

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

DISSERTATION

**Zerebrale Oxygenierungsänderung bei
transkranieller Magnetstimulation (TMS) des Motorkortex:
Abhängigkeit von der Stimulationsintensität und von der kortiko-
spinalen Efferenz**

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

**vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin**

von

Friederike Neumann

aus Berlin

Gutachter/in:

- 1. PD Dr. Hellmuth Obrig**
- 2. Prof. Dr. I. Frohn-Wartenburger**
- 3. Prof. Dr. M. Kohl-Bareis**

Datum der Promotion: **03.09.2010**

Inhaltsangabe:

1	Einleitung	1
1.1	Einführung in die Thematik.....	1
1.2	Ziel der Arbeit:	5
1.3	Hypothesen:	5
2	Methodik:	6
2.1	Probanden	6
2.2	Versuchsaufbau	7
2.2.1	Nirs-Messung	7
2.2.2	Transkranielle Magnetstimulation.....	10
2.2.3	Bestimmung der Ruhemotorschwelle.....	11
2.3	Versuchsdurchführung.....	12
2.4	Auswertung.....	13
2.4.1	Bestimmung des Motorkortexareals.....	14
2.4.2	Analyse der Oxygenierungsantwort für die einzelnen Konditionen	15
2.4.3	Kortiko-spinale Efferenz und Oxygenierungsantwort.....	16
2.4.4	Effekt von TMS auf die MEP-Amplitude	16
3	Ergebnisse:	17
3.1	Einfluss der TMS-Intensität auf die Oxygenierungsantwort.....	17
3.1.1	... bei überschwelliger Stimulation	17
3.1.2	... bei TMS mit Schwellenintensität	17
3.1.3	... im Vergleich zur willkürmotorischen Kontraktion	19
3.2	Einfluss der TMS-Intensität auf die kortiko-spinale Efferenz	20
3.2.1	Verteilung der MEPs bei TMS ^{supra} und TMS ^{thre}	20
3.2.2	Inter- und intraindividuelle Unterschiede.....	21
3.3	Oxygenierungsantwort und kortiko-spinale Efferenz.....	22
4	Diskussion:	24
4.1	Einfluss der TMS-Intensität - Vergleich mit bestehender Literatur	24
4.1.1	Oxygenierungsantwort bei TMS ^{supra}	26
4.1.2	Oxygenierungsantwort bei TMS ^{thre}	27
4.1.3	Wie ist das Verhältnis von Stimulusintensität und Oxygenierungsantwort charakterisiert?.....	27
4.2	Zusammenhang zwischen MEP-Amplitude und vaskulärer Antwort	30
4.2.1	Sensori-motorisches Feedback	30
4.2.2	Einfluss der kortikalen Erregbarkeit auf die hämodynamische Antwort	32
4.2.3	Mögliche Ursachen intra- und interindividueller Differenzen	32
5	Ausblick	34
6	Zusammenfassung:.....	36

7	Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen und Einheiten	38
7.1	Abkürzungen	38
7.2	Einheiten	38
8	Literaturverzeichnis.....	39
9	Lebenslauf	45
10	Danksagung.....	46
11	Erklärung.....	47

1 Einleitung

1.1 Einführung in die Thematik

Die transkranielle Magnetstimulation (TMS) hat sich seit ihrer Einführung durch Barker et al. (1985) zu einer wichtigen Methode der Neurologie entwickelt. Im klinischen Alltag wird die TMS vor allem genutzt, um die Funktion des motorischen Systems zu untersuchen. Dazu wird in einer Spule ein kurzes (100-200 μ s), starkes Magnetfeld erzeugt, das im darunter liegenden Hirngewebe einen elektrischen Stromfluss induziert. Ist das Magnetfeld stark genug, kommt es zur Depolarisation von Nervenzellen im stimulierten Hirnareal (Review siehe Di Lazzaro et al. (2004)).

Neben der klinischen Anwendung wird die TMS jedoch auch in vielen anderen Kortexarealen eingesetzt, um grundlegende Fragen der funktionellen Organisation des Gehirns besser zu verstehen. Besonders in Verbindung mit elektrophysiologischen Messmethoden wie der Elektro- und Magnetenzephalographie (EEG und MEG) und bildgebenden Verfahren wie der Positronen-Emissions-Tomographie (PET), der funktionellen Magnetresonanz-Tomographie (fMRT) und der Nahinfrarot-Spektroskopie (NIRS) ermöglicht die TMS die Untersuchung und Charakterisierung verschiedener kortikaler Areale, sowie die Beschreibung neuronaler Netzwerke in ihrer Interaktion (Review siehe Bestmann et al. (2008), Anand et al. (2002)). Dabei lassen sich zwei Prinzipien unterscheiden: Die repetitive TMS erlaubt es, die Exzitabilität einer Hirnregion längerfristig (bis zu Tagen) zu modifizieren (Baumer et al. (2003)). Damit lassen sich beim gesunden Probanden temporäre „funktionelle Läsionen“ darstellen oder, im Rahmen bahnender Versuchsprotokolle, eine Verbesserung der behavioralen Leistung erzielen (z.B. Lee et al. (2003)). Im Gegensatz dazu ist Einzelpuls-TMS (single-pulse-TMS) durch die große zeitliche Präzision ein hervorragendes Mittel zur Charakterisierung einzelner Verarbeitungsschritte und Reizleitungsgeschwindigkeiten.

Wie eingangs erwähnt, hat sich die TMS in der Klinik vorrangig im diagnostischen Bereich z.B. bei der Verlaufskontrolle neuronaler Erkrankungen wie MS etabliert. Im Rahmen vor allem repetitiver Stimulationsprotokolle wird jedoch auch eine Anwendung in der Therapie von Depression, Schlaganfallfolgen, Schizophrenie, Parkinson, chronischen Schmerzen und bei anderen Erkrankungen mit ermutigenden Erfolgen erprobt (Review siehe Ridding et al. (2007)).

TMS und der Motorkortex

Die ersten und bisher auch die meisten Untersuchungen mit der TMS wurden am Motorkortex durchgeführt. Der Grund hierfür ist, dass sich der induzierte Effekt in Form des motorisch-evozierten Potentials (MEP) im Effektormuskel leicht messen lässt: Bei der Stimulation mit ausreichend hoher Intensität kommt es zur direkten Aktivierung kortikospinaler Pyramidalzellen. Hierdurch werden kontralateral zur stimulierten Seite motorische Einheiten aktiviert, deren Summenpotential (= motorisch-evoziertes Potential (MEP)) sich mittels Elektromyographie (EMG) ableiten lässt. Auch wenn keine motorische Antwort nachweisbar ist, bei unterschwelligen Intensitäten also, erfolgt eine Erregung kortikospinaler Efferenzen. Dies geschieht jedoch indirekt, transsynaptisch, durch die Aktivierung intrakortikaler Netzwerke, was sich im EMG als sogenannte „I-waves“ abbilden lässt (Di Lazzaro et al. (2004), Hallett (2007)).

Funktionelle Bildgebung bei TMS von M1

Neben den elektrophysiologischen Untersuchungen ist es in den letzten Jahren vor allem der funktionellen Bildgebung gelungen, das Verständnis der TMS-induzierten Effekte zu vertiefen. Neuronale Aktivität führt lokal zu einem zusätzlichen Bedarf an Sauerstoff und Metaboliten. Diese Erhöhung des lokalen Metabolismus triggert eine vaskuläre Antwort, die so präzise lokalisiert ist, dass sehr genaue Karten der funktionellen Aktivierung des zerebralen Kortex erstellt werden können. Der Begriff der neurovaskulären Kopplung fasst diese Phänome und stellt die Grundlage der BOLD-Kontrast gestützten fMRT aber auch der PET und der NIRS dar. Ein Anstieg des regionalen zerebralen Blutflusses (regional Cerebral Blood Flow = rCBF) wird dabei operational mit dem Begriff „Aktivierung“, ein Abfall des rCBF mit „Deaktivierung“ bezeichnet. In der vorliegenden Studie wurde die optische Methode der NIRS genutzt, die über Änderungen der zerebralen Oxygenierung die metabolisch-vaskuläre Antwort erfasst, und somit Rückschlüsse auf die zugrunde liegende neuronale Antwort erlaubt (Obrig et al. (2003)).

In den letzten Jahren haben sich über 30 Studien bildgebend mit dem Einfluss von TMS auf den rCBF des primären Motorkortex (M1) aber auch die prä- und supplementär-motorischen Kortices befasst (Überblick für M1 siehe Tabelle 4). Funktionelle MRT- und PET-Studien konnten dabei TMS-bedingte rCBF-Änderungen in ganzen Netzwerken darstellen, die entfernte kortikale und auch subkortikale Strukturen wie das kontralaterale Cerebellum, den ipsilateralen Thalamus, den kontralateralen Motorkortex und andere Areale mit einbeziehen (siehe u.a. Baudewig et al. (2001), Bohning et al. (1999, 2000b),

Denslow et al. (2005), Chouinard et al. (2003), Bestmann et al. (2003, 2004), Hanakawa, (2009)). Bereits bei unterschwelliger Stimulation zeigte sich ein rCBF-Anstieg in den ipsilateralen supplementär-motorischen und prämotorischen Arealen (u.a. Baudewig et al. (2001), Bohning et al. (1999, 2000a, 2000b), Bestmann et al. (2003, 2004)).

