

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

**DISSERTATION**

**Zerebrale Oxygenierungsänderungen bei Inhibition in einem Modell der  
transkallosalen Inhibition**

**zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)**

**vorgelegt der medizinischen Fakultät  
Charité - Universitätsmedizin Berlin**

**von**

**Clemens Köhncke  
aus Bergisch Gladbach**

Gutachter/in:           1. Priv.-Doz. Dr. med. H. Obrig  
                                  2. Prof. Dr. G. Curio  
                                  3. Priv.-Doz. Dr. med. M. L. Schroeter

Datum der Promotion:    03.09.2010

## INHALT

<b>1</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>5</b>
	1.1 Neuronale Aktivierung und Deaktivierung - Exzitation und Inhibition .....	6
	1.2 Neurovaskuläre und Neurometabolische Kopplung .....	7
	1.3 Exzitation, Deaktivierung und Inhibition im Kontext der indirekten Messmethoden – ein inverses Problem? .....	11
	1.4 Energieverbrauch bei neuronaler Aktivierung .....	15
	1.4.1 Energieverbrauch bei Inhibition .....	16
	1.5 Neuronale Spiking-Rate vs. Synaptische Aktivität .....	17
	1.6 Grundlagen der transkraniellen Magnetstimulation (TMS). Kleine Geschichte der nicht-invasiven Hirnstimulation. ....	18
	1.6.1 TMS und Inhibition .....	20
	1.7 Fragestellung .....	22
<b>2</b>	<b>Methodik/Aufbau</b>	
	2.1 Allgemein .....	23
	2.1.1 Grundlagen der Nahinfrarotspektroskopie (NIRS) .....	23
	2.1.2 NIRS-Imaging-System .....	29
	2.1.3 Signalanteile Kortikal/Extrakortikal .....	30
	2.1.4 Transkranielle Magnetstimulation (TMS) .....	31
	2.1.5 Motorische Rindenfelder .....	32
	2.1.6 Aufbau und funktionelle Organisation des Motorkortex – Efferenzen und Afferenzen .....	32
	2.1.7 Projizierende Fasersysteme des Corpus Callosum .....	34
	2.1.8 EMG .....	35
	2.2 Spezielle Methodik .....	35

---

2.2.1	Versuchsaufbau .....	35
2.2.2	Datenerfassung/Auswertung .....	38
2.2.3	Statistische Analyse der verschiedenen Paradigmen .....	41
3	Ergebnisse	
3.1	Stimulation des Motorkortex .....	42
3.2	TMS ohne Vorinnervation .....	45
3.3	TMS mit Vorinnervation .....	47
3.4	EMG-Kontrolle .....	50
4	Diskussion.....	51
4.1	Änderung der Oxygenierung bei Aktivierung - Direkte Stimulation des Motorkortex als Vergleich .....	53
4.2	Änderung der Oxygenierung bei Inhibition - TMS mit Vorinnervation vs. Ruhekondition .....	54
5	Zusammenfassung.....	61
6	Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen und Einheiten.....	64
7	Verzeichnis der Abbildungen.....	65
8	Literaturverzeichnis .....	66
9	Lebenslauf.....	73
10	Erklärung .....	73
11	Publikationsliste.....	74

## 1 Einleitung

Fortschritte in der Entwicklung der nichtinvasiven bildgebenden Verfahren wie Positronen Emission Tomographie (PET) und funktioneller Magnet Resonanz Tomographie (fMRT) in den vergangenen 30 Jahren ermöglichen heutzutage nicht nur einen Einblick in die Struktur des Gehirns, sondern bieten dem Neurologen und Neurowissenschaftler auch ein wichtiges Werkzeug um die funktionalen neuronalen Grundlagen der menschlichen Wahrnehmung zu untersuchen. Ein prinzipieller Unterschied der methodischen Ansätze ergibt die Einteilung der verwendeten Techniken in direkte und indirekte.

Messmethoden, die elektrische und magnetische Korrelate neuronaler Funktion direkt abbilden, z.B. Elektroencephalographie (EEG) und Magnetencephalographie (MEG) stehen den Verfahren gegenüber, die mit neuronaler Aktivität gekoppelte vaskuläre und metabolische Änderungen registrieren (PET, fMRT, SPECT, NIRS). Diese als ‚Imaging‘ oder ‚metabolisch funktionell‘ bezeichneten Methoden bleiben mit dem Problem der indirekten Repräsentativität behaftet, da sich ihre Messergebnisse nicht direkt auf die zugrunde liegenden neuronalen Ereignisse beziehen lassen, wie dies z.B. in der Einzelzelleableitung im Tiermodell möglich ist.

Auch wenn noch nicht abschließend geklärt ist, wie, wann und wo neuronale Prozesse mit den in den indirekten Messmethoden erfassten Parametern in Wechselwirkung treten, so besteht Einigkeit über die Feststellung, dass es eine Kopplung zwischen neuronaler, vaskulärer und metabolischer Aktivität gibt. Diese wird im Kapitel ‚Neurovaskuläre Kopplung‘ näher erläutert.

Die Nahinfrarot-Spektroskopie (NIRS) gilt als zuverlässige Methode zur Messung der Konzentrationsänderungen von oxygeniertem [oxy-Hb] und desoxygeniertem [deoxy-Hb] Hämoglobin als Parameter der vaskulären Antwort und stellt somit ein interessantes Verfahren zur „Durchleuchtung“ des Untersuchungskomplexes neurovaskuläre (neurometabolische) Kopplung dar. Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung eben dieser Konzentrationsänderungen von oxygeniertem und desoxygeniertem Hämoglobin in einem Modell der neuronalen Inhibition.

## 1.1 Neuronale Aktivierung und Deaktivierung - Exzitation und Inhibition

Das in Einzelzelleitungen darstellbare Aktionspotential (engl. spike potential oder spike) einer neuronalen Effektorzelle ist in der Regel das Resultat einer Summation vieler exzitatorischer postsynaptischer Potentiale (EPSP). Eine Nervenzelle ist mit Tausenden von synaptischen Endigungen, teils exzitatorischer, teils inhibitorischer Natur, besetzt. Hierbei regulieren die unterschiedlichen durch den Transmitter betätigten Kanalproteine den Grad der Aktivierung; ein das Membranpotential hyperpolarisierendes inhibitorisches postsynaptisches Potential (IPSP) wirkt einer Erregung der Zelle entgegen, diese wird inhibiert.

Messungen der elektrischen Aktivität repräsentieren neuronale Aktivierung demnach durch Darstellung der Spiking-Aktivität. So lassen sich zum Beispiel die Potentiale (engl. spiking rate/firing rate) der zerebellären Purkinjezellen als Output-Signal des Kleinhirns darstellen. Eine weitere elektrophysiologische Messgröße ist das Lokale Feldpotential (engl. local field potential, LFP).

Das LFP ist definiert als extrazelluläres EEG-ähnliches Makropotential, das die Summe mehrerer Tausend gemittelter prä-/postsynaptischer Potentiale (synchrone Exzitation) einer Zellpopulation widerspiegelt (Nicholson, 1973; Buzsaki, 2004).

Es lassen sich somit drei Grundmodelle ableiten:

1. Die Exzitation: die Summation vieler postsynaptischer EPSP führt zu einer Ausbildung eines Aktionspotentials (engl. spike).
2. Die Inhibition: IPSP führen zu einer Hyperpolarisation des postsynaptischen Membranpotentials, ein Aktionspotential wird nicht generiert.
3. Die Deaktivierung: Eine verringerte neuronale Aktivierung bzw. eine verminderte Anzahl von Aktionspotentialen entsteht aus einer Reduktion des efferenten exzitatorischen Inputs, ggf. durch entfernte Inhibition. Dies wird im Zusammenhang mit einem Stimulationsparadigma für die vaskulär-basierten bildgebenden Verfahren mit dem Begriff der Deaktivierung belegt.

Im folgenden Kapitel wird nun zunächst der Begriff der neurovaskulären Kopplung eingeführt und anschließend die Problematik der unterschiedlichen Begriffsdefinitionen im Bezug auf die direkten und indirekten Messmethoden erläutert.

## 1.2 Neurovaskuläre (NVK) und neurometabolische Kopplung

Die Kopplung von Neuronaler Aktivität mit den einhergehenden Änderungen des Glucose-Metabolismus, des Blutflusses sowie der Blutoxygenierung ist die Grundlage der eingangs erwähnten indirekten Messmethoden.

Ein Zusammenhang zwischen neuronaler Funktion und vaskulärer Antwort wurde bereits vor über 100 Jahren von Roy und Sherrington (Roy und Sherrington, 1890) vermutet. Zweck und Steuerung dieser Kopplung sind bis heute nicht eindeutig geklärt. Verschiedene zelluläre und mediatorische Mechanismen sind hierbei beteiligt:

Die Allgemeinen an der Gefäßregulation beteiligten Metaboliten  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}^+$  (Lassen, 1968),  $\text{K}^+$  (Kuschinsky et al., 1972; Paulson, Newman, 1987) und Adenosin (Dirnagl et al., 1994) scheinen auch hier eine wichtige Rolle zu spielen, sind allerdings nicht allein für die Reaktion der Blutflussantwort auf eine Stimulation verantwortlich. Astrozytäre Regulationsmechanismen via ‚ $\text{Ca}^{2+}$ -wave‘ und Arachidonsäurederivate scheinen eine zentrale Position bei der neurovaskulären Kopplung einzunehmen (Metea, 2006; Lauritzen, 2005). Stickstoffmonooxyd (NO) als universell vorkommendes Vasodilatans ist ebenfalls im Hinblick auf die NVK untersucht worden. Bei Blockade der NO-Synthase zeigte sich die Blutflussantwort auf Stimulation abgeschwächt, ließ sich aber durch Gabe von NO-Donatoren und cGMP restituieren. Dies lässt auf einen eher modulatorischen Effekt der NO schließen als auf eine neuronale Triggerfunktion (Dirnagl, 1993; Lindauer, 1999; Iadecola, 1994).

(Exogen zugeführtes) Glutamat und evtl. GABA bzw. die Hemmung ihrer Aktivität durch Blockierung von nicht NMDA abhängigen Glutamat-Rezeptoren, nitric oxidase Synthetase (NOS) und Adenosin-Rezeptoren führen zu einem gesteigerten rCBF bzw. hemmen diesen Effekt (Yang, 1999).

Als gesichert gilt, dass es bei einer Zunahme neuronaler Aktivität zu einer lokalen Zunahme des Energieverbrauchs und des lokalen zerebralen Blutflusses kommt (Sokoloff, 1981; Fox und Raichle, 1986).

Es ist evident, dass Nervenzellen für synaptische Aktivität Energie verbrauchen. Transmitterproduktion, deren Ausschüttung und die Aufrechterhaltung bzw. Wiederherstellung synaptischer Potentiale sind hierbei Prozesse, die auf die Zufuhr energiereicher Produkte angewiesen sind.

Unter normalen Konditionen verbraucht das Gehirn Glucose als einzige Energiequelle. Die durchschnittliche Extraktionsfraktion der Glucose aus dem Blut beträgt hierbei 8% (Hawkins *et al.*, 1983). Unter Ruhebedingungen entzieht das Gehirn seinem Blutvolumen etwa 50% des Sauerstoffes mit einem respiratorischen Quotienten von 1. Es scheint daher nahe liegend, dass die regionale Zunahme des cerebralen Blutflusses (rCBF) unter Stimulationsbedingungen neben der Bereitstellung von Glucose auch den für die aerobe Glykolyse notwendigen Mehrbedarf an Sauerstoff decken soll. In einer PET-Studie machten Fox und Raichle 1986 in einer simultanen Messung von Änderungen des regionalen CBF und des Sauerstoffumsatzes eine überraschende Entdeckung: Unter Ruhebedingungen zeigte sich eine gute Korrelation zwischen beiden Größen, bei Stimulation jedoch nahm der regionale Blutfluss um 30% zu, die Sauerstoffextraktion hingegen änderte sich nicht.

Die Autoren bezeichneten dieses Phänomen als lokale Entkopplung (engl. focal uncoupling) – ein Sauerstoff unabhängiger Mechanismus muss für die beobachtete Änderung des fokalen CBF verantwortlich zeichnen. Die Regulation des regionalen CBF könne somit nicht mit dem oxidativen Metabolismus in Zusammenhang stehen.

Da der regionale zerebrale Blutfluss (rCBF) also stärker zunimmt als die Sauerstoffextraktion in dem Areal, kommt es zu einer lokalen Hyperoxygenierung, die mittels optischer Methoden darstellbar ist und sich in einer Zunahme der Konzentration des oxygenierten Hämoglobins [oxy-Hb] und einer Abnahme des desoxygenierten Hämoglobins [deoxy-Hb] widerspiegelt (Malonek und Grinvald, 1996; Obrig *et al.*, 1996; Wenzel *et al.*, 1996).

Verschiedene Modelle versuchen das Phänomen der Hyperoxygenierung zu erklären. Eine Hypothese ist, dass der rCBF-Anstieg primär der Deckung eines gesteigerten Glukosebedarfes bei Aktivierung dient. Hierfür spricht einerseits, dass der Blutfluss proportional dem Glukoseverbrauch ansteigt (Fox, 1988) und außerdem, dass der Glukosemetabolismus mit synaptischer Aktivität gekoppelt ist (Sibson, 1998). Als weitere Ergänzungen zu diesem Modell wurde eine bei Aktivitätsbeginn einsetzende

nicht-oxidative Glycolyse vorgeschlagen, die der oxidativen vorausgehe (Shulman und Rothman, 1998; Sibson, 1998; Magistretti und Pellerin, 1999).

Sibson et al. beobachteten bei Nagetieren, dass der kortikale Glucoseverbrauch gleich der Rate der Glutaminbildung in den Astrozyten ist (Sibson, 1998). Aus der Annahme, dass die gesamte ATP-Produktion der Gliazellen glycolytischer Natur ist und dass das auf diesem Wege anfallende Laktat den Neuronen zur oxydativen Phosphorylierung zur Verfügung gestellt wird, schloss Sibson, dass über 80% der Glucoseoxidation für den oben genannten Weg des Glutamatmetabolismus verwendet werden. Übersehen wurde dabei allerdings, dass 94% des ATP durch oxydative Phosphorylierung in Mitochondrien gewonnen wird, und dass die Hauptaufgabe (und somit der größte Anteil des Energieverbrauches) der Gliazellen nicht das Recycling des Glutamat ist, sondern vielmehr die Aufrechterhaltung des Ruhepotentials im Vordergrund der Zellaktivität zu stehen scheint (Hertz, 1999).

Zur Erklärung der Disproportionalität von Blutflussanstieg und Sauerstoffverbrauch bei gleichzeitiger Proportionalität von Glukoseverbrauch und Blutflussanstieg wurde diese Substrattheorie dennoch herangezogen. Unterstützung fand sie durch Arbeiten, die mittels MR-Spektroskopie einen Anstieg der Laktatkonzentration während der Hirnaktivierung nachwiesen (Shulman 1993). Jedoch ist der Laktatanstieg zu klein und transient (Prichard *et al.*, 1991; Frahm *et al.*, 1996), um dem großen Bedarf an aus nicht-oxidativer Glykolyse gewonnenem ATP gerecht zu werden.

Einen konkurrierenden Lösungsansatz zur Erklärung der Disproportionalität (engl. mismatch) zwischen CBF-Steigerung und Sauerstoffmetabolisierung ( $CMRO_2$ ) lieferte das „oxygen diffusion limitation model“ (Buxton and Frank, 1997; Buxton *et al.*, 1998): Da der rCBF-Anstieg während funktioneller Aktivierung hauptsächlich durch eine erhöhte Blutflussgeschwindigkeit erreicht wird, verringert sich die kapilläre Transitzeit, so dass eine verringerte  $O_2$  – Extraktion aus einer verminderten Diffusionskapazität resultiert. Da im aktivierten Hirnareal keine zusätzliche kapilläre Rekrutierung möglich ist, und der Sauerstoffmetabolismus in Ruhe effizient ist, d.h., dass der Sauerstoff, der in die Mitochondrien gelangt verbraucht wird, schafft die Hyperoxygenierung überhaupt erst einen ausreichend steilen Sauerstoffkonzentrationsgradienten zwischen Blut und Gewebe. Die Zunahme des Blutflusses ist hierbei drei bis zehnmal so hoch wie die tatsächliche  $CMRO_2$ .

So betrachtet ist der größere Anstieg des CBF notwendig, um überhaupt eine gesteigerte O<sub>2</sub> – Aufnahme zu ermöglichen. Es handelt sich dabei also um einen Nachweis für eine enge Kopplung zwischen Metabolismus und Blutfluss und nicht um ein Uncoupling-Phänomen.

Eine lokale Änderung der neuronalen Aktivität wird demnach von einer vaskulären Antwort begleitet, die zeitlich und räumlich eng mit dieser korreliert. Es finden jedoch nicht nur lokale Änderungen des CBF und der Blutoxygenierung statt:

Der gesteigerte Energiebedarf der lokalen Nervenzellen bei Aktivität galt lange Zeit als der auslösende Stimulus für die Änderung des regionalen Blutflusses – wobei die Metabolisierung des Sauerstoffes und der Glucose als Hauptenergiesubstrat eine Art Zwischenfunktion einnimmt. Der lokal gesteigerte Energiebedarf scheint allerdings nicht direkt und ausschließlich die CBF-Steigerung zu erklären, ein Anstieg des Blutflusses wird auch in größerer Umgebung des aktivierten Areals beobachtet (Malonek, 1996; Atwell, 2002), zumal eine Dilatation der pialen, extrazerebralen Arteriolen bei Aktivierung gewährleistet sein muss, da diese den größten Einfluss auf die Regulation des CBF haben (Cox, 1993; Erinjeri, 2002; Ngai, 1998).

Vielmehr führt ein komplexes Zusammenspiel von perivaskulären Neuronen, Endothelzellen, Astrozyten, etc. zu den beobachteten lokalen und globaleren CBF- und Oxygenierungsänderungen (Übersicht siehe Iadecola, 2004).

Zudem sind verschiedene intrinsische neuronale Netzwerke für die globale Kontrolle des CBF beschrieben. So findet eine Vasokonstriktion kleinster Arteriolen über Serotonin, Adrenalin und Noradrenalin freisetzende Neurone statt (Kriemer, 1998; Raichle, 1975; Cohen, 1997). Darüber hinaus existieren cholinerge Regelkreise, deren Axone ihren Ursprung im basalen Frontalhirn haben, eine enge Assoziation mit neokortikalen Arteriolen und Kapillaren aufweisen und diese dilatieren können (Chedotal, 1994; Sato, 1992). Neben den lokalen, räumlich begrenzten Kontrollmöglichkeiten scheint also eine allgemeine Regulation durch dopaminerge Fasern aus dem mesencephalen ventralen Tegmentum, durch noradrenerge Fasern aus dem Areal des Locus coeruleus, serotinerge Fasern des Raphekerns und durch

cholinerge Fasertrakte des basalen Frontalhirns zu erfolgen. Diese Systeme innervieren diffus und könnten so in einem größeren kortikalen Areal den CBF verändern.

Weitere Areale nehmen Einfluss auf die Blutflussantwort: so führt die Aktivierung von Fasern, die den Nucleus fastigus des Kleinhirns passieren, oder von Fasern die ihren Ursprung in der Area C1 der rostralen ventrolateralen Medulla haben zu einem generellen Anstieg des CBF ohne dass Änderungen des Metabolismus registriert werden (Reis, 1997; Iadecola, 1992). Muskarinerge Acetylcholinrezeptoren sowie die Freisetzung von Stickstoffmonoxid (NO) erhöhen in diesem Zusammenhang die Wahrscheinlichkeit einer allgemeinen Änderung des CBF, unabhängig vom lokalen Energiebedarf.

### **1.3 Exzitation, Deaktivierung und Inhibition im Kontext der indirekten Messmethoden – ein inverses Problem?**

Der Begriff ‚Aktivierung‘ ist für bildgebende Methoden, die sich hämodynamischer Messparameter bedienen als fokaler Anstieg des regionalen Blutflusses (rCBF) als Antwort auf einen Stimulus definiert. Analog gilt eine Abnahme des rCBF als ‚Deaktivierung‘.

Der Term ‚Aktivierung‘ wird aber auch generell, unabhängig von der zu Grunde liegenden Methode benutzt und definiert z.B. einen Anstieg der neuronalen Spiking-Rate oder die Negativierung eines lokalen Feldpotentials. Auch die elektrophysiologisch als Summenaktionspotential (SAP/MSAP) darstellbare Exzitation wird synonym als Aktivierung bezeichnet.

Basierend auf der die erhöhte neuronale Aktivität begleitenden Hyperoxygenierung wird nahinfrarotspektroskopisch ‚Aktivierung‘ als Abnahme des [deoxy-Hb] definiert. Diese [deoxy-Hb]-Abnahme korreliert mit einem Anstieg im BOLD-Kontrast des fMRI, wie verschiedene Studien gezeigt haben (Kleinschmidt et al., 1996). Weitere Änderungen im Hämoglobinsystem bei Aktivierung sind eine im Vergleich zur Reduktion des [deoxy-Hb] 2-3 fache Zunahme des [oxy-Hb] sowie ein Anstieg des Gesamt - Hämoglobin [tot-Hb] (Obrig, 2002).

Die Begriffe ‚Deaktivierung‘ und ‚Inhibition‘ sind unter dem Aspekt der zu Grunde liegenden prä- und postsynaptischen Prozesse ebenfalls sorgfältig zu differenzieren: Aus einem verminderten afferenten „input“ mit efferent resultierender verminderter Nervenzellaktivität bei Deaktivierungsprozessen lässt sich unter der Voraussetzung einer neurometabolischen und neurovaskulären Kopplung ein geringerer Energiebedarf der deaktivierten Neuronenpopulation mit ebenfalls vermindertem Blutfluss ableiten; hingegen stellen efferente synaptische Inhibitionsprozesse vermutlich einen energieverbrauchenden Prozess dar, wie autoradiographisch gezeigt werden konnte (Ackermann, 1984; Nudo, 1986). Änderungen des CBF oder der Oxygenierungsantwort wurden bisher nicht in dem Maße untersucht, wie dies für Aktivierungsphänomene geschehen ist. Möglicherweise ergibt sich an dieser Stelle für die indirekte funktionelle Bildgebung ein inverses Problem: Sollten integrative Inhibitionsprozesse ebenfalls mit einer CBF-Steigerung einhergehen, so wäre mit diesen Methoden nicht sicher zu unterscheiden, ob eine bestimmte Region aktiviert oder inhibiert wird, besonders wenn die elektrophysiologischen Korrelate, Spike-Aktivität und LFP als sensitive „Efferenzparameter“ (Lauritzen, 2001) nicht vergleichend bestimmt werden.

So können sich eben synaptische Aktivität und die Frequenz der postsynaptischen Aktionspotentiale unterscheiden: die Stimulation von Parallelfasern des Kleinhirns führt zu einer Aktivierung sowohl von Purkinjezellen als auch von inhibitorischen Interneuronen, welche ihrerseits einen hemmenden Einfluss auf die Purkinjezellen ausüben. Das Resultat dieser Inhibition ist eine Abnahme der spontanen Spiking-Aktivität der Purkinjezellen im neuronalen Netz. Gleichzeitig findet sich allerdings ein Anstieg des CBF, so dass im cerebellären Kortex diese Zunahme des Flusses eine Verarbeitung auf der Ebene der Interneurone und andere elektrophysiologische Prozesse repräsentiert und nicht den neuronalen Output widerspiegelt (Matthiesen, 1998).

Ein ähnliches Ergebnis wurde in einer Studie gezeigt, die den Zusammenhang von elektrophysiologischen Messparametern (Spiking-Aktivität, lokales Feldpotential) und dem BOLD-Signal der fMRI im visuellen Kortex des Affen untersuchte: Hier korrelierte der BOLD-Kontrast am besten mit dem lokalen Feldpotential: Lokale neuronale Integrationsprozesse können zu einem CBF-Anstieg, Änderungen der Blutoxygenierung führen unabhängig davon, ob ein Aktionspotential im Effektor- oder efferenten Neuron, im elektrophysiologischen Sinne also eine Aktivierung, generiert wird (Logothetis, 2001).

Ein positiver BOLD-Kontrast gilt als Marker der neuronalen Aktivierung, in Regionen, in denen ein negativer BOLD-Kontrast imponiert, muss es zu einem Anstieg des lokalen [deoxy-Hb] gekommen sein (Ogawa *et al.* 1993). Shmuel *et al.* untersuchten in einer fMRI-Arbeit am visuellen System des Menschen eben diese Assoziation zwischen einer Reduktion der neuronalen Aktivität und dem BOLD-Kontrast. Eine verminderte neuronale Aktivität führte zu einer („aktiven“) Abnahme des CBF und (geringer ausgeprägt) der CMRO<sub>2</sub>, was sich in einem negativen BOLD-Signal (engl. negative bold response, NBR) widerspiegelt. Zudem ist wahrscheinlich ein CBF-Anstieg in der Umgebung des untersuchten Areal (surround suppression) unabhängig von der lokalen Deaktivierung für den CBF-Abfall („passive reduction“) verantwortlich (Shmuel *et al.*, 2002). Die Autoren weisen in ihrer Arbeit auf die Bedeutung der Ausgangsbedingungen (engl. baseline condition) hin, den Kontext, in dem eine Aktivierung/Deaktivierung stattfindet. Unterschiede im Signal stellen immer eine Differenzbildung zur Kontrollbedingung dar.

