittelten negativen und dem TMS-Artefakt vorgelagerten EMG-Daten ist. Ein ähnliches Vorgehen wurde von Daskalakis und Kollegen (2003) berichtet<sup>37</sup>. Zur Detektion des CSP-Offsets wird ein Suchfenster von 10-400 ms definiert, welches dem MEP-Offset nachgelagert ist. Das CSP-Offset ist definiert als der erste Datenpunkt innerhalb eines Mittels von 30 Datenpunkten, der 75% des Mittels der dem TMS-Puls vorgelagerten EMG-Daten überschreitet. Für eine ausführliche Darstellung des Programms wird auf die entsprechende Publikation verwiesen.

### **3.5 Anodale transkranielle Gleichstromstimulation**

In *Studie 3* wurde ein konstanter Gleichstrom von 1 mA über M1 mithilfe eines MRT-kompatiblen Stimulators (DC-Stimulator Plus, NeuroConn, Ilmenau, Deutschland) appliziert. Eine 5x7 cm große Anode, welche in einem in Kochsalzlösung (NACL) eingelegten

Schwamm eingehüllt war, wurde mittels C3 des 10-20 Elektroden System über dem linken M1 platziert<sup>38</sup>. Als Referenzelektrode (Kathode) diente eine 10x10 cm große Elektrode, welche rechts supraorbital platziert wurde. Die Größe der Referenzelektrode wurde gewählt, um eine Stimulation über diesem Gebiet in der Leistung abzuschwächen. Bei diesem in *Studie 3* verwendeten Stimulationsaufbau handelt es sich um ein weit verbreitetes Verfahren, welches bereits häufig in neurophysiologischen und klinischen Studien angewandt wird<sup>39</sup>. Die Elektrodenposition wurde bei jedem Teilnehmer mittels MRT-Aufnahmen verifiziert. In sowohl der Stimulations- als auch der Sham-Bedingung wurde in den ersten 10 Sekunden der Strom graduell bis auf 1 mA erhöht. Bei der Sham-Bedingung wurde jedoch die Stimulation nach 30 Sekunden beendet, bei der atDCS-Bedingung nach 20 Minuten.

### 3.6 Magnetresonanztomographie

Die MRT-Untersuchungen für die *zweite Studie* erfolgten am Berlin Center for Advanced Neuroimaging an der Charité – Universitätsmedizin Berlin. Für die Messung wurde ein 3-Tesla Siemens Trio Ganzkörperscanner mit hochauflösender 12-Kanal-Spule (Trio TIM, Siemens, Erlangen, Deutschland) benutzt. Strukturelle MRT-Aufnahmen erfolgten mittels dreidimensionaler T1-gewichteter Echo-Gradienten-Sequenz (TR=1900 ms, TE=2,52 ms, 192 sagittale Schichten, Voxelgröße=1,0×1,0×1,0 mm<sup>3</sup>, Flipwinkel=9°). Zudem wurde eine diffusionsgewichtete Spinecho-Echoplanar Sequenz (TR=7500 ms, TE=86 ms, 61 axiale Schichten, Voxelgröße=2.3×2.3×2.3 mm<sup>3</sup>; 64 Richtungen mit einem b-Wert von 1000 s/mm<sup>2</sup> und zehn b<sub>0</sub>) durchgeführt. Zur Erhebung des Ruhe-fMRT in der *zweiten Studie* wurden die Studienteilnehmer instruiert, während der Messung die Augen geschlossen zu halten und die Gedanken schweifen zu lassen. Die Auswertung der MRT-Daten erfolgte unter Verwendung von SPM8 (<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm>), FSL (<http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/>) und FreeSurfer (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu>).

#### *Voxel-basierte Morphometrie*

In *Studie 2* sollten mittels voxel-basierter Morphometrie (VBM) gruppenspezifische Unterschiede in der grauen Substanz (engl. gray matter, GM) in spezifischen, vorher festgelegten Regions of Interest (ROI) untersucht werden. Es wurden die anatomischen Aufnahmen mithilfe der VBM Toolbox (VBM8; <http://dbm.neuro.uni-jena.de/vbm/>) in SPM 8, welche in Matlab 7.9.0 (The Mathworks Inc., Natick; MA) implementiert ist, ausgewertet. Die Analyse beinhaltete die Entfernung hirnfremden Gewebes wie dem Schädel, Registrierung und Transformation in den Montreal Neurological Institute (MNI)-Raum und der anschließenden Segmentierung. Danach erfolgte eine Normalisierung in den MNI-Raum

mit DARTEL (engl. diffeomorphic image registration algorithm)<sup>40</sup>. Für weitere Details der Auswertung wird auf die entsprechende Publikation verwiesen.

#### *Mikrostruktur der weißen Substanz*

Zur Bestimmung gruppenspezifischer Unterschiede in der Mikrostruktur der weißen Substanz in *Studie 2* wurden die MD der Wassermoleküle im Gewebe und die FA mittels der DTI-Messung quantifiziert. Um Diffusionsbewegungen bestimmen zu können, wurde ein Tensor-Modell in alle Voxel der bewegungskorrigierten DTI-Bilder eingepasst. Hieraus wurden individuelle dreidimensionale Karten der MD und FA erstellt. Daraus resultierendes Datenmaterial wurde voxelweise mittels des FSL-Programms „Randomise“ (auf der Grundlage von 5000 Permutationen) analysiert<sup>41</sup> und mit der „threshold free cluster enhancement“ (TFCE <0,05) Methode für multiple Vergleiche korrigiert<sup>42</sup>. In einem weiteren Schritt wurden für die zuvor definierten Regionen wie den Fornix, den linken und rechten CST, den linken und rechten UF und den linken und rechten Cingulum probabilistische Masken unter Verwendung der Juelich Histology<sup>43</sup> und dem Johns Hopkins University white matter Atlas<sup>44</sup> erstellt. Für eine detaillierte Darstellung der Methodik wird auf die Publikation verwiesen.

#### *Funktionelle Konnektivität*

Die mittels Ruhe-fMRT ermittelten Daten zur funktionellen Konnektivität der *Studie 2* wurden mithilfe des Data Processing Assistant for Resting State fMRT (DPARSF; <http://www.restfmri.net/forum/DPARSF>) basierend auf SPM8 und implementiert in Matlab 7.9.0 (The Mathworks Inc., Natick; MA)<sup>45</sup> hinsichtlich gruppenspezifischer Unterschiede untersucht. Nach umfassender Vorverarbeitung der Daten (siehe Publikation) wurden anatomische ROI für den linken und rechten medialen orbitofrontalen Kortex (OFC), den linken und rechten Putamen und den linken und rechten Hippocampus mithilfe des AAL Atlas als sogenannte „Seed Regions“ definiert und für die Analyse genutzt. Nach Übertragung der ROI in die jeweiligen individuellen Native Spaces der Teilnehmer wurde das vorverarbeitete BOLD Signal innerhalb der Seed Region gemittelt und mit dem BOLD Signal in jedem Voxel (whole brain) korreliert. Diese dreidimensionalen Korrelationsmatrizen wurden z-transformiert (Fisher's z). Die daraus resultierenden räumlichen Daten repräsentierten die voxelweise Stärke der funktionalen Konnektivität innerhalb der Seed Region (zFC maps). Es erfolgte eine Korrektur für multiple Vergleiche mit einem FWE-Threshold (engl. family-wise error) von  $p < 0,05$  und einem unkorrigierten clusterdefinierenden Threshold von  $p < 0,001$ .