Trotz dieser guten Kenntnislage ist der Einfluss auf das zu stimulierende primäre Areal wenig geklärt. So zeigten sich auf TMS verschiedene Ergebnisse: Beschrieben sind sowohl ein rCBF-Anstieg, das Fehlen einer rCBF-Antwort und Abfälle des regionalen zerebralen Blutflusses. Wie die Arbeiten von Hanakawa et al. (2009), Bestmann et al. (2003, 2004) und Baudewig et al. (2001) zeigen, spielt die Stimulationsintensität dabei eine entscheidende Rolle. Bei der Stimulation mit verschiedenen Intensitäten weisen diese Arbeiten ab 110% der Ruhemotorschwelle (Resting Motor Threshold = RMT) einen signifikanten rCBF-Anstieg, darunter jedoch keine rCBF-Änderungen nach. Dies bestätigt sich im Literaturüberblick: Ab einer Stimulationsintensität mit >110%RMT findet sich bis auf eine Ausnahme (Hada et al. (2006)) in allen Arbeiten ein Anstieg des rCBF (siehe Tabelle 4). Unterhalb dieser Grenze sind die Ergebnisse jedoch ausgesprochen uneinheitlich. Im Gegensatz zu den oben genannten Gruppen messen Fox et al. (2006), Noguchi et al. (2003) und Speer et al. (2003a) auch hier eine rCBF-Zunahme nach TMS, die positiv mit der Stärke der Stimulationsintensität korreliert. Mochizuki et al. (2006) und Hada et al. (2006) zeigen hingegen einen rCBF-Abfall im unterschwellig stimulierten Areal. Am schwierigsten gestaltet sich die Aussage für Intensitäten bei 100%-109%RMT, da in diesem Bereich nur drei vergleichbare Studien durchgeführt wurden (Mochizuki et al. (2006), Hanakawa et al. (2009), Speer et al. (2003a)), deren Ergebnisse das gesamte Spektrum der möglichen Antworten widerspiegeln.

Eine Schwierigkeit bei den Messungen ist das Artefakt durch die Stimulation, das besonders in der funktionellen MRT eine Differenzierung der evozierten BOLD-Antwort unter der Spule erschwert. Um mögliche Interferenzen mit dem magnetischen Feld zu vermeiden, nutzt die vorliegende Studie daher die Nahinfrarot-Spektroskopie, um die Frage zu untersuchen:

Wie ist der Einfluss der Stimulationsintensität auf die hämodynamische Antwort im primär stimulierten Hirnareal charakterisiert?

Die Frage nach der kortiko-spinalen Effizienz

Die zweite interessante Frage, die sich aus dem Überblick über die Literatur ergibt, ist: Wie kommt es zu den verschiedenen Resultaten bei der Stimulation mit gleicher Intensität?

Als Erklärung werden oft Unterschiede im Versuchsaufbau (z.B. Stimulationsdauer, Pulsfrequenz und Spulenausrichtung), also im Bereich des „Inputs“ ins Feld geführt, die zweifelsohne eine große Bedeutung haben (Paus et al. (1998), Pascual-Leone et al. (1994), Awiszus et al. (2007)). Jedoch bieten sie keine hinreichende Erklärung, da auch bei ganz ähnlichen Versuchsparadigmen unterschiedliche Ergebnisse auftreten: Siebner et al. (2001b) beispielweise stimulierten M1 mit repetitiver TMS bei 90% der aktiven Motorschwelle (AMT) und Frequenzen von 1-5Hz. Hierbei zeigte sich durchweg ein Anstieg des rCBF. Hingegen konnten Bestmann et al. (2003, 2004) bei einem sehr ähnlichen Paradigma (rTMS bei 90%AMT mit 3Hz (2004) und 4Hz (2003)) keine rCBF-Änderung nachweisen. Ein weiteres Beispiel findet sich im Vergleich der Studien von Noguchi et al. (2003) und Mochizuki et al. (2006). Beide NIRS-Studien stimulierten den Motorkortex mit 20 Einzelpulsen. Während Noguchi et al. (2003) bei 90% und 110%AMT einen signifikante Anstieg des oxygenierten Hämoglobins (oxyHb) fand, blieb bei Mochizuki et al. (2006) die Stimulation unter 120%AMT ohne Einfluss auf die Hämodynamik.

Angesichts der unterschiedlichen Ergebnisse bei nahezu gleichem „Input“ lohnt es sich, die Frage nach einem möglichen Zusammenhang zwischen der Größe des „Outputs“, in Form von MEPs, und der hämodynamischen Antwort zu stellen. Nur sehr wenige bildgebende Studien haben bisher die Korrelation mit diesem zweiten Parameter der TMS-Messung untersucht. Dies liegt vor allem an dem allgemein bekannten, jedoch wenig geklärten Fakt, dass die MEP-Amplituden bei der TMS mit ein und derselben Intensität stark variieren. Hanakawa et al. (2009) beispielsweise beschränkten sich, die positive Korrelation zwischen der Stimulationsintensität und der mittleren MEP-Größe zu beschreiben und ließ den Zusammenhang mit der Hämodynamik außen vor. Allein die PET-Studie von Fox et al. (2006) untersuchte beide Parameter in Abhängigkeit voneinander und fand dabei einen positiven Zusammenhang zwischen der mittleren MEP-Amplitude je Intensität und der Größe des rCBF-Anstiegs. Keine Studie hat sich jedoch bisher der Frage gewidmet, ob auch innerhalb der Stimulation mit ein und derselben Intensität die Größe der MEPs mit der hämodynamischen Antwort korreliert und welche Rückschlüsse sich daraus auf die neurovaskulären Mechanismen bei TMS ableiten lassen.

In der vorliegenden Studie wird daher erstmals die Untersuchung der Oxygenierungsantwort in Zusammenhang mit der Größe der induzierten kortiko-spinalen Efferenz erfolgen.

1.2 Ziel der Arbeit:

In der Literatur werden unterschiedliche hämodynamische Antworten auf die Transkranielle Magnetstimulation des Motorkortex berichtet. Als Ursache für diese Unterschiede wurde bisher vornehmlich der Einfluss des „Inputs“, insbesondere der TMS-Intensität, auf die hämodynamische Antwort untersucht. Dabei zeigten sich im Intensitätsbereich $<110\%$ RMT kontroverse Ergebnisse. Zwar spielen hierfür Unterschiede im Versuchsaufbau eine Rolle, diese reichen jedoch nicht, um die Ursache vollständig zu klären. Eine mögliche Rolle des Outputs, der kortiko-spinalen Efferenz in Form des MEP, blieb weitgehend unbeachtet.

Die vorliegende Arbeit versucht, sich mit Hilfe der Nahinfrarotspektroskopie der Frage nach der neurovaskulären Kopplung bei TMS unter beiden Aspekten zu nähern:

1. Der Messung der hämodynamischen Antwort bei TMS im Motorschwellenbereich gegenüber TMS im überschwelligen Bereich mit der Frage nach dem Verhältnis von Stimulusintensität („Input“) und dem rCBF und dessen möglichen Ursachen.
2. Der Frage nach dem Zusammenhang zwischen der Größe der erzeugten MEPs („Output“) und der Oxygenierungsantwort als mögliche Erklärung für die Variabilität innerhalb der Stimulation mit ein und derselben Intensität.

Dazu erfolgt die Messung der Hb-Konzentrationsänderungen mittels Nahinfrarotspektroskopie bei Einzelpuls-TMS des Motorkortex mit verschiedenen Intensitäten („Input“) unter kontinuierlicher Messung der erzeugten MEPs („Output“).

1.3 Hypothesen:

Der Studie liegen folgenden Hypothesen zu Grunde:

- a. Es gibt eine Intensitätsschwelle, oberhalb derer TMS im stimulierten Areal zuverlässig zu einer Oxygenierungsantwort im Sinne einer neuronalen Aktivierung führt.
- b. Diese Oxygenierungsantwort entspricht in ihrem Muster den hämodynamischen Veränderungen bei physiologischer Aktivität.
- c. Nicht allein das Auftreten, sondern auch die Größe der kortiko-spinalen Efferenz (= Output) steht dabei im Zusammenhang mit der induzierten hämodynamischen Antwort.

2 Methodik:

Zur Charakterisierung der vaskulären Antwort auf eine neuronale Stimulation durch TMS wurde das Handareal des linken Motorkortex mit zwei verschiedenen Intensitäten stimuliert. Gleichzeitig wurden die motorisch evozierten Potentiale (MEPs) mittels der EMG im Effektormuskel abgeleitet (siehe Abbildung 1). Zur Messung der vaskulären Antwort diente die Nahinfrarotspektroskopie, die die Konzentrationsänderungen von oxygeniertem und deoxygeniertem Hämoglobin (oxyHb und deoxyHb) erfasst. Hierdurch war es möglich, die Variabilität der vaskulären Antwort im primär motorischen Kortex mit den MEP-Amplituden zu vergleichen. Ferner wurde die Oxygenierungsantwort bei physiologischer Aktivität des Motorkortex bei willkürmotorischer Kontraktion der kleinen Handmuskulatur untersucht.

Dieses Kapitel beinhaltet eine genaue Beschreibung der Probandengruppe, detaillierte Informationen zu Versuchsaufbau und –durchführung, sowie der Auswertung der Daten.