Positronen Emissions Tomographische (PET) Arbeiten berichten von einem Abfall des regionalen CBF bei neuronaler Deaktivierung (Dreverts *et al.*, 1995; Paus *et al.*, 1995; Wenzel *et al.*, 1996). Hierbei handelt es sich jedoch um Arbeiten, die z. B. den Einfluss von antizipierter Stimulation auf die CBF-Änderung in den somatosensorischen Kortexarealen, die keine Stimulation zu erwarten hatten, untersuchen (Dreverts *et al.*, 1995). Eine direkte Inhibition eines definierten Kortexareales, wie sie in dem in dieser Arbeit zu Grunde liegenden Paradigma stattfand, erfolgte nicht. Offen blieb zudem die Frage, wie eine Deaktivierung bzw. eine verringerte neuronale Aktivität die Parameter [oxy-Hb] und [deoxy-Hb] beeinflussen. Käme es in einem Areal verminderter neuronaler Aktivität (Deaktivierung) zu einer Herabregulierung des CBF aufgrund verminderten Sauerstoffbedarfes, sollte die Blutoxygenierung konstant bleiben. CBF und Sauerstoffverbrauch nähmen in gleichem Masse ab, so dass auch BOLD – Kontrast basierendes MRI keine Änderung im Signal zeigen sollte. Jedoch ist auch ein reverses Buxton-Modell denkbar: eine unproportionale Abnahme des Blutflusses im Verhältnis zur Sauerstoffversorgung führt zu einer überproportionalen Abnahme der Oxygenierung.

In einer fMRI/NIRS basierten Studie zur Untersuchung von „Saccadic Suppression“ (Bridgeman *et al.*, 1994) konnte dargestellt werden, dass der CBF während verringerter

neuronaler Aktivität stärker reduziert wird, als die Sauerstoffversorgung – was sich in einem Abfall von [oxy-Hb] und einem Anstieg von [deoxy-Hb] ausdrückte und sich somit als gespiegelte Entkopplung im Vergleich zur Hyperämisierung bei lokaler Aktivierung darstellte (Wenzel, 2000).

In einer Computermodellstudie weisen Tagametz et al. daraufhin, dass die enge Korrelation zwischen neuronaler Aktivierung und Metabolismus bzw. CBF, nicht ohne Weiteres für neuronale Deaktivierung und Inhibition angenommen werden kann (Tagametz, 2001). Vielmehr sind die experimentellen Ergebnisse, die die Relation von Inhibition/Deaktivierung - Metabolismus/CBF untersuchen, widersprüchlich. Bei der Interpretation von Messdaten gilt es besonders drei Faktoren zu berücksichtigen, die einen Einfluss auf das vaskuläre Antwortsignal ausüben:

1. Die Art der inhibitorischen Verknüpfung – so verursachen indirekte inhibitorische Verbindungen einen relativ größeren CBF-Anstieg als direkte.

Bei der Untersuchung eines solchen indirekten Pfades via inhibitorischer Interneurone beobachteten Mathiesen et al. bei der simultanen Messung von spike-Aktivität und CBF einen Anstieg des CBF obwohl die exzitatorischen Neurone ein reduziertes Spikenniveau aufwiesen (Mathiesen, 1998).

2. Die Anzahl der exzitatorischen Verknüpfungen stellt eine weitere wichtige Einflussgröße bei der hämodynamisch/metabolischen Bewertung des Inhibitionsverhaltens dar – so würden in einem Areal, welches durch eine hohe interne Verknüpfungszahl imponiert, die CBF-Änderungen hauptsächlich die lokalen internen Prozesse (engl. local cortical circuits) repräsentieren während (inhibitorische) Afferenzen maskiert blieben.

3. Der Kontext (Erregungszustand) in welchem die Inhibition stattfindet. In einem Neuronenverband, der keine Exzitation von anderen Quellen verzeichnet (engl. baseline resting condition), ist eher mit einem Anstieg des CBF/Metabolismus zu rechnen als in einem Kontext, der sich durch einen moderaten bis hohen exzitatorischen Vernetzungsgrad auszeichnet (engl. active task condition).

Gegenstand dieser Promotionsarbeit sind die Unterschiede dieser beiden Erregungszustände (Ruhekondition versus Präaktivierung/Vorinnervation) im Hinblick auf die resultierenden Oxygenierungsänderungen.

#### 1.4 Energieverbrauch bei neuronaler Aktivierung

Auch wenn noch nicht abschließend geklärt ist, wie, wann und wo neuronale Prozesse mit den in den indirekten Messmethoden erfassten Parametern in Wechselwirkung treten, so besteht Einigkeit über die Feststellung, dass es eine Korrelation zwischen neuronaler, vaskulärer und metabolischer Aktivität gibt. Die wichtigste Frage unter neurowissenschaftlichen Gesichtspunkten ist, welche Prozesse im Nervengewebe mit den beobachteten vaskulären und metabolischen Veränderungen korrelieren. Da jenseits der Hypothesen zur Erklärung der fokalen Hyperoxygenierung angenommen werden kann, dass der Blutflussanstieg der Deckung eines gesteigerten Energiebedarfes dient, kommt einer genaueren Aufschlüsselung des Energieverbrauches bei der neuronalen Aktivierung, Inhibition und dem Spezialfall der Deaktivierung eine zentrale Bedeutung zu.

Die seit Mitte der 70er Jahre von Creuzfeldt vertretene Auffassung, dass Aktionspotentiale nur in einem sehr geringen Maße (0,3-3%) zum Energieverbrauch beitragen (Creuzfeldt, 1975), wurde von Jueptner und Weiller dahingehend erweitert, dass sie die synaptische Aktivität, genauer die präsynaptischen Axon-Endigungen, als den wichtigsten Ort der Glukosemetabolisierung ansahen (Jueptner u. Weiller, 1995). Arbeiten, die die Annahme stützen, dass synaptische Aktivität den Hauptenergieverbrauch darstellt, zeigten, dass vor allem die präsynaptischen Elemente der Axonterminale Orte mit hohem Metabolismus sind (Nudo und Masterton, 1986; Schwartz *et al.* 1979). Auch die Korrelation von Kapillardichte und Synapsenzahl spricht für die Hypothese, dass die synaptische Aktivität der größte Energiekonsument ist.

Somit repräsentierte die lokale Änderung der Glucosekonzentration (prä)synaptische Aktivität und nicht die Änderungen der Entladungsraten.

Attwell und Iadecola (2002) schätzen basierend auf vorausgegangenen Berechnungen am Rattenmodell (Attwell und Laughlin, 2001) und der angenommenen circa zehnfach höheren Synapsendichte beim Primaten die Verteilung des Energieverbrauches beim Menschen wie folgt: für Aktionspotentiale wurden 10%, für **postsynaptische** Aktivität (Effekte des Glutamat) bis zu 75% angenommen, der Aufrechterhaltung von

Membranruhepotentialen dienen lediglich 2%, 6% werden für das Glutamat-Recycling des signalbezogenen Energieverbrauches veranschlagt und nur 7% des Energieverbrauches werden den präsynaptischen Terminalen zugeordnet.

Die Autoren folgerten, dass es sich bei den mit indirekten Messmethoden erfassten Änderungen im Energiesignal hauptsächlich um diese postsynaptischen Aktionen des Glutamats sowie die Aktionspotentiale provozierende Ionenströmen handelt.

#### **1.4.1 Energieverbrauch bei Inhibition**

Da der Glucoseverbrauch mit der Aktivität der Oubain sensitiven Na-Pumpe korreliert, gilt diese als Kopplungsmechanismus zwischen neuronaler Aktivität und diesem (Mata, 1980). Aufgrund des dichten Besatzes mit Na-Pumpen im Synapsenbereich wurde angenommen, dass sich sowohl exzitatorische als auch inhibitorische synaptische Aktivität als Signalanstieg im PET/fMRI widerspiegeln könnte. Nudo und Masterson zeigten 1986 in einer 2-Deoxyglucose-PET Studie, dass sowohl Exzitation als auch Inhibition zu einer Zunahme des Glucoseverbrauches führen. Die Glucoseutilisation fand hierbei hauptsächlich präsynaptisch statt (Nudo und Masterton, 1986). Während Nudo an einem monosynaptisch glycinergen inhibitorischen System eine Zunahme des Glucoseverbrauches beobachtete, konnten Bruehl und Witte in einem Epilepsiemodell der Ratte bei verlängerter Hyperpolarisation von Neuronen durch inhibitorische Afferenzen eine Abnahme des Verbrauches zeigen (Bruehl und Witte, 1995). Auch Ackermann gelang 1984 der Nachweis einer gesteigerten Glucoseaufnahme bei der rezidivierenden Inhibition einer hippocampalen Pyramidenzelleneinheit.

Für monosynaptische GABA-erge Neuronenverbände liegen keine Daten vor, allerdings existieren Studien, die nach Gabe des inhibitorisch wirksamen GABA-Agonisten THIP eine Abnahme des Energiemetabolismus im untersuchten Areal feststellen konnten (Kelly, 1982). Ihnen stehen Arbeiten gegenüber, die eine Zunahme verzeichnen (Peyron, 1994).

## 1.5 Neuronale Spiking-Rate vs. Synaptische Aktivität

Neben der Unklarheit bzgl. der Mechanismen der neurovaskulären Kopplung stellt sich außerdem die Frage, welches elektrophysiologische Signal zutreffend mit dem vaskulären korrespondiert.

Messungen der elektrischen Aktivität repräsentieren neuronale Aktivität durch Darstellung der Spiking-Aktivität oder des lokalen Feldpotentials (LFP). Das LFP ist definiert als extrazelluläres EEG-ähnliches Makropotential, das die Summe mehrerer tausend gemittelter prä-/postsynaptischer Potentiale (synchrone Exzitation) einer Zellpopulation widerspiegelt (Nicholson, 1973; Buzsaki, 2004).

Die hämodynamisch basierten Methoden scheinen eher synaptische Aktivität anzuzeigen (Jueptner und Weiler, 1995). Von besonderer Bedeutung ist hier die Arbeit von Logothesis et al. zu nennen, die anhand simultaner Messungen vaskulärer Antworten mittels fMRT und neuronaler Aktivität mittels Mikroelektroden im visuellen Kortex V1 des Makaken zeigten, dass die LFP ein besserer Prädiktor für die vaskuläre Antwort als die Einzelzell- oder Multizellaktivität (engl.: Multi Unit Activity) sind, durch die anhand eines linearen Algorithmus bis zu 90% der Varianz der vaskulären Antwort prädizierbar war (Logothesis, 2001). Diese Ergebnisse suggerieren darüber hinaus, dass der BOLD-Kontrast eher den Input und die intrakortikale Verarbeitung in einem bestimmten Areal als die Output-Funktion einer neuronalen Population (Entladungsrate) widerspiegelt (Logothetis und Wandell, 2004). Diese Daten entsprechen den tierexperimentellen Ergebnissen im Kleinhirnmodell aus der Gruppe von Lauritzen und Mathiesen:

Bei Stimulation des monosynaptisch exzitatorischen Kletterfasersystems des Kleinhirns zeigte sich eine fehlende Proportionalität von CBF-Anstieg und Anzahl der (komplexen) spikes (Lauritzen, 2001), jedoch eine exzellente lineare Korrelation der summierten LFP ( $\Sigma$ FP) mit dem CBF (Mathiesen, 1998).

Im Parallelfasersystem des Kleinhirns ergab sich eine sigmoide Beziehung zwischen  $\Sigma$ FP und CBF: Bei einem niedrigem Niveau neuronaler Aktivität konnte kein detektierbarer Anstieg des CBF registriert werden, es existierte ein Bereich, in dem der

CBF und die postsynaptische Aktivität eine lineare Beziehung aufwiesen und sich diese lineare Korrelation bei verstärkter Aktivierung wieder verliert (Mathiesen, 1998).

Die mit den indirekten Messmethoden registrierten Änderungen der Parameter CBF, BOLD, Oxygenierungsänderungen, etc. stellen die Änderungen der Aktivität des zugrunde liegenden neuronalen Netzwerkes dar. Hierbei können alle prä- und postsynaptischen Prozesse signalgebend sein, die neuronale Spiking-Rate, Ausdruck der efferenten Funktion scheint nicht maßgeblich zur Änderung des Blutflusses (und somit zur Signaländerung) beizutragen.

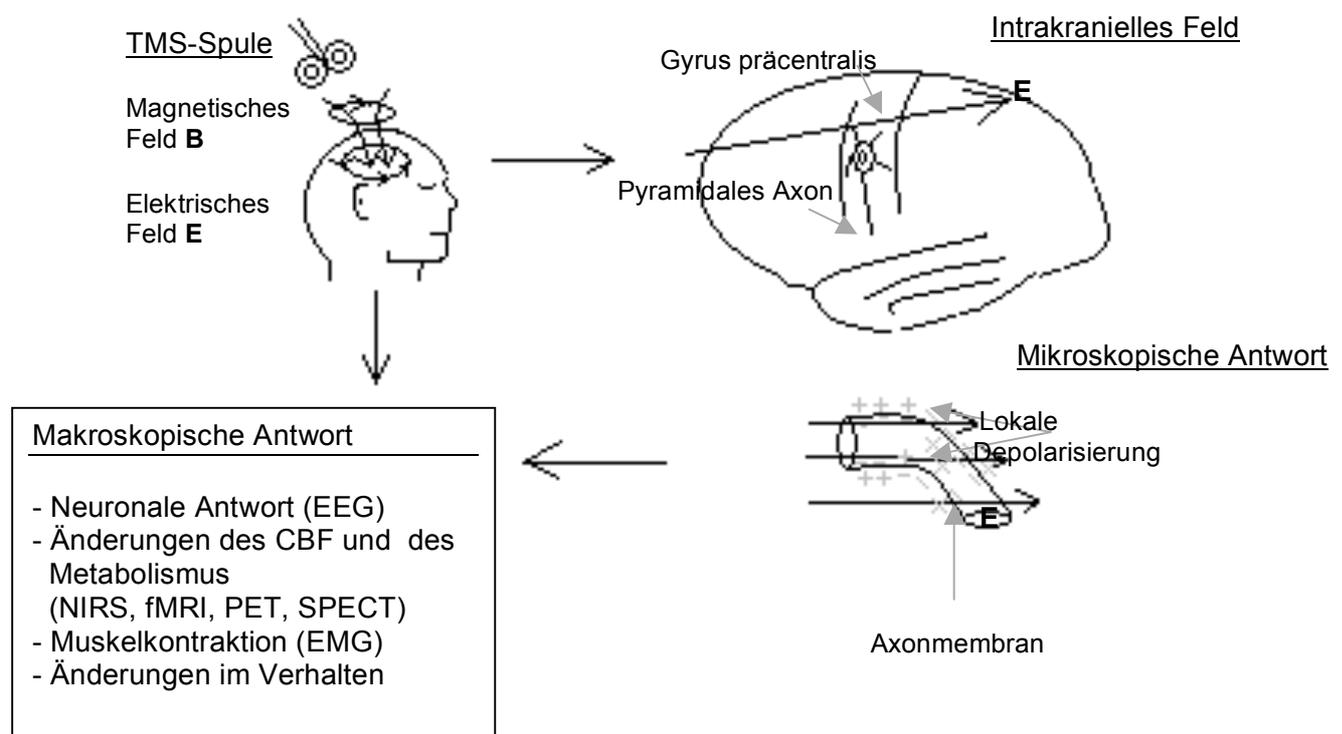
## **1.6 Grundlagen der Transkraniellen Magnetstimulation (TMS).**

### **Kleine Geschichte der nicht-invasiven Hirnstimulation.**

Eine direkte elektrische Stimulation des menschlichen Gehirns wurde zuerst von Bartholow 1874 durchgeführt und beschrieben (Bartholow, 1874). Die ungünstigen Umstände und der Tod der Patientin führten jedoch dazu, dass diese Technik erst wieder Anfang des 20. Jahrhunderts insbesondere von Neurochirurgen zur Hirnkartierung eingesetzt wurde. Heutzutage ist die elektrische Hirnstimulation nichtinvasiv mit Oberflächenelektroden möglich, die transkranielle elektrische Stimulation (TCES) ist allerdings äußerst schmerzhaft und somit nur beschränkt einsetzbar (Merton, 1980).

Die ersten Experimente mit magnetischer Stimulation wurden 1896 von d'Arsonval durchgeführt. Die magnetische Stimulation von peripheren Nerven wurde 1965 von Blickford und Fremming eingeführt, allerdings gelang es aufgrund des langen Stimulationsintervalls von 40 ms nicht, Nerven-, oder Muskelaktionspotentiale aufzuzeichnen, so dass diese Technik zunächst nicht weiter untersucht wurde. Erst 1982 stellten Polson, Barker und Freeston den Prototyp eines Stimulationsgerätes für periphere Nerven vor. Mit diesem gelang bei einer Stimulusdauer von 2 ms zum ersten Mal die Aufzeichnung von Aktionspotentialen nach Stimulation des Nervus medianus (Polson et al., 1982). Die gleiche Gruppe führte 1985 die erste erfolgreiche transkranielle magnetische Stimulation (TMS) durch (Barker, 1985), und veröffentlichte in den Folgejahren die Ergebnisse mehrerer klinischer Untersuchungen mit dem neuen Gerät (Barker, 1986). Die TMS erwies sich hierbei als äußerst wertvoll hinsichtlich der Untersuchung des kortikomotoneuronalen Systems. Die transkranielle Stimulation über

dem Motorkortexareal gesunder Probanden verursachte nach ca. 25 ms eine Kontraktion der Handmuskulatur. Verschiedene neurologische Erkrankungen gingen mit einer Verlängerung der Leitungszeit einher. Eine weitere wichtige Eigenschaft der TMS ist, dass es sich im Vergleich zur TCES um ein schmerzloses Verfahren handelt. Lediglich ein (leicht unangenehmes) ‚Zwicken‘ am Schädel wurde berichtet. Die guten Ergebnisse sowie die patienten/probandenfreundlichen Eigenschaften der Technik führten daraufhin zu einer kommerziellen Herstellung von TMS-Geräten.



**Abbildung 1:** Grundprinzip der TMS: Die Spannung in der Spule erzeugt ein magnetisches Feld **B**, welches ein elektrisches Feld **E** induziert. Die Linien des Magnetfeldes verlaufen durch die Spule; das elektrische Feld bildet geschlossene Kreise. Oben rechts ist schematisch eine Seitenansicht des präzentralen Gyrus dargestellt: Die Ausrichtung des elektrischen Feldes ist typischerweise parallel zur Spulenebene. **E** beeinflusst das transmembranöse Potential – eine lokale Depolarisierung des Membranpotentials ist möglich, das Axon leitet die Erregung weiter. Hierbei werden die pyramidalen Axone vorzugsweise stimuliert, die am Rand (des Gyrus) lokalisiert sind; allerdings existieren auch andere Mechanismen, die zu einer Stimulation führen können. Weitere Neurone könnten ebenfalls beeinflusst werden. Die Registrierung der makroskopischen Antwort auf einen TMS-Puls kann mit verschiedenen Imaging-Methoden (NIRS, fMRI, PET, SPECT) oder durch Änderungen des Verhaltens registriert werden (unten links).

### 1.6.1 TMS und Inhibition

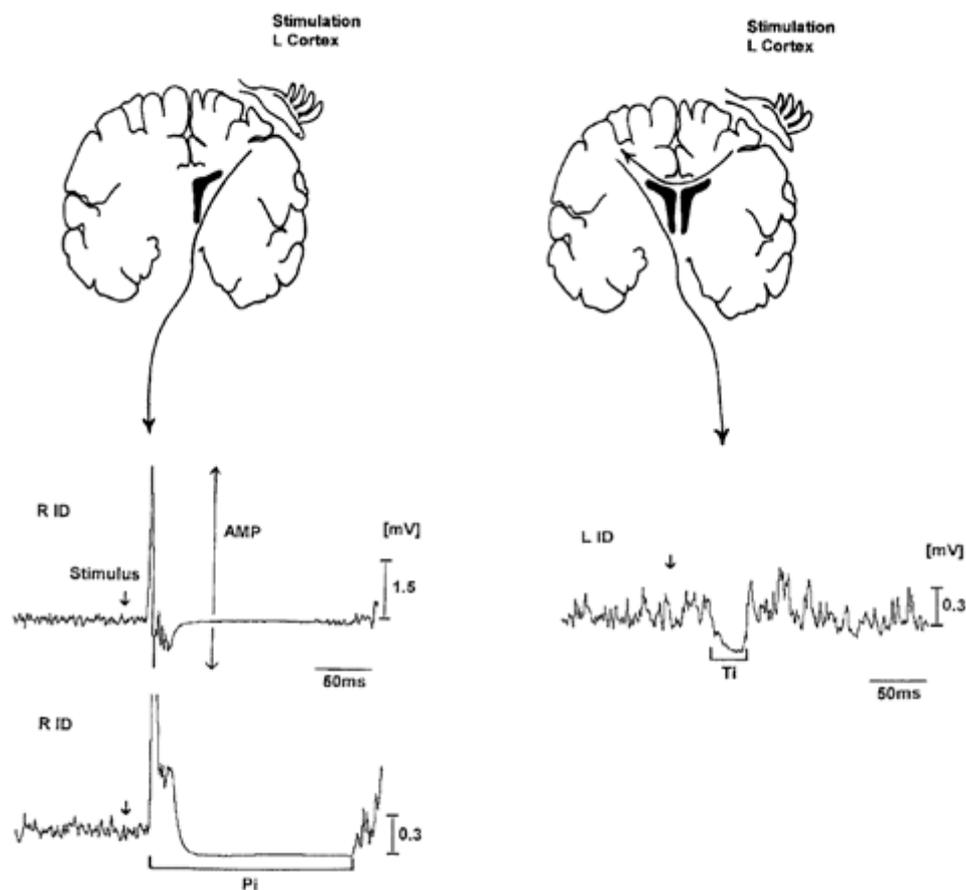
Die Methode der transkraniellen Magnetstimulation (TMS) ist seit ihrer Einführung 1985 ein neurophysiologisches Routinediagnostikum zur Untersuchung von kortikospinalen und kallosalen motorischen Systemen. Eine Provokation von sowohl exzitatorischen als auch inhibitorischen Effekten ist möglich.

Drei verschiedene cortico-corticale Inhibitionsarten können provoziert und demonstriert werden: Während die postexzitatorische Hemmung (engl. late inhibition, PI) und die früh einsetzende Hemmung (engl. early inhibition oder short interval intracortical Inhibition, SICI) ipsilaterale Inhibitionsprozesse repräsentieren, stellt die in dieser Arbeit relevante transkallosale Hemmung (engl. interhemispheric inhibition, IHI) das Ergebnis kallosal projizierender Neurone dar, die vermutlich sekundär im kontralateralen motorischen Kortex inhibitorische Interneurone aktivieren, welche wiederum kortikospinale Neurone hemmen (Ferber, 1990). Ferbert und Kollegen benutzten hierbei das Prinzip des Doppelpulses: dem eigentlichen Test-Stimulus über dem rechten Motorareal, zur Provokation einer Muskelkontraktion des linken Handmuskulatur (first interosseal dorsal, FID) ging ein in kurzem Abstand (8-24ms) zuvor applizierter konditionierender Stimulus über dem kontralateralen linken Motorareal voraus. Dessen Einfluss auf die EMG-Antwort wurde untersucht (Ferber et al, 1992).

Weitere klinische Studien von Meyer et al. an Patienten mit Corpus Collosum Defekten bestätigten diesen transkallosalen Pfad (Meyer *et al.*, 1995). Di Lazaro konnte in einer Studie an Schmerzpatienten, die hoch zervical epidurale Elektroden implantiert bekommen hatten, via TMS-Stimulation des Motorkortex zunächst drei verschiedene indirekte Potentiale ableiten, die sogenannten I-waves (1-3). Durch einen kurze Zeit nach der eigentlichen Stimulation erfolgten konditionierenden Stimulus der kontralateralen Hemisphäre konnte eine Abnahme besonders der I-wave 3 erreicht werden, ein Nachweis der transkallosalen Inhibition durch den TMS-Stimulus. (Di Lazaro *et al.*, 1999).

Die Generierung transkallosaler Inhibition erfordert höhere Reizstärken als die Auslösung (monosynaptischer) exzitatorischer Effekte – erklärbar evtl. durch die unterschiedlich großen Abstände von aktivierten kallosalen Neuronen und der auf der

Kortexoberfläche platzierten Magnetspule. Nach Jones (1979) nehmen die kallosalen Fasern ihren Ursprung von kleinen und mittelgrossen Pyramidenzellen der III. Kortexschicht während Pyramidenzellen mit monosynaptischer kortikospinaler Efferenz in Kortexschicht V angesiedelt sind.



**Abbildung 2** (nach Meyer, 1995): Zugang zur Funktion von unterschiedlichen neuronalen Systemen des primären motorischen Kortex mit der TMS: Exemplarische Darstellung von kortikospinal (links) und transkallosal (rechts) vermittelten Reizeffekten bei einem gesunden Probanden. Eine Reizung des linken motorischen Kortex führt im rechten M. interosseus dorsalis I (engl. right M. interosseus dorsalis, RID) zu einer exzitatorischen EMG-Antwort (Aktivierung kortikospinaler Neurone), die von einer lang andauernden Hemmung tonischer EMG-Aktivität gefolgt wird (postexzitatorische Inhibition, PI) und im linken M. interosseus dorsalis I (engl. left M. interosseus dorsalis, LID) eine kurzzeitige Hemmung der EMG-Aktivität bewirkt (engl. transcallosal inhibition, TI=IHI) als Ausdruck einer Hemmung des kontralateralen motorischen Kortex. Darstellung von gemittelten (N=20) und rektifizierten EMG-Daten.