### 3.7 Magnetresonanztomographie

An der Physikalisch Technischen Bundesanstalt Berlin erhielten die Studienteilnehmer der *Studie 3* eine MRT-Untersuchung des Kopfes. Durchgeführt wurde die Messung in einem 3 Tesla Verio Scanner mittels einer 32-Kanal-Kopfspule (Siemens Healthcare, Erlangen, Deutschland). Mithilfe einer T1-gewichteten Echo-Gradienten-Sequenz (isotropic resolution of 1.0mm, TR=2300 ms, TE= 3,03 ms, TI=900 ms, Voxelgröße=1,0×1,0×1,0 mm<sup>3</sup> Flipwinkel=9°) wurden dreidimensionale Bilddatensätze für die strukturelle MRT-Analyse aufgenommen. Es wurde ein Volume of Interest (VOI=22×22×22 mm<sup>3</sup>) im linken M1 platziert, so dass das entsprechende Handareal für den APB abgebildet war. Eine Single-Volume-Spektroskopie zur Quantifizierung von GABA wurde unter Verwendung der SPECIAL-Sequenz (engl. Spin Echo Full Intensity Acquired Localized) durchgeführt (TR/TE=3000/8,5ms, number of averages (NA)= 256, spektrale Weite=2000Hz, Tacq=1024ms)<sup>46</sup>. Für Details der GABA-Quantifizierung wird auf die entsprechende Publikation verwiesen.

### 3.8 Statistische Datenauswertung

Alle statistischen Analysen erfolgten mit der Software SPSS 22 (PASW, SPSS, IBM) unter der Verwendung eines Signifikanzniveaus von  $\alpha < 0,05$ . Für alle drei Studien wurden Tests auf Normalverteilung durchgeführt bevor die entsprechenden parametrischen und nicht-parametrischen statistischen Tests für Gruppenvergleiche ausgewählt wurden.

#### *Studie 1*

Mithilfe der Intraklassenkorrelation (ICC) wurde die Interraterreliabilität überprüft, um die Übereinstimmung zwischen den zwei manuell detektierten Sets von CSP-Auswertungen zu bestimmen. Eine weitere ICC für die manuelle (gemittelte Werte der beiden Rater) und die automatisierte Methode wurde durchgeführt, um die Übereinstimmung zwischen diesen beiden Methoden zu überprüfen. Zur Feststellung der Interraterreliabilität wurde ein zweifaktorielles unjustiertes Modell genutzt<sup>47</sup>. Zudem wurden Bland-Altman-Diagramme zur Veranschaulichung der Übereinstimmungen zwischen den beiden Ratern und der manuellen und automatisierten Methode angefertigt<sup>48</sup>. Die limits of agreement wurden wie folgt definiert: mittlere Differenz  $\pm 1,96 \times$  SD der Differenz. Unterschiede im zeitlichen Aufwand zwischen der manuellen und der automatisierten Methode wurden unter Verwendung des nonparametrischen Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test für verbundene Stichproben ermittelt.

### *Studie 2*

Eine 2×2 MANOVA mit den Faktoren GRUPPE (Patienten mit wiederholten leichten SHT versus gesunde Kontrollprobanden) und ALTER (jung versus alt) wurde gerechnet, um Unterschiede in den Charakteristika der Studienteilnehmer und den kognitiven Profilen zu ermitteln. Zeigten sich hier signifikante Haupteffekte wurden post hoc Student's t-Tests durchgeführt, um die Richtung des Effekts zu beurteilen. Zur Analyse von Gruppenunterschieden in den DTI-Daten wurde ebenfalls eine 2×2 MANOVA mit den Faktoren GRUPPE (Patienten mit wiederholten leichten SHT versus gesunde Kontrollprobanden) und ALTER (jung versus alt) durchgeführt, um gruppenspezifische Unterschiede in den MD und FA der spezifischen ROI zu analysieren. Die Interaktion GRUPPE x ALTER sollte Aufschluss über gruppenspezifische und auf das Alter zurückzuführende Effekte geben.

### *Studie 3*

Gruppenunterschiede in den kognitiven Profilen, den Stichprobenmerkmalen wie Alter, Bildung, sowie den postkonkussionalen Symptomen, der GABA-Konzentration und der GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-Aktivität wurden mithilfe von post hoc Student's t-Tests für unabhängige Stichproben überprüft. Baseline(t0)- Unterschiede zwischen der atDCS- und Sham-Bedingung wurden mittels t-Test für gepaarte Stichproben analysiert. Um den gruppenspezifischen Einfluss von atDCS bzw. Sham-Stimulation auf die GABA-Konzentration und GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-Aktivität zu ermitteln, wurde eine Varianzanalyse mit Messwiederholungen (engl. repeated-measures analysis of variance, RM ANOVA) durchgeführt. Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman dienten der Zusammenhangsanalyse von Basline(t0)-Daten wie der GABA-Konzentration, der GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-Aktivität und Charakteristika der Patientengruppe wie der Anzahl der leichten SHT, den postkonkussionalen Symptomen und der Zeitspanne seit der letzten Verletzung. Des Weiteren wurden die Zusammenhänge zwischen GABA-Konzentration und GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-Aktivität und der verbalen Flüssigkeit mittels Pearson-Korrelation ermittelt. In die Untersuchung der korrelativen Zusammenhängen gingen nur die Daten der Patientengruppe ein.

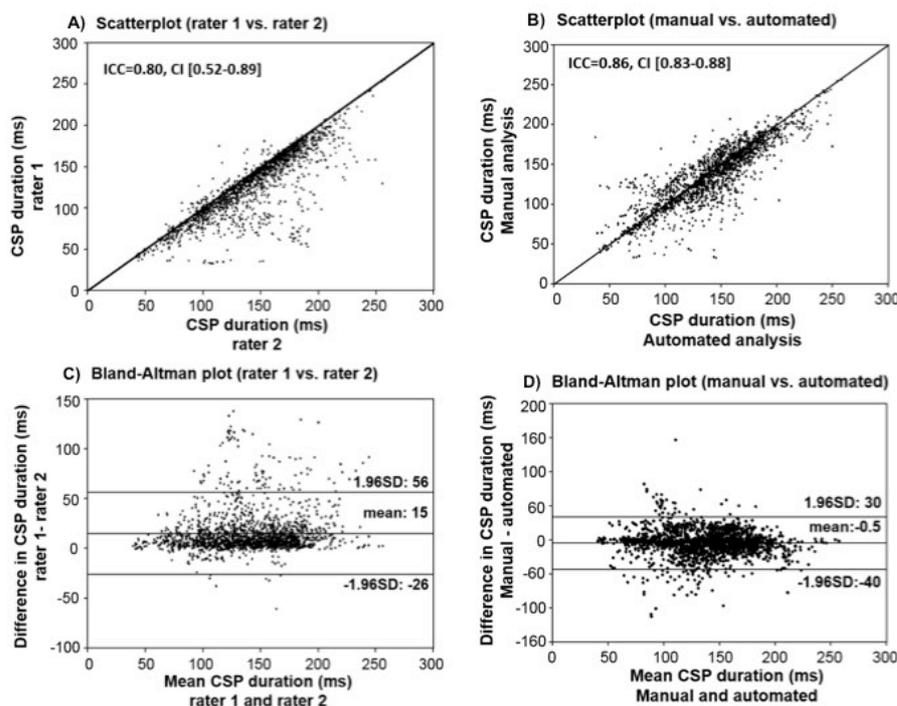
## **4 Ergebnisse**

### *Studie 1*

Insgesamt wurden von *cSPider* 98,5% aller manuell bearbeiteten CSP als solche erkannt. Es zeigte sich eine Falsch-positiv-Rate von 1,32%. Die Interraterreliabilität zwischen den beiden

Ratern lag insgesamt bei  $ICC=0,80$  mit einem Konfidenzintervall (KI) von  $0,52-0,89$ . Das zum Vergleich der beiden manuellen CSP-Auswertungen herangezogene Bland-Altman-Diagramm zeigt mit  $-26$  und  $56$  ms die Grenzen für die Übereinstimmung zwischen Rater 1 und Rater 2 an (Abb. 2). Ein Vergleich der manuellen mit der automatisierten Methode (*cSPider*) für die Stimulusintensitäten von  $120\%$  und  $130\%$  erbrachte eine hohe Reliabilität ( $ICC=0,86$ , KI  $[0,83; 0,88]$ ; Abb. 2). Auch hier gab das Bland-Altman-Diagramm Aufschluss über die Grenzen der Übereinstimmung zwischen den beiden Methoden ( $-40$  bis  $30$  ms; Abb. 2).