2.1 Probanden

Wir untersuchten 32 gesunde, rechtshändige Probanden. 6 Experimente wurden abgebrochen, weil die Transmissionsrate bei der NIRS-Messung zu gering oder die TMS-Spule überhitzt war. Bei den verbleibenden 26 Probanden handelt es sich um 20 Frauen und 6 Männer zwischen 19 und 43 Jahren (mittleres Alter 24.5 Jahre, Standardabweichung 6.1). Alle Probanden gaben nach ausführlicher Aufklärung über den Ablauf und mögliche Konsequenzen des Versuchs eine schriftliche Einverständniserklärung ab. Das Experiment wurde nach den Sicherheitsrichtlinien für TMS-Experimente durchgeführt (Wassermann (1998)).

2.2 Versuchsaufbau

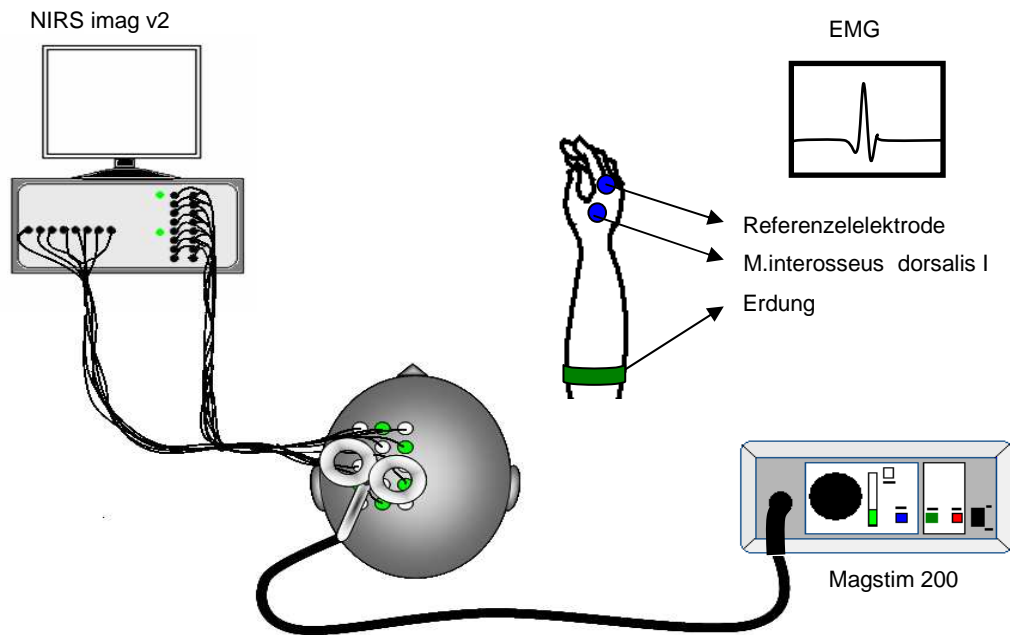


Abbildung 1 Versuchsaufbau: TMS des linken M1 mit dem Stimulator Magstim 200. Unter der TMS-Spule ist das Messfeld für die NIRS angebracht. Die Hb-Konzentrationsänderungen werden mit einem NIRS imag v2 erfasst. Die MEPs werden mittels EMG vom ersten Musculus interosseus dorsalis (MID I) abgeleitet. Am Os metacarpale II ist die Referenzelektrode angebracht. Die Erdung befindet sich am proximalen Unterarm.

2.2.1 Nirs-Messung

Die Nahinfrarot-Spektroskopie (NIRS) ist eine nicht-invasive, zeitlich hoch auflösende Methode zur Untersuchung kortikaler Oxygenierungsänderungen. Durch die Messung der Konzentrationsänderungen von oxygeniertem und deoxygeniertem Hämoglobin lässt sich die vaskuläre Antwort auf eine funktionelle Stimulation charakterisieren. Dies ermöglicht eine Untersuchung des Zusammenhangs zwischen neuronaler Aktivität und vaskulärer Antwort (Reviews siehe Obrig et al. (2003), Villringer et al. (1997), Gratton et al. (2005)). Methodisch basiert die NIRS auf der Tatsache, dass oxygeniertes Hämoglobin (oxyHb) ein anderes Absorptionsspektrum, also eine andere Farbe hat als die deoxygenierte Form des Hämoglobins (deoxyHb). Um die Konzentrationsänderungen beider Hb-Formen im Hirngewebe zu messen, wird Licht verschiedener Wellenlängen im nahinfraroten Spektralbereich (600-1000nm) an der Kopfoberfläche eingestrahlt. Da biologisches Gewebe in diesem Wellenlängenbereich relativ transparent ist, ist eine spektroskopische Messung durch die Schädeldecke hindurch möglich. Der Anteil des Lichts, der reflektiert wird, tritt an der Schädeldecke wieder aus und kann über Detektoren erfasst werden. (siehe Abbildung 2). Physiologisch ist relevant, dass in biologischem Gewebe Änderungen der

Lichtabschwächung vor allem durch Konzentrationsänderungen von oxygeniertem und deoxygeniertem Hämoglobin hervorgerufen werden. Die weiteren Bestandteile des Gewebes führen entweder zu einer konstanten Lichtabschwächung (z.B. Melanin in der Haut) oder streuen das Licht, ohne dabei zur Absorption beizutragen (Jobsis (1977), Strangman et al. (2002)). Physikalisch beruht die Methode auf dem Lambert-Beer'schen Gesetz, das eine Korrelation zwischen der Konzentration eines absorbierenden Stoffes und der Lichtabschwächung formuliert. Da die beiden Formen des Hämoglobins unterschiedliche Absorptionseigenschaften besitzen, können anhand der Änderungen der Lichtabschwächung bei verschiedenen Wellenlängen die Konzentrationsänderungen von oxy- und deoxyHb errechnet werden. Es ist wichtig zu betonen, dass im Gegensatz zur Küvettenmessung, die die absolute Konzentrationsbestimmung von Stoffen in verdünnten Lösungen erlaubt, mit der NIRS nur Änderungen erfasst werden können. Der Grund hierfür ist, dass weder die Streuung im Gewebe noch das genaue Messvolumen, auf das sich die Änderung bezieht, bekannt sind. Diesem Fakt wird durch eine Modifikation des Lambert-Beer-Gesetzes Rechnung getragen: Vereinfachend wird angenommen, dass die Streuung und das Messvolumen konstant sind und somit nicht zur Änderung der Lichtabschwächung beitragen (Obrig et al 2003).

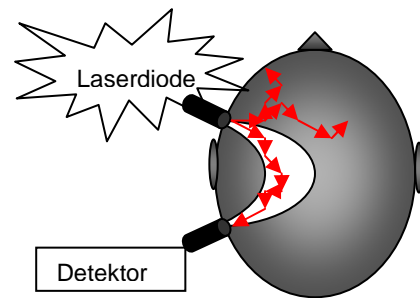


Abbildung 2. Weg des Nahinfrarotlichts durch das Gewebe (Pfeile). Das nicht absorbierte Licht tritt nach mehrfacher Streuung wieder aus und wird wenige Zentimeter neben der Eintrittsstelle durch Detektoren erfasst.

Wie kommt es nun bei einer funktionellen Aktivierung des Kortex zu einer Änderung der Oxygenierung?

Zahlreiche Untersuchungen haben gezeigt, dass es bei neuronaler Aktivierung zu einer fokalen Zunahme des Metabolismus kommt. Dabei steigt der Sauerstoffverbrauch weniger an als der lokale Blutfluss (rCBF). Durch den überproportionalen Anstieg des rCBF wird zudem verstärkt deoxygeniertes Hb ausgeschwemmt („wash-out“-Phänomen). Es kommt zu einer fokalen Hyperoxygenierung des Gewebes mit Anstieg des oxyHb und des Blutvolumens mit gleichzeitigem Abfall des deoxyHb. Über die Frage, welche Parameter die funktionell evozierte vaskuläre Antwort am besten darstellen, besteht nicht durchgehend Konsens. Allerdings ist der Abfall der deoxyHb-Konzentration unstrittig der relevante Parameter, der die Änderungen des ‚blood oxygenation level dependent‘, kurz

BOLD-Kontrast, in der fMRT bestimmt (Kleinschmidt et al. (1996), Ogawa et al. (1990), Toronov et al. (2003)). Auch gibt es Hinweise darauf, dass oxyHb weitaus stärker von extrazerebralen Änderungen des Blutflusses „kontaminiert“ wird (Boden et al. (2007)). Für eine Übersicht zu diesen Fragen sei auf die Arbeit von Steinbrink et al. (2006) verwiesen. Bezüglich der positiven Korrelation von deoxyHb-Abfall und dem in der PET gemessenen Anstieg des rCBF liegen ebenfalls Studien vor (Villringer et al. (1997), Hock et al. (1997), Rostrup et al. (2002)).

Messapparatur

Die kontinuierliche Erfassung der Oxygenierungsänderungen erfolgte mit einem in der Gruppe entwickelten NIRS-Gerät (Imag v2). Auf der linken Kopfseite des liegenden Probanden wurden acht Lichtfaserkabel und sieben Detektoren mit Hilfe einer extra zu diesem Zweck präparierten EEG-Kappe angebracht. Die Kappengröße wurde entsprechend des individuellen Nasion-Inion-Abstands angepasst. Aus der Anordnung der Fasern (siehe Abbildung 3) ergeben sich 22 Messpositionen, die zur Darstellung interpoliert wurde. Abgedeckt wurde damit ein Areal von 5x10cm über der linken Hemisphäre. Der Mittelpunkt des Messfeldes lag immer über C3 des 10/20-Systems. Damit wurde trotz der Variabilität der individuellen Lokalisation des Motorkortex in Bezug auf externe Referenzen bei allen Probanden sicher das motorische Areal erfasst (Steinmetz et al. (1989)).