## 1.7 Fragestellung

An einem validierten Inhibitionsmodell, in diesem Fall die oben beschriebene transkortikale interhemisphärische Inhibition, sollen die Effekte dieser Inhibition auf den Blutfluss bzw. die Blutoxygenierung eines definierten kortikalen Areals (motorischer Kortex) mittels Nahinfrarotspektroskopie (NIRS) untersucht werden.

Die Änderungen der Oxygenierung [oxy-Hb] und [deoxy-Hb] sind für Aktivierungsprozesse des motorischen und visuellen Kortex klar definiert und vielfach reproduziert worden. Für die Inhibition hingegen liegen teils widersprüchliche Ergebnisse vor.

Besonders für die Messmethoden, die einen vaskulären oder metabolischen Parameter der Neurovaskulären Kopplung messen (NIRS, fMRI, PET) ergeben sich hierbei Fragen, zu deren Beantwortung diese Arbeit einen Beitrag leisten möchte:

1. Führt die Inhibition, als Energie verbrauchender Prozess ebenfalls zu einem Anstieg der Oxygenierung (Hyperoxygenierung) wie dies auch bei einer Aktivierung beobachtet werden kann, und stellt sie somit möglicherweise ein inverses Problem für die koppelnden, bildgebenden Verfahren dar? Könnte demnach nicht sicher zwischen einer Inhibition und einer Exzitation unterschieden werden?
2. Wie wirkt sich der Kontext, in dem die Inhibition stattfindet auf die Oxygenierungsantwort aus? Gibt es einen Unterschied in der Richtung der Oxygenierungsänderungen abhängig vom exzitatorischen Niveau des untersuchten Motorkortex?

## 2 Methodik/Aufbau

### 2.1 Allgemein

Zur Durchführung der verschiedenen experimentellen Testreihen wurden ein Stimulations- und zwei Registrierungssysteme eingesetzt: die TMS zur Erzeugung der transkallosalen Inhibition, ein NIRS-Imaging System zur Registrierung der resultierenden Oxgenierungsantwort sowie ein Oberflächen-EMG zur Darstellung der transkallosal vermittelten Inhibition (IHI). Im folgenden Kapitel wird auf die verwendeten Messprinzipien und -methoden, den Versuchsaufbau sowie auf die Datenanalyse eingegangen.

#### 2.1.1 Grundlagen der Nahinfrarotspektroskopie (NIRS)

Licht des nahinfraroten Spektrums von ca. 650 – 1000 nm interagiert mit biologischem Gewebe durch Absorption und Streuung. Durch diese Wechselwirkungen bedingt, ergibt sich eine Abschwächung des eingestrahnten Lichtes.

Das Phänomen der Lichtabsorption in Abhängigkeit von der Konzentration einer Substanz in einer Lösung wurde von Lambert bereits 1760 untersucht. Beer entwickelte diese Untersuchungen weiter und formulierte sie 1851 als das Lambert-Beer'sche Gesetz, welches die Abhängigkeit zwischen der Konzentration eines absorbierenden Stoffes in einer Lösung und der Lichtabschwächung beschreibt (Beer, 1851). Voraussetzungen zur Konzentrationsbestimmung eines gelösten Stoffes sind einerseits die Kenntnis des Absorptionsspektrums des Stoffes, weiterhin muss eine sehr stark verdünnte Lösung angenommen werden, um die Konzentration aus der gemessenen Absorption zu bestimmen.

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = \alpha * c * d$$

**A** Attenuation, die Lichtabschwächung im Gewebe, **I<sub>0</sub>** die in das Gewebe eingestrahlte Lichtintensität, **I** die Lichtintensität nach Reflexion durch das Gewebe, **α** Extinktionskoeffizient, **c** Konzentration, **d** Distanz (Küvettdicke).

Auf dieser Grundlage entwickelten Kirchhoff und Bunsen 1860 das erste Spektrometer, zur Untersuchung der Absorptionsspektren des Blutfarbstoffs Hämoglobin. 1949 wiesen Hill und Keynes nach, dass Änderungen der optischen Eigenschaften von biologischem Gewebe auch tatsächlich physiologische Prozesse im ZNS repräsentieren (Hill und Keynes, 1949).

Bedeutung für die Messung der cerebralen Oxygenierung am Menschen erreichte die Methode, als Jöbsis 1977 zeigte, dass er mit NIR-Licht das menschliche Gehirn durch den intakten Schädel untersuchen konnte. Diese „transkraniellen spektroskopischen“ Untersuchungen durch Jöbsis waren der Ausgangspunkt für die Entwicklung der ersten kommerziellen Monitoring-Geräten für den klinischen Einsatz in den 80er Jahren (Cope and Delpy, 1988), die zur Bestimmung von Veränderungen der Konzentrationen intrinsischer Chromophore mit Laserlicht bei 4 oder 5 Wellenlängen arbeiteten.

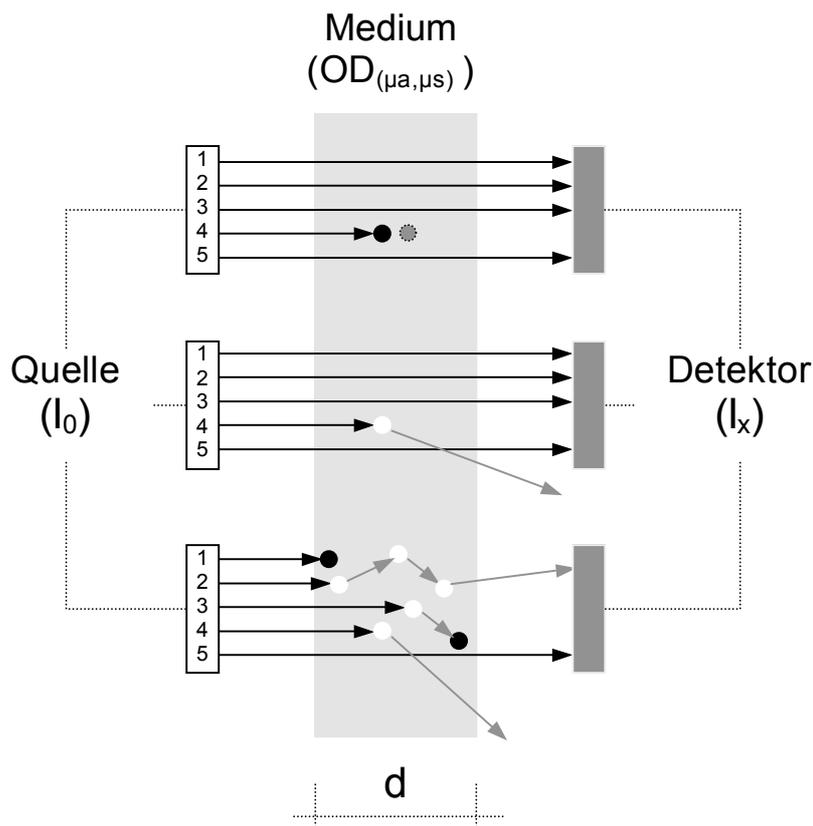
In einem stark streuenden Gewebe wie dem Gehirngewebe muss diese zweite Einfluss nehmende Größe ebenfalls berücksichtigt werden und führt zu einer Abänderung des Lambert-Beer'schen Gesetzes:

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = \alpha * c * d * DPF + G$$

Hierbei bedeutet **A** Attenuation, die Lichtabschwächung im Gewebe, **I<sub>0</sub>** die in das Gewebe eingestrahlte Lichtintensität, **I** die Lichtintensität nach Reflexion durch das Gewebe, **α** Extinktionskoeffizient, **c** Konzentration, **d** Distanz (Küvettdicke), **DPF** den die Pfadlänge des Photonenwegs korrigierenden Faktor und **G** einen geometrieabhängigen Faktor zur Berücksichtigung von Verlusten durch Streuung.

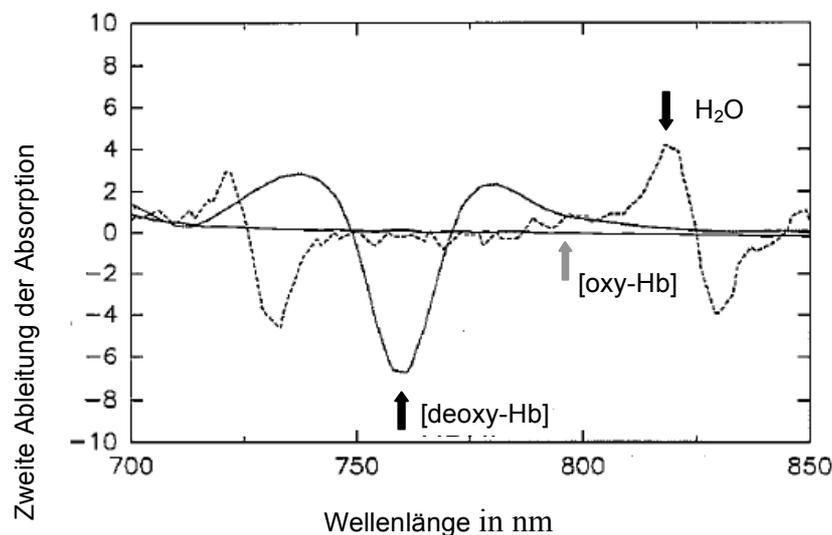
Unter Annahme einer konstanten Streuung werden die Photonen, die durch Streuung das Medium verlassen, durch den Term G berücksichtigt – der differentielle Pfadlängenfaktor DPF trägt dem Umstand Rechnung, dass der aus der Streuung resultierende Photonenweg größer ist als ihr geometrischer Abstand d. Term G entfällt durch Differenzbildung über die Zeit,  $\Delta A(t)$ , so dass die Konzentrationsänderung quantifiziert werden kann:

$$\Delta A = \Delta c * \alpha * d * DPF \Rightarrow \Delta c = \Delta A / \alpha * d * DPF$$



**Abbildung 3:** Absorption und Streuung im Küvettenmodell. Gemessen wird die Abschwächung der Lichtintensität zwischen Quelle ( $I_0$ ) und Detektor ( $I_x$ ). Es resultiert die optische Dichte (OD) des Mediums, das durch  $\mu_a$  (Absorptionskoeffizient) und  $\mu_s$  (Streuungskoeffizient) charakterisiert ist. Im obersten Szenario ist  $\mu_s=0$ , d.h. Photonen, die nicht den Detektor erreichen, sind absorbiert worden (Photon 4). Erhöht sich die Konzentration des gelösten Stoffes, so erreichen weniger Photonen den Detektor, die Konzentration des Absorbers lässt sich also aus der Lichtabschwächung bestimmen. Eine Voraussetzung des Lambert-Beer'schen Gesetzes ist ebenfalls skizziert: die Lösung muss unendlich verdünnt sein. Anderenfalls kann es sein, dass ein Absorber im ‚Schatten‘ eines anderen liegt (gestrichelter, grauer Partikel) und so die Konzentration des Stoffes zu niedrig bestimmt wird. Im zweiten Szenario ist  $\mu_a=0$ . Verluste können so ganz der Konzentration des streuenden, gelösten Stoffes zugeordnet werden. Die Voraussetzung der Verdünnung gilt hier genau wie oben. Im dritten Szenario sind im Medium streuende und absorbierende Stoffe gelöst. Am Detektor kann nicht differenziert werden, ob ein Photon nicht detektiert wird, weil es absorbiert (Photon 1), gestreut (Photon 4) oder beides wurde (Photon 3). Für die detektierten Photonen ist weiterhin am Detektor nicht ohne zusätzliche Information festzustellen, ob sie den direkten Weg (so genanntes ‚ballistisches‘ Photon 5), oder einen längeren Weg (Photon 2) über multiple Streueignisse zurückgelegt haben. Das unterste Szenario entspricht biologischem Gewebe; die Modifikationen des Lambert-Beer'schen Gesetzes, die notwendig sind, um dennoch Konzentrationsbestimmungen in einem solchen Medium vorzunehmen, werden im Text hergeleitet.

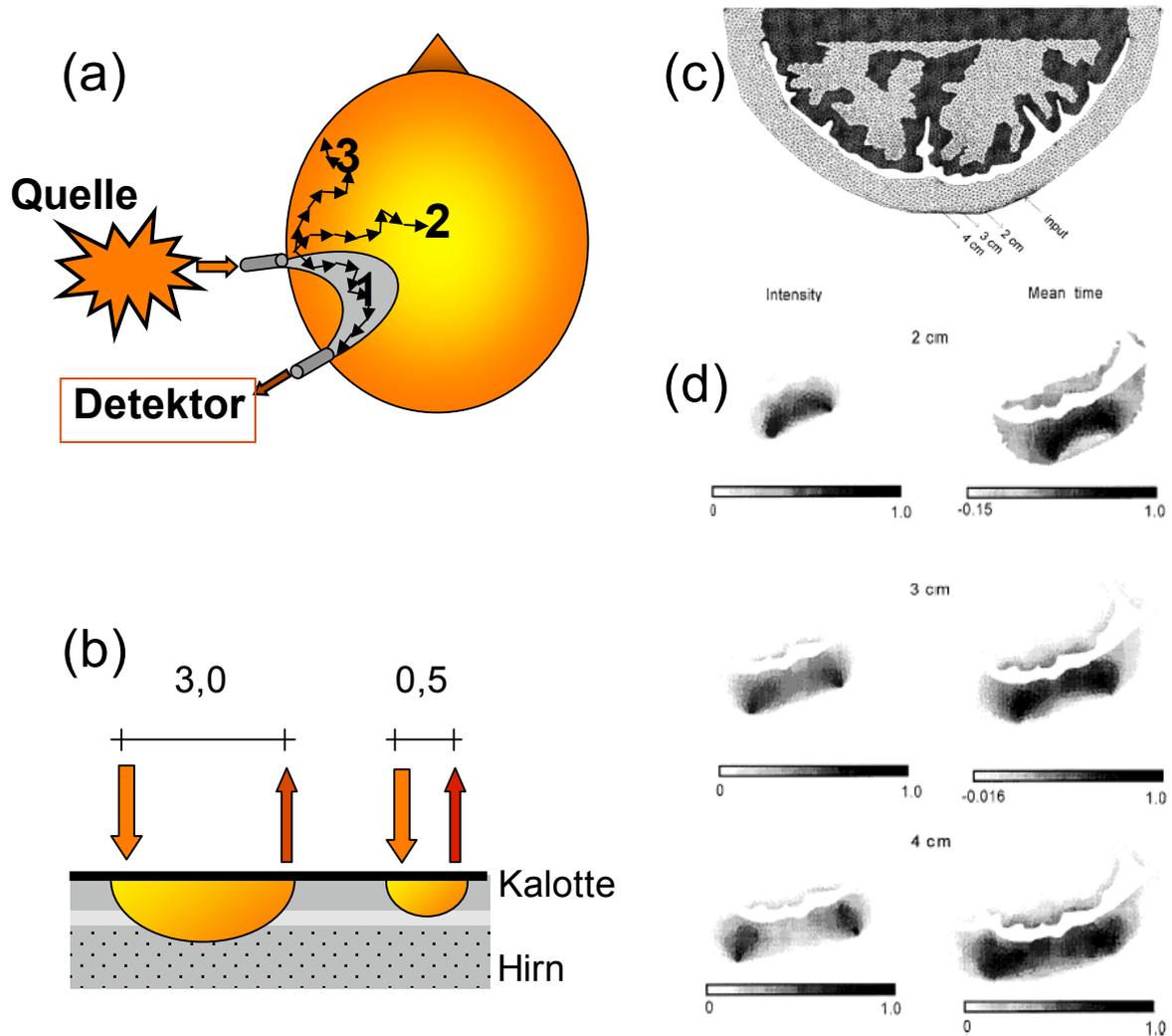
Das Absorptionsspektrum eines biologischen Gewebes ergibt sich aus der Konzentration und den spezifischen Absorptionsspektren der einzelnen enthaltenen Absorber. Als dynamische Absorber gelten dabei Stoffe, die kurzfristig ihre Konzentration oder ihren Oxygenierungszustand ändern können, wie z.B. das Hämoglobin. Andere Chromophore weisen eher fixe, d.h. wenig detektierbare Konzentrations-, oder Oxygenierungsänderungen auf (Melanin). Das optische Fenster der NIRS liegt zwischen 650 und 1000 nm und berücksichtigt im Wesentlichen zwei Aspekte: Wasser als Hauptbestandteil des zu untersuchenden Gewebes sowie andere Chromophore weisen in diesem Spektralbereich kaum Schwächungseigenschaften auf, so dass das Licht mehr oder weniger ungehindert einige Zentimeter tief in das Gewebe vordringen kann. Zudem liegen im gewählten Spektralbereich die charakteristischen Absorptionsmaxima der beiden Chromophore [oxy-Hb] und [deoxy-Hb], so dass sie spektroskopisch unterschieden werden können. Im sichtbaren Bereich des Lichtes (450-600 nm) ist die Absorptionskraft des Hämoglobins so hoch, dass Licht kaum ins Gewebe vordringen kann (das gleiche gilt für Wasser im Spektralbereich über ~950 nm).



**Abbildung 4:** Quantifizierung von Konzentrationsänderungen der Chromophore [deoxy-Hb], [oxy-Hb] und H<sub>2</sub>O. Absorptionsspektren von 20  $\mu$ M [deoxy-Hb], 40  $\mu$ M [oxy-Hb], und H<sub>2</sub>O.

Die Detektoren der NIRS erfassen reflektiertes Licht und können damit, bei Kenntnis der eingestrahnten Lichtintensität, die Lichtabschwächung im Gewebe (Attenuation) messen. Möglich ist dies jedoch nur bis zu einer Tiefe des kortikalen Gefäßbetts, subkortikale Strukturen können aufgrund der geringen Eindringtiefe nicht gemessen werden. Die Photonenwolke greift in der beim Erwachsenen angewandten Reflektionsmethode ein sichelförmiges Messvolumen ab (Abbildung 5). Diese Annahme nutzend, kann durch Änderung des Sender-Detektor-Abstandes eine grobe Tiefendifferenzierung vorgenommen werden: Kleine Abstände repräsentieren vor allem Änderungen des CBF der oberflächlichen (Haut-)Gefäße, während bei größerem gewähltem Sender-Detektor-Abstand tiefer gelegene Kompartimente erfasst werden können (Firbank *et al.*, 1993). In den hier dargestellten Experimenten wurde ein Sender-Detektor-Abstand von 2,5-3 cm gewählt.

Da die nicht zeitaufgelösten Messansätze (engl. continuous wave) von einer konstanten Streuung ausgehen und sich alle Änderungen der Attenuation des eingestrahnten Lichtes auf Konzentrationsänderungen der Chromophore [oxy-Hb] und [deoxy-Hb] (sowie möglicherweise Redoxverschiebung der Cyt-ox) beziehen, die in einem (angenommenen) homogenen Medium stattfinden, ist die räumliche Auflösung, d.h. die Zuordnung der stattfindenden Lichtabschwächung zu Gewebeschichten, relativ unscharf. Lösungsmöglichkeiten bieten hier die zeitaufgelösten Methoden (engl. time-domain und frequency-domain), da sie in der Lage sind, über die Angabe der Verweildauer der Photonen im Gewebe den DPF individuell zu bestimmen. Da die unterschiedlichen Kompartimente (Haut, Knochen, Cortex, Liquorraum) unterschiedliche optische Eigenschaften aufweisen, kann über die Laufzeitmessung der Photonen eine mehr oder weniger grobe Differenzierung der einzelnen Schichten erreicht, und somit die räumliche Auflösung verbessert werden (Duncan *et al.* 1995; Uludag *et al.* 2002).



**Abbildung 5:** **a)** Graphische Darstellung des Messvolumens der NIRS als sichelförmiges Areal (grau) zwischen Quelle und Detektor. Ziffern 1-3 stellen die verschiedenen Möglichkeiten der Absorption und Streuung im Gewebe dar (Details vergleiche Abb. 3). **b)** Eindringtiefe des NIR-Lichts bei unterschiedlichem Sender-Detektor-Abstand (SDA): erst bei einem SDA von 2,5 bis 3 cm wird Hirngewebe erfasst. **c+d)** Messvolumina bei unterschiedlichen SDA.

## 2.1.2 NIRS-Imaging-System

Das in der Arbeitsgruppe entwickelte NIRS-Imaging-System setzt sich im Wesentlichen aus drei Komponenten zusammen.

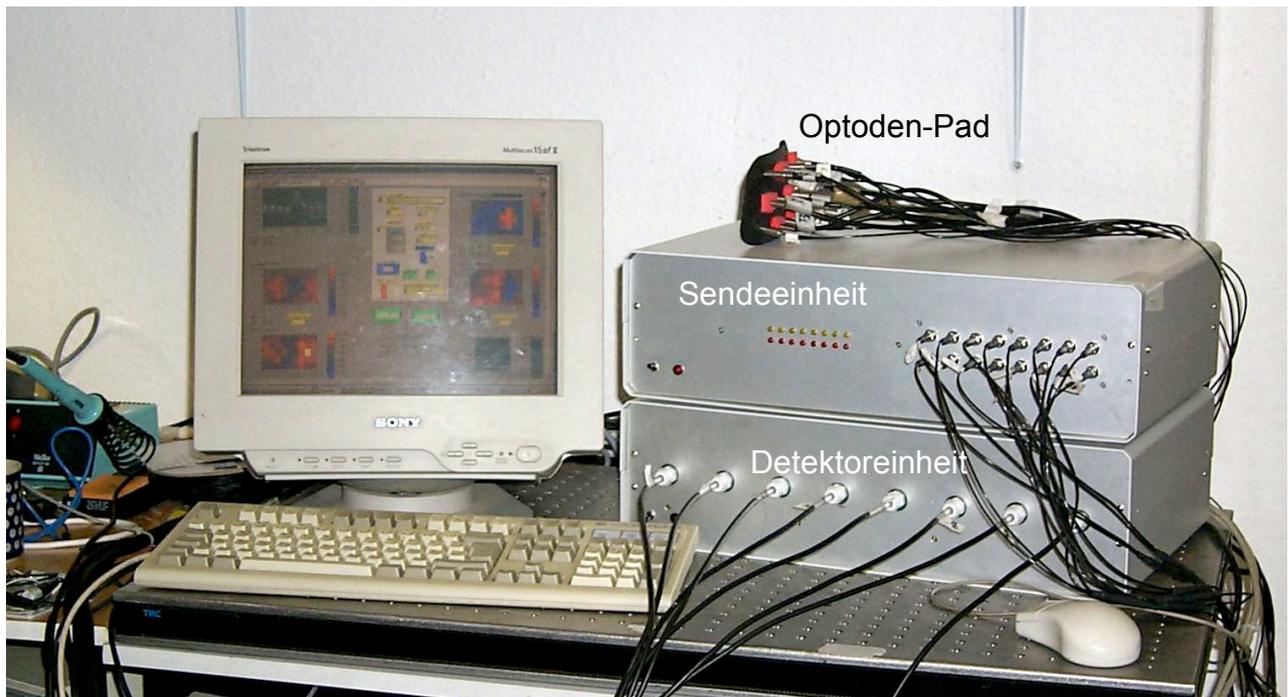
Die Laserquelle als Sendeeinheit besteht aus 24 Laserdioden (basierend auf dem Thorland GmbH LD 1100 Modell) mit jeweils 8 Laserdioden für 760 nm, 850 nm und 785 nm. Die beiden erstgenannten Wellenlängen werden zur Erfassung von Hb-Oxygenierungszuständen eingesetzt, während 785 nm bevorzugt bei Messungen mit Farbstoffbolus (ICG) verwendet wird. Die Dioden sind paarweise über 8 Lichtleiter (Optoden) mit einem elastischen Hartgummipad verbunden, wobei der Optodenabstand 2,5 – 3 cm beträgt.

Die zweite Komponente des Messsystems sind die Avalanche Photo Detektoren (APD, C5460 series, Firma Hamamatsu, Deutschland), die einen Durchmesser von 3 mm aufweisen und mit einem integrierten Verstärker (1-15 fach) gekoppelt sind. Die Zeitauflösung dieser Detektoren liegt bei 2 ms, resultierend aus dem schnellen An- und Abklingverhalten sowie der hohen Zählrate.

Beide Komponenten werden über eine Software, geschrieben in LabView (National Instruments), angesteuert, wobei eine 16 bit A/D Wandlerkarte das analog gesampelte Signal der Photodetektoren in ein digitales zur Datenspeicherung umwandelt. Die Laser werden über eine I/O Karte (PCI-6503, National Instruments) kontrolliert.

Die Datenaufzeichnung erfolgt im continuous wave mode - das kontinuierlich vom Kopf gesendete Signal veränderter Lichtintensität wird an die Detektoreinheit gesandt, wobei die Laser als Sendeeinheit nach einem festgelegten Schema zugeschaltet werden, so dass immer ein oder zwei Laser gleichzeitig aktiviert sind.

Man benötigt 8 Zyklen, um alle Laser durchzuschalten, wobei ein Zyklus 40 ms dauert. Die Anklingsphase der Laser beträgt 7-8 ms, auf das Signal entfallen ca. 30 ms. Es ergibt sich eine Samplingfrequenz von 3Hz ( $8 \text{ Zyklen} \cdot 40 \text{ ms} = 320 \text{ ms} = 1/320 = \sim 3\text{Hz}$ ).