Für einen Teil der Datensätze wurde zusätzlich die Inter-Methoden-Reliabilität zwischen der manuellen und automatisierten Methode für niedrige ( $110\%$ ) und hohe ( $140\%$ ) TMS-Intensitäten durchgeführt. Es zeigte sich eine etwas geringere Intraklassenkorrelation für niedrige ( $ICC=0,76$ ; KI  $[0,55; 0,86]$ ) als für hohe TMS-Intensitäten ( $ICC=0,84$ ; KI  $[0,55; 0,93]$ ). Zudem erbrachte der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test eine signifikante Zeitersparnis von *cSPider* gegenüber der herkömmlichen manuellen Methode (median= $10,3$  sec,  $Z=-4,02$ ,  $p<0,001$ ,  $r=-0,08$ ).

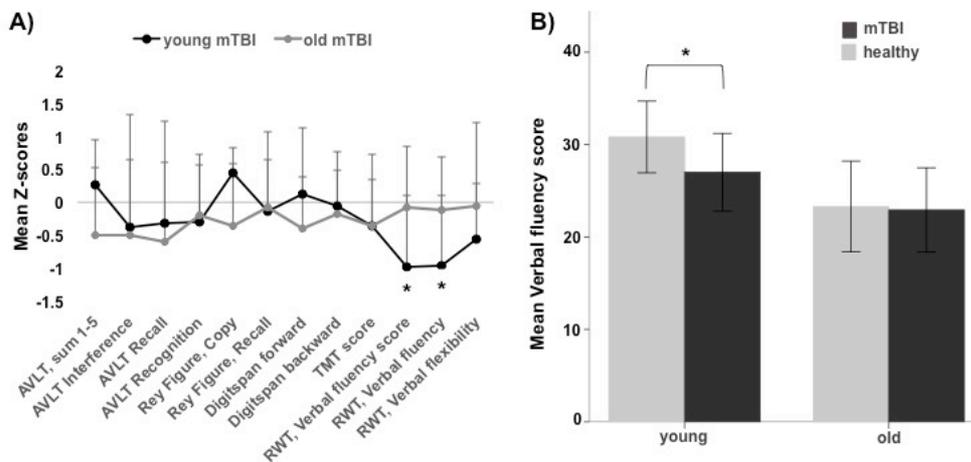


**Abb. 2:** Scatterplots zwischen **A)** den manuellen CSP-Auswertungen und **B)** der manuellen und der automatisierten CSP-Auswertung (Linie:  $x=y$ ) und Bland-Altman-Diagramme zum Vergleich **C)** der beiden manuellen CSP-Auswertungen und **D)** von manueller und automatisierter Methode. ICC=intraclass correlation, CI=confidence interval, SD=standard deviation, ms=Millisekunden, CSP=corticomotor silent period (Abbildungen aus Wilke und Groenvelde et al. 2016)

## Studie 2

In *Studie 2* wurden keine Unterschiede zwischen den Gruppen in den stichprobenrelevanten Charakteristika wie Alter, Geschlecht und Bildung ersichtlich. Die Patientengruppen erzielten

insgesamt schlechtere Leistungen (negative z-Werte) in den kognitiven Domänen (Abb. 3). Signifikant wurde dies jedoch nur für die verbale Flüssigkeit (MANOVA, GRUPPE ( $F_{(1)} = 4,64$ ,  $p = 0,04$ ,  $\eta^2 = 0,08$ ; ALTER ( $F_{(1)} = 23,88$ ,  $p < 0,01$ ,  $\eta^2 = 0,31$ )). Dabei zeigten vor allem junge Patienten mit wiederholten leichten SHT signifikant schlechtere Leistungen in der verbalen Flüssigkeit als die jungen gesunden Kontrollprobanden ( $t_{(37)} = -2,79$ ,  $p = 0,01$ ) (Abb. 3B). Beide Patientengruppen (jung und alt) zusammen genommen zeigten schlechtere Leistungen als die Kontrollprobanden, jedoch wurde dieser Effekt nicht signifikant ( $t_{(69)} = -1,92$ ,  $p = 0,06$ ).



**Abb. 3:** **A)** Kognitive Profile der Patienten mit wiederholten leichten SHT nach Altersgruppen und **B)** Mittelwerte des Verbal-Fluency-Scores als Funktion von Alter und Gruppe. \* =  $p \leq 0,05$ , Fehlerbalken =  $\pm 1$  Standardabweichung. mTBI=mild traumatic brain injury (SHT), AVLT=Auditory Verbal Learning Test; TMT-score=Trail Making Test score; RWT=Regensburger Wortflüssigkeits-Test. (Abbildung aus Wilke et al. 2018)

Die VBM-Analyse zeigte neben den erwarteten Altersunterschieden in diversen Hirnstrukturen zunächst keine signifikanten gruppenspezifischen Unterschiede im GM unter Einbezug des gesamten Gehirns. In den a priori definierten ROI konnten jedoch in der Patientengruppe verringerte GM im rechten Precuneus und linken medialen OFC nachgewiesen werden. Zudem zeigte sich eine signifikante Interaktion von ALTER und GRUPPE im Volumen des rechten Hippocampus.

Bezogen auf die Mikrostruktur der weißen Substanz (FA, MD) ließen sich neben dem erwarteten Alterseffekt keine gruppenspezifische Unterschiede nachweisen.

Auch in den Analysen zur funktionellen Konnektivität traten ausschließlich altersbezogene Unterschiede zu Tage.

### Studie 3

In *Studie 3* zeigten sich keine gruppenspezifischen Unterschiede in den stichprobenrelevanten Merkmalen wie Alter, Geschlecht und Bildung. Zudem konnten keine signifikanten Unterschiede in den selbstberichteten postkonkussionalen Symptomen ( $t_{(37)} = 0,58$ ,  $p = 0,57$ )

zwischen den Gruppen gezeigt werden. Patienten mit wiederholten leichten SHT erzielten jedoch insgesamt schlechtere Leistungen in den meisten geprüften kognitiven Domänen. Signifikant wurde dieser Unterschied jedoch nur in der verbalen Flüssigkeit bzw. in den Subskalen S-Wörter ( $t_{(37)}=-2,46$ ,  $p=0,02$ , [unkorrigiert]) und alternierenden G-R-Wörtern ( $t_{(37)}=-3,01$ ,  $p=0,01$ , [unkorrigiert]). Hinsichtlich der GABA-Konzentration wurden sowohl keine Baseline(t0)-Unterschiede zwischen der atDCS- und Sham-Bedingung als auch keine gruppenspezifischen Unterschiede ersichtlich. Das gleiche Bild zeigte sich in den Baseline(t0)-Daten für die GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-Aktivität. Es wurden sowohl keine Unterschiede zwischen der atDCS- und Sham-Bedingung als auch keine gruppenspezifischen Unterschiede offensichtlich.

Die Analyse des Einflusses von atDCS auf die GABA-Konzentration mittels 2×2 RM ANOVA erbrachte keine signifikanten Haupteffekte für ZEIT (t0 versus t1) und BEDINGUNG (atDCS versus Sham). Es zeigten sich auch keine gruppenspezifischen Unterschiede in diesem Modell. Bezogen auf die GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-Aktivität ermittelten wir zwar einen Haupteffekt für ZEIT ( $\lambda=0,19$ ,  $F_{(33,33)}=7,93$ ,  $p=0,008$ ), jedoch keinen signifikanten Haupteffekt für die BEDINGUNG (atDCS versus Sham;  $\lambda=0,01$ ,  $F_{(33,33)}=0,24$ ,  $p=0,63$ ) und keine gruppenspezifischen Unterschiede.