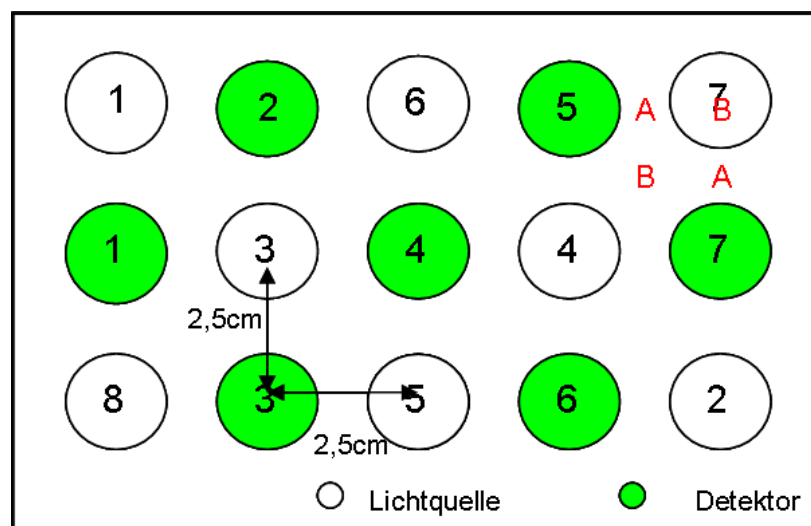


Abbildung 3. Anordnung der Dioden und Detektoren Die Anordnung ermöglicht das gleichzeitige Anschalten von jeweils zwei Lichtquellen (1 und 5, 2 und 6, 3 und 7, 4 und 8), ohne dass Interferenzen mit dem Licht einer benachbarten Quelle entstehen. Ein Zyklus zur Erfassung der relativen Hämoglobinkonzentrationsänderungen im gesamten Messfeld dauert 277ms. Es ergeben sich 22 „echte“ (siehe Bsp. A) und 23 durch Interpolation errechnete Messpunkte (siehe Bsp. B).

Die Wahl der Wellenlängen erfolgte unter Berücksichtigung spektroskopischer Besonderheiten: Aufgrund der vereinfachenden Annahmen des modifizierten Lambert-Beer-Ansatzes kann es zu Verzerrungen des spektroskopischen Ergebnisses kommen. Zur Minimierung von cross-talk bei gleichzeitiger Optimierung der Separabilität der beiden Hb-Formen wurden daher Laserdioden mit Wellenlängen von 760nm und 830nm verwendet (siehe auch Uludag et al. (2004)). Die Befestigung der Lichtfaserkabel und der Detektoren erfolgte mit Hilfe einer Adaptation einer kommerziellen Kappe (easycap) für Ringelektroden. Zeigten sich in einer Kontrollmessung gute Signale, wurden die angebrachten Lichtfasern und Detektoren mit einer elastischen Binde fixiert, um ein Verrutschen während der Stimulation und den Einfluss von Außenlicht auf die Messung zu verhindern. Da schon kleine Positionsänderungen des Kopfes die Effizienz der TMS-Stimulation mindern können, stabilisierten wir den Kopf des Probanden mit einem Vakuumkissen. Dazu wurde ein in der Notfallmedizin eingesetztes Vakuumkissen genutzt

2.2.2 *Transkranielle Magnetstimulation*

Zur transkraniellen Magnetstimulation verwendeten wir ein MAGSTIM 200 Stimulator (The Magstim Company Ltd., Whitland, UK). Die TMS-Impulse wurden von einer Matlab-Software getriggert und an den TMS-Impulsgenerator geleitet. Zur Synchronisation der Messungen wurden die Pulse auch in das EMG- und das NIRS-Gerät eingelesen. Auf diese Weise konnte der Triggerzeitpunkt synchron zur jeweiligen Messung erfasst werden. Die schmetterlingsförmige Magnetspule (Durchmesser je Einzelspule: 9,00cm) wurde tangential zur Schädeloberfläche in posterior-anteriorer Ausrichtung über den linken Motorkortex M1 angelegt (Paus et al. (1998), DiLazarro et al. (2004)) und mit einem Teleskopständer befestigt, um eine konstante Position der Magnetspule während des Versuchs zu gewährleisten. Zunächst nutzten wir Teststimuli mit Intensitäten, die erfahrungsgemäß über der Ruhemotorschwelle liegen, um den Punkt zu lokalisieren, an dem die größten Kontraktionen des ersten Musculus interosseus dorsalis rechts (MID I) hervorgerufen werden konnten. Als Maß für den Effekt der single-pulse-TMS (sp-TMS) auf den Effektormuskel leiteten wir motorisch-evozierte Potentiale (MEPs) mit einem Standard-EMG ab. Hierzu wurden Oberflächen Elektroden über MID I rechts und am Os metacarpale II bzw. Metacarpophalangealgelenk II rechts (Referenzelektrode) angebracht (siehe Abbildung 1).

2.2.3 Bestimmung der Ruhemotorschwelle

Um ein einheitliches Ausgangsmaß zu erhalten, bestimmten wir bei jedem Probanden die Intensität, die nötig ist, um bei 5 von 10 Stimuli ein MEP von ca. 1mV im entspannten rechten MID I zu erzeugen.

Das Verfahren ist etwas ungewöhnlich, da die meisten vergleichbaren Studien die Ruhemotorschwelle (Resting Motor Threshold = RMT) als die Intensität definieren, bei der in 5/10 Stimuli MEPs größer als 50 μ V oder sichtbare Kontraktionen auftreten (siehe Tabelle 4). Wir wählten das 1mV-Verfahren aus zwei Gründen: Zum einen besteht damit eine Vergleichbarkeit mit den Daten aus einer Studie zur kortikalen Inhibition (Wenzel et al. (2009)), in der die Oxygenierungsänderungen bei der kortikalen Stillezeit („cortical silent period“) untersucht wurden. Weiterhin lassen sich die gewählten Intensitäten leicht in die übliche Form der RMT umrechnen. Dies basiert auf verschiedenen Arbeiten: Wie sich in der „Input-Output“-Kurve von Garry et al. (2009) zeigt und durch die Arbeiten von Darling et al. (2006) und Khedr et al. (2004) bestätigt wird, entspricht die notwendige Intensität zum Erreichen von MEPs mit 1mV 110-120% der Ruhemotorschwelle nach üblicher Definition.

Um im Motorschwellenbereich zu stimulieren, verwendeten wir als zweite Kondition 90% der bestimmten Intensität, was analog zu den oben beschriebenen Arbeiten ungefähr dem Bereich von 100-109% RMT entspricht. Um im weiteren Verlauf keine Verwirrung zu stiften sind in der Folge die Pulsstärken als TMS^{thre} und TMS^{supra} bezeichnet. Beim Vergleich mit anderen Studien werden die Schwellen in der einheitlichen Form als % RMT angegeben:

- TMS^{thre} = TMS bei ~100-109% RMT
- TMS^{supra} = TMS bei ~110-120% RMT.

Für den Versuch ergaben sich absolute Intensitäten von 1.43 bis 2.2 Tesla (Mittelwert 1.8; Standardabweichung 0.22). Die hohen Werte erklären sich vor allem durch den großen Abstand zwischen Magnetspule und der Schädeloberfläche (ca.1.5cm). Dieser war durch die Höhe der Lichtfasern vorgegeben.

Die Probanden wurden angewiesen, während des Versuchs möglichst entspannt liegen zu bleiben, nicht zu sprechen und keine Willkürkontraktion des MID I oder der kontralateralen Handmuskulatur unter sp-TMS oder während der Ruheperioden durchzuführen. Nach Abschluss der Vorbereitungen wurde der Raum verdunkelt, um

optimale Versuchsbedingungen für die NIRS-Messung zu schaffen. Des Weiteren wurden alle Störgeräusche so weit wie möglich ausgeschaltet, um eine Ablenkung der Probanden durch akustische oder optische Reize zu vermeiden.

Ein Beispiel für die erzielten EMG-Antworten eines einzelnen Probanden bei den beiden Stimulationsintensitäten zeigt die Abbildung 4.

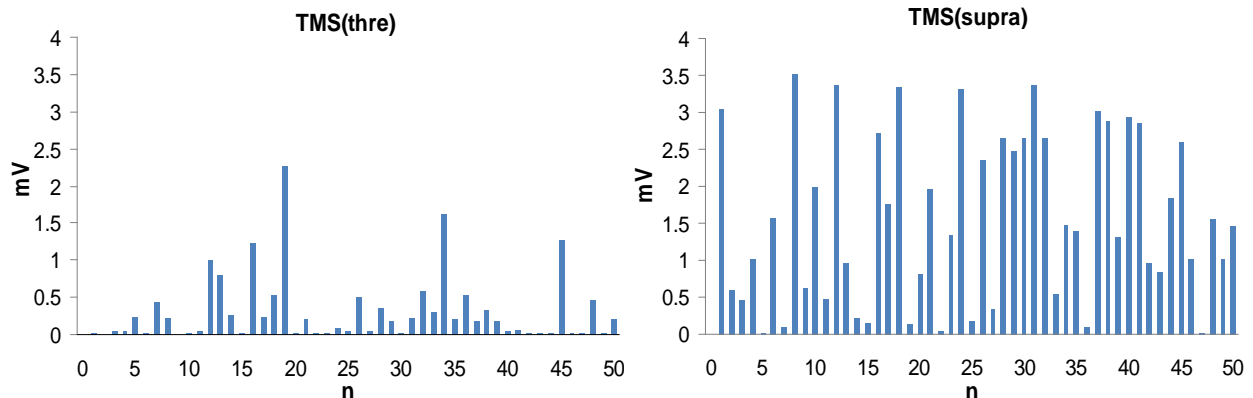


Abbildung 4 Beispiel für EMG-Daten Die Daten zeigen die MEP-Amplitude (in mV) je TMS-Stimulus für Proband 10. In jeder Konditionen wurden 50 Einzelstimuli appliziert (= „n“).