**Abbildung 6:** Darstellung des NIRS-Imaging-Systems. Rechts im Bild Sender/Detektor-Einheit. Oben: Sendeeinheit mit 8 Ausgängen, Unten: Detektoreinheit mit Eingang für acht Lichtleiter. Links: Monitor zeigt Auswertungsprogramm (LabView) an.

### 2.1.3 Signalanteile Kortikal/Extrakortikal

Bei der Anwendung der NIRS am Kopf des Erwachsenen ist die Frage nach dem extra- bzw. intrakraniellen Beitrag zum Signal zu stellen. Mehrere Arbeiten zur theoretischen Annäherung der Eindringtiefe (Kurth, 1997, Okada, 1997, Kohl, 2002) haben gezeigt, dass die Eindringtiefe abhängig vom Sender/Detektorabstand ist, und sich somit bei größer werdendem Abstand der Anteil des intracerebralen Volumens erhöht. Bei zeitaufgelösten Methoden ist die Photonenverweildauer ein Maß für die Eindringtiefe. Hierbei hat sich herausgestellt, dass ein bestimmter Mindestabstand zwischen Sender/Detektorsystem eingehalten werden muss: Nach Messungen von Okada nimmt der Anteil intracerebralen Messvolumens bereits ab einem Interoptodenabstand von 15 mm kontinuierlich zu, um ab 3 cm relativ konstant zu bleiben (Okada, 1997). Das im Rahmen dieser Arbeit benutzte Imager-Pad weist einen aufgrund der erwähnten theoretischen sowie gruppeneigenen Arbeiten Interoptodenabstand von 2,5-3 cm auf. Der zerebrale Signalanteil überwiegt hierbei im Vergleich zum extrazerebralen eindeutig (Kohl, 2002).

#### 2.1.4 Transkranielle Magnetstimulation (TMS)

Seit in ihrem ersten Einsatz von Anthony Barker 1985 zur Stimulation des motorischen Kortex wird die TMS routinemäßig in der neurologischen Diagnostik eingesetzt, um die Integrität motorischer Bahnen zu überprüfen und die zentrale Latenz motorisch evozierter Potentiale (MEP) zu evaluieren (Barker, 1985).

Die physikalischen Grundlagen der TMS sind gut bekannt und erklärt. Ein Kondensator wird entladen und führt in einer Spule zu einer Stromstärke von bis zu 15 000 Ampere. Um den Spulendraht entsteht innerhalb von 200 bis 600  $\mu\text{sec}$  ein Magnetfeld, das sich ebenso rasch wieder zurückbildet. Der Reizeffekt ist umso stärker, je schneller sich das induzierte Magnetfeld ändert (Geddes, 1987). Von der Geometrie der verwendeten Spule hängen die Form und die Stärke des entstehenden Magnetfeldes ab. Gebräuchlich sind vor allem zwei Spulentypen, eine runde Spule, um die ein torusförmiges Magnetfeld entsteht und eine 8-förmige Spule, um die sich ein Magnetfeld mit maximaler Feldstärke über dem Mittelpunkt der Spule aufbaut. Mit Spulen von 70 bis 90 mm Durchmesser wird ein Magnetfeld von bis 2,5 Tesla erzeugt.

Das Magnetfeld bewirkt in elektrischen leitenden Strukturen wie Gehirn, Rückenmark und peripherem Nerv nach dem Prinzip der elektromagnetischen Induktion einen Stromfluss parallel zur Spulenebene, welcher der Flussrichtung in der Spule entgegengesetzt ist. Aufgrund dieser Geometrie werden im (primären) Motorkortex die Pyramidenbahnzellen vorzugsweise indirekt über Interneurone, die mit ihren Axonen parallel zur Kortexoberfläche positioniert sind, stimuliert. Ausdruck dessen sind die so genannten I-waves (I-Wellen). Somit ist die Latenz der motorisch evozierten Potentiale mittels TMS um ca. 2-4 ms länger als bei der transkraniellen elektrischen Stimulation (TES), welche Pyramidenbahnzellen direkt aktiviert (D-Wellen). Bei der TMS können u.a. Spulenposition, -orientierung und Stimulationsintensität verändert werden. Die Intensität ist hierbei vom Stromfluss in der Spule abhängig und wird üblicherweise als Prozent der motorischen Schwelle, d.h. einer auf die Auslösung von MEP bezogenen Mindestintensität, angegeben. In unserem Fall wurden die Stimulationen mit 150% der detektierten Schwellenintensität durchgeführt. Zur Stimulation primärer Kortexareale ist eine single pulse TMS ausreichend (Übersicht Meyer, 1992).

Der von und eingesetzte Magstim 200 ® (The Magstim Company, Whitland, South West Wales) erreicht nach 150 µs das größte magnetische Feld, um dann in der nächsten Millisekunde auf Null Tesla abzufallen. Verschiedene Spulen können, je nach Stimulationsgebiet und Fragestellung, an den Magstim 200 angeschlossen werden. Die von uns eingesetzte Spule ist achtförmig mit einem diagonalen Durchmesser von 7 cm pro Flügel. Hiermit wird eine bestmögliche lokale Stimulation erreicht. Im Folgenden soll kurz auf die Organisation der Motorkortex und die projizierenden Strukturen, welche mittels TMS stimuliert werden können, eingegangen werden.

### **2.1.5 Motorische Rindenfelder**

Verschiedene motorische Rindenfelder können beim Menschen unterschieden werden. Der primäre motorische Kortex entspricht der zytoarchitektonisch als Area 4 (Brodmann 1909) definierten Region, der prämotorische Kortex der ventralen Area 6, der supplementär motorische Kortex der dorsalen Area 6, das frontale Augenfeld der Area 8 und das Brocafeld als motorische Sprachregion der Area 44. Für diese Arbeit interessant sind lediglich die motorischen Areale 4 und 6, da sie kortikospinal projizieren.

### **2.1.6 Aufbau und funktionelle Organisation des Motorkortex – Efferenzen und Afferenzen**

Der motorische Kortex besteht aus insgesamt 6 Schichten und ist im Bereich der Area 4 (nach Brodmann) ca. 5 mm dick. Die charakteristische innere Pyramidenzellschicht V (Lamina ganglionaris) gilt mit ihren Betz'schen Riesenpyramidenzellen (PZ) als der Effektor der Kortexstimulation. Jede PZ nimmt über einen apikal entspringenden, vertikalen Dendriten Kontakt mit den Kortexschichten I-IV auf, während horizontale Dendriten die Zellbasis verlassen. Über eine zusätzliche horizontale Axonkollaterale sind die Zellen der Kortexschicht V untereinander verbunden.

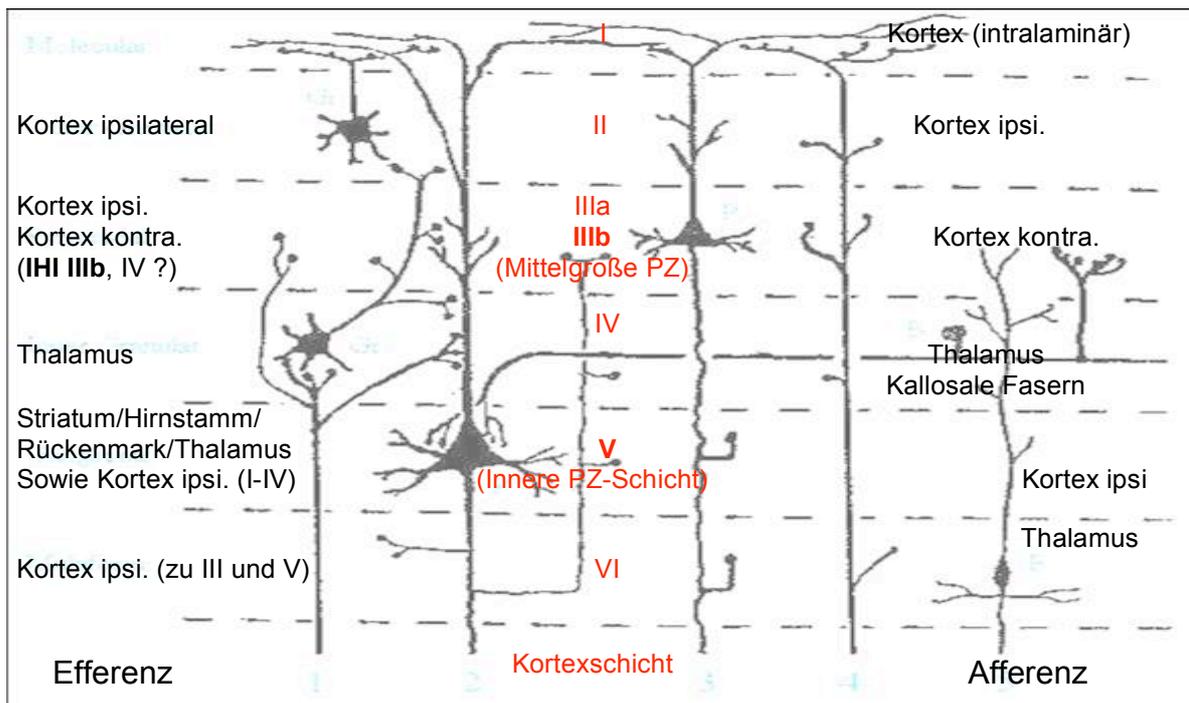
Ausgangsort der IHI ist die Kortexschicht III (Äußere Pyramidenschicht, Lamina pyramidalis ext.). Sie enthält mittelgroße Pyramidenzellen, die über einen interhemisphärischen Input und Output kommunizieren. Die Schicht III ist weiterhin in IIIa und IIIb zu differenzieren, wobei IIIa funktionell mit der II. Schicht verbunden ist und ipsilaterale kortikokortikale Verbindungen aufrechterhält, während die Neurone der

Schicht IIIb kontralateral kortikokortikal projizieren. Die Ursprungszellen dieser Fasern sind reihenförmig in Säulen organisiert, welche sich mediolateral entlang der Achse des prä- und postzentralen Gyrus anordnen. Laut Jones projizieren diese direkt zu den Zellschichten der anderen Hemisphäre, die die gleiche kolumnale Struktur aufweisen (Jones *et al.* 1979). Ergebnisse anderer Arbeiten zeigen allerdings, dass das Ursprungsgebiet der kallosalen Fasern im Vergleich zum kontralateralen Projektionsgebiet breiter ist, was für eine konvergente Informationsvermittlung spricht. Außerdem fand die Gruppe nicht reziproke Verbindungen, sowie eine zusätzliche Endigung der Bahnen in Kortexschicht IV (Killackey *et al.* 1983).

Die hauptsächlich der Kortexschicht III entstammenden kallosalen Efferenzen enden im somatosensorischen Kortex, Area 1, 2, 3b, 4 nach Brodman, in den Kortexschichten III (Jones *et al.* 1979) und IV (Killackey *et al.* 1983). In der Area 2 enden die Fasern hauptsächlich in Kortexschicht IV, wo sie mit den basalen Dendriten der PZ der III. Schicht, sowie mit den Körner- und Sternzellen der Schicht IV kommunizieren, was einer kallosal-thalamisch-kortikokortikalen Informationsverarbeitung entsprechen könnte. Weitere Efferenzen des motorischen Kortex entstammen der Kortexschicht V. Hierbei handelt es sich um kortiko-subkortikale projizierende Zellen, so z.B. kortikostriatal, kortikobulbär oder kortikorubral. Kortikothalamisch projizierende Zellen befinden sich hauptsächlich in der Kortexschicht IV. Die Kortexschicht I enthält vor allem Axone und apikale Dendrite von Neuronen tieferer Kortexschichten. Schicht II ist eine zellreiches (PZ, Sternzellen) ipsilateral kortikokortikal funktionierendes Input/Outputsystem.

Zusätzlich weisen die verschiedenen Kortexschichten eine vertikale Verbindungsstruktur auf. Diese vertikalen Säulen (Kolumnen) haben einen Durchmesser von 200-300  $\mu\text{m}$  und stellen die elementare Einheit kortikaler Funktionsstruktur mit gemeinsamem Ein- und Ausgang dar. Bei Reizung des peripheren Feldes einer Kolumne reagiert stets die ganze Zellsäule.

So weisen thalamokortikale Afferenzen eine Verbindung zu den Sternzellen der VI Schicht auf, welche ihrerseits Kontakt mit den Efferenzen der Schichten III und V haben. Weitere Vermittler afferenter-efferenter Interaktionen könnten Interneurone Typus Korbzelle in Schicht IV sein, die horizontal ausgerichtete Axonkollateralen aufweisen. Zwischen den Zellsäulen (Kolumnen) bestehen in jedem Fall starke horizontale Verbindungen, die über eine laterale Inhibition kommunizieren (Jones and Wise, 1977).



**Abbildung 7:** Aufbau und funktionelle Organisation des Motorkortex mit Afferenzen und Efferenzen. Ausgangsort der IHI ist die Kortexschicht IIIb.

### 2.1.7 Projizierende Fasersysteme des Corpus Callosum

Kortexareale, die kommissurale Projektionen aufweisen, projizieren zu korrespondierenden Kortexarealen der kontralateralen Hemisphäre. Diese homotopen Projektionen sind von der Area 4 ausgehend in ausgeprägter Form für die Repräsentationsgebiete Gesicht, Rumpf, proximaler Arm beschrieben, während Hand und Fuß nicht oder nur gering kallosal verbunden sind (Jones et al., 1979; Pandya & Seltzer, 1986). Möglicherweise besteht ein direkter starker exzitatorischer Einfluss von kallosalen Fasern auf die Pyramidenbahnneurone (Area V) (Matsunami & Hamada 1984). Weiterhin bestehen heterotope Verbindungen zwischen den jeweiligen Kortexarealen. So laufen viele Fasern der Area 6 zu heterotopen Arealen der Gegenseite unter anderem auch zur kontralateralen Area 4 (Minckler et al. 1944). Auch kortikosubkortikale kommissurale Verbindungen, die über das CC zur capsula interna projizieren, sind beschrieben (Tomasch, 1954). Wichtig sind diese Bahnen bei der Interpretation der im Rahmen dieser Arbeit provozierten Inhibition. So ist eine Auslösung dieser, zusätzlich zu den kortikokortikal projizierenden Fasern, über eine zweifache Kreuzung (CC → Pyramidenbahn kontralateral, Pyramidenbahn → Decussatio

pyramidorum→Motoneuron ipsilateral) denkbar. Aufgrund der kurzen Latenzzeiten der mit der TMS generierten exzitatorischen Antwortpotentiale von Handmuskeln geht man von einer Nervenleitgeschwindigkeit von etwa 60 m/s aus. Diese wird in kortikospinalen Bahnen, deren Ursprungsort die Betz'schen Riesenzellen sind, erreicht. Ob es sich um eine direkte (Zellsoma) oder indirekte (Tractus) Reizung dieser handelt, kann nicht gesagt werden. Die für die IHI berechneten interhemisphärischen Latenzen liegen zwischen 12 und 14 ms, was einer Leitungsgeschwindigkeit von 10 m/s entspricht – der Faserdurchmesser, der durch den hinteren Anteil des dritten und evtl. vorderen Anteil des vierten Balkenfünftels verläuft beträgt hierbei 3-4  $\mu\text{m}$  (Meyer, 1995).

### **2.1.8 EMG**

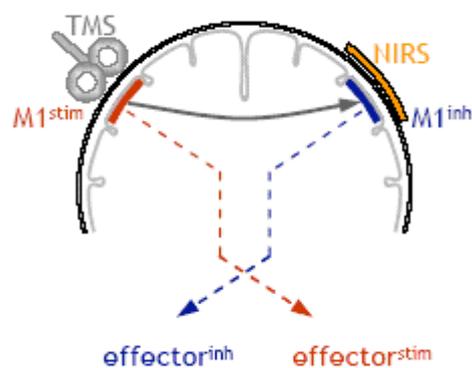
Zur Registrierung der IHI wurde das EMG-Signal mit Ag/AgCl Oberflächenelektroden beidseits vom M. interosseus dorsalis I abgeleitet. Das Signal wurde mit Hilfe des INA 128 Verstärkers (128 instrumentation amplifier, Texas Instruments, Dallas, Texas) gefiltert (10 Hz-3 kHz), verstärkt (1000x) und mit dem 1401 AD-Wandler (Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK) digitalisiert. Zur Speicherung des Signals wurde die Spike2 software (Cambridge Electronic Design) eingesetzt.

## **2.2 Spezielle Methodik**

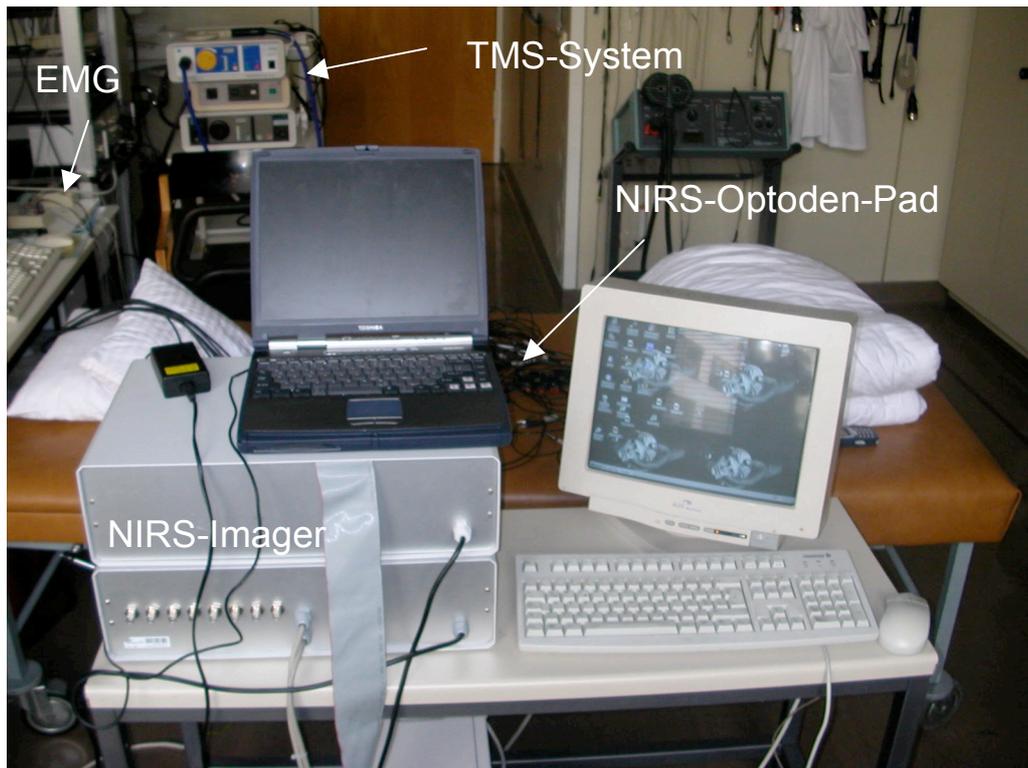
### **2.2.1 Versuchsaufbau**

Es wurden 18 Probandinnen und Probanden (\*im Folgenden wird zur Vereinfachung die männliche Form ‚Probanden‘ gewählt) in einem kombinierten TMS/NIRS Paradigma untersucht. Ziel war die Provokation einer IHI mittels TMS sowie die Registrierung der resultierenden Oxygenierungsänderungen des Hämoglobins via NIRS. Die Experimente fanden in einem abgedunkelten Raum statt, die Probanden lagen auf einer Krankenliege mit leicht erhöhtem Kopf, so dass der Zugang für die Magnetspule leichter fiel, und gleichzeitig das NIRS-Pad keinen Kontakt zur Liege, bzw. zu den umgebenden Teilen hatte. Zunächst wurde mit Hilfe der Magnetspule der rechte Motorkortex (C4 nach dem 10-20 System) lokalisiert, indem sowohl die Muskelantwort auf einem EMG-Monitor dargestellt wurde, als auch die optisch sichtbare Kontraktion der

Handmuskulatur ausschlaggebend war. Diese Lokalisation diente neben der Ausmessung des Schädels der Anbringung der NIRS-Optoden über der rechten Hemisphäre. Nach Anbringung der Optoden mit Hilfe von elastischen Binden, sowie der Befestigung der EMG-Elektroden beidseitig auf dem ersten dorsalen Interossalmuskel und der ersten Phalanx, wurde durch erneutes Austesten bei niedriger Reizstärke der Motorkortex der linken Hemisphäre (C3) lokalisiert. Die tatsächliche Reizstärke für alle Experimente lag bei mindestens 150% der festgestellten Schwellenintensität.



**Abbildung 8:** Schematische Darstellung des experimentellen Aufbaus (Ansicht von occipital): TMS Einzelpulse (engl. TMS single pulse) wurden über dem linken Motorkortex appliziert (M1<sup>stim</sup>). Die Effekte der IHI des kontralateralen Motorkortex (M1<sup>inh</sup>) – angezeigt durch die reduzierten kortikospinalen Efferenzen (via EMG) auf die zerebrale Blutoxygenierung wurden mit dem NIRS-Imaging System registriert.



**Abbildung 9:** Foto des Versuchsaufbaus: Im Vordergrund links ist das NIRS-Imaging-System (Rückansicht) zu sehen, der Monitor rechts davon zeigt das in Labview geschriebene Steuerprogramm. Das Laptop dient als Generator des randomisierten Triggerimpulses, der an das im Hintergrund sichtbare TMS-System und an das EMG-System gesandt wird (linkes hinteres Bild). Probanden liegen auf der Krankenliege, das NIRS-Optoden-Pad (Mitte Krankenliege) ist über Lichtleiter mit der Systemvorderseite verbunden.

Ziel des Experimentes war es, den Einfluss eines über dem motorischen Kortex einer Hemisphäre applizierten Reizes mit Hilfe der Magnetspule auf eine im kontralateralen motorischen Kortex generierte tonische Willkürinnervation zu untersuchen. Zu diesem Zweck wurden die Probanden während der Testreihe ‚TMS mit Vorinnervation‘ angehalten, mit der linken Hand einen Gummiball mit mindestens 50% der Maximalkraft über einen Zeitraum von ca. 13 min (ISI: 8-12 s, 80 Stimuli) zu drücken. Als optisches Feedback diente ein Manometer, welches gut sichtbar auf einem Lederkissen in Nähe des Probanden platziert wurde.

Parallel zu den Aufzeichnungen der Oxygenierungsantwort nach IHI des vorinnervierten Motorkortex wurde bei jedem Probanden/jeder Probandin der Effekt der TMS auf einen nicht vorinnervierten Motorkortex untersucht. Dabei lagen die Arme des Probanden/der

Probandin ruhig neben dem Körper auf der Krankenliege. Ein Standard Motor-Aktivierungs-Protokoll ohne Einfluss der TMS wurde initial durchgeführt. Hierbei alternierten für 10-13 min pro Durchgang 20 s Aktivierung (Kompression eines Schaumstoffballes mit der linken Hand) und 20 s Ruhe.

## 2.2.2 Datenerfassung/Auswertung

Bei der statistischen Analyse der Daten wurden Auswertungskonzepte übernommen, die bei der Signifikanzprüfung von MRT-Daten angewendet werden: Korrelationsanalyse (General Linear Model) und t-Test. Das mit LabVIEW (National Instruments, Version 6.1) aufgezeichnete Rohsignal wird mit einem in MATLAB (The MathWorks Inc., Version 6.1) geschriebenen Programm in mehreren Schritten gefiltert und varianzgewichtet gemittelt.