In der Patientengruppe zeigte sich ein Zusammenhang zwischen der Anzahl der leichten SHT und der Baseline(t0)-GABA-Konzentration ( $r=0,57$ ,  $p=0,016$  [unkorrigiert]), welcher auch nach Bonferroni Korrektur (Anzahl der Vergleiche=3, critical  $p=0,0167$ ) bestehen blieb. Keine Zusammenhänge ließen sich für Baseline(t0)-GABA-Konzentration und die postkonkussionalen Symptome, Zeitspanne seit dem letzten SHT, der verbalen Flüssigkeit, sowie zwischen der GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-Aktivität und diesen Charakteristika nachweisen.

## 5 Diskussion

### *Studie 1*

Im Rahmen dieser Studie haben wir ein Open-Source-Programm zur Auswertung von CSP-Daten entwickelt und kostenlos online zur Verfügung gestellt (<https://github.com/wilkesk/cSPider>), welches von uns validiert wurde und nachweisbar schnell und reliabel CSP verschiedener TMS-Intensitäten verschiedener Patientengruppen detektiert. Hierfür wurden die CSP-Daten von 91 Studienteilnehmern genutzt. Die CSP gibt Aufschluss über die GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-Aktivität und kortikale Erregbarkeit in M1 und ist ein in der Forschung weit verbreitetes TMS-Protokoll<sup>20,69</sup>. Die CSP eignet sich zudem zur Messung und Erforschung zugrundeliegender Mechanismen von tDCS-induzierten

Veränderungen in der corticomotorischen Erregbarkeit<sup>24</sup>, eine Annahme, welche für *Studie 3* genutzt wurde.

Bei *cSPider* handelt es sich nicht um die einzige automatisierte Methode, die zur Detektion von CSP entwickelt wurde<sup>37,76</sup>. In Anlehnung an die meisten dieser Methoden basiert *cSPider* auf der Verarbeitung der Pre-TMS-EMG-Aktivität zur Bestimmung einer Grenze zur Detektion des CSP-Onsets bzw. MEP-Onsets<sup>37</sup>, was sich bereits als reliables Vorgehen erwiesen hat. Bei *cSPider* und den meisten anderen Programmen handelt es sich um ein Offline-Programm. D.h. die CSP-Daten werden erhoben, gespeichert, um im Nachhinein mithilfe von Programmen ausgewertet zu werden. Julkunen und Kollegen (2014) haben ein Programm entwickelt, dass bereits bei der Datenerhebung also „online“ zur Detektion der CSP benutzt werden kann. Zudem basiert ihr Vorgehen nicht auf der Verarbeitung von EMG-Aktivitäten, sondern wertet Datenpunkt für Datenpunkt aus, um den CSP-On- und -Offset zu finden, was laut Autoren weniger anfällig für Messungenauigkeiten wäre. Diese Methode konnte bisher die höchsten Reliabilitätskoeffizienten vorweisen. Im Gegensatz zu *cSPider* wird das Programm von Julkunen und Kollegen (2014) jedoch nicht open-source zur Verfügungen gestellt. In Anlehnung an das „Bazaar Modell“ wollten wir mit *cSPider* und dem kostenfreien Bereitstellen unseres Source Codes einen Austausch mit anderen Forschungsgruppen befördern, so dass Schwächen im Programm von Experten entdeckt werden können und über die Zeit das Programm so verbessert werden kann.

### *Studie 2*

Im Rahmen dieser multimodalen Querschnittsstudie konnten anhand einer moderat großen Stichprobe von 17 jungen, sowie 17 älteren Patienten nach wiederholten leichten SHT im Vergleich zu den gematchten gesunden Kontrollprobanden leichte kognitive Verschlechterungen in der verbalen Flüssigkeit bei den jüngeren, jedoch nicht bei den älteren Patienten nachgewiesen werden. Zudem wurden Volumenreduktionen im Precuneus und dem medialen OFC bei den jungen und älteren Patienten nach wiederholten leichten SHT im Vergleich zu den Kontrollen sichtbar. Eine signifikante Interaktion von Alter und Gruppe im Volumen des rechten Hippocampus deutet zudem auf eine verstärkte Volumenreduktion bei älteren Patienten nach wiederholten leichten SHT im Vergleich zu jüngeren Patienten hin.

Kognitive Beeinträchtigungen in der akuten und chronischen Phase nach leichten SHT wurden bereits gut dokumentiert - auch im Hinblick auf schlechtere Leistungen in der verbalen Flüssigkeit<sup>49</sup>. Im Zusammenhang mit kognitiven Defizite nach einem leichten SHT werden strukturelle und funktionelle Defizite wie eine reduzierte Kortexdicke im rechten Temporallappen und der linken Insula<sup>50</sup>, verminderte zelluläre Integrität im Corpus

Callosum<sup>51</sup>, Cingulum<sup>52</sup> und Fornix<sup>53</sup>, sowie Defizite in der funktionalen Konnektivität<sup>16</sup> vermutet. In *Studie 1* konnten wir zwar schlechtere Leistungen in der verbalen Flüssigkeit nachweisen, jedoch nur für die jüngere Kohorte. Ein Grund dafür könnte die Diskrepanz in der Zeit seit dem letzten leichten SHT darstellen (*junge Patienten mit wiederholten leichten SHT*:  $13,3 \pm 14,8$  Monate (Mittelwert  $\pm$  SD); *ältere Patienten mit wiederholten leichten SHT*:  $427,8 \pm 186,0$  Monate (Mittelwert  $\pm$  SD)), was wiederum ein Hinweis auf einen verminderten Einfluss leichter SHT mit zunehmender Rekonvaleszenz sein könnte. Untermuert wird diese Hypothese durch Studien, die zwar Gruppenunterschiede in der akuten und subakuten Phase nach wiederholten leichten SHT berichten<sup>49</sup>, jedoch nicht in der chronischen Phase<sup>54</sup>.

Bei Unfällen oder Verletzungen können sich Akzelerationskräfte, d.h. Kräfte der Beschleunigung und Verzögerung, derart auf das Gehirn auswirken<sup>55</sup>, dass es zu dauerhaften Volumenreduktionen regional bis hin zum gesamten Gehirn kommen kann<sup>56</sup>. Bereits Tage und Monate nach einem SHT ließen sich in Studien Volumenveränderungen im Precuneus<sup>57</sup> und eine Assoziation mit Gedächtnisdefiziten nachweisen<sup>58</sup>. Diese Berichte bezogen sich jedoch auf schwere traumatische Ereignisse<sup>57</sup> und auf leichte SHT in der akuten und subakuten Phase<sup>58</sup> und nicht auf wiederholte leichte SHT in der chronischen Phase. Volumenreduktionen im OFC konnten bereits mit erhöhten Depressionswerten und verringerter kognitiver Performanz in Verbindung gebracht werden, jedoch nach SHT unterschiedlicher Schwere<sup>59</sup> und bisher nicht nach wiederholten leichten SHT in der chronischen Phase<sup>60</sup>. Dies könnte ein Hinweis auf einen verminderten Effekt von wiederholten leichten SHT mit zunehmender Rekonvaleszenz sein. In *Studie 2* wurden kleine aber signifikante gruppenspezifische Volumenunterschiede im rechten Precuneus und linken medialen OFC ersichtlich. Der Precuneus als weit vernetzte Struktur spielt eine zentrale Rolle bei Exekutiv- und Arbeitsgedächtnisfunktionen<sup>61</sup>. Darüberhinaus konnte in *Studie 2* eine verstärkte hippocampale Volumenreduktion bei älteren Patienten mit wiederholten leichten SHT im Vergleich zu jüngeren Patienten beobachtet werden. Eine solche Interaktion wurde bereits von Monti und Kollegen (2013) bei jungen und mittelalten Probanden berichtet. Bei dem Hippocampus handelt es sich um eine Schlüsselregion für Gedächtnisfunktionen. Hippocampale Volumenreduktionen wurden bereits im Zusammenhang mit verschiedenen pathologischen Krankheitszuständen wie Depressionen<sup>62</sup>, MCI und AD berichtet<sup>63</sup>.