2.3 Versuchsdurchführung

Der Versuch diente der Charakterisierung der vaskulären Antwort auf TMS an und oberhalb der Motorschwelle (RMT). Zur funktionellen Lokalisation des Motorkortex wurde ferner eine physiologische Aktivierung mit einem motorischen Paradigma durchgeführt. Dies wurde so gewählt, dass die aktivierten Muskeln möglichst den durch die TMS stimulierten entsprachen.

Die Messung der kortikalen Oxygenierungsantworten erfolgte demnach unter drei Konditionen:

- i. Willkürmotorische Kontraktion des rechten MID I
- ii. sp-TMS im schweligen Bereich (TMS^{thre})
- iii. sp-TMS im überschwelligen Bereich ($\text{TMS}^{\text{supra}}$)

(i) Die motorische Stimulation diente der funktionellen Lokalisation des Motorkortex (M1). Hierzu wurde in der Datenanalyse das Areal bestimmt, in dem bei willkürmotorischer Kontraktion des MID I eine typische vaskuläre Antwort auftritt. Dies ist notwendig, da eine anatomische Orientierung des motorischen Kortex mit der NIRS ähnlich wie im EEG nur durch die Referenz zu externen knöchernen Strukturen (Inion-Nasion-Abstand) möglich ist. Weiterhin diente die willkürmotorische Kontraktion als Grundlage für den Vergleich zwischen der hämodynamischen Antwort bei physiologischer

und sp-TMS induzierter Aktivität. Bei dieser Kondition drückten die Probanden 20 Sekunden lang mit einer Frequenz von ca. 2Hz einen hohlen Plastikkörper zwischen dem Daumen und dem Zeigefinger der rechten Hand. Anschließend folgte eine Ruhephase von ebenfalls 20 Sekunden. Dieser Ablauf wurde 10-mal wiederholt.

(ii; iii) Wir führten die transkranielle Magnetstimulation im schwelligen und überschwelligem Bereich durch, um den Einfluss der Stimulationsstärke auf Konzentrationsänderungen von oxy- und deoxyHb zu untersuchen. Es wurden in jeder der beiden Konditionen 50 Einzelimpulse mit konstanter Intensität über dem Handareal des linken Motorkortex entladen. Das Interstimulusintervall (ISI) betrug 10-14 Sekunden. Hintergrund für den gewählten zeitlichen Abstand zwischen den Stimuli ist zum einen die bekannte Latenz der vaskulären Antwort (im Sekundenbereich), zum anderen bildet sich die vaskuläre Perturbation nach einem Stimulus nur träge zurück. Es sind somit relativ lange ISIs notwendig, um eine möglichst gute Trennung der einzelnen Oxygenierungsantworten auf die Stimuli zu erreichen. Das Interstimulusintervall war pseudorandomisiert, um eine Antizipation zu vermeiden.

Die Reihenfolge der zwei sp-TMS Konditionen war pseudorandomisiert. Der willkürmotorische Teil des Experiments fand jedoch immer zwischen beiden Stimulationen statt. Dies hatte pragmatische Gründe: Es ermöglichte das Abkühlen der Spule und damit deren Einsatzbereitschaft bei mehr als 100 Stimuli je Proband trotz der hohen Intensitäten.

2.4 Auswertung

Die Auswertung der NIRS-Daten bestand aus drei Teilen (s. Abbildung 5): Zunächst erfolgte die Lokalisation des individuellen Motorkortex M1 (2.4.1). Anschließend (2.4.2) wurde in den zu M1 gehörigen Messfeldern eine Auswertung der vaskulären Antwort für die verschiedenen Stimuli (VM, TMS^{thre}, TMS^{supra}) und (2.4.3) in Abhängigkeit von der Größe der MEP-Amplitude durchgeführt. Voraussetzung für die Datenanalyse war die Umrechnung der Intensitätsänderungen beider Wellenlängen pro Messkanal in

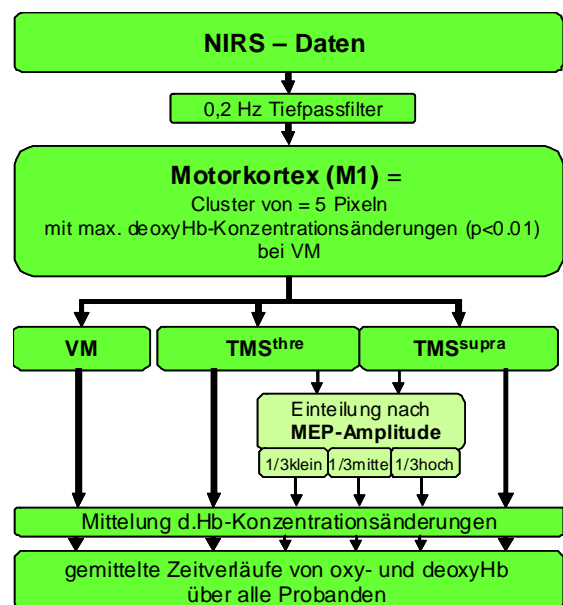


Abbildung 5. Ablauf der Auswertung der NIRS-Daten Einzelheiten siehe Text.

Konzentrationsänderungen von oxy- und deoxyHb gemäß des modifizierten Lambert-Beer-Gesetztes (Cope et al. (1988)). Zur Eliminierung der pulsatischen Komponente der Konzentrationsänderungen verwendeten wir einen 0.2 Hz Tiefpassfilter. Weiterhin erfolgte eine Auswertung der EMG-Daten hinsichtlich der Verteilung und der mittleren Amplitude bei TMS mit unterschiedlichen Intensitäten (2.4.4).

2.4.1 Bestimmung des Motorkortexareals

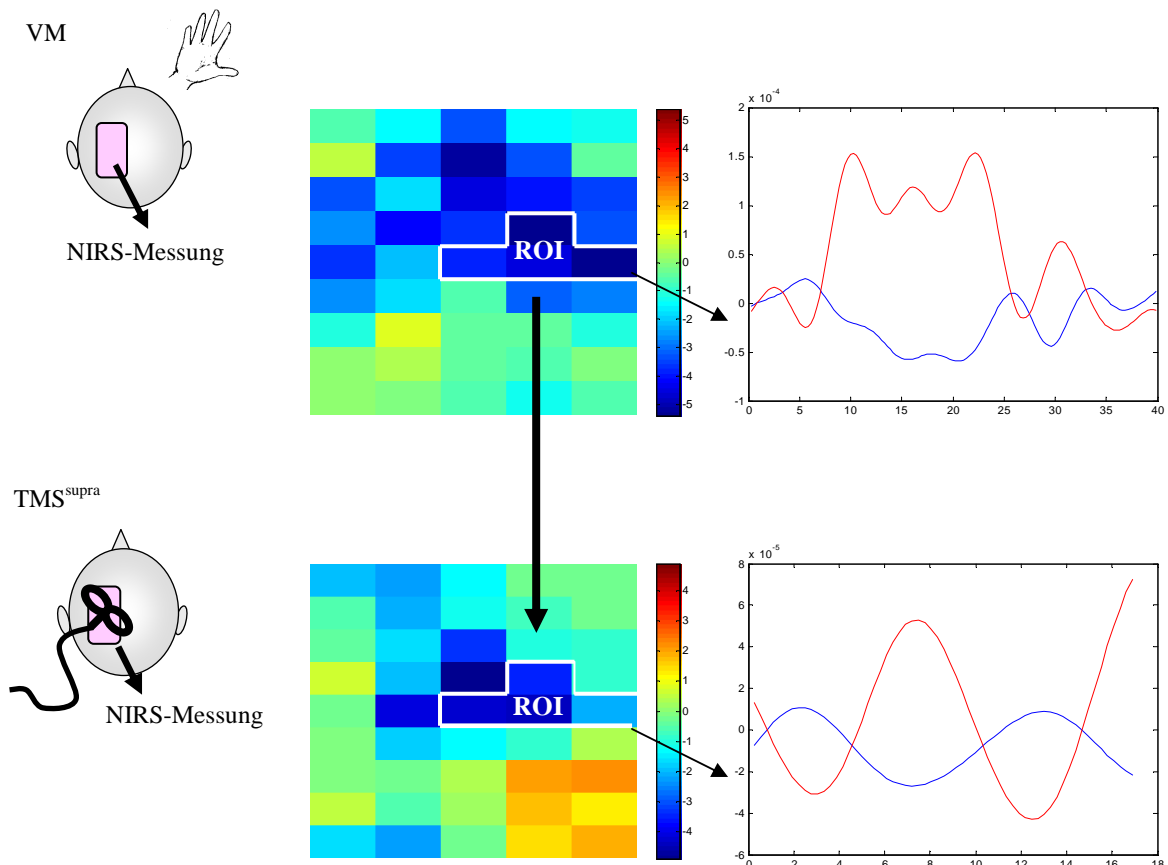


Abbildung 6. Links: Schematische Darstellung der Definition der Region of Interest (ROI). Mitte oben: t-Karte für die relative Konzentrationsänderung von deoxyHb bei Willkürkontraktion des MID I von Proband 6 zur Bestimmung der Region of Interest (ROI) ROI ist das funktionelle Korrelat zur fokalen neuronalen Aktivierung bei Willkürkontraktion des MID I. Das angegebene Cluster aus den zusammenhängenden Messpunkten mit der stärksten Aktivierung entspricht dem Handareal des Motorkortex (=M1). Mitte unten: t-Karte für die relativen deoxyHb-Konzentrationsänderungen bei TMS^{supra} von Proband 1 mit Angabe der in der VM – Kondition bestimmten ROI. Die gleiche Vorgehensweise wurde für die TMS^{thre} angewendet Rechts: Gemittelte Zeitverlaufskurven für die Konzentrationsänderungen von oxyHb (rot) und deoxyHb (blau) von Proband 1 im ROI bei Willkürkontraktion (oben) und bei TMS^{supra} (unten).