Im ersten Schritt der Datenanalyse werden die Attenuationsänderungen für 760 nm und 850 nm ausgegeben, aus denen die Konzentrationsänderungen  $\Delta[\text{deoxy-Hb}]$  und  $\Delta[\text{oxy-Hb}]$  berechnet werden:

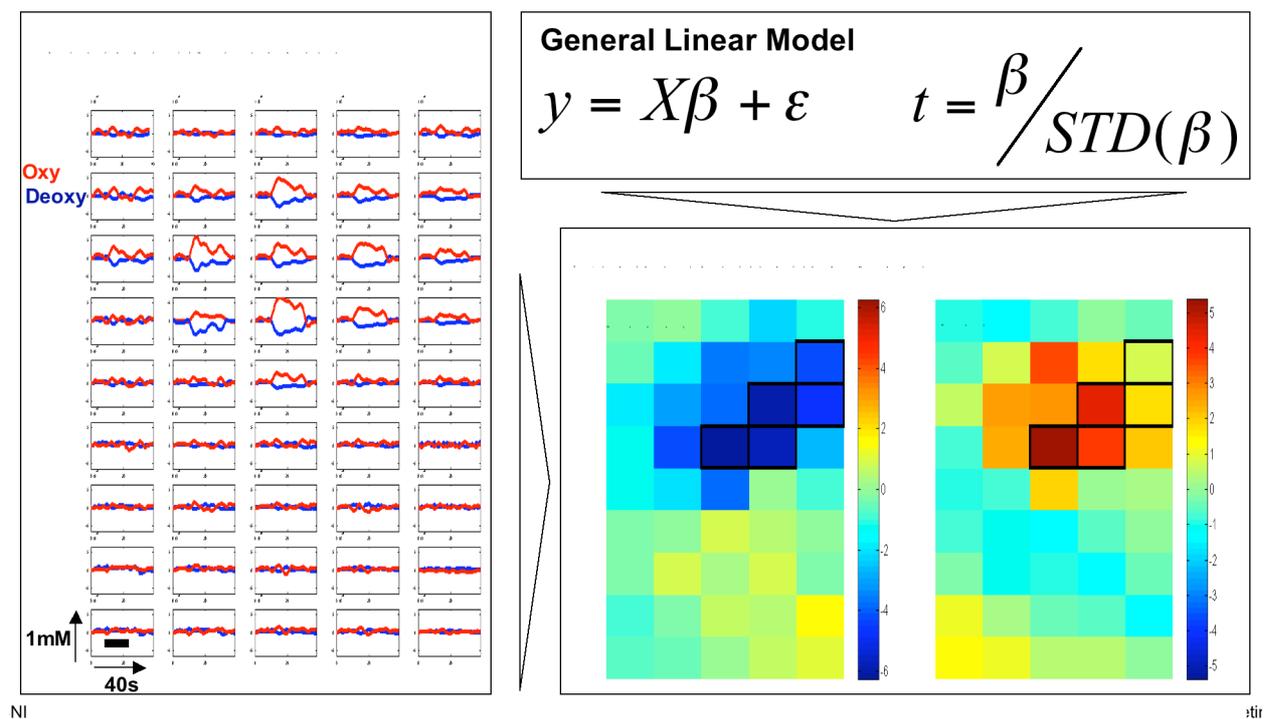
$$\Delta A = -\ln\left(\frac{I}{I_0}\right)$$

Nach dem modifizierten Lambert-Beerschen Gesetz ergibt sich für die zwei Wellenlängen ein lineares Gleichungssystem mit zwei Gleichungen und zwei Unbekannten, welches nach  $\Delta c$  [deoxy-Hb] und  $\Delta c$  [oxy-Hb] aufgelöst wird. In dieser Arbeit tragen zwei Chromophore zur Lichtabschwächung bei:

$$\Delta A_{760nm} = [\varepsilon_{760oxy} \times \Delta c_{oxy} + \varepsilon_{760deoxy} \times \Delta c_{deoxy}] \times d \times DPF$$

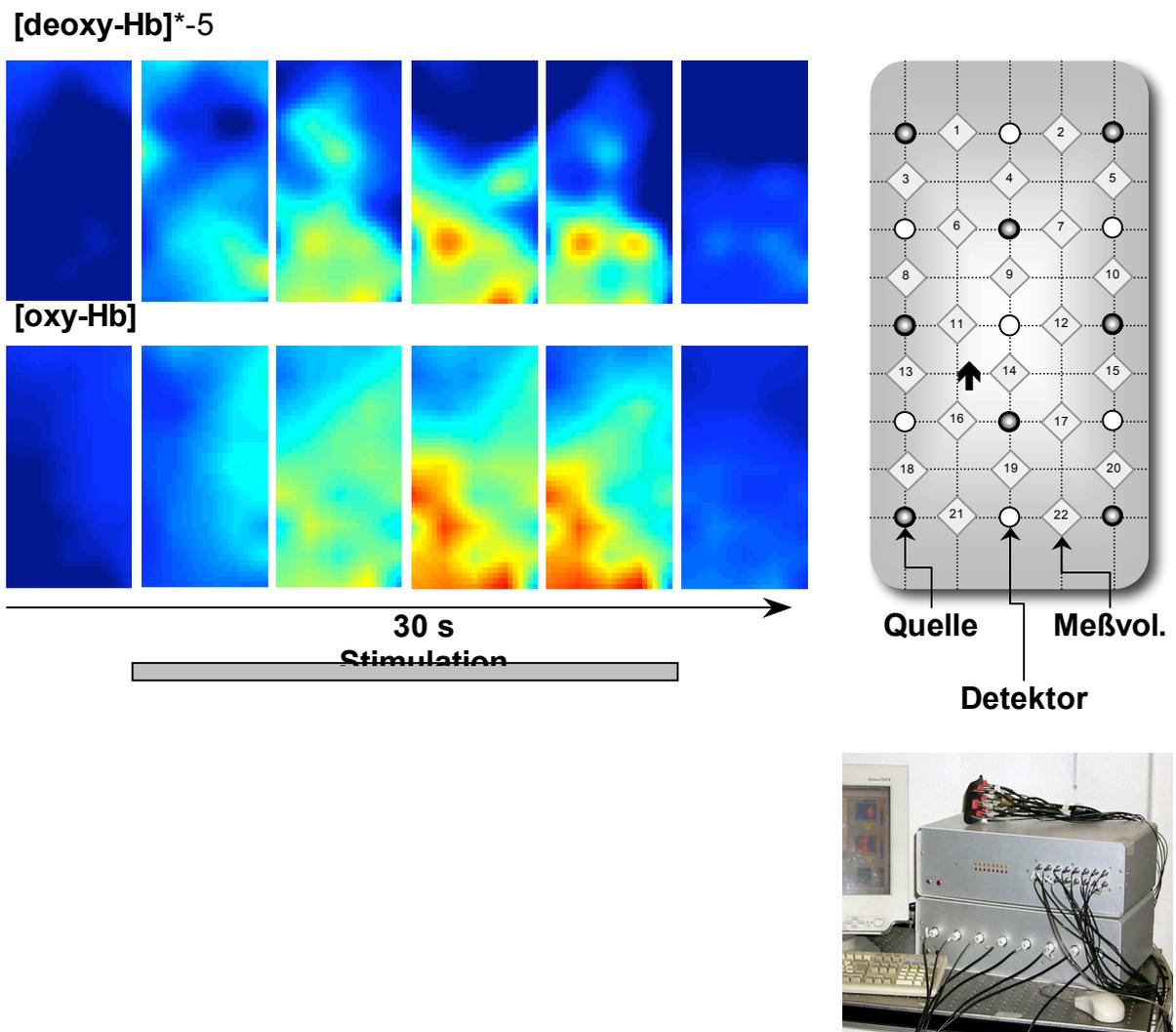
$$\Delta A_{850nm} = [\varepsilon_{850oxy} \times \Delta c_{oxy} + \varepsilon_{850deoxy} \times \Delta c_{deoxy}] \times d \times DPF$$

Die so errechneten Konzentrationsänderungen wurden sowohl nach dem General Linear Model (GLM) als auch mittels eines t-Tests für gepaarte Stichproben hinsichtlich der Signifikanz geprüft. In Anlehnung an die Auswertung des BOLD-Signals der MRT wurde beim GLM auch für die zu erwartenden Änderungen von [oxy Hb] und [deoxy-Hb] eine hämodynamische Antwortfunktion (hemodynamic response function, HRF) als modulierte Idealkurve über den Stimulus „gefaltet“ .



**Abbildung 10:** Darstellung der Datenberechnung aus den Rohdaten: Nach Berechnung der Konzentrationsänderungen via modifiziertem Lambert-Beerschen Gesetz werden mithilfe des General Linear Models (GLM) bzw. mittels t-Test die t-Werte errechnet und optisch dargestellt.

Die 22 Messpunkte des NIRS-Imager-Pads unterteilen sich in direkte Messpunkte (direkte Detektor-Laser Verbindung) sowie indirekte, interpolierte Messpunkte (Abb. 11).



**Abbildung 11:** Bildgebendes cw-System, das in unserer Arbeitsgruppe entwickelt wurde. Unten rechts: Abbildung der Sender und Detektor-Module sowie des Probenkopfes. Die Schaltung und Anordnung der 8 Quell- und Detektor-Proben ist flexibel. **Eine Anordnung in einem 5\*10 cm großen Pad ist oben rechts dargestellt; es ergeben sich 22 mögliche Quell-Detektor-Kombinationen, denen je ein Messvolumen zugeordnet ist.** Die farbige Darstellung zeigt die Änderungen des [deoxy-Hb] und [oxy-Hb] im Verlauf einer 30 s dauernden Fingeroppositionsaufgabe. Das Pad wurde über der contralateralen Zentralregion angebracht. Die [deoxy-Hb] Werte wurden mit  $-5$  multipliziert, Rottöne zeigen somit einen Anstieg des [oxy-Hb] und einen Abfall des [deoxy-Hb], entsprechend der erwarteten Antwort über einem funktionell aktivierten kortikalen Areal.

### 2.2.3 Statistische Analyse der verschiedenen Paradigmen

Jeder Proband begann mit einer ‚eigenhändigen‘ Stimulation des Motorkortex: 20s rechts-links alternierende Kontraktionen der Hand für ca. 10-12 min, um somit vorab die individuelle „region of interest“ (ROI) im Bereich des rechten Motorkortex für die anschließenden TMS-Stimulations Paradigmen zu definieren. Hierbei wurden Pixel mit t-Werten  $>2,1$  ( $p < 0,05$ , zweiseitiger t-Test, 17 Freiheitsgrade) für die spätere TMS-Datenanalyse herangezogen. Durch die vorherige Auswahl der ROI konnte die Wahrscheinlichkeit eines Fehlers der 1. Art (Alpha Fehler) reduziert werden, da nicht ‚zufällig‘ (falsch) positive Pixel in die Datenanalyse mit einbezogen wurden.

Die Rohdaten wurden zuvor mit einem 0,01 Hz Hochpassfilter (langsamer shift) sowie einem low pass Filter von 0,5 Hz (Pulsartefakt) gefiltert.

Für die Auswertung nach dem GLM wurde als HRF eine Gamma-Funktion angenommen (Boynton *et al.*, 1996) ( $\tau=1s$  und  $i=4$ ).

Vergleichend wurden die Mittelwerte der Änderungen jedes Hb-Subtyps für die TMS-Stimulations Paradigmen zwei Sekunden vor TMS-Stimulus (baseline) und 6 sec nach dem Stimulus sowie für den Motortask zehn Sekunden vor Beginn der Kontraktion der rechten Hand (baseline) und zehn Sekunden nach Beginn der Kontraktion bestimmt und mittels t-Test für gepaarte Stichproben auf Signifikanz geprüft.

Es fand sich kein bedeutender Unterschied zwischen der Berechnung nach dem GLM und dem t-Test für die definierten Mittelwerte.

Es erfolgte jeweils eine zweimaliger Mittelung: Zunächst wurden alle individuellen Stimulus Antworten des einzelnen Probanden gemittelt und anschließend die Stimulus Antworten aller Probanden.

### 3 Ergebnisse

In der vorliegenden Studie wurden die Änderungen der zerebralen Blutoxygenierung des somatomotorischen Kortex während verschiedener Aktivierungs- und Inhibitions-Paradigmen mit einem NIRS-Imaging-System aufgezeichnet.

Im Vordergrund des Interesses stand dabei die Änderung von [oxy-Hb] und [deoxy-Hb] bei Inhibition des Motorkortex in einem Modell der transkallosalen Inhibition mittels IHI: Nach Abgabe eines ipsilateralen TMS-Single-Impulses wurde mittels NIRS die hämodynamische Reaktion des [deoxy-Hb] sowie des [oxy-Hb] des kontralateralen Motorkortex registriert. Eine tonische Willkürkontraktion der Hand- und Unterarmmuskulatur provozierte vorab ein hohes exzitatorisches Niveau des untersuchten Areals.

Vergleichend wurden die Änderungen während einer standardisierten Stimulation des Motorkortex (20 s Aktivierung vs. 20 s Pause) aufgezeichnet, sowie die Ergebnisse einer TMS Stimulation ohne vorherige Willkürkontraktion untersucht.

#### 3.1 Stimulation des Motorkortex

Hierbei wurden die Probanden angehalten, 20 Sekunden lang einen Schaumstoffball mit der linken Hand (Frequenz ca. 1Hz) zu drücken, gefolgt von einer 20 sekundigen Pause. Es wurde pro Probandin ein Stimulationsblock mit einer Dauer von ca. 10 min aufgezeichnet. Die Antwortkurve zeigt die bekannten Latenzen für eine Aktivierung im Motorkortex:

Innerhalb eines Areals von sechs Detektoren um eine Lichtquelle finden sich 2-3 s nach Stimulationsbeginn eine Konzentrationszunahme für [oxy-Hb], deren Maximum, 0,2  $\mu\text{mol/l}$  circa 8-10 s nach Stimulusbeginn erreicht wird. Die [deoxy-Hb]- Abnahme beginnt mit einer Latenz von ca. 1-2 Sekunden und beträgt nach circa 8 Sekunden 0,09  $\mu\text{mol/l}$ . Sie ist um den Faktor 2 kleiner. Da die [oxy-Hb]-Zunahme die [deoxy-Hb]-Abnahme übertrifft, steigt [tot-Hb] ebenfalls an ( $\Delta[\text{total-Hb}] = \Delta[\text{oxy-Hb}] + \Delta[\text{deoxy-Hb}]$ )

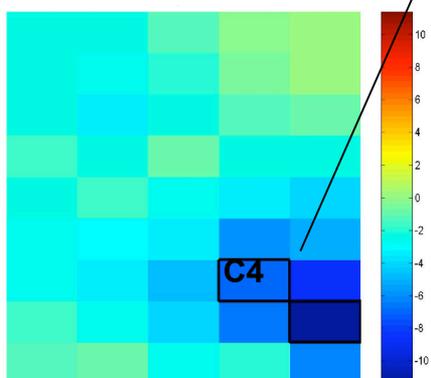
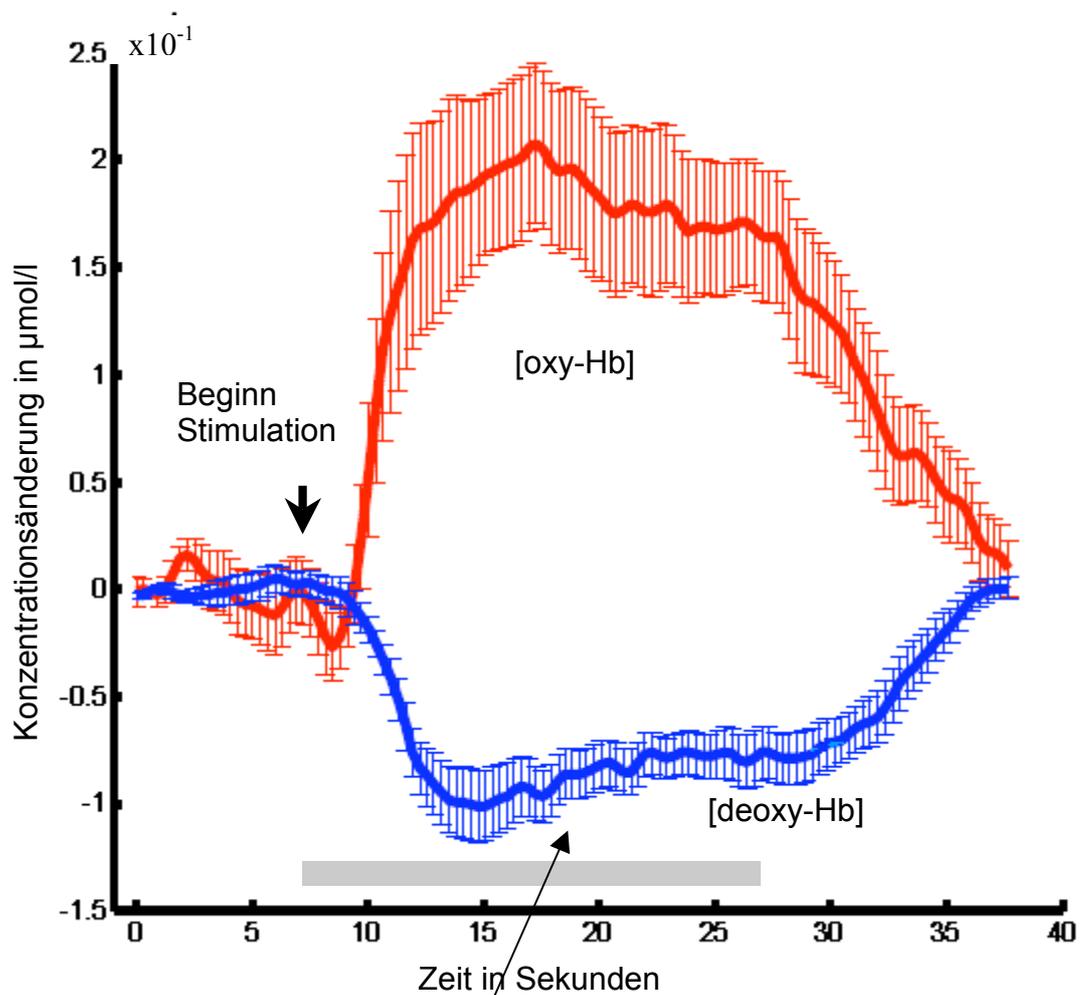
(Wyatt, 1986). Dieses totale corpuskuläre Volumen [tot-Hb] korreliert mit dem zerebralen Blutvolumen (CBV). Ungefähr zehn Sekunden nach Ende des Stimulus werden die Ausgangswerte (engl. baseline) wieder erreicht (siehe Abbildung 12).

Der Zeitverlauf der motorischen Kortexaktivierung wurde vielerorts beschrieben (Obrig, 1996; Frahm, Bandettini, 1992). Während die Parameter eine gute Korrelation während der Stimulusdauer zeigen, werden neben den oben beschriebenen Änderungen des [oxy-Hb] und [deoxy-Hb] Begleitphänomene wie eine initiale [oxy-Hb]-Abnahme (,initial-dip'), eine Abnahme von [oxy-Hb] unter die Ausgangswerte nach Stimulus (,post-stimulus-undershoot') sowie eine Latenz zwischen dem Anstieg des [oxy-Hb] und dem Abfall des [deoxy-Hb] gesehen.

Initial kommt es aufgrund der Steigerung des arteriellen Flusses im aktivierten Areal zu einer Blutflusszunahme im venösen System. Aufgrund des Prinzips des venösen Ballons resultiert ein rascher Anstieg des Blutvolumens (CBV). Dieser Anstieg des Volumens und des dreifach höheren CBF-Anstiegs im Vergleich zur Metabolisierungsrate des Sauerstoffs ( $CMRO_2$ ) führen zu einer (früher einsetzenden) Zunahme von [oxy-Hb]. Erst nach Erreichen einer bestimmten venösen Wandspannung steigt der Druck in den Venolen, diese dilatieren, der Abstrom wird generiert. Die Latenz der [deoxy-Hb]-Abnahme kann so erklärt sein, es kommt zu einem ‚Auswaschen‘ des [deoxy-Hb].

Da sich im visuellen Kortex jedoch keine Latenz zwischen dem [oxy-Hb] und [deoxy-Hb] Signal zeigte (Wolf et al. 2002) sind möglicherweise systemische Änderungen des Blutflusses, bzw. die von der NIRS mitregistrierten Änderungen der Haut- und Schädeldurchblutung für diese Phänomene verantwortlich. Boden et al. konnten zeigen, dass nach Berechnung der Rohdaten mit einem globalen Korrekturschema, sowohl die initiale [oxy-Hb]-Abnahme als auch die Latenz zwischen [oxy-Hb]-Zunahme und [deoxy-Hb]-Abnahme nicht mehr nachweisbar waren (Boden, 2007).

Wichtig ist, dass sich vor Durchführung der Versuchsreihen mit der TMS ein stabiles, den bekannten Zeitverläufen folgendes Signal bei Stimulation des Motorkortex provozieren ließ, da somit trotz geringer lokaler Auflösung der NIRS die ROI für die nachfolgenden Untersuchungen klar definiert war.



↑ **Abbildung 12:** Oxygenierungsantwort gemittelt über  $n=18$  Probanden für Motorstimulation (20 s Kompression eines Schaumstoffballes, 20 s Pause). Mit NIRS gemessenes  $[\text{oxy-Hb}]$ =rot sowie  $[\text{deoxy-Hb}]$ =blau über der rechten Hemisphäre in C4 Position. Mittelpunkt des Optodenpads ca. 1cm vor C4 = Handareal des präzentralen Gyrius. Grauer Balken stellt die Dauer des Stimulus dar, Fehlerbalken die Standardfehler des Mittelwertes (engl. standard error of mean, SEM).

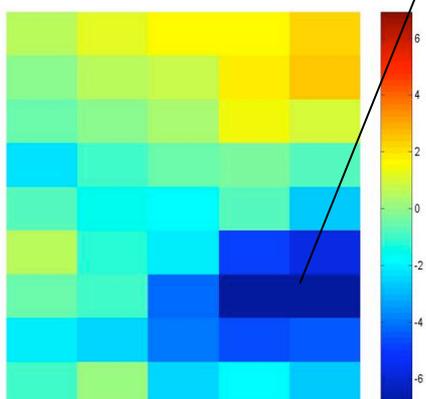
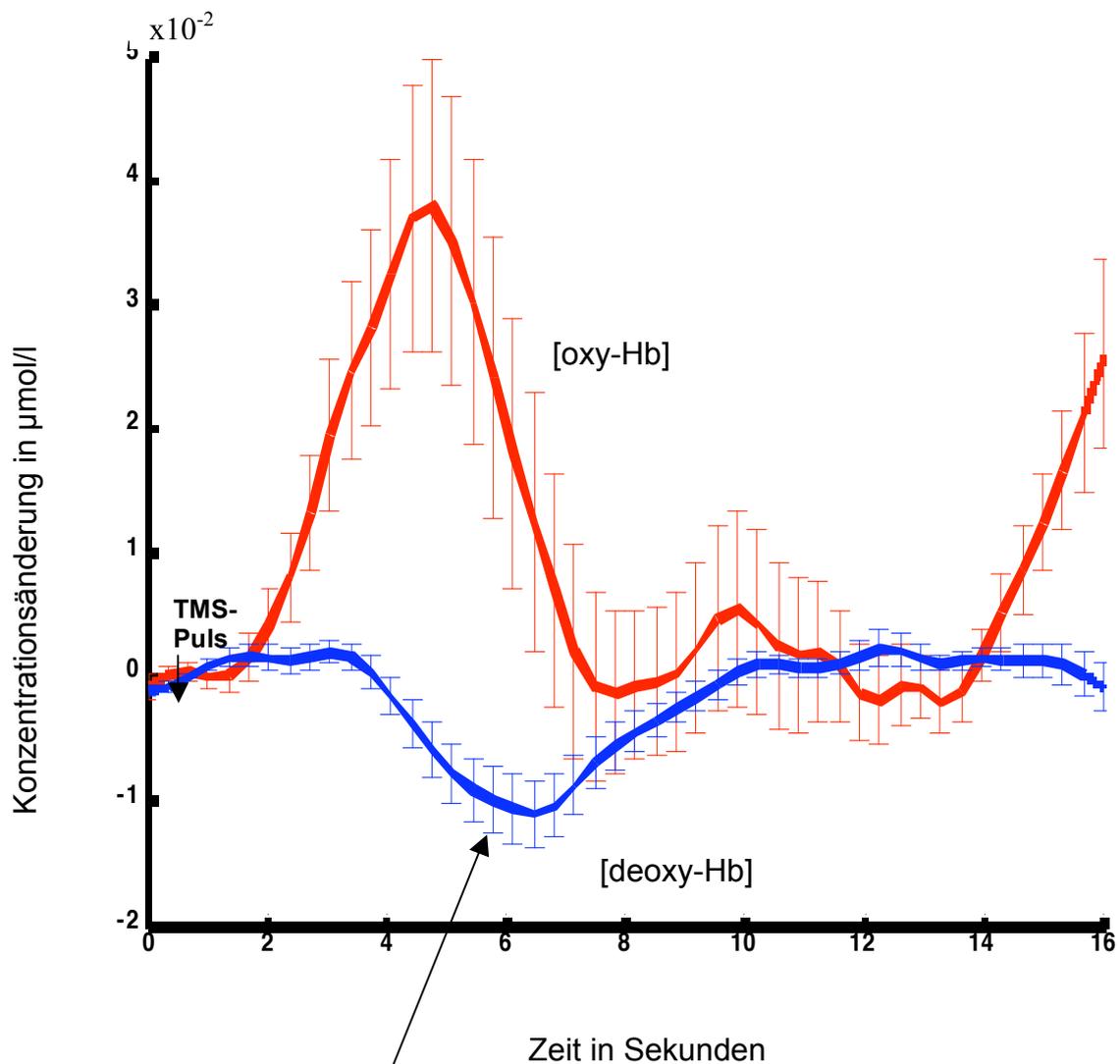
← t-Werte  $[\text{deoxy-Hb}]$

### 3.2 TMS ohne Vorinnervation

Die Inhibition von Pyramidenzellen mittels IHI, die sich durch einen relativ geringen exzitatorischen Antrieb auszeichneten, welcher nicht durch eine vorherige Motoraktivierung verändert war (engl. resting state) provozierte eine [deoxy-Hb]-Abnahme von 0,01  $\mu\text{mol/l}$  und eine [oxy-Hb]-Zunahme von 0,04  $\mu\text{mol/l}$  – im Sinne einer Hyperoxygenierung.

Der Effekt der eingangs untersuchten direkten Motoraktivierung war im Vergleich zur transkallosalen Inhibition von „ruhenden“ nicht präaktivierten Pyramidenzellen fünffach größer, wobei es sich hierbei natürlich um einen gänzlich unterschiedlichen Stimulus handelt.

Der Zeitverlauf gleicht dem der transkallosalen Inhibition mit vorheriger Aktivierung des Motorkortex (siehe folgender Abschnitt), die jeweiligen Maxima werden nach fünf Sekunden für [oxy-Hb] und sechs Sekunden für [deoxy-Hb] erreicht, die Ausgangswerte nach circa zehn Sekunden.



↑ **Abbildung 13:** Effekt der transkallösen Inhibition nach TMS ohne Vorinnervation (Motoraktivierung): Änderungen der Hb-Oxygenierung im Sinne einer Hyperoxygenierung: Zunahme von [oxy-Hb] um ca.  $0,04 \mu\text{mol/l}$ ; Abnahme von [deoxy-Hb] um ca.  $0,01 \mu\text{mol/l}$ . Fehlerbalken zeigen Standardfehler des Mittelwertes an. Ab ca. 14 Sekunden ist bereits der Effekt des nächsten Stimulus zu sehen.