### *Studie 3*

In dieser Interventionsstudie konnte anhand einer Patientengruppe bestehend aus 17 Teilnehmern und 22 gematchten Kontrollprobanden gezeigt werden, dass junge Patienten nach wiederholten leichten SHT leichte kognitive Defizite wie bereits für *Studie 2* berichtet in

der verbalen Flüssigkeit aufweisen. Weiter gab es Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen erhöhter GABA-Konzentration im linken M1 und einer höheren Anzahl von leichten SHT. Keine gruppenspezifischen Unterschiede konnten hingegen in der GABA-Konzentration und GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-Aktivität nachgewiesen werden. Zudem zeigten sich keine signifikanten atDCS-induzierten Veränderungen in der GABA-Konzentration und GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-Aktivität in beiden Probandengruppen. Wie bereits bei *Studie 2* diskutiert sind kognitive Veränderungen nach wiederholten leichten SHT bereits gut dokumentiert<sup>49</sup> und konnten mit strukturellen und funktionellen Veränderungen in Zusammenhang gebracht werden. Im Alter könnten diese Veränderungen zu einer reduzierten kognitiven Reserve und somit höheren Wahrscheinlichkeit für einen früheren Beginn von AD führen<sup>64</sup>. Reduzierte Neuroplastizität steht hier im Verdacht grundlegend an diesem Zusammenhang beteiligt zu sein. Eine reduzierte Fähigkeit zur Langzeitpotenzierung (engl. long-term potentiation, LTP)-ähnlichen kortikalen Plastizität konnte in Patienten nach wiederholten leichten SHT nachgewiesen werden, was vermutlich auf eine chronisch erhöhte GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-Aktivität zurückzuführen ist<sup>65</sup>. Studien zum Einfluss von wiederholten leichten SHT auf die GABA-Konzentration sind rar, so dass Hinweise auf eine erhöhte GABA-Synthese nach leichten SHT bisher vor allem aus Experimenten an Ratten stammen<sup>66</sup>.

Ähnlich wie bei Tremblay und Kollegen (2014) konnten in unserer Studie nur subtile Veränderungen in der GABA-Konzentration (Baseline/t0) in den explorativen Analysen nachgewiesen werden<sup>20</sup>. Auch bezogen auf die GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-Aktivität konnten keine signifikanten gruppenspezifischen Unterschiede festgestellt werden, was von Kollegen bestätigt werden konnte<sup>67,68</sup>. Wiederum andere Studien zeigten verkürzte<sup>69</sup> oder verlängerte CSP<sup>22</sup> und somit Hinweise auf Veränderungen in der GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-Aktivität nach wiederholten leichten SHT. Diese heterogene Datenlage könnte auf Unterschiede in den Stichprobenmerkmalen zwischen den Studien wie das Alter, praktizierte Sportarten, die Anzahl der leichten SHT, Art der Verletzung und Symptomschwere zurückgehen.

Neben Berichten zum Zusammenhang zwischen atDCS und reduzierter GABA-Konzentration und verringerter GABA<sub>B</sub>-Rezeptor-Aktivität in M1 in gesunden Probanden aus früheren Studien<sup>70,71</sup> gab es wie auch in unserer Studie Negativberichte, die einen solchen Einfluss nicht bestätigen konnten<sup>72</sup>. Eine maßgebliche Rolle scheinen hierbei inter- und intraindividuellen Unterschiede in der Ansprechbarkeit durch tDCS zu spielen<sup>73</sup>. Da gemessen an einer Studie von Stagg und Kollegen (2009)<sup>71</sup> fast doppelt so viele Probanden in die *Studie 3* eingeschlossen wurden, um atDCS-induzierte Veränderungen in der GABA-Konzentration nachzuweisen, kann nicht von einer Unterpowerung ausgegangen werden. Ein

wesentlicher Unterschied zu den Studien von Stagg et al. (2009) liegt in der Methode zur Erhebung der GABA-Konzentration. Während Stagg et al. (2009) die sogenannte MEGA-PRESS-Methode (Mescher Garwood-Point RESolved Spectroscopy) benutzten, führten wir die SPECIAL-Sequenz durch. Beide Methoden sind etabliert und reliabel, um konsistente Ergebnisse zu erzielen<sup>74</sup>. Weitere Unterschiede zeigten sich im Studienaufbau. So wurde in unserer *Studie 3* mit 20 min doppelt so lang stimuliert wie bei Stagg et al. (2009), was in vielen rehabilitativen Studien nachweisbar zur Verbesserung der motorischen Leistung und somit zu Veränderungen in der GABA-Konzentration geführt hat<sup>38</sup>. Zudem wurde in *Studie 3* eine größere Referenzelektrode genutzt als bei Stagg et al. (2009). Bei unserem beschriebenen Versuchsaufbau (*Studie 3*) handelt es sich um ein weithin genutztes Verfahren, um mittels anodaler Stimulation die kortikale Erregbarkeit zu erhöhen<sup>75</sup> und GABA-Konzentration zu reduzieren<sup>70</sup>. Es werden weitere Studien benötigt, um diese offenen Fragen zu den Auswirkungen von verschiedenen Stimulationsprotokollen und MRS-Sequenzen zu klären.

### Fazit

Mit *cSPider* haben wir ein reliables, ökologisches Programm zur automatisierten Detektion von CSP entwickelt und es zudem kostenlos im Internet zur Verfügung gestellt, um eine verbesserte Vergleichbarkeit von Daten verschiedener Studien und Arbeitsgruppen anzustoßen. Zusammenfassend konnten die Ergebnisse der *Studien 2 und 3* der vorliegenden Dissertation trotz des multimodalen Ansatzes und den moderat großen Stichproben nur subtile Effekte von leichten SHT in der chronischen Phase auf neuropsychologische und neurophysiologische Parameter aufzeigen. Auch eine erwartete Altersaggravation blieb in den meisten untersuchten Parametern aus. Stichprobenkriterien wie die Anzahl erlittener leichter SHT, Art der Verletzung und die Zeitspanne seit dem letzten SHT könnten dazu beigetragen haben, einen vorhandenen Effekt zu überdecken. Jedoch sollten aufgrund der hohen Inzidenzraten und berichteten Assoziation mit neurodegenerativen Pathologien zukünftige Studien mithilfe von multimodalen Längsschnitt-Designs versuchen den zeitlichen Verlauf des Einflusses von wiederholten leichten SHT zu untersuchen.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Neudecker, M. (2013). Schlaflose Zukunft. Süddeutsche Zeitung [cited 2018 May 1] Available from: <http://www.sueddeutsche.de/sport/gehirnerschuetterung-von-stefan-ustorf-schlaflose-zukunft-1.1618815>.
2. Kramer, J., and Peschke, S. (2012). Der zweite Schlag. Der Spiegel , 108–110.
3. Shively, S., Scher, A.I., Perl, D.P., and Diaz-Arrastia, R. (2012). Dementia resulting from traumatic brain injury. Arch. Neurol. 69, 1245–1251.
4. Plassman, B.L., Havlik, R.J., Steffens, D.C., Helms, M.J., Newman, T.N., Drosdick, D., Phillips, C., Gau, B. a., Welsh-Bohmer, K. a., Burke, J.R., Guralnik, J.M., and Breitner, J.C.S. (2000). Documented head injury in early adulthood and risk of Alzheimer's disease and other dementias. Neurology 55, 1158–1166.