Der Motorkortex (M1) wurde bei jedem Probanden durch die Analyse der vaskulären Antwort bei willkürmotorischer Kontraktion identifiziert (Analyse wie Boden et al. (2007)). Zur Analyse der Antwort wurde die Oxygenierungsänderungen zwischen 5 und 20 Sekunden nach Stimulationsbeginn gemittelt. Der mittlere Konzentrationsabfall von deoxyHb in diesem Zeitfenster wurde als Maß für die Stärke der Antwort verwendet. Die statistische Analyse über die errechneten Mittelwerte in den einzelnen Messpunkten mit einem zweiseitigen t-Test und einer Schwelle von $p < 0.01$ ermöglichte die Definition des Hand-Motorareals. Die resultierenden t-Karten (siehe Abbildung 6 Mitte oben, Beispiel für Proband 6) zeigen für jeden Messpunkt den errechneten t-Wert aus dem Vergleich von Willkürmotorik und Ruhe und beschreiben so Bereiche regionaler neuronaler Aktivierung (Region Of Interest = ROI). Um unter den Pixeln mit signifikantem t-Wert den Motorkortex möglichst genau zu lokalisieren, wurde jeweils das größte zusammenhängende Cluster von bis zu fünf Messpunkten mit den stärksten Antworten (stark negative t-Werte) ermittelt. Für die weiteren Analysen der vaskulären Antwort wurden nur noch die hierdurch bestimmten Motor-ROIs verwendet (Abbildung 6 zeigt eine schematische Darstellung des Auswertungsvorgangs). 18 der 26 Probanden zeigten hierbei signifikante Werte und konnten für die weitere Auswertung berücksichtigt werden (siehe Tabelle 1).

2.4.2 Analyse der Oxygenierungsantwort für die einzelnen Konditionen

In den zu M1 gehörigen Messfeldern führten wir zunächst für jeden Probanden und anschließend für die ganze Gruppe eine Mittelung der stimulus-gekoppelten oxyHb und

NIRS-Auswertung		EMG-Auswertung	
	NIRS-Datensätze	davon mit EMG-Daten	Ergebnisse
insgesamt	26 ↓	14 ↓	MEP-Verteilungskurven, mittlere MEP-Amplituden
ROI-Bestimmung möglich	18 ↓	9 ↓	
Oxygenierungsantwort im ROI bei TMS ^{supra}		6 ↓	Drittung hoch, mittel, niedrig
Ergebnisse	Zeitverlaufskurven für VM, TMS ^{supra} & TMS ^{thre}	je Zeitverlaufskurven für TMS ^{supra} & TMS ^{thre}	

Tabelle 1 Anzahl der Probanden je Auswertungsschritt. Die Auswertung der NIRS-Daten ist grün hinterlegt, die der EMG-Daten weiß und die Korrelation von NIRS- und EMG-Daten hellgrün. Insgesamt standen 26 NIRS- und 14-EMG-Datensätze zur Verfügung. Pfeile geben den weiteren Verlauf der Auswertungsschritte an, die Zahlen stehen für die Anzahl der einbezogenen Probanden. Einzelheiten siehe Text.

deoxyHb Antworten für jede Kondition in dem Zeitfenster von 2s vor bis 15s nach dem Stimulus durch. Für die willkürmotorische Kontraktion erfolgte die Mittelung für 5s vor Stimulationsanfang bis 15s nach Stimulationsende. Aufgrund der Latenz der hämodynamischen Antwort wurde angenommen, dass die vaskuläre Antwort bei kurzen Stimuli ca. 5s nach dem Reiz ihr Maximum erreicht. Die jeweils maximale Amplitude von oxyHb und die minimale Amplitude von deoxyHb zu diesem Zeitpunkt wurden daher zur Effektcharakterisierung verwendet. Die Oxygenierungsantwort auf sp-TMS wurde über alle Probanden gemittelt und statistisch geprüft, ob sich über die Probanden eine Oxygenierungsantwort findet. Es wurde ein einseitiger t-Test der Amplitude gegen 0 durchgeführt. Die dazugehörigen p-Werte sind im Ergebnisteil angegeben.

2.4.3 Kortiko-spinale Efferenz und Oxygenierungsantwort

Für die Auswertung des Zusammenhangs zwischen Oxygenierungsantwort und der kortiko-spinalen Efferenz standen 9 vollständige NIRS- und EMG-Datensätze mit identifizierbarem ROI zur Verfügung (siehe unten Tabelle 1). Zunächst prüften wir diese Datensätze auf das Vorhandensein einer Oxygenierungsantwort im ROI nach überschwelliger TMS. Wie bereits oben beschrieben ist hierfür der Abfall von deoxyHb der robustere Parameter. Demnach wurden all die Datensätze weiter berücksichtigt, in denen der Mittelwert von deoxyHb 5s nach TMS^{supra} kleiner als 0 pmol/l war. Dies traf für 6 der 9 Probanden zu. Anschließend wurden bei jedem dieser 6 Probanden die MEPs für TMS^{thre} und TMS^{supra} ihrer Amplitude nach in drei gleich große Gruppen eingeteilt (hoch, mittel und niedrig). Es folgte eine Einzelprobandenmittelung der stimulus-gekoppelten hämodynamischen Antwort für jede der drei Gruppen und anschließend die Mittelung der Werte über alle Probanden. Die Mittelung und Effektcharakterisierung erfolgte entsprechend dem in 2.4.2 beschriebenen Procedere.

2.4.4 Effekt von TMS auf die MEP-Amplitude

Insgesamt standen für die MEP-Auswertung die EMG-Daten von 14 Probanden zur Verfügung. Zunächst wurde eine Verteilungskurve der Peak-to-peak-Amplituden bei schwelliger und überschwelliger Stimulation erstellt. Zur weiteren Charakterisierung erfolgte die Mittelung der MEP-Amplituden je Kondition für jeden Probanden, sowie über alle Probanden. Einseitige t-Tests der Mittelwerte gegen 0 wurden durchgeführt.

Die Ergebnisse und die statistische Power der einzelnen Auswertungen werden im Ergebnisteil berichtet.

3 Ergebnisse:

Die Ergebnisse werden in drei Abschnitten präsentiert: Zunächst werden die Hb-Konzentrationsänderungen für die drei Versuchsbedingungen vorgestellt (3.1), anschließend folgt die Charakterisierung des Effekts von TMS auf die kortiko-spinale Efferenz (3.2) und der letzte Abschnitt wendet sich dem Zusammenhang zwischen der MEP-Größe und der Oxygenierungsantwort zu (3.3).

3.1 Einfluss der TMS-Intensität auf die Oxygenierungsantwort...

3.1.1 ... bei überschwelliger Stimulation

Wie sich in den Zeitverlaufskurven der Konzentrationsänderungen für oxyHb und deoxyHb (Abbildung 7) erkennen lässt, ruft die transkranielle Magnetstimulation mit überschwelligen Intensität (TMS^{supra}) einen Abfall von deoxyHb mit gleichzeitigem Anstieg des oxyHb hervor. Der Abfall von deoxyHb erreicht 5s nach Stimulus Werte von -11.05 pmol/l (SEM $\pm 5.2 \text{ pmol/l}$; $p=0.024$) und ist damit statistisch signifikant, während der oxyHb-Anstieg von 21.1 pmol/l (SEM $\pm 27.4 \text{ pmol/l}$; $p=0.227$) statistisch nur einen Trend zeigt. Der Scheitelpunkt der Zeitverlaufskurve liegt für oxyHb bei 3.5s und damit ca. eine Sekunde früher als der für deoxyHb (4.6s). Nach ca. 7-9s erreichen die Werte für oxy- und deoxyHb das Ruheniveau. Beim Interstimulusabstand von 8-14s ist somit keine relevante Überlagerung der Oxygenierungsantworten auf die einzelnen Stimuli zu erwarten. Die große Varianz der oxyHb-Werte, die sich auch in der nicht signifikanten Statistik zeigt, ist am ehesten durch den größeren Einfluss extrakranieller Durchblutungsänderungen auf oxyHb bedingt (Boden Boden et al. (2007)).