← t-Werte [deoxy-Hb]

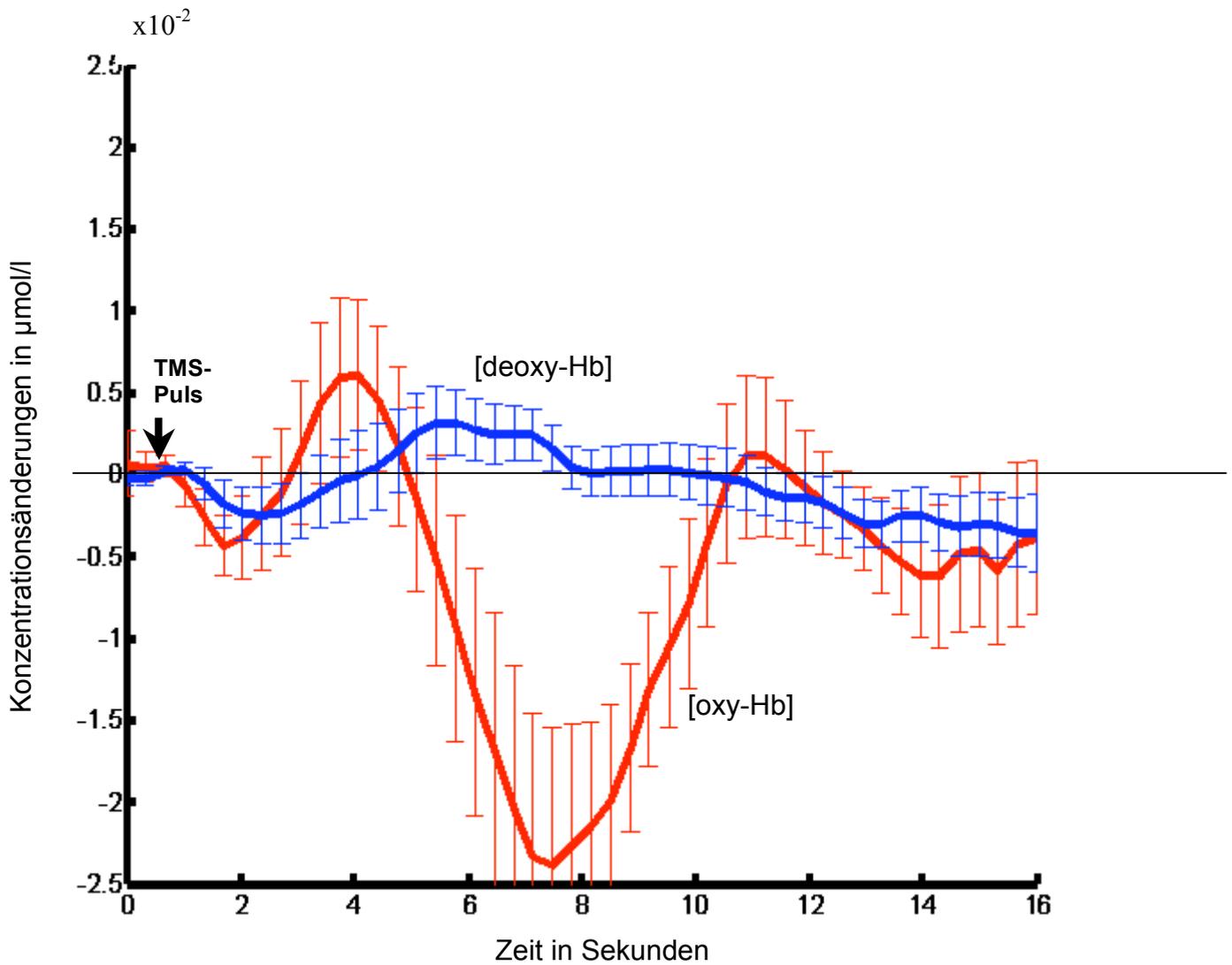
### 3.3 TMS mit Vorinnervation

Die Applikation der Single-Pulse TMS erfolgte pseudorandomisiert alle 8-12 s. Es wurden 80 Pulse evoziert. Das lange Inter-Stimulus-Intervall (ISI) begründet sich durch den typischen Zeitverlauf der Blutflussänderungen, nach der ein maximaler Anstieg/Abfall der Parameter [oxy-Hb/deoxy-Hb] mit einer Latenz von 8-10 s zu erwarten war. Die Probanden waren angehalten, dauerhaft eine tonische Kontraktion der linken Handmuskulatur mit mindestens 50% der Maximalkraft aufrechtzuerhalten. (Details siehe Methodik).

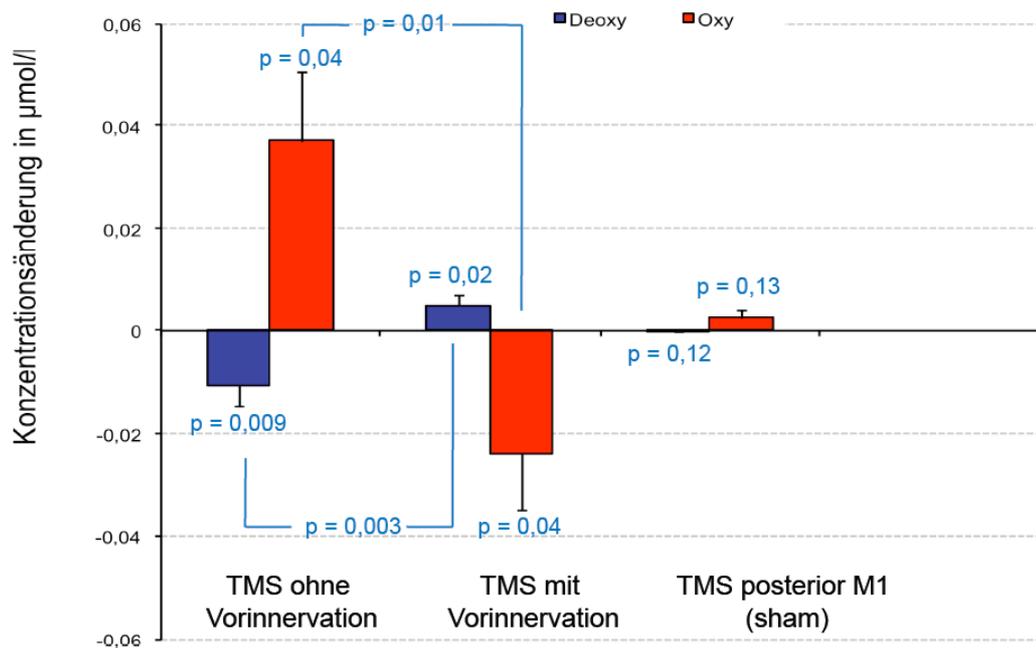
Im Gegensatz zu den beobachteten Oxygenierungsänderungen bei direkter Motorstimulation im Sinne einer klassischen Aktivierung kam es nach Applikation des TMS-Pulses via IHI im Kontext vorinnervierter Pyramidenzellen nach ca. sieben Sekunden zu einem maximalen [deoxy-Hb]-Anstieg von 0,003  $\mu\text{mol/l}$  und einem maximalen [oxy-Hb]-Abfall von 0,024  $\mu\text{mol/l}$ .

Circa zwei Sekunden nach Abgabe des TMS-Pulses findet sich zunächst eine geringe Abnahme von [oxy-Hb] gefolgt von einer Zunahme bis vier Sekunden post Stimulus. Diese wird nicht begleitet von einer (gleichzeitigen) Abnahme des [deoxy-Hb], so dass fraglich ist, ob es sich hierbei um ein stabiles hämodynamisches Signal handelt. Zudem sind die Signaländerungen nicht signifikant. Vielmehr kommt es *initial* ebenfalls zu einer nicht signifikanten [deoxy-Hb]-Abnahme bis es nach circa drei Sekunden zu einem Anstieg des [deoxy-Hb] mit einem Maximum nach circa sieben Sekunden kommt.

Nach elf Sekunden erreicht [oxy-Hb] den Ausgangswert, [deoxy-Hb] bereits nach circa acht Sekunden (siehe Abbildung 14).



**Abbildung 14:** Oxygenierungsänderungen bei TMS induzierter IHI im präaktivierten, vorinnervierten Motorkortex: Anstieg des [deoxy-Hb] = blaue Kurve um  $0,003 \mu\text{mol}$  nach ca. 6 s, Abfall des [oxy-Hb] = rote Kurve um  $0,024 \mu\text{mol}$  im Sinne einer Hypoxygenierung. Daten gemittelt über  $n= 18$  Probanden. Fehlerbalken zeigen Standardfehler des Mittelwertes an.

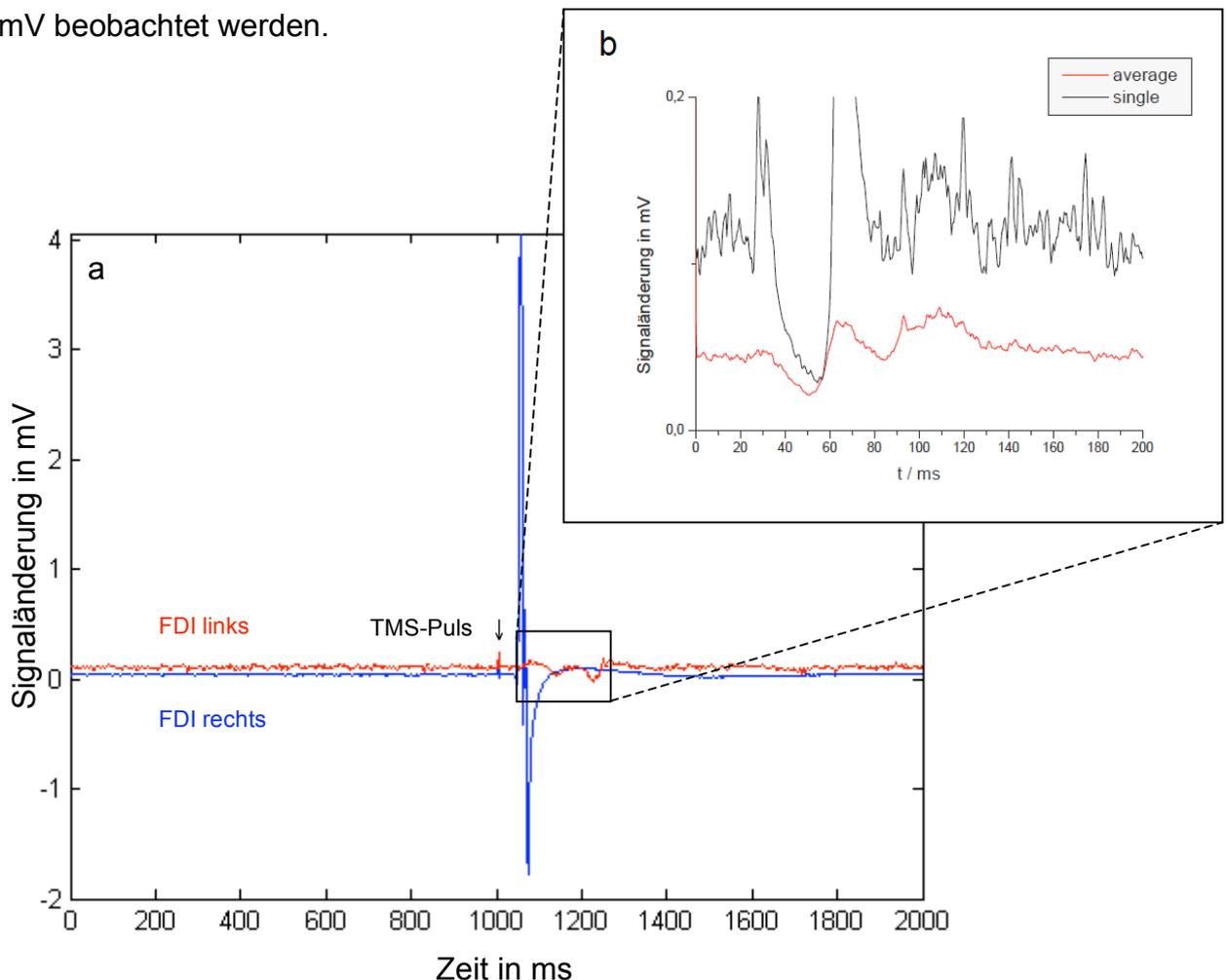


**Abbildung 15:** Diagramm zeigt die Änderungen der Konzentration von [deoxy-Hb] / [oxy-Hb], gemittelt über  $n=18$  für die drei Bedingungen: TMS ohne Vorinnervation, TMS mit Vorinnervation sowie Kontroll-Bedingung (engl. Sham). Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung (SEM) an, p-Werte wurden sowohl für die einzelnen Balken (gegen 0 bzw. baseline) als auch vergleichend für die beiden Hb-Subtypen der unterschiedlichen TMS-Paradigmen berechnet.

TMS induzierte Inhibition ohne Vorinnervation zeigt Änderungen im Sinne einer ‚Aktivierung‘: Zunahme von  $c[\text{oxy-Hb}]$ ; Abnahme von  $c[\text{deoxy-Hb}]$ . Im vorinnervierten Neuronenverband zeigt sich ein inverses Bild („Deaktivierung“): Zunahme von  $c[\text{deoxy-Hb}]$ ; Abnahme von  $c[\text{oxy-Hb}]$ . Ein TMS-Puls, der posterior des primär motorischen Kortex appliziert wurde (engl.: sham oder control condition) resultiert nicht in signifikanten Änderungen von  $c[\text{deoxy-Hb}]$  und  $c[\text{oxy-Hb}]$ .

### 3.4 EMG-Kontrolle

Das parallel zur NIRS-Antwort aufgezeichnete EMG diente dem elektrophysiologischen Nachweis der transkallosal vermittelten Inhibition (IHI). Es wurde mit Oberflächenelektroden über dem ersten M. interosseus dorsalis (FDI) abgeleitet. Das Signal wurde verstärkt, bei 5kHz digitalisiert und offline analysiert. Die Applikation eines TMS-Pulses über dem linken (primär)motorischen Kortex bewirkte via IHI des rechten motorischen Kortex eine kurzzeitige Hemmung des (tonisch kontrahierten) linken FDI. Mit einer Latenz von  $\sim 35$  ms konnte für die Dauer von ca. 20 ms ein Signalabfall von 0,15 mV beobachtet werden.

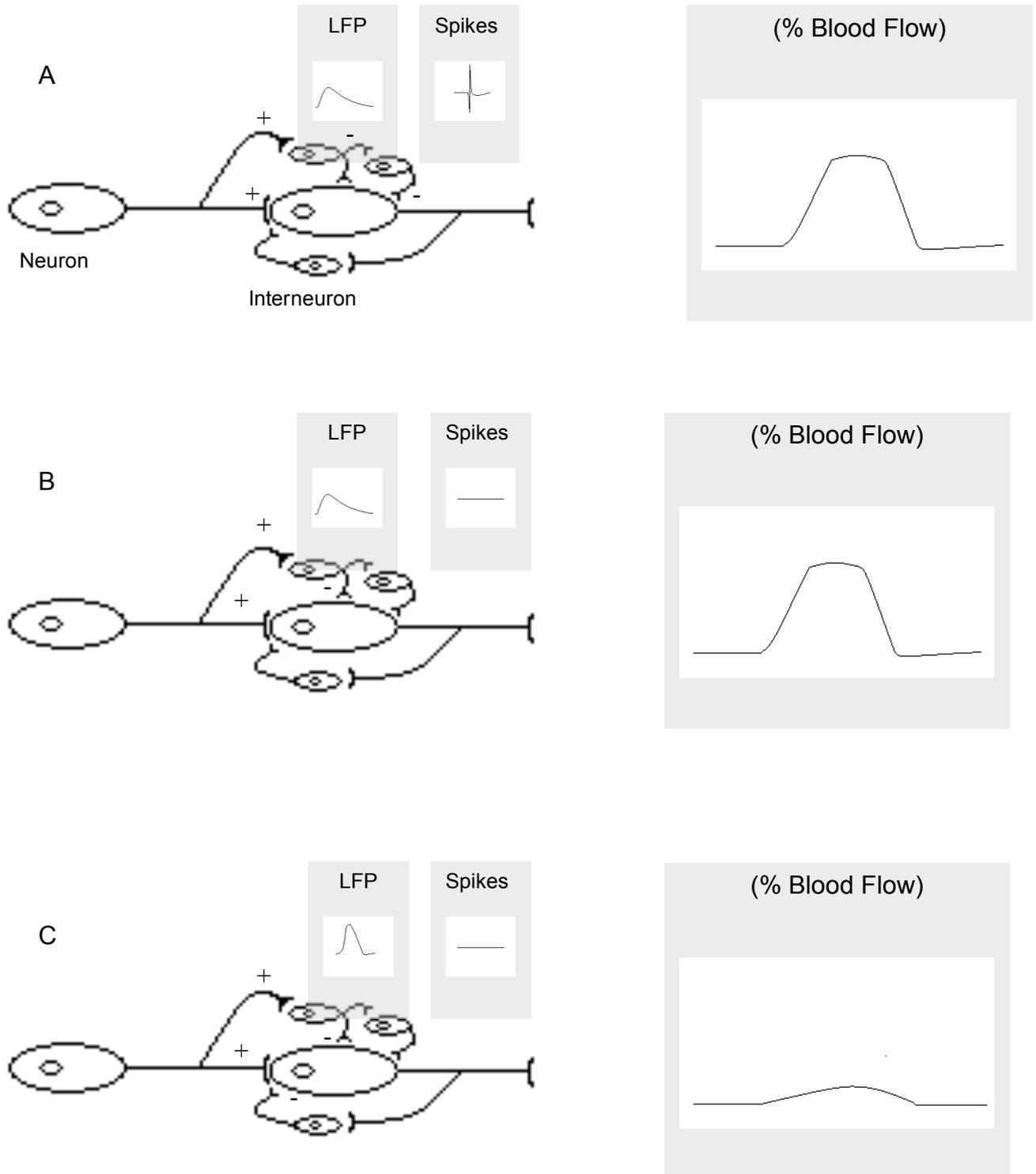


**Abbildung 16(a):** EMG – Antwort gemittelt über  $n=18$  Probanden. Roter Kanal: Ipsilateral (zur TMS-Spule), ergo linker FDI: Signalabfall im Sinne einer IHI nach 35 ms um ca. 0,15 mV. Blauer Kanal: Kontralateral (zur TMS-Spule), ergo rechter FDI: Motorisch evoziertes Potential (MEP) ca. 20 ms nach TMS-Stimulus **(b)** EMG-Signal 0-200 ms, vergrößerter Ausschnitt aus Abbildung 16a (Kurvenverlauf leicht verändert nach zusätzlicher Filterkorrektur). Schwarze Kurve (obere Kurve) stellt das Signal einer Probandin (engl. single), rote Kurve (untere Kurve) das für  $n=18$  gemittelte Signal (engl. average) dar.

## 4 Diskussion

Ein Anstieg neuronaler Aktivität ist mit einem Anstieg des kortikal-zerebralen Blutflusses gekoppelt und resultiert in einer Hyperoxygenierung des betreffenden Areals. Dieser Kopplungsmechanismus ist die physiologische Basis der eingangs erwähnten (indirekten) funktionellen Messmethoden. Die Beziehung von neuronaler Inhibition und vaskulärer Antwort hingegen ist unklar. Efferente synaptische Inhibition stellt als ein an Transmitter-Freisetzung gebundenes Geschehen einen Energie verbrauchenden Prozess dar (Nudo and Masterson, 1986). Andererseits erfordert die lokale Abnahme der Aktionspotentialrate (engl. spike rate) efferenter Neurone im inhibierten Neuronenverband weniger Energie, eine Reduzierung des Blutflusses, eine Hypoxygenierung ist somit ebenfalls denkbar (Wenzel, 2000).

Thema der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung der Frage, wie sich die Blutoxygenierungsantwort bei (elektrophysiologisch nachgewiesener) Inhibition eines efferenten Neuronenverbandes darstellt und wie sich der Kontext, in dem diese Inhibition stattfindet, auswirkt. In diesem Zusammenhang gilt es das Spike Potential, als Ausdruck des schnellen Outputs einer Neuronengruppe (~1 ms) sowie das Lokale Feldpotential (LFP) (~30 ms), Ausdruck der integrativen neuronalen Prozesse (exzitatorische und inhibitorische postsynaptische Potentiale, Oszillationen des Membranpotentials, etc.) mit den Änderungen des CBF zu korrelieren. Untersuchungen von Logothesis zeigen, dass eine Änderung beider Parameter mit Änderungen des BOLD-Kontrastes einhergehen können (Logothesis, 2001). Andere Arbeiten hingegen demonstrieren, dass Spike Potential und CBF nicht notwendigerweise verbunden sein müssen (Mathiesen, 1998). Bei Stimulation von Parallelfasern zeigen die Purkinjezellen als efferentes Neuron in der Interaktion mit inhibitorischen Interneuronen trotz einer Abnahme der Spike Potential Rate einen Anstieg des CBF. In diesem Fall reflektiert die CBF-Änderung die Signalverarbeitung der Interneurone und anderer (elektrophysiologischer) Prozesse (Mathiesen, 1998).



**Abbildung 17** (nach Iadecola, 2004): **A** Korrelation des CBF mit der Spiking-Rate, z.B. Aktivierungsparadigmen des somatomotorischen Kortex **B** Korrelation des CBF mit dem LFP z.B. Parallelfasersystem des Kleinhirns oder visuelles Systems. Das LFP kann sich jedoch unter bestimmten Bedingungen vom CBF dissoziieren: **C** Während der Stimulation von Kletterfasern des Kleinhirns werden GABA<sub>A</sub>-Agonisten appliziert, hierdurch wird die Inhibition verstärkt, LFP ist hierbei erhöht, die Flussantwort abgeschwächt.

Bei Untersuchungen am visuellen Kortex des Affen unter Berücksichtigung der Parameter Spike-Aktivität, LFP und BOLD konnte gezeigt werden, dass die BOLD-Kontrastzunahme, respektive die Abnahme des [deoxy-Hb] am besten mit dem LFP korreliert (Logothesis, 2001).

In einer fMRI Arbeit zur Änderung bei intrakortikaler Inhibition im Motorkortex konnte hingegen keine messbare Änderung des BOLD-Signals registriert werden (Waldvogel, 2000).

Bevor die im Rahmen dieser Arbeit erhobenen Daten diskutiert werden, soll noch einmal darauf hingewiesen werden, dass die Messparameter anderer vaskulär basierter funktioneller Methoden mit denen der NIRS korrelieren: Simultane NIRS und BOLD-fMRT Messungen zeigen einen stimulationskorrelierten [deoxy-Hb]-Abfall im Bereich des maximalen cerebralen BOLD-Kontrast Anstiegs (Strangman, 2002; Kleinschmidt, 1996). Änderungen des rCBF, messbar durch H<sub>2</sub>O-PET, zeigen eine gute Korrelation mit [tot-Hb]-Änderungen, einem Parameter der NIRS (Villringer, 1997).

#### **4.1 Änderungen bei Aktivierung – Direkte Stimulation des Motorkortex als Vergleich**

Wie im Abschnitt Neurovaskuläre Kopplung skizziert, lassen sich Areale als aktiviert definieren, wenn sie einen Anstieg des regionalen Blutflusses (rCBF) oder des Metabolismus (lokaler Glucoseverbrauch) zeigen. Der beobachtete Abfall des [deoxy-Hb] wird hierbei als Ausdruck eines disproportional großen Anstieges des rCBF bei nur geringem Anstieg des lokalen Sauerstoffverbrauches (rCMRO<sub>2</sub>) verstanden (Fox and Raichle, 1986). Dieses als Hyperoxygenierung bezeichnete Phänomen, sowie der typische Zeitgang der vaskulären Antwort konnten in den zur Lokalisation sowie als Kontrollparameter erhobenen Messungen bei direkter Aktivierung des motorischen Kortex reproduziert werden (siehe Abbildung 12, Seite 43).

Aktivierungsabhängige Änderungen des CBF sind das Ergebnis eines komplexen Zusammenspiels zwischen perivaskulären Neuronen, Astrozyten, endothelialen Zellen (Faraci, 1998) sowie den glatten Muskelzellen der Gefäße. Getriggert durch synaptische Aktivität tragen eine Vielzahl von Faktoren (vasodilatatorisch wirksames

NO (Akgören; Li, 1994; Dirnagl, 1993), Prostacyclin, ATP-getriggertes Adenosin, Glutamat, P2Y, IP3 provoziertes intraastrozellulärer  $Ca^{2+}$ -Anstieg, etc.) zum Anstieg des Blutflusses im aktivierten Areal bei. Dieses lokal generierte Signal muss darüber hinaus die „upstream“ gelegenen extrazerebralen pialen Gefäßabschnitte erreichen um dort eine adäquate Reaktion auf die veränderten Erregungszustände im kapillären Abschnitt zu ermöglichen (Busse, 2003; Übersicht siehe Iadecola, 2004).

Neurovaskuläre Signalverarbeitung ist somit das integrative Resultat aus: lokalen Regelkreisen, zellulärer und vaskulärer Architektur des Areals sowie, besonders im Zusammenhang mit den hier demonstrierten Ergebnissen, des Verhältnisses von inhibitorischen und exzitatorisch wirkenden lokalen Verbindungen.

Verschiedene Modelle sind hierbei denkbar und sollen im Folgenden unter Berücksichtigung der beobachteten Konzentrationsänderungen des [deoxy-Hb] sowie des [oxy-Hb] diskutiert werden.