5. Tagliaferri, F., Compagnone, C., Korsic, M., Servadei, F., and Kraus, J. (2006). A systematic review of brain injury epidemiology in Europe. *Acta Neurochir. (Wien)*. 148, 255–68; discussion 268.
6. Konrad, C., Geburek, A.J., Rist, F., Blumenroth, H., Fischer, B., Husstedt, I., Arolt, V., Schiffbauer, H., and Lohmann, H. (2011). Long-term cognitive and emotional consequences of mild traumatic brain injury. *Psychol. Med.* 41, 1197–211.
7. Williams, W.H., Potter, S., and Ryland, H. (2010). Mild traumatic brain injury and postconcussion syndrome: a neuropsychological perspective. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 81, 1116–22.
8. King, N.S., Crawford, S., Wenden, F.J., and Wade, D.T. (1995). The Rivermead Post Concussion Symptoms Questionnaire: a measure of symptoms commonly experienced after head injury and its reliability. *J. Neurol.* 242, 587–592.
9. Collins, M.W., Ph, D., Lovell, M.R., Ph, D., Field, M., and Al, E.T. (2002). Cumulative effects of concussion in high school athletes. *Neurosurgery* 51, 1175–1181.
10. Guskiewicz, K.M., Mccrea, M., Marshall, S.W., Cantu, R.C., Randolph, C., Barr, W., Onate, J.A., and Kelly, J.P. (2003). Cumulative effects associated with recurrent concussion in collegiate football players - the NCAA concussion study. *JAMA* 290, 2549–2555.
11. Guskiewicz, K.M., Marshall, S.W., Bailes, J., Mccrea, M., Cantu, R.C., Randolph, C., and Jordan, B.D. (2005). Association between Recurrent Concussion and Late-Life Cognitive Impairment in Retired Professional Football Players. *Neurosurgery* 57, 719–726.
12. Kraus, M.F., Susmaras, T., Caughlin, B.P., Walker, C.J., Sweeney, J.A., and Little, D.M. (2007). White matter integrity and cognition in chronic traumatic brain injury: a diffusion tensor imaging study. *Brain* 130, 2508–2519.
13. Henry, L.C., Tremblay, J., Tremblay, S., Lee, A., Brun, C., Lepore, N., Théoret, H., Ellemberg, D., and Lassonde, M. (2011). Acute and chronic changes in diffusivity measures after sports concussion. *J. Neurotrauma* 28, 2049–59.
14. Rutgers, D.R., Toulgoat, F., Cazejust, J., Fillard, P., Lasjaunias, P., and Ducreux, D. (2008). White matter abnormalities in mild traumatic brain injury: A diffusion tensor imaging study. *Am. J. Neuroradiol.* 29, 514–519.
15. Geary, E.K., Kraus, M.F., Pliskin, N.H., and Little, D.M. (2010). Verbal learning differences in chronic mild traumatic brain injury. *J. Int. Neuropsychol. Soc.* 16, 506–16.
16. Shumskaya, E., Teuntje, M.J.C., Norris, D.G., and Vos, P.E. (2012). Abnormal whole-brain functional networks in homogeneous acute mild traumatic brain injury. *Neurology* 79, 175–82.
17. Zhou, Y., Milham, M.P., Lui, Y.W., Miles, L., Reaume, J., Sodickson, D.K., Grossman, R.I., and Ge, Y. (2012). Default-mode network disruption in mild traumatic brain injury. *Radiology* 265, 882–92.
18. Monti, J.M., Voss, M.W., Pence, A., McAuley, E., Kramer, A.F., and Cohen, N.J. (2013). History of mild traumatic brain injury is associated with deficits in relational memory, reduced hippocampal volume, and less neural activity later in life. *Front. Aging Neurosci.* 5, 41.
19. Giza, C.C., and Hovda, D.A. (2001). The neurometabolic cascade of concussion. *J. Athl. Train.* 36, 228–235.
20. Tremblay, S., Beaulé, V., Proulx, S., Tremblay, S., Marjańska, M., Doyon, J., Lassonde, M., and Théoret, H. (2014). Multimodal assessment of primary motor cortex integrity following sport concussion in asymptomatic athletes. *Clin. Neurophysiol.* 125, 1371–9.
21. Harris, J.L., Yeh, H.-W., Choi, I.-Y., Lee, P., Berman, N.E., Swerdlow, R.H., Craciunas, S.C., and Brooks, W.M. (2012). Altered neurochemical profile after traumatic brain injury: (1)H-MRS biomarkers of pathological mechanisms. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 32, 2122–34.
22. Tremblay, S., De Beaumont, L., Lassonde, M., and Théoret, H. (2011). Evidence for the specificity of intracortical inhibitory dysfunction in asymptomatic concussed athletes. *J. Neurotrauma* 28, 493–502.
23. Guerriero, R.M., Giza, C.C., and Rotenberg, A. (2015). Glutamate and GABA imbalance following traumatic brain injury. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 15, 27.
24. Tremblay, S., Beaulé, V., Lepage, J.-F., and Théoret, H. (2013). Anodal transcranial direct current stimulation modulates GABAB-related intracortical inhibition in the M1 of healthy individuals. *Neuroreport* 24, 46–50.
25. Petersen, R.C. (2004). Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *J. Intern. Med.* 256, 183–194.
26. Hautzinger, M., Keller, F., and Kühner, C. (2006). Beck Depression Inventar II (BDI 2). Frankfurt Harcourt Test Serv. .
27. Belanger, H.G., and Vanderploeg, R.D. (2005). The neuropsychological impact of sports-related concussion: a meta-analysis. *J. Int. Neuropsychol. Soc.* 11, 345–357.
28. Helmstaedter, C., Lendt, M., and Lux, S. (2001). Verbaler Lern- und Merkfähigkeitstest (VLMT). Göttingen: Beltz .
29. Reitan, R.M. (1958). Validity of the Trail Making Test as an indicator of organic brain damage. *Percept. Mot. Skills* 8, 271–276.
30. Aschenbrenner, S., Tucha, O., and Lange, K. (2000). Regensburger Wortflüssigkeits-Test, Handanweisung [Manual for the Regensburger Word Fluency Test]. Hogrefe Verlag für Psychol.