3.1.2 ... bei TMS mit Schwellenintensität

Obwohl die Stimulation bei Schwellenintensitäten (TMS^{thre}) zu 75% messbare MEPs erzeugt (siehe Abbildung 9), treten keine signifikanten Hb-Konzentrationsänderungen auf (Abbildung 7). Tendenziell zeichnet sich ein leichter Abfall von deoxyHb ab. Der Scheitelpunkt der Kurve liegt wie bei der überschwelligen Stimulation 4.6 Sekunden nach Stimulus. Der deoxyHb-Abfall bei +5s erreicht einen Mittelwert von -3.98 pmol/l (SEM $\pm 4.76 \text{ pmol/l}$; $p=0.213$). Die Kurve für oxyHb verläuft gegensinnig, bleibt aber mit einem Mittelwert von -8.98 pmol/l (SEM $\pm 16.7 \text{ pmol/l}$) unterhalb der Werte für deoxyHb. Zudem zeigt sich dabei ein wellenförmiger Verlauf mit der Filterfrequenz von 0.2Hz, so dass der Anstieg nicht im Sinne eines Aktivierungsmusters zu deuten ist.

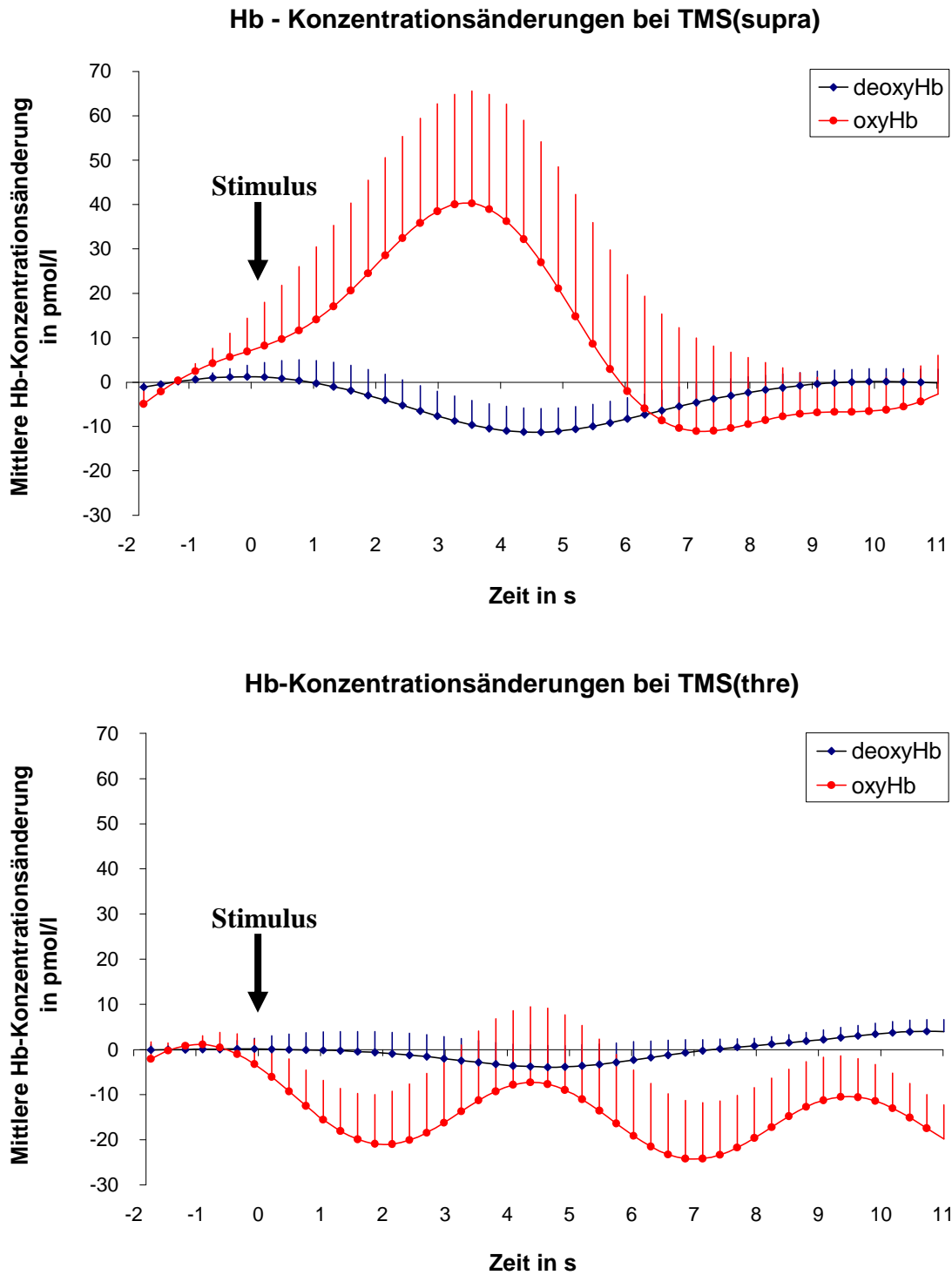


Abbildung 7. Zeitverlaufskurven für oxy- und deoxyHb-Konzentrationsänderungen bei TMS. Die Kurven zeigen die Mittelwerte der oxyHb und deoxyHb-Konzentrationsänderungen in M1 bei TMS mit unterschiedlichen Intensitäten. Gemittelt wurden die Daten von 18 Probanden. Vertikale Balken geben den Standardfehler (SEM) der Mittelwerte an. Der Stimulus erfolgte je zum Zeitpunkt 0. Die Zeitangabe ist in Sekunden (s). **Oben:** Oxygenierungsantwort bei überschwelliger TMS **unten:** bei schwelliger TMS.

3.1.3 ... im Vergleich zur willkürmotorischen Kontraktion

Während der willkürmotorischen Kontraktion der rechten Daumenmuskulatur zeigte sich, genau wie bei der überschwelligen TMS, ein signifikanter Abfall von deoxyHb mit simultanem Anstieg des oxyHb im linken Motorkortex. Wie sich an der Zeitverlaufskurve in **Abbildung 8** erkennen lässt, liegt 5s nach Stimulationsbeginn das Minimum für deoxyHb bei -85.61 pmol/l (SEM $\pm 12.6 \text{ pmol/l}$; $p > 0.0001$) und das Maximum von oxyHb bei 294.19 pmol/l (SEM $\pm 83.3 \text{ pmol/l}$; $p = 0.001$). Dies entspricht dem typischen vaskulären Muster bei neuronaler Aktivierung bei NIRS-Messungen (Wenzel et al. (2000)). Es bestätigt sich die Annahme eines Plateaus zwischen 5 und 20 Sekunden nach Stimulusbeginn. Direkt nach dem Ende der Kontraktion beginnt eine ca. 5-10-sekündige Phase, in der die Werte für oxyHb und deoxyHb wieder auf das Ruheniveau zurückkehren. Die Werte sind um eine Zehnerpotenz größer als die bei Einzelpuls-TMS gemessenen Hb-Konzentrationsänderungen. Dies ist auf die Kürze des Stimulus bei Einzelpuls-TMS (ca. $200 \mu\text{s}$) im Gegensatz zu 20s Kontraktion zurückzuführen.

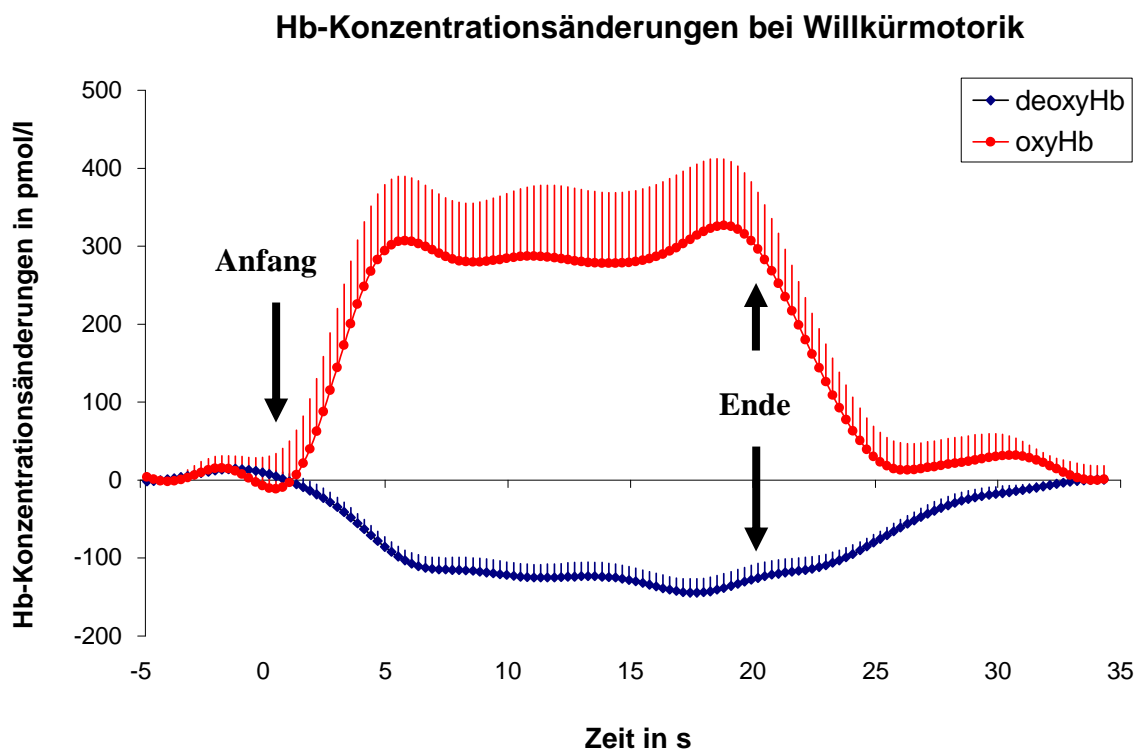


Abbildung 8. Zeitkurvenverlauf für die Änderungen von oxy- und deoxyHb bei willkürmotorischer Kontraktion des MID I. Die Daten geben die Mittelwerte aus dem Cluster der größten funktionalen Aktivierung bei Willkürmotorischer Kontraktion wieder (Einzelheiten siehe Methodikteil). Fehlerbalken zeigen den Standardfehler der Mittelwerte an. Daten von 18 Probanden.