#### **4.2 Änderung der Oxygenierung bei Inhibition – TMS mit Vorinnervation vs. Ruhekondition**

Der Effekt einer Inhibition auf die zerebrale Blutoxygenierung (CBO) unter Bedingungen, die sich durch einen niedrigen Aktivierungszustand auszeichnen, (beide Hände wurden entspannt neben den Körper gelegt) ist mit dem der neuronalen Exzitation (Motor Stimulation) zu vergleichen. Es resultierte ein signifikanter Anstieg des [oxy-Hb] sowie ein Abfall des [deoxy-Hb] im inhibierten Areal (Abb. 13).

Im vorinnervierten Motorkortex hingegen (Probanden kontrahierten willkürlich die Handmuskulatur) zeigte sich ein gegenteiliger Effekt des TMS Pulses auf die lokale Oxygenierung: ein Anstieg des [deoxy-Hb] sowie eine Abnahme des [oxy-Hb] stellten sich dar im Sinne einer Hypoxygenierung (Abb. 14).

Im ersten Teil der Arbeit konnte demnach gezeigt werden, dass die efferente Inhibition von Pyramidenzellen des humanen motorischen Kortex eine lokale Hyperoxygenierung provozieren kann. Von der Annahme ausgehend, dass eine solche fokale Änderung mit einem Anstieg des regionalen Blutflusses korreliert, stehen die hier beschriebenen Ergebnisse in Einklang mit den Ergebnissen am cerebellären Kortex der Ratte (Mathiesen, 1999) und sind als Ausdruck eines gesteigerten metabolischen Bedarfs

plausibel (Ackermann, 1984; Waldvogel, 2000). Eine Unterscheidung zwischen gesteigerter Aktivität kortikaler GABAerger Interneurone oder inhibitorisch synaptischer Transmission als zugrunde liegendem Mechanismus gelingt mit dem in dieser Arbeit angewandten Studiendesign allerdings nicht. Alternativ zum metabolischen Ansatz ist auch die neuronale Regulation des vaskulären Sphinctertonus oder die Dilatation der Gefäße via GABAerger Interneurone zu diskutieren (Cauli, 2004).

Das im zweiten experimentellen Paradigma durch Willkürkontraktion preaktivierte motorische Areal erhält einen prämotorisch, somatosensorisch sowie thalamisch exzitatorischen Input, so dass sich die synaptische Aktivität vor TMS-Stimulation auf einem hohen Niveau befindet. Der Effekt der transkallosalen Inhibition der Pyramidenzellen in diesem Zusammenhang ist eine Reduktion der zerebralen Oxygenierung (Hypooxygenierung) im Areal.

Die Richtung der Oxygenierungsantwort ist somit abhängig vom exzitatorischen Aktivitätsniveau der lokalen Neurone und der Intensität neuronaler Verarbeitung vor der Inhibition. Die vaskuläre Antwort ist kontext-sensitiv.

Theoretische Modelle unter Berücksichtigung des metabolischen Verbrauchs demonstrieren, dass neuronale Inhibition einen Anstieg des BOLD-Signals provozieren kann, wenn das Areal keinem exzitatorischem Einfluss unterliegt und vice versa ein Rückgang des BOLD-Signals beobachtet werden kann, wenn das Areal einem aktivierenden Einfluss ausgesetzt ist (Tagametz, 2001). Ein experimenteller Beweis am Menschen fehlt jedoch bisher.

Weitere wichtige Ergebnisse liefert die Arbeit von Shmuel et al. aus dem Jahr 2002 zur Untersuchung des negativen BOLD-Kontrastes (engl. negative BOLD response, NBR) am occipitalen Kortex des Menschen. Hierbei muss es zu einer Zunahme von [deoxy-Hb] im untersuchten Areal kommen, die Autoren differenzieren drei mögliche Szenarien die zu einer NBR führen könnten: 1. Es findet eine ‚Aktivierung‘ statt, die  $CMRO_2$  steigt, der CBF bleibt konstant (in verschiedene Studien als initial dip phenomen bezeichnet). 2. Der CBF sinkt nicht lokal, sondern in den Aktivitäts-fernen Arealen (vascular blood steal) unabhängig von den lokalen Änderungen des CBF. 3. Es findet eine Reduktion der neuronalen Aktivität statt, es handelt sich um eine aktive Senkung des CBF im untersuchten Areal.

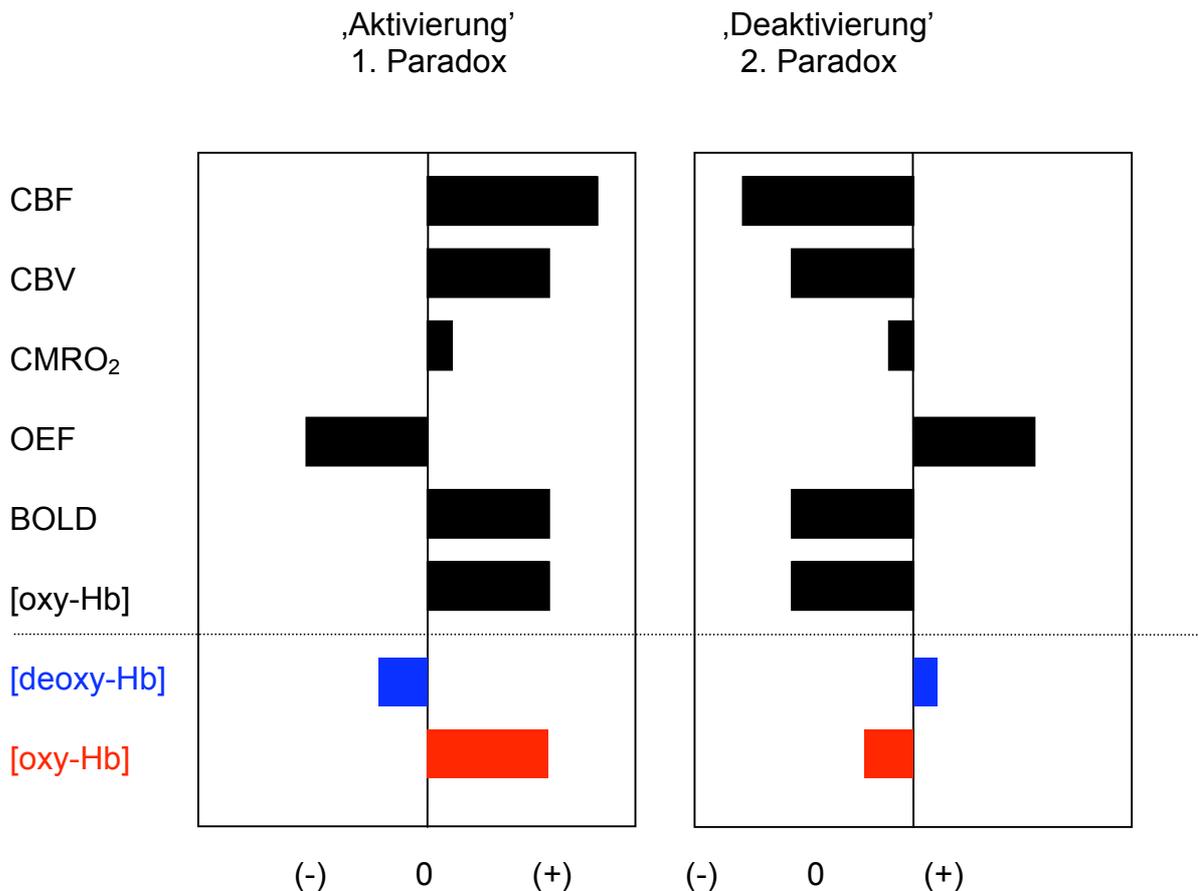
Die Autoren finden einen kombinierten Effekt: Es kommt zu einer Abnahme des rCBF und einer Abnahme des CMRO<sub>2</sub>. Shmuel et al. schlussfolgern eine ‚neuronalen Deaktivierung‘, welche die Ursache der Abnahme des CMRO<sub>2</sub> ist, diese soll wiederum die Abnahme des rCBF triggern

Man muss kritisch anmerken, dass es sich hierbei nicht um ein klar definiertes Modell handelt, die Ergebnisse bleiben phänomenologisch, ein Unterschied zwischen Deaktivierung oder direkter Inhibition findet nicht statt. In einer weiteren Arbeit am visuellen Kortex des Affen, wird zwar die beobachtete NBR mit elektrophysiologischen Parametern korreliert (LFP, Spike rate), im Unterschied zu Mathiesen wird jedoch auch in dieser mehr elektrophysiologisch fokussierten Arbeit kein klarer neuronaler Regelkreis, kein circuit mit definiertem Input/Output vorgestellt (Shmuel, 2007).

Andere Gruppen nutzen die PET um verschiedene neuronale Aktivierungszustände zu definieren, so führen Raichle et al. die Sauerstoff-Extraktions-Fraktion (engl. oxygen extraction fraction, OEF) als validen Parameter zur Bestimmung des Erregungszustandes verschiedener Hirnareale vor. Dieses Verhältnis von Sauerstoffbereitstellung und tatsächlicher Extraktion kann mittels PET quantifiziert werden. In ihrer Arbeit unterscheiden die Autoren einen Aktivierungszustand (engl. task state) und einen Ruhezustand (engl. control state bzw. baseline/default state), in welchem die Probanden ruhig, mit geschlossenen Augen auf dem Untersuchungstisch lagen (Raichle, 2001).

Die Inhibition des nicht vorinnervierten Motorkortex in unserer Arbeit provoziert jedoch Oxygenierungsänderungen, die einem durch die koppelnden Verfahren als ‚Aktivierung‘ bezeichneten Zustand entsprechen, die OEF würde hierbei eine Abnahme verzeichnen. Dieses Ergebnis bezeichnen wir als 1. Paradox.

Das Signalverhalten der CBO des **vorinnervierten** somatomotorischen Kortex offenbart das zweite Paradox: Anhand der CBO bzw. des CBF kann nicht unterschieden werden, ob eine Deaktivierung, im Sinne einer Abnahme von Exzitation vorliegt oder ob es sich um eine Inhibition eines Areals mit hohem exzitatorischen drive handelt.



**Abbildung 18** (in Anlehnung an Raichle): Metabolische und vaskuläre Effekte bei ‚Aktivierung‘ und ‚Deaktivierung‘ ausgehend von einem niedrigen Erregungs-Niveau (baseline) (0 auf der y-Koordinate).

Unterhalb der gestrichelten Linie sind die Oxygenierungsänderungen der zwei Paradigma dieser Arbeit dargestellt: ‚Aktivierung‘ → TMS vermittelte IHI des motorischen Kortex ohne Vorinnervation; ‚Deaktivierung‘ → TMS vermittelte IHI mit Vorinnervation.

Eine Aktivierung (links) ist von den bekannten Änderungen des Blutflusses (CBF) und des Volumens (CBV) begleitet, sowie (wesentlich geringeren) Veränderungen der zerebralen Sauerstoff-Metabolisierungsrate (CMRO<sub>2</sub>). Es resultiert eine Abnahme der oxygen extraction fraction (OEF) und eine Zunahme des BOLD-Signals bzw. eine Abnahme des [deoxy-Hb]. Ein qualitativ gleiches Ergebnis sehen wir jedoch bei einer Inhibition der efferenten Neuronenpopulation, in diesem Fall der motorischen Pyramidenbahnzellen, mit einer Verminderung ihres exzitatorischen Effektes (1. Paradox)

Deaktivierung: Hierbei wird der CBF stärker reduziert als die Minderung der CMRO<sub>2</sub>, entsprechend wird die OEF größer. Ein qualitativ gleiches Ergebnis sehen wir in unserem 2. Paradigma, hierbei allerdings handelt es sich nicht um eine klassische Deaktivierung im Sinne einer Senkung des exzitatorischen Niveaus (control state), sondern um eine Inhibition eines sich auf einem hohen exzitatorischen Niveau befindlichen Kortexareals (2. Paradox).

In einem pharmakologischen Modell der Hemmung GABAerger Interneurone via Bicucullin oder Picrotoxin am cerebellären Kortex der Ratte (Disinhibition) konnte im Einklang mit dem von uns beobachteten Ergebnis, dass die Oxygenierungsänderung nicht mit der Exzitation der Effektorzelle korrelieren, gezeigt werden, dass der rCBF unabhängig ist von einer gesteigerten Spike-Aktivität der Purkinjezelle (Thomsen 2004).

In einem Modell der neuronalen Deaktivierung im Sinne eines verminderten exzitatorischen Zuflusses untersuchten Gold und Lauritzen in einer tierexperimentellen Arbeit den Effekt der gekreuzten cerebellären Diaschisis (engl. crossed cerebellar diaschisis, CCD) auf den CBF und die spiking-Rate (Gold, 2002). Diaschisis bezeichnet das Phänomen, dass auch Hirnareale, die nicht direkt von einem z.B. ischämischen Ereignis betroffen sind, eine Abnahme des Metabolismus und des CBF aufweisen (in diesem Fall wurde der Effekt einer Ischämie des cerebralen Kortex (hier besonders frontale Anteile) auf die cerebellären Purkinjezellen untersucht). Eine verminderte Erregbarkeit der cerebellären Purkinjezellen wurde durch die direkte Stimulation via Kletterfasern ausgeschlossen, so dass die Effekte der CCD einer neuronalen Deaktivierung entsprechen. Hierbei zeigte sich eine 3-7fach größere Abnahme der spiking-Rate als des CBF. Die Autoren schlussfolgern, dass in diesem Fall z.B. PET basierte Arbeiten aufgrund der nur moderaten Veränderungen des Blutflusses die neuronale Deaktivierung unterschätzen würden. Auch scheint der größere Anteil der Regulierung des CBF nicht von der elektrischen Aktivität abzuhängen.

Insgesamt existieren wenige Arbeiten zu kombinierten TMS/NIRS Messungen am humanen somatomotorischen Kortex. Mochizuki untersuchte den Effekt der single-pulse TMS auf die Oxygenierungsänderungen des **ipsilateralen** Motorkortex mittels NIRS. Was die Vergleichbarkeit angeht muss also einschränkend konstatiert werden, dass es sich hierbei um den direkten Effekt der TMS auf die ipsilateralen, unter der Spule stattfindenden Oxygenierungsänderungen handelt. Es wurde nicht die IHI sondern die postexzitatorische Inhibition, ein ipsilaterales Phänomen untersucht. Das Studiendesign sah ebenfalls einen active-state (Kontraktion der Handmuskulatur) und einen resting-state vor. Es zeigte sich bei Applikation eines TMS-Pulses niedrigerer Intensität im active-state ein [oxy-Hb]-Anstieg im Sinne einer (physiologischen) Aktivierung.

Bei höheren Reizintensitäten konnte dieser Effekt nicht demonstriert werden, hier scheint die durch die TMS provozierte postexitatorische Inhibition bzw. unphysiologisch hohe Reizintensität den Effekt der Aktivierung zu überbieten.

Im resting-state zeigte sich nach Applikation eines intensivierten TMS-Pulses eine [deoxy]-Hb Abnahme, [tot-Hb] ebenfalls signifikant vermindert, [oxy-Hb] hingegen unverändert. Die Grund-Entladungsrate der Pyramidenzellen des corticospinalen Traktes ist relativ hoch, so dass die Autoren schlussfolgern, dass der intensivierte TMS-Stimulus eine länger andauernde postsynaptische Reduktion der Entladungsrate der corticospinalen Neurone induzierte (postexitatorische Inhibition, siehe Kapitel TMS und Inhibition) mit konsekutiver Abnahme des CBF (Mochizuki, 2005).

Kritisch muss hier bemerkt werden, dass eine Vergleichbarkeit aufgrund der unterschiedlichen Paradigmen (IHI versus postexitatorische Inhibition) schwierig ist und es sich bei den Oxygenierungsänderungen möglicherweise um ein Mischbild der Inhibition und Exzitation aufgrund der trägen Antwort des Blutflussignals handelt. Auch ein direkter Effekt der TMS auf die Gefäßmuskulatur ist denkbar.

Eine weitere Arbeit aus der gleichen Gruppe untersuchte die Oxygenierungsänderungen im kontralateralen primär motorischen (M1), prämotorischen (PM) und primär sensorischen (S1) Kortex bei einer theta-burst Stimulation mittels TMS (triple-pulse burst (50 Hz), repetitive Stimulation alle 200 ms für 2 s).

Hierbei zeigte die transkallosal vermittelte Inhibition Oxygenierungsänderungen im Sinne einer klassischen Deaktivierung mit einem [deoxy-Hb]-Anstieg und einer [oxy-Hb]-Reduktion. (Mochizuki, 2007). Unsere Ergebnisse zeigen hingegen in dem Paradigma ohne Vorinnervation Oxygenierungsänderungen im Sinne einer Aktivierung.

Es muss jedoch einschränkend berücksichtigt werden, dass die von uns verwendete single pulse TMS nicht mit der theta burst TMS zu vergleichen ist, bei dieser spielen andere auch ipsilateral vermittelte Phänomene (lang andauernde Inhibition, Faszillation, etc.) eine Rolle. Interessante Ergebnisse findet die Gruppe um Bestmann in einem kombinierten fMRI/(repetitiven)-TMS Modell (Bestmann, 2004). Zunächst weisen sie sowohl für TMS-Pulse die eine Aktivierung der corticospinalen Bahnen generieren, welche also in einer Muskelkontraktur resultieren (suprathreshold) als auch für solche Reize, die keine Muskelkontraktur bewirken (subthreshold) ein ausgedehntes Netzwerk

an kortikalen und subkortikalen motorischen Bahnen nach. Bei der unterschwellig (subthreshold) Stimulation des primären motorischen Kortex finden sie allerdings keine Änderungen des BOLD-MRI Signals. Auch für diese subthreshold Stimulation ist jedoch die Induktion einer trans synaptischen Exzitation belegt (Di Lazzaro, 1998). Die Frage ist nun, warum diese sich nicht in der BOLD-MRI Antwort wiederfindet. Die Autoren spekulieren, dass die hämodynamische Antwort möglicherweise nicht groß genug ist, um als Differenz zur physiologischen Grundaktivität (background noise) registriert werden zu können. Alternativ sind andere hämodynamische Antworten auf diesen subthreshold Stimulus denkbar, welche nicht mit einer BOLD-Signal Änderung einhergehen. Dies stände im Einklang mit den oben genannten Ergebnissen von Lauritzen und Mathiesen, die eine nicht lineare neurovaskuläre Kopplung beschreiben.

In unseren Ergebnissen zeigen sich solche hämodynamischen Antwortmuster: In den vorinnervierten Kortexarealen (hoher exzitatorischer drive) kommt es durch eine direkte Inhibition (IHI) zu einem Muster das einer Deaktivierung entspricht. Der [deoxy-Hb]-Anstieg könnte hierbei höchstens als negative BOLD response detektiert werden.

Ein interessanter Ausblick wäre in diesem Zusammenhang die Erweiterung unserer Untersuchungen um verschiedene TMS-Paradigmen (repetitive Stimulation, etc.) sowie die parallele Dokumentation eines EEG.

## 5 Zusammenfassung

Die Zunahme neuronaler exzitatorischer Aktivität geht mit einem Anstieg des regionalen kortikalen Blutflusses einher. Dieser Anstieg bewirkt, verschiedene interpretatorische Ansätze zulassend, im Ergebnis eine lokale Hyperoxygenierung (Fox and Raichle, 1986). Entsprechend wird in Studien die auf indirekten Methoden beruhen, wie z.B. der fMRI, der BOLD-Kontrast als ein Surrogatparameter neuronaler Aktivität akzeptiert, in dem Sinne als dass ein BOLD-Kontrast Anstieg, der im wesentlichen auf einem Abfall des [deoxy-Hb] beruht, als ein Anstieg neuronaler Aktivität interpretiert und gleichgesetzt wird.

Weithin unbekannt hingegen ist der Einfluss neuronaler Inhibition auf den lokalen Blutfluss. Auf der einen Seite stellt efferente synaptische Inhibition als Transmitter vermittelter Prozess sicher einen Energie verbrauchenden Prozess dar und lässt einen Anstieg des zerebralen Metabolismus sowie des Blutflusses plausibel erscheinen. Sowohl GABAerg als auch GLYCINerg vermittelte Inhibition zeigte einen Anstieg des regionalen Energiebedarfs und des Glucoseverbrauches (Ackermann, 1984; Nudo und Masterton, 1984). Ausgehend von der Annahme einer parallelen Kopplung des Energieverbrauches und der CBF-Änderung ist somit möglicherweise ein Anstieg des Blutflusses zu erwarten, entsprechend eine Abnahme des [deoxy-Hb] und ein Anstieg des BOLD- Kontrastes.

Auf der anderen Seite reduziert neuronale Inhibition die Spike Rate efferenter Neurone, so dass Energieverbrauch und Fluss in diesem lokalen Netz ebenfalls reduziert werden müssten. Die Untersuchung dieser möglichen hypothetischen Modelle ist essentiell für das Verständnis der funktionellen Messmethoden (z.B. BOLD-Kontrast des fMRI), deren Parameter direkt mit dem Verhalten des Blutflusses und ‚nur‘ indirekt mit den zugrunde liegenden neuronalen Prozessen gekoppelt sind und trotzdem gemeinhin als ‚Aktivierung‘ und ‚Deaktivierung‘ bezeichnet werden.

Es ist demzufolge nicht trivial, exzitatorische oder inhibitorische neuronale Aktivität aus dem Anstieg oder der Abnahme des lokalen CBF oder des BOLD-Kontrastes abzuleiten, auch wenn generell akzeptiert ist, dass sie mit Änderungen des LFP und der evozierten Potenziale korreliert sind. Untersuchungen, die den Einfluss der Inhibition auf das BOLD-Signal untersuchen, zeigen inkongruente Ergebnisse: während eine

Studie am Menschen in einem inhibitorischen Stimulationsparadigma keine messbaren Änderungen des BOLD-Kontrastes zeigte (Waldvogel, 2000), wurde im cerebellären Kortex der Ratte eine Zunahme des CBF bei gleichzeitiger Minderung der neuronalen spike Aktivität des efferenten Neurons via inhibitorischer Interneurone registriert (Mathiesen, 1998).

Zur Untersuchung der fundamentalen Frage, wie efferente Inhibition die lokale Blutoxygenierung (CBO) beeinflusst, benutzten wir in dieser Arbeit das Modell der transkallosalen Inhibition des menschlichen Motorkortex, provoziert durch kontralaterale Magnetstimulation (TMS). Die Änderungen der CBO wurden mit einem NIRS-Imaging System über dem primären Motorkortex rechts (C4 nach dem 10-20 System) aufgezeichnet. Interhemisphärische Inhibition (IHI) diente als Modell eines neuronalen inhibitorischen Prozesses.

IHI stellt einen Effekt auf die Exzitationsfähigkeit des primären Motorkortex dar und wird nach Applikation eines TMS-Pulses über dem kontralateralen Motorareal (C3) über transkallosal projizierende Fasern vermittelt, die durch eine Aktivierung lokaler GABAerger Interneurone eine Inhibition des Motorkortex provozieren (Meyer, 1995).

Der Effekt der IHI auf die CBO während verschiedener Erregungszustände des Motorkortex wurde untersucht: Zunächst der Effekt efferenter Inhibition auf den Motorkortex, der sich durch eine niedrige exzitatorische Grundaktivität auszeichnete. Die Probanden wurden angehalten, ihre Arme entspannt auf der Krankenliege zu platzieren, IHI im ipsilateralen Motorkortex (C4) wurde durch pseudorandomisierte Single-Pulse-TMS über dem kontralateralen Motorareal (C3) generiert. Hierbei zeigten sich ein signifikanter Anstieg von oxygeniertem Hämoglobin [oxy-Hb] und eine Abnahme des desoxygenierten Hämoglobin [deoxy-Hb].

Diese Veränderungen lokaler cerebraler Oxygenierung entsprechen in ihrem charakteristischen zeitlichen Verlauf qualitativ denen, die mit den koppelnden Verfahren klassischerweise bei einer neuronalen Exzitation gemessen werden können. Durch die Minderung des [deoxy-Hb] resultierte entsprechend ein positives BOLD-Signal in der fMRI. Damit ergibt sich ein mögliches Paradoxon der indirekten Messmethoden, da in diesem Paradigma nicht sicher zwischen einer Inhibition und Exzitation unterschieden werden könnte.

Die Beobachtung der fokalen Hyperoxygenierung bei IHI während der Ruhekondition (niedriger exzitatorischer drive) steht im Einklang mit der Forderung, dass Inhibition einen Energie verbrauchenden Prozess darstellt und somit CBO Änderungen, die einer ‚Aktivierung‘ gleichen, zu erwarten sind (Ackermann, 1984; Nudo and Masterton, 1984).

Die Frage, ob ein hohes exzitatorisches Erregungsniveau des Motorkortex den Effekt der IHI auf die CBO beeinflusst, wurde anschließend getestet. Die Probanden kontrahierten tonisch die Handmuskeln ipsilateral zur Stimulation während IHI provoziert wurde. Die corticospinale Inhibition wurde als ‚silent period‘ im ipsilateralen Oberflächen-EMG registriert. IHI führte in diesem Zusammenhang zu einer gespiegelten CBO-Antwort: Es resultierte ein Anstieg von [deoxy-Hb] sowie eine Abnahme von [oxy-Hb]. Dieses Muster wird in der Literatur gemeinhin als ‚Deaktivierung‘ bezeichnet und als verminderte Exzitation des Areals interpretiert. Dieses kann als mögliches 2. Paradoxon interpretiert werden, da der Effekt einer direkten Inhibition eines Areals mit hohem exzitatorischen Erregungsniveau nicht von einer neuronalen Deaktivierung im Sinne eines verminderten exzitatorischen inputs (eventuell bedingt durch eine Inhibition eines entfernten Areals) unterschieden werden kann. Ob es sich bei den beobachteten Phänomenen um eine gesteigerte Aktivität GABAerger Interneurone oder den Effekt inhibitorischer synaptischer Transmission handelt, kann mit dem in dieser Arbeit angewandten Studiendesign nicht differenziert werden.