- Göttingen .
31. Shin, M.-S., Park, S.-Y., Park, S.-R., Seol, S.-H., and Kwon, J.-S. (2006). Clinical and empirical applications of the Rey-Osterrieth Complex Figure Test. *Nat. Protoc.* 1, 892–899.
  32. Härting, C., Markowitsch, H., Neufeld, H., Calabrese, P., Deisinger, K., and Kessler, J. (2000). Wechsler Gedächtnistest – Revidierte Fassung WMS-R, Deutsche Adaptation (Manual for the Wechsler Memory Scale – Revised, German adaptation). Verlag Hans Huber Bern .
  33. Rossini, P.M., Barker, A.T., Berardelli, A., Caramia, M.D., Caruso, G., Cracco, R.Q., Dimitrijevic, M.R., Hallett, M., Katayama, Y., Lücking, C.H., Maertens De Noordhout, A L Marsden, C.D., London, N.M.F.M., Rothwell, J.C., Swash, M., and Tomberg, C. (1994). Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain , spinal cord and roots: basic principles and procedures for routine clinical application. Report of an IFCN committee. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 91, 79–92.
  34. Siebner, H.R., and Ziemann, U. (2007). *Das TMS-Buch - Handbuch der transkraniellen Magnetstimulation.* Heidelberg, 652 p.
  35. Wilke, S., Groenveld, D., Grittner, U., List, J., and Flöel, A. (2016). cSPider - Evaluation of a free and open-source automated tool to analyze corticomotor silent period. *PLoS One* 11.
  36. van Kuijk, A.A., Bakker, C.D., Hendriks, J.C., Geurts, A.C., Stegeman, D.F., and Pasman, J.W. (2014). Definition dependent properties of the cortical silent period in upper-extremity muscles, a methodological study. *J. Neuroeng. Rehabil.* 11, 1–9.
  37. Daskalakis, Z.J., Molnar, G.F., Christensen, B.K., Sailer, A., Fitzgerald, P.B., and Chen, R. (2003). An automated method to determine the transcranial magnetic stimulation-induced contralateral silent period. *Clin. Neurophysiol.* 114, 938–944.
  38. Meinzer, M., Lindenberg, R., Antonenko, D., Flaisch, T., and Flöel, A. (2013). Anodal transcranial direct current stimulation temporarily reverses age-associated cognitive decline and functional brain activity changes. *J. Neurosci.* 33, 12470–8.
  39. Lindenberg, R., Nachtigall, L., Meinzer, M., Sieg, M.M., and Floel, A. (2013). Differential Effects of Dual and Unihemispheric Motor Cortex Stimulation in Older Adults. *J. Neurosci.* 33, 9176–9183.
  40. Ashburner, J. (2007). A fast diffeomorphic image registration algorithm. *Neuroimage* 38, 95–113.
  41. Winkler, A.M., Ridgway, G.R., Webster, M.A., Smith, S.M., and Nichols, T.E. (2014). Permutation inference for the general linear model. *Neuroimage* 92, 381–397.
  42. Smith, S.M., and Nichols, T.E. (2009). Threshold-free cluster enhancement: Addressing problems of smoothing, threshold dependence and localisation in cluster inference. *Neuroimage* 44, 83–98.
  43. Antonenko, D., Külzow, N., Cesarz, M.E., Schindler, K., Grittner, U., and Flöel, A. (2016). Hippocampal pathway plasticity is associated with the ability to form novel memories in older adults. *Front. Aging Neurosci.* 8, 1–8.
  44. Panenka, W.J., Lange, R.T., Bouix, S., Shewchuk, J.R., Manraj, K., Heran, S., Brubacher, J.R., Eckbo, R., Shenton, M.E., and Iverson, G.L. (2015). Neuropsychological outcome and diffusion tensor imaging in complicated versus uncomplicated mild traumatic brain injury. *PLoS One* , 1–27.
  45. Chao-Gan, Y., and Yu-Feng, Z. (2010). DPARSF: a MATLAB toolbox for “pipeline” data analysis of resting-state fMRI. *Front. Syst. Neurosci.* 4, 1–7.
  46. Mekle, R., Mlynárik, V., Gambarota, G., Hergt, M., Krueger, G., and Gruetter, R. (2009). MR spectroscopy of the human brain with enhanced signal intensity at ultrashort echo times on a clinical platform at 3T and 7T. *Magn. Reson. Med.* 61, 1279–85.
  47. Shrout, P.E., and Fleiss, J.L. (1979). Intraclass Correlations: Uses in Assessing Rater Reliability. *Psychol. Bull.* 86, 420–428.
  48. Bland, J.M., and Altman, D.G. (1999). Measuring agreement in method comparison studies. *Stat. Methods Med. Res.* 8, 135–160.
  49. McCauley, S.R., Wilde, E. a, Barnes, A., Hanten, G., Hunter, J. V, Levin, H.S., and Smith, D.H. (2014). Patterns of early emotional and neuropsychological sequelae after mild traumatic brain injury. *J. Neurotrauma* 31, 914–25.
  50. List, J., Ott, S., Bukowski, M., Lindenberg, R., and Flöel, A. (2015). Cognitive function and brain structure after recurrent mild traumatic brain injuries in young-to-middle-aged adults. *Frontiers (Boulder)*. 9.
  51. Keightley, M.L., Sinopoli, K.J., Davis, K.D., Mikulis, D.J., Wennberg, R., Tartaglia, M.C., Chen, J.-K., and Tator, C.H. (2014). Is there evidence for neurodegenerative change following traumatic brain injury in children and youth? A scoping review. *Front. Hum. Neurosci.* 8, 139.
  52. Wada, T., Asano, Y., and Shinoda, J. (2012). Decreased fractional anisotropy evaluated using tract-based spatial statistics and correlated with cognitive dysfunction in patients with mild traumatic brain injury in the chronic stage. *Am. J. Neuroradiol.* 33, 2117–2122.
  53. Kinnunen, K.M., Greenwood, R., Powell, J.H., Leech, R., Hawkins, P.C., Bonnelle, V., Patel, M.C., Counsell, S.J., and Sharp, D.J. (2010). White matter damage and cognitive impairment after traumatic brain injury. *Brain* 134, 449–463.
  54. Vanderploeg, R.D., Curtis, G., and Belanger, H.G. (2005). Long-term neuropsychological outcomes

- following mild traumatic brain injury. *J. Int. Neuropsychol. Soc.* 11, 228–236.
55. Mckee, A.C., and Daneshvar, D.H. (2015). The neuropathology of traumatic brain injury., in: *Handbook of Clinical Neurology*, 1st ed. Elsevier B.V., pps. 45–66.
  56. MacKenzie, J.D., Siddiqi, F., Babb, J.S., Bagley, L.J., Mannon, L.J., Sinson, G.P., and Grossman, R.I. (2002). Brain atrophy in mild or moderate traumatic brain injury: a longitudinal quantitative analysis. *AJNR. Am. J. Neuroradiol.* 23, 1509–1515.
  57. Palacios, E.M., Sala-Llonch, R., Junque, C., Fernandez-Espejo, D., Roig, T., Tormos, J.M., Bargallo, N., and Vendrell, P. (2013). Long-term declarative memory deficits in diffuse TBI: Correlations with cortical thickness, white matter integrity and hippocampal volume. *Cortex* 49, 646–657.
  58. Wang, X., Xie, H., Cotton, A.S., Tamburrino, M.B., Brickman, K.R., Lewis, T.J., Mclean, S.A., and Liberzon, I. (2015). Early cortical thickness change after mild traumatic brain injury following motor vehicle collision. *J. Neurotrauma* 32, 455–463.
  59. Hudak, A., Warner, M., Marquez de la Plata, C., Moore, C., Harper, C., and Diaz-Arrastia, R. (2011). Brain morphometry changes and depressive symptoms after traumatic brain injury. *Psychiatry Res. - Neuroimaging* 191, 160–165.
  60. Ling, J.M., Klimaj, S., Toulouse, T., and Mayer, A.R. (2013). A prospective study of gray matter abnormalities in mild traumatic brain injury. *Neurology* 81, 2121–7.
  61. Wilke, S., Prehn, K., Taud, B., List, J., and Flöel, A. (2018). Multimodal assessment of recurrent mTBI across the lifespan. *J. Clin. Med.* 7.
  62. Hickie, I., Naismith, S., Ward, P.B., Turner, K., Scott, E., Mitchell, P., Wilhelm, K., and Parker, G. (2005). Reduced hippocampal volumes and memory loss in patients with early- and late-onset depression. *Br. J. Psychiatry* 186, 197–202.
  63. Schuff, N., Woerner, N., Boreta, L., Kornfield, T., Shaw, L.M., Trojanowski, J.Q., Thompson, P.M., Jack, C.R., and Weiner, M.W. (2009). MRI of hippocampal volume loss in early Alzheimer’s disease in relation to ApoE genotype and biomarkers. *Brain* 132, 1067–1077.
  64. Moretti, L., Cristofori, I., Weaver, S.M., Chau, A., Portelli, J.N., and Grafman, J. (2012). Cognitive decline in older adults with a history of traumatic brain injury. *Lancet Neurol.* 11, 1103–12.
  65. De Beaumont, L., Tremblay, S., Poirier, J., Lassonde, M., and Théoret, H. (2012). Altered bidirectional plasticity and reduced implicit motor learning in concussed athletes. *Cereb. Cortex* 22, 112–21.
  66. Kobori, N., and Dash, P.K. (2006). Reversal of brain injury-induced prefrontal glutamic acid decarboxylase expression and working memory deficits by D1 receptor antagonism. *J. Neurosci.* 26, 4236–46.
  67. Chistyakov, a V, Soustiel, J.F., Hafner, H., Trubnik, M., Levy, G., and Feinsod, M. (2001). Excitatory and inhibitory corticospinal responses to transcranial magnetic stimulation in patients with minor to moderate head injury. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 70, 580–7.
  68. Powers, K.C., Cinelli, M.E., and Kalmar, J.M. (2014). Cortical hypoexcitability persists beyond the symptomatic phase of a concussion. *Brain Inj.* 28, 465–71.
  69. Pearce, A.J., Hoy, K., and Rogers, M. (2014). The long-term effects of sports concussion on retired Australian football players: A study using Transcranial Magnetic Stimulation. *J. Neurotrauma* 31, 1–35.
  70. Bachtiar, V., Near, J., Johansen-berg, H., Stagg, C.J., and Stagg, C.J. (2015). Modulation of GABA and resting state functional connectivity by transcranial direct current stimulation. *Elife* 4.
  71. Stagg, C.J., Best, J.G., Stephenson, M.C., O’Shea, J., Wylezinska, M., Kincses, Z.T., Morris, P.G., Matthews, P.M., and Johansen-Berg, H. (2009). Polarity-sensitive modulation of cortical neurotransmitters by transcranial stimulation. *J. Neurosci.* 29, 5202–5206.
  72. Suzuki, K., Fujiwara, T., Tanaka, N., Tsuji, T., Masakado, Y., Hase, K., Kimura, A., and Liu, M. (2012). Comparison of the after-effects of transcranial direct current stimulation over the motor cortex in patients with stroke and healthy volunteers. *Int. J. Neurosci.* 122, 675–81.
  73. Wiethoff, S., Hamada, M., and Rothwell, J.C. (2014). Variability in response to transcranial direct current stimulation of the motor cortex. *Brain Stimul.* 7, 468–75.
  74. Near, J., Andersson, J., Maron, E., Mekle, R., Gruetter, R., Cowen, P., and Jezard, P. (2013). Unedited in vivo detection and quantification of  $\gamma$ -aminobutyric acid in the occipital cortex using short-TE MRS at 3 T. *NMR Biomed.* 26, 1353–62.
  75. Batsikadze, G., Moliadze, V., Paulus, W., Kuo, M.-F., and Nitsche, M.A. (2013). Partially non-linear stimulation intensity-dependent effects of direct current stimulation on motor cortex excitability in humans. *J. Physiol.* 591, 1987–2000.
  76. Julkunen, P., Kallioniemi, E., Könönen, M., and Säisänen, L. (2013). Feasibility of automated analysis and inter-examiner variability of cortical silent period induced by transcranial magnetic stimulation. *J. Neurosci. Methods* 217, 75–81.