3.2 Einfluss der TMS-Intensität auf die kortiko-spinale Efferenz

3.2.1 Verteilung der MEPs bei TMS^{supra} und TMS^{thre}

Insgesamt führten bei überschwelliger Stimulation 95%, bei schwelliger TMS 75% der Stimuli zu messbaren MEPs.

Dabei rief die transkranielle Magnetstimulation mit TMS^{supra} zu 40% MEPs $\geq 1\text{mV}$ hervor, während bei TMS^{thre} nur 12% der Stimuli zu MEPs oberhalb dieser Schwelle führten (Abbildung 9). Damit stellt sich die Schwellenbestimmung als in sich konsistent dar. Dass insgesamt nur 40% und nicht genau die Hälfte aller Stimuli bei TMS^{supra} MEPs $\geq 1\text{mV}$ hervorriefen, liegt bei 50 Stimuli und einer durchschnittlichen Stimulationsdauer von ca. 9 Minuten je Kondition wahrscheinlich an Habituationseffekten. Eine weitere Erklärungsmöglichkeit ergibt sich aus den Arbeiten von Brasil-Neto et al. (1994) und Schmidt et al. (2009) (bisher nicht veröffentlicht). Beide zeigen, dass es bei den ersten 20 Stimuli einen Zustand erhöhter kortikaler Erregbarkeit gibt, der dazu führt, dass initial die MEP-Amplituden größer als im weiteren Verlauf sind.

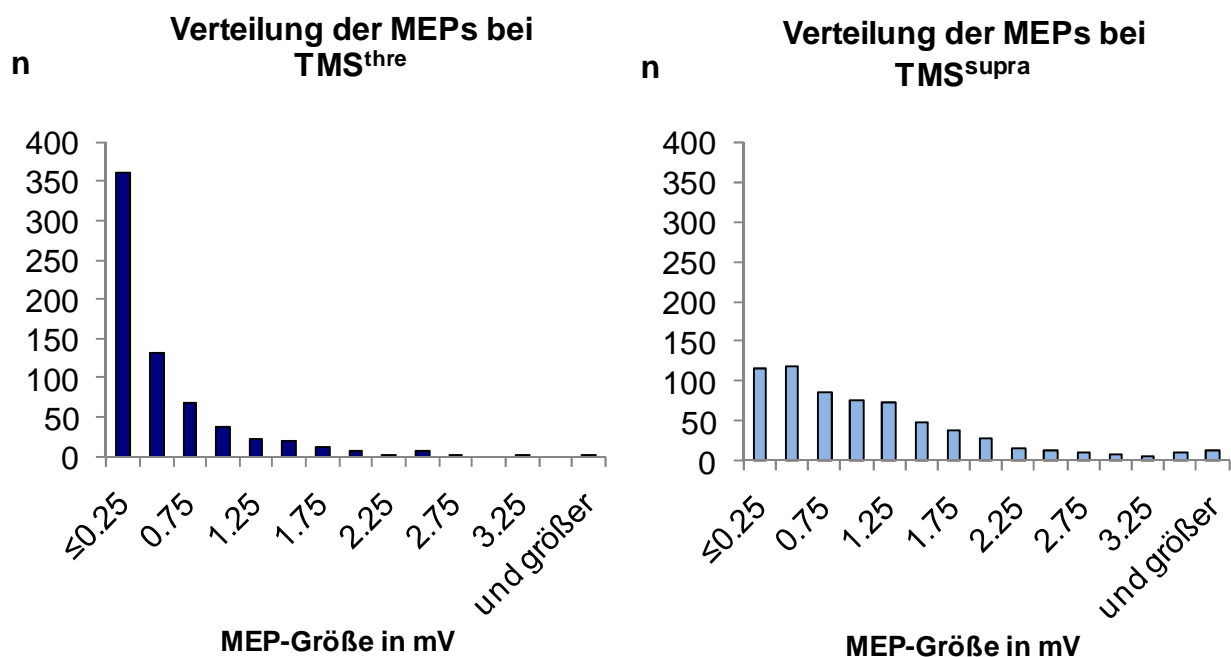


Abbildung 9. Verteilungskurve der MEP- Amplituden In die Kurven sind alle MEPs von 14 Probanden berücksichtigt. Die MEP-Größe entspricht der Peak-to-peak-Amplitude in mV. „n“ steht für die Anzahl der MEPs.

Mittlere MEP-Amplitude bei TMS

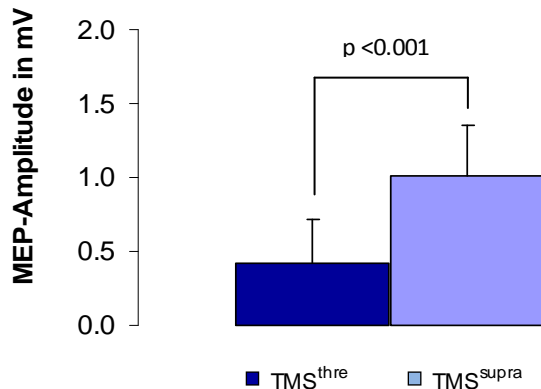


Abbildung 10. Die Mittelwerte der MEP-Amplituden bei TMS schwelliger (hellblaue Säule) und überschwelliger Intensität (dunkelblaue Säule) sind abgebildet. Die vertikalen Linien geben die Standardabweichung an. Die Mittelwerte beruhen auf den Daten von 14 Probanden.

Wie Abbildung 10 zeigt, ist die mittlere Amplitude bei TMS mit TMS^{supra} (1.01mV ± 0.34mV) signifikant größer als der Mittelwert bei TMS mit TMS^{thre} (0.47mV ± 0.33mV). Ein zweiseitiger t-Test zwischen beiden Konditionen ergibt einen p-Wert von 0.0003.

3.2.2 Inter- und intraindividuelle Unterschiede

Interessant sind die enormen inter- aber auch intraindividuellen Unterschiede. Die Fehlerbalken in Abbildung 11 geben die Standardabweichung für die mittleren MEPs der einzelnen Probanden für jede Stimulationsintensität an. Die Unterschiede betreffen nicht nur die absolute Größe der MEPs sondern auch deren Varianz. Beides differiert, zum einen

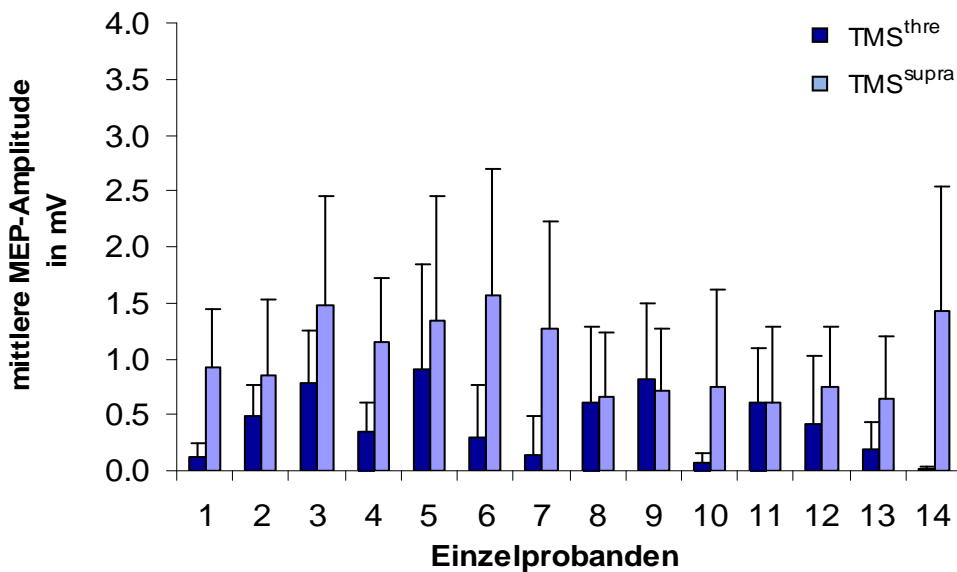


Abbildung 11 Gemittelte MEP- Amplituden der Einzelprobanden. Mittelwerte bei TMS^{thre} und TMS^{supra} in mV mit Standardabweichung (vertikale Balken).

zwischen den beiden Konditionen innerhalb eines Probanden, zum anderen zwischen den Probanden innerhalb der einzelnen Konditionen. Dieses Phänomen ist bekannt, allerdings ist das Wissen über die verantwortlichen physiologischen Mechanismen noch sehr lückenhaft. Mögliche Gründe hierfür werden in Kapitel 4.2.3 des Diskussionsteils erörtert.

3.3 Oxygenierungsantwort und kortiko-spinale Efferenz