Unspezifische Effekte wurden ausgeschlossen. Bei TMS-Stimulation posterior des vorab definierten Motorareals (engl. control oder sham condition) ergaben sich keine signifikanten CBO-Änderungen im kontralateralen Motorkortex.

Die Ergebnisse dieser Arbeit unterstützen die Ansicht, dass die cerebrale Blutoxygenierung und somit der lokale cerebrale Blutfluss abhängig ist vom afferenten Eingangssignal eines lokalen neuronalen Netzes und den intrakortikalen Prozessen in diesem und nicht die Aktivität der efferenten Neurone wiedergibt.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Blutoxygenierung nicht korreliert mit dem Signal der efferenten Effektorzelle und es zudem eine Kontextsensitivität im Sinne einer Abhängigkeit vom Erregungsniveau des inhibierten Areals gibt.

## 6 Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen und Einheiten

A/D	Analog/Digital
Bit	binary unit
BOLD	Blood Oxygen Level Dependency
CBO	Cerebral Blood Oxygenation = Zerebrale Blutoxygenierung
CBF	Cerebral Blood Flow = Zerebraler Blutfluß
CBV	Cerebral Blood Volume = Zerebrales Blutvolumen
CMRO <sub>2</sub>	Cerebral metabolic rate for oxygen = Metabolisierungsrate des Sauerstoffs
cw	continuous wave
DPF	differential pathlength factor = Pfadlängenfaktor
EEG	Elektroenzephalographie
FDI	First dorsalis interosseus = Musculus interosseus dorsalis I
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie
fMRI	functional magnet resonance imaging
MEG	Magnetenzephalographie
MRT	Magnetresonanztomographie
NBR	negative BOLD response
NIRS	Nahinfrarotspektroskopie
LED	light emitting diode
LFP	local field potential = lokales Feldpotential
OEF	Oxygen extraction fraction = Fraktion des extrahierten Sauerstoffs
PET	Positronenemissionstomographie
tot-Hb	total Hemoglobin = Gesamthämoglobin
[deoxy-Hb]	desoxygeniertes Hämoglobin
[oxy-Hb]	oxgeniertes Hämoglobin
s	Sekunde
cm	Zentimeter
Hz	Hertz
ms	Millisekunde
mm	Millimeter
mV	Millivolt
nm	Nanometer
µa	Absorptionskoeffizient
µm	Mikrometer
µs	Streukoeffizient

## 7 Verzeichnis der Abbildungen

Abb. 1:	Grundprinzip der TMS .....	19
Abb. 2:	Zugang zur Funktion von unterschiedlichen neuronalen Systemen des primären motorischen Kortex mit der TMS.....	21
Abb. 3:	Absorption und Streuung im Küvettenmodell .....	25
Abb. 4:	Absorptionsspektren von [deoxy-Hb], [oxy-Hb] und H <sub>2</sub> O .....	26
Abb. 5:	Messvolumina der NIRS bei verschiedenen SDA .....	28
Abb. 6:	NIRS-Imaging-System .....	30
Abb. 7:	Aufbau und funktionelle Organisation des Motorkortex .....	34
Abb. 8:	Schema des Versuchaufbaus .....	36
Abb. 9:	Foto des Versuchaufbaus .....	37
Abb. 10:	Prinzip der Datenanalyse .....	39
Abb. 11:	Sender Detektor Kombinationen und Messvolumina des NIRS-Imager-Pads.....	40
Abb. 12:	Oxygenierungsantwort bei Aktivierung des Motorkortex.....	44
Abb. 13:	Oxygenierungsantwort bei TMS induzierter IHI ohne Vorinnervation .....	46
Abb. 14:	Oxygenierungsantwort bei TMS induzierter IHI mit Vorinnervation .....	48
Abb. 15:	Diagramm der Oxygenierungsänderungen für unterschiedliche Bedingungen ...	49
Abb. 16:	EMG-Antwort .....	50
Abb. 17:	Darstellung des Verhältnisses von Spike, LFP und CBF .....	52
Abb. 18:	Metabolische und vaskuläre Effekte bei Aktivierung und Deaktivierung.....	57

## 8 Literaturverzeichnis

- Ackerman, R.F., et al. (1984) Increased glucose metabolism during long-duration recurrent inhibition of hippocampal pyramidal cells. *J. Neurosci.* 4, 251-264
- Akgören, N. et al. (1994) Importance of nitric oxide for local increases of blood flow in rat cerebellar cortex during electrical stimulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 91, 5903–5907
- Attwell, D. and Laughlin, S.B. (2001) An energy budget for signalling in the grey matter of the brain. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 21, 1133–1145
- Attwell, D., Iadecola, C. (2002) The neural basis of functional brain imaging signals. *Trends in Neurosciences Vol. 25 No. 12*, 621-625
- Bandettini, PA et al. (1992) Time course EPI of human brain function during task activation. *Magn Res Med* 25, 390-397
- Barker, AT. et al. (1985) Non-invasive magnetic stimulation of the human motor cortex. *Lancet* 1, 1106-1107
- Barker, AT. et al. (1986) Clinical evaluation of conduction time measurements in central motor pathways using magnetic stimulation of the human brain. *Lancet* 1, 1325-1326
- Bartholow, R. (1874) Experimental investigations into the functions of the human brain. *Am J Med Sci.*, 67, 305-313
- Beer, A. (1851) Versuch der Absorptions-Verhältnisse des Cordierites für rothes Licht zu bestimmen. *Ann Phys Chem* 84, 37-52.
- Bestmann S. et al. (2004) Functional MRI of the immediate impact of transcranial magnetic stimulation on cortical and subcortical motor circuits. *European J of Neuroscience* 19, 1950-1962
- Blickford, RG and Fremming, BD (1965) Neural stimulation by pulsed magnetic fields in animals and man. 6<sup>th</sup> *Int Conf Med Electr Biol Eng. Tokyo Abstract* 7-6
- Boden, S., et al. (2007) The oxygenation response to functional stimulation: Is there a physiological meaning to the lag between parameters? *NeuroImage* 36, 100–107
- Boynton, G.M., et al. (1996). Linear systems analysis of functional magnetic resonance imaging in human V1. *J Neurosci.* 16, 4207-4221
- Bridgeman, B. et al. (1994) A theory of visual stability across saccadic eye movements. *Behavioral and brain sciences* 17, 247-292
- Brodman, K. (1909) Vergleichende Lokalisationslehre der Großhirnrinde dargestellt in ihren Prinzipien auf Grund des Zellenbaues. Barth, Leipzig
- Bruehl, C. and Witte, O.W. (1995) Cellular activity underlying altered brain metabolism during focal epileptic activity. *Annals of Neurology* 38, 414 – 420
- Busse, R. & Fleming, I. (2003) Regulation of the endothelium-derived vasoactive autacoid production by hemodynamic forces. *Trends Pharmacol. Sci.* 24, 24-29
- Buxton R. B., Frank L. R. (1997) A model for the coupling between cerebral blood flow and oxygen metabolism during neural stimulation. *J Cereb Blood Flow Metab* 17, 64-72
- Buxton R. B., et al. (1998) Dynamics of blood flow and oxygenation changes during brain activation: the balloon model. *Magn Reson Med* 39, 855-864

- Buzsaki, G. (2004) Large-scale recording of neuronal ensembles. *Nat Neurosci.*, 7(5), 446-51
- Caesar, K. et al. (2003) Dissociation of spikes, synaptic activity, and activity-dependent increments in rat cerebellar blood flow by tonic synaptic inhibition. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 100, 16000-16005
- Cauli, B. et al. (2004), Cortical GABA Interneurons in Neurovascular Coupling: Relays for Subcortical Vasoactive Pathways. *The Journal of Neuroscience*, 24(41), 8940-8949
- Chedotal, A. et al. (1994) Light and electron microscopic immunocytochemical analysis of the neurovascular relationship of choline acetyltransferase and vasoactive intestinal polypeptide nerve terminals in the rat cerebral cortex. *J. Comp. Neurol.* 343, 57-71
- Chih, C.P. et al. (2001) Do neurons really use lactate rather than glucose? *Trends Neuroscience*, 24, 573-578
- Cohen, Z. et al. (1997) Astroglial and vascular interactions of noradrenaline terminals in the rat cerebral cortex. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 17, 894-904
- Cope, M. and Delpy, DT. (1988) System for long-term measurement of cerebral blood and tissue oxygenation on newborn infants by near infra-red transillumination. *Med. Biol. Eng. Comput.* 26, 289-294.
- Cox, S.B. et al. (1993) Localized dynamic changes in cortical blood flow with whisker stimulation corresponds to matched vascular and neuronal architecture of rat barrels. *J. Cerebral Blood Flow Metabolism* 13, 899-913
- Creutzfeldt, O.D. (1975) Neurophysiological correlates of different functional states of the brain. In *Alfred Benzon Symposium VIII (Ingvar D.H. and Lassen N.A., eds)*, pp 21-46, Academic Press
- d'Arsonval, A. (1896) Dispositifs pour la mesure des courants alternatifs de toutes fréquences. *C R Soc Biol. (Paris)*, 3, 450-457
- Di Lazzaro, V. et al. (1999) Direct demonstration of interhemispheric inhibition of the human motor cortex produced by transcranial magnetic stimulation. *Exp Brain Res.*, 124(4), 520-524
- Dirnagel, U. et al. (1993) Role of nitric oxide in the coupling of cerebral blood flow to neural activation in rats. *Neuroscience Lett.* 149, 43-46
- Dreverts, WC. et al. (1995) Blood flow changes in human somatosensory cortex during anticipated stimulation. *Nature* 373, 249-252
- Duncan, A. et al. (1995) Optical pathlength measurements on adult head, calf and forearm and the head of the newborn infant using phase resolved optical spectroscopy. *Phys Med Biol.*, 40(2), 295-304.
- Erinjeri et al. (2002) Spatial integration of vascular changes with neural activity in mouse cortex. *J. Cerebral Blood Flow Metabolism*; 22, 353-360
- Faraci, F.M. et al. (1998) Regulation of the cerebral circulation: role of endothelium and potassium channels. *Physiol. Review* 78, 53-97
- Ferbert, A. et al. (1990) Transcallosal effects on motor cortical excitability in man. *J Physiol* 429, 38P
- Fergus, A. and Lee, K.S. (1997) GABAergic regulation of cerebral microvascular tone in the rat. *J. Cerebral Blood Flow Metab.* 17, 992-1003
- Firbank, MJ. (1993) Measurement of the optical properties of the skull in the wavelength range 650-950 nm. *Phys Med Biol* 38, 503-510

- Fox, P.T. and Raichle (1986) Focal physiological uncoupling of cerebral blood flow and oxidative metabolism during somatosensory stimulation in human subjects. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83, 1140-1144
- Fox, PT. et al. (1988) Nonoxidative glucose consumption during focal physiologic neural activity. *Science*, 241, 462-464
- Frahm, J. et al. (1992) Dynamic MR imaging of human brain oxygenation during rest and photic stimulation. *J Magn Res Imag* 2, 501-505
- Frahm, J. et al. (1996) Dynamic uncoupling and recoupling of perfusion and oxidative metabolism during focal brain activation in man. *Magn Reson Med*, 35(2), 143-148
- Geddes LA (1987) Optimal stimulus duration for extracranial cortical stimulation. *Neurosurgery* 20: 94-99.
- Gold, L. and Lauritzen, M. (2002) Neuronal Deactivation Explains Decreased Cerebellar Blood Flow in Response to Focal Cerebralschemia or Suppressed Neocortical Function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*, Vol. 99, No. 1, 7699-7704
- Hawkins, RA. et al. (1983) Glucose availability to individual cerebral structures is correlated to glucose metabolism. *J Neurochem.*40(4) 1013-8
- Hertz, L. et al. (1999) Energy for neurotransmission. *Science* 285, 639a
- Hill, DK. and Keynes, RD. (1949) Opacity changes in stimulated nerve. *J Physiol* 108, 278-281.
- Iadecola, C. (2004) Neurovascular regulation in the normal brain and in Alzheimer's disease. *Nature Reviews*, Volumen 5 May 2004, 347-360
- Iadecola, C. (1992) Nitric oxide participates in the cerebrovasodilation elicited from cerebellar fastigial nucleus. *Am. J. Physiol.* 263, R1156–R1161
- Jones, E.G., Wise, S.P. (1977) Size, laminar and columnar distribution of efferent cells in the sensory-motor cortex of monkeys. *J Comp Neurol* 15, 175(4), 391-438
- Jones, E.G. et al. (1979) Commissural columns in the sensory-motor cortex of monkeys. *J Comp Neurol* 188, 113-136
- Jöbsis, F.F. (1987) Noninvasive, infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters. *Science* 198, 1264-1267.
- Jueptner, M., Weiller, C. (1995) Does Measurement of Regional Cerebral Blood Flow Reflect Synaptic activity? – Implications for PET and fMRI. *Neuroimage* 2, 148-156
- Kelly, P. A. (1982) Effects of the putative GABAergic agonists, muscimol and THIP, upon local cerebral glucose utilization. *J. Neurochem.* 39, 613-624
- Killackey, H.P. (1983) The relation of corpus callosum connections to architectonic fields and body surface maps in sensorimotor cortex of new and old world monkeys. *J Comp Neurol.*1, 219(4), 384-419.
- Kleinschmidt, A., et al. (1996) Simultaneous recording of cerebral blood oxygenation changes during human brain activation by magnetic resonance imaging and near-infrared spectroscopy. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 16, 817-826.
- Kohl, M. et al (2002) Non-invasive monitoring of cerebral blood flow by a dye bolus method: separation of brain from skin and skull signals. *J Biomed Opt* 7, 464-470

- Krimer, L.S. et al. (1998) Dopaminergic regulation of cerebral cortical microcirculation. *Nat. Neurosci.* 1, 286–289
- Kurth, C.D. and Uher, B. (1997) Cerebral hemoglobin and optical pathlength influence near-infrared spectroscopy measurement of cerebral oxygen saturation. *Anesth. Analg.* 84, 1297-1305
- Kuschinsky W. et al. (1972) Perivascular potassium and pH as determinants of local pial arterial diameter in cats. A microapplication study. *Circ Res* 31, 240-247
- Lassen N.A. (1968) Brain extracellular pH: the main factor controlling cerebral blood flow. *Scand J Clin Lab Invest* 22, 247-251
- Lauritzen, M. (2005) Reading vascular changes in brain imaging: is dendritic calcium the key? *Nature Review Neuroscience* 6(1), 77-85
- Lauritzen, M. (2001) Relationship of spikes, synaptic activity and local changes of cerebral blood flow. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 21, 1367–1383
- Li, J. and Iadecola, C. (1994) Nitric oxide and adenosine mediate vasodilation during functional activation in cerebellar cortex. *Neuropharmacology* 33, 1453–1461
- Logothetis, N.K., Wandell, B.A. (2004) Interpreting the BOLD signal. *Annual Review Physiology* 66, 735-769
- Logothetis, N.K. (2003) The Underpinnings of the BOLD functional magnetic resonance imaging signal. *J. Neuroscience* 23, 3963-3971
- Logothetis, N.K. et al. (2001) Neurophysiological investigation of the Basis of the fMRI signal. *Nature* 412, 150-157
- Magistretti, P.J. et al. (1999) Energy on demand. *Science* 283, 496–497
- Malonek, D. and Grinvald, A. (1996) Interactions between electrical activity and cortical microcirculation revealed by imaging spectroscopy: implications for brain mapping. *Science* 272, 551-554)
- Mata, M., et al. (1980) Activity-dependent energy metabolism in rat posterior pituitary primarily effects sodium pump activity. *J. Neurochem.* 34, 213-215
- Mathiesen, C. et al. (1998) Modification of activity-dependent increases of cerebral blood flow by excitatory synaptic activity and spikes in rat cerebellar cortex. *Physiology London* 512 (Pt. 2), 555-566
- Matsunami K., Hamada I. (1984) Effects of stimulation of corpus callosum on precentral neuron activity in the awake monkey. *J Neurophysiol.*, 52(4), 676-691
- Merton, P.A. and Morton, H.B. (1980) Stimulation of the cerebral cortex in the intact human subject. *Nature*, 285, 227
- Metea, M.R. et al. (2006) Glial Cells Dilate and Constrict Blood Vessels: A Mechanism of Neurovascular Coupling. *J Neuroscience*, 26(11), 2862-2870
- Meyer B.U. (Hrsg.) (1992) Die Magnetstimulation des Nervensystems. Grundlagen und Ergebnisse der klinischen und experimentellen Anwendung. Springer, Heideberg.
- Meyer, B.U. et al. (1995) Inhibitory and excitatory interhemispheric transfers between motor cortical areas in normal humans and patients with abnormalities of the corpus callosum. *Brain* 118 (Pt 2), 429-440

- Minckler, D. (1944) The course of efferent fibers from the human premotor cortex. *J. Comp. Neurol.*, 81, 259-267
- Mochizuki, H. et al. (2006) Cortical hemoglobin-concentration changes under the coil induced by single-pulse TMS in humans: a simultaneous recording with near-infrared spectroscopy. *Exp Brain Res.* 169, 302-310
- Mochizuki, H. et al. (2007) Hemoglobin concentration changes in the contralateral hemisphere during and after theta burst stimulation of the human sensorimotor cortices *Exp Brain Res.* 180, 667-675
- Ngai, A.C. et al. (1998) Effect of sciatic nerve stimulation on pial arterioles in rats. *American J. Physiology*, 254, 133-139
- Nicholson, C. (1973) Theoretical analysis of field potentials in anisotropic ensembles of neuronal elements. *IEEE Trans Biomed Eng* 20, 278-288
- Nudo, R.J. & Masterton, R.B. (1986) Stimulation-induced [<sup>14</sup>C]2-deoxyglucose labeling of synaptic activity in the central auditory system. *J. Comp Neurol.* 245, 553-565
- Obrig, H. (2002) Habilitationsschrift: „Nahinfrarotspektroskopie des Gehirns I/II“
- Obrig, H. et al. (1996) Cerebral oxygenation changes in response to motor stimulation. *J. Appl. Physiol.*, 81(3), 1174-1183.
- Ogawa, S. et al. (1993b) Functional brain mapping by blood oxygenation level-dependent contrast magnetic resonance Cortical imaging. *Biophys. J.* 64, 800-812
- Okada, E. et al. (1997) Theoretical and experimental investigation of near-infrared light propagation in a model of the adult head. *Applied Optics* 36, 21-31.
- Pandya, D.N., Seltzer, B. (1986) The topography of commissural fibers. In: Lepore F., Ptito, M., Jasper, HH. (eds) *Two hemispheres – one brain: function of the corpus callosum*. Liss, New York, pp 47-73
- Paulsen, O.B., Newman, E.A. (1987) Does the release of potassium from astrocyte endfeet regulate cerebral bloodflow? *Science* 237, 896-98
- Paus, T. et al. (1995) Extraretinal modulation of cerebral blood flow in the human visual cortex: implications for saccadic suppression. *Journal Neurophysiology* 74(5), 2179-2183
- Peyron, R. et al. (1994) Effects of GABA<sub>A</sub> receptors activation on brain glucose metabolism in normal subjects and temporal lobe epilepsy (TLE) patients. A positron emission tomography (PET) study. *Epilepsy Res.* 19, 45-54
- Polson, M.J.R. et al. (1982) Stimulation of nerve trunks with timevarying magnetic fields. *Med Biol Eng Comput.* 20, 243-244
- Prichard, J. et al. (1991) Lactate rise detected by <sup>1</sup>H NMR in human visual cortex during physiologic activation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 88, 365-372
- Raichle, M.E. et al. (1975) Central noradrenergic regulation of cerebral blood flow and vascular permeability. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 72, 3726-3730
- Rees, G. et al. (2000) A direct quantitative relationship between the functional properties of human and macaque V5. *Nature Neuroscience* 3, 716-723
- Reis, D.J. and Golanov, E.V. (1997) Autonomic and vasomotor regulation. *Int. Rev. Neurobiol.* 41, 121-149

- Roy, C. and Sherrington, C. (1890) On the regulation of the blood supply of the brain. *J Physiology* 1890, 11, 85-108
- Sappey-Mariniere, D. (1992) Effect of photic stimulation on human visual cortex lactate and phosphates using <sup>1</sup>H and <sup>31</sup>P magnetic resonance spectroscopy. *J Cereb Blood Flow Metab*, 12(4), 584-592
- Sato, A. and Sato, W. (1992) Regulation of regional cerebral blood flow by cholinergic fibers originating in the basal forebrain. *Neuroscience Res.* 14, 242-274
- Schwartz, W.J. et al (1979) Metabolic mapping of functional activity in the hypothalamo-neurohypophysial system of the rat. *Science*, 205(4407), 723-725.
- Shmuel, A. et al. (2002) Sustained negative BOLD, blood flow and oxygen consumption response and its coupling to the positive response in the human brain. *Neuron* 9 36(6), 1195-210
- Shmuel, A. et al. (2006) Negative functional MRI response correlates with decreases in neuronal activity in monkey visual area V1, *Nature Neuroscience* 9(4), 569-577
- Shulman, R.G. and Rothman, D.L. (1998) Interpreting functional imaging studies in terms of neurotransmitter cycling. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95, 11993–11998
- Shulman, R.G. et al. (1993) Nuclear magnetic resonance imaging and spectroscopy of human brain function. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 90(8), 3127-33. *Review.*
- Sibson, N.R. et al. (1998) Stoichiometric coupling of brain glucose metabolism and glutamatergic neuronal activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95, 316–321
- Smith, A.J. et al. (2002) Cerebral energetics and spiking frequency: the neurophysiological basis of fMRI. *Natl Acad. Sci. USA*, 10765-10770
- Sokoloff, L. (1981) Relationships among local functional activity, energy metabolism, and blood flow in the central nervous system. *Fed Proc*, 40, 2311-6
- Strangman, G. et al. (2002) A quantitative comparison of simultaneous BOLD fMRI and NIRS recordings during functional brain activation. *NeuroImage* 17, 719-731
- Tagametz, M.A., Horwitz, B. (2001) Interpreting PET and fMRI measures of functional neural activity: The effects of synaptic inhibition on cortical activation in human imaging studies. *Brain Research Bulletin* Vol. 54, No.3, 267-273
- Thomsen, K. et al. (2004) Principle neuron spiking : neither necessary nor sufficient for cerebral blood flow in rat cerebellum. *J. Physiology* 560.1, 181-189
- Tomasch, J. (1954) Size, distribution, and number of fibres in the human corpus callosum. *Anat Rec* 1954 May ; 119(1): 119-35
- Uludag, K. et al. (2002) Cross talk in the Lambert-Beer calculation for near-infrared wavelengths estimated by Monte Carlo simulations. *J Biomed Opt.*, 7(1), 51-59
- Villringer, A. und Dirnagl, U. (1995) Coupling of brain activity and cerebral blood flow: basis of functional neuroimaging. *Cerebrovascular and brain metabolism reviews*, 7, 240-276
- Villringer, K. et al. (1997) Assessment of local brain activation. A simultaneous PET and near-infrared spectroscopy study. *Adv.Exp.Med.Biol.* 413, 149-153
- Waldvogel, D. et al. (2000) The relative metabolic demand of inhibition and excitation. *Nature* 406, 995

Wenzel, R. et al. (1996) Deactivation of human visual cortex during involuntary ocular oscillations. A PET activation study. *Brain* 119, 101-110

Wenzel, R. et al. (1996) Cerebral blood oxygenation changes induced by visual stimulation in humans. *Journal of biomedical optics, Vol 1 No 4*, 399-404

Wenzel, R. et al. (2000) Saccadic suppression induces focal hypooxygenation in the occipital cortex. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 20, 1103-1110

Wyatt, J.S. et al. (1986) Quantification of cerebral oxygenation and haemodynamics in sick newborn infants by near infrared spectrophotometry. *Lancet* 2, 1063-1066

Yang, G. et al. (1999) Nitric oxide is the predominant mediator of cerebellar hyperemia during somatosensory activations in rats *Am. J. Physiol.* 277, R1760-1770)

## **9 Lebenslauf**

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

## **10 Erklärung**

Hiermit erkläre ich, Clemens Friedrich Köhncke, dass ich die hier vorliegende Dissertation mit dem Thema ‚Zerebrale Oxygenierungsänderungen bei Inhibition in einem Modell der transkallosalen Inhibition‘ selbst und ohne unzulässige Hilfe Dritter verfasst habe. Die Dissertation stellt auch in Teilen nicht die Kopie anderer Arbeiten dar. Alle Hilfsmittel samt Literatur sind vollständig angegeben. Die Dissertation wird erstmalig und nur an der Charité Universitätsmedizin Berlin eingereicht.

Clemens Friedrich Köhncke

Berlin, den 27.05.2010

## 11 Publikationsliste

Boden, S., Obrig, H., Köhncke, C., Benav, H., Koch, SP., Steinbrink, J. (2007) The oxygenation response to functional stimulation: is there a physiological meaning to the lag between parameters? *Neuroimage* 2007 May 15;36(1):100-7