## **Eidesstattliche Versicherung**

„Ich, Skadi Wilke, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Neurophysiologische Veränderungen nach wiederholten Schädelhirntraumata“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE - [www.icmje.org](http://www.icmje.org)) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an den ausgewählten Publikationen entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

02.11.2018

Datum

---

Unterschrift

## Anteilserklärung

Skadi Wilke hatte folgende Anteile an den Publikationen:

**Publikation 1: Skadi Wilke\***, Dennis Groenveld\*, Ulrike Grittner, Jonathan List, Agnes Flöel. 2016. cSPider - Evaluation of a free and open-source automated tool to analyze corticomotor silent period. PLoS One 11.

**Beitrag im Einzelnen:** Studienkoordination\*\*, Unterstützung der Teilnehmerrekrutierung, Unterstützung bei der Erhebung der Primärdaten (TMS), Anleitung von Studenten bei der unterstützenden Datenerhebung\*\*, Analyse der Daten mit Unterstützung von Ulrike Grittner, Erstellung der Abbildungen 1, 5, 6 und 7 und der Tabellen 1, 2 und 3\*\*, Verfassung und Revision des Manuskripts unterstützt von Agnes Flöel

**Publikation 2: Skadi Wilke**, Kristin Prehn, Benedikt Taud, Jonathan List, Agnes Flöel. Multimodal assessment of recurrent mTBI across the lifespan. J Clin Med 2018;7.

**Beitrag im Einzelnen:** Studienkoordination\*\*, Teilnehmerrekrutierung\*\*, Erhebung der Primärdaten (Durchführung der neuropsychologischen Testbatterie\*\* und MRT-Scans\*\*), Analyse\*\* der neuropsychologischen und DTI-Daten, Erstellung der Abbildungen 1 und 2\*\* und der Tabellen 1, 2, 3 und 4\*\*, Verfassung und Revision des Manuskripts unterstützt von Agnes Flöel

**Publikation 3: Skadi Wilke\***, Jonathan List\*, Ralf Mекle, Robert Lindenberg, Martin Bukowski, Stefanie Ott, Florian Schubert, Bernd Ittermann, Agnes Flöel. 2017. No effect of anodal transcranial direct current stimulation on gamma-aminobutyric acid levels in patients with recurrent mild traumatic brain injury. J. Neurotrauma 33, 1–10.

**Beitrag im Einzelnen:** Aufbereitung\*\* und Analyse\*\* der neuropsychologischen, TMS- und MRS-Daten, Erstellung der Abbildungen 1, 3 und 4\*\* und der Tabellen 1, 2, 3 und 4\*\*, Verfassung und Revision des Manuskripts unterstützt von Jonathan List und Agnes Flöel

**\*geteilte Erstautorenschaft; \*\* eigenständige Leistung**

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers/der betreuenden Hochschullehrerin

---

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

---

## **Ausgewählte Publikationen**

**Publikation 1: Skadi Wilke\***, Dennis Groenveld\*, Ulrike Grittner, Jonathan List, Agnes Flöel. 2016. cSPider - Evaluation of a free and open-source automated tool to analyze corticomotor silent period. PLoS One 11.

Impact Factor: 3.54 (2015)

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156066>

**Publikation 2: Skadi Wilke, Kristin Prehn, Benedikt Taud, Jonathan List, Agnes Flöel.**  
Multimodal assessment of recurrent mTBI across the lifespan. J Clin Med 2018;7.

Impact Factor: 1.10 (2015)

<https://doi.org/10.3390/jcm7050095>

**Publikation 3: Skadi Wilke\***, Jonathan List\*, Ralf Mекle, Robert Lindenberg, Martin Bukowski, Stefanie Ott, Florian Schubert, Bernd Ittermann, Agnes Flöel. 2017. No effect of anodal transcranial direct current stimulation on gamma-aminobutyric acid levels in patients with recurrent mild traumatic brain injury. *J. Neurotrauma* 33, 1–10.

Impact Factor: 4.45 (2015)

<https://doi.org/10.1089/neu.2016.4399>

## **Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

## **Komplette Publikationsliste**

### **Originalartikel:**

**Wilke S\***, Groenveld D\*, Grittner U, List J, Flöel A. 2016. cSPider - Evaluation of a free and open-source automated tool to analyze corticomotor silent period. PLoS One 11.

**Wilke S**, Prehn K, Taud B, List J, Flöel A. Multimodal assessment of recurrent mTBI across the lifespan. J Clin Med 2018;7.

**Wilke S\***, List J\*, Mекle R, Lindenberg R, Bukowski M, Ott S, Schubert F, Ittermann B, Flöel A. 2017. No effect of anodal transcranial direct current stimulation on gamma-aminobutyric acid levels in patients with recurrent mild traumatic brain injury. J. Neurotrauma 33, 1–10.

### **Konferenzbeiträge:**

**Wilke S**, List J, Mекle R, Lindenberg R, Bukowski M, Ott S, et al. EP 138. Impact of recurrent mild traumatic brain injury on GABA concentration and GABAB receptor activity. Poster auf der 60. Jahrestagung der „Deutschen Gesellschaft für klinische Neurophysiologie und funktionelle Bildgebung – DGKN“ 2016 in Düsseldorf.

## **Danksagung**

Ein besonderer Dank gilt Prof. Agnes Flöel und Dr. Jonathan List für die Möglichkeit in ihrer Arbeitsgruppe promovieren zu dürfen, für die engagierte und pragmatische Betreuung und Unterstützung an den Publikationen. Auch möchte ich unseren StudienteilnehmerInnen danken, ohne die solche Dissertationsarbeiten nicht möglich wären. Zudem gilt ein Dank unserem Kooperationspartner von der Physikalisch Technische Bundesanstalt Berlin, der uns mit Rat und Tat zur Seite gestanden hat. Meinen wundervollen Kollegen möchte ich danken, dass sie auch in stressigen Phasen das Launebarometer immer so hoch gehalten haben. Ebenso gilt meinen Freunden und meinen Eltern ein besonderer Dank vor allem für ihre moralische Unterstützung. Und zu guter Letzt möchte ich mich bei meinem wundervollen und geduldigen Ehemann Mario Kaiser bedanken, der mir immer wieder Mut, Kraft und Hartnäckigkeit zugesprochen hat und dessen Expertise nicht nur in das Korrekturlesen eingeflossen ist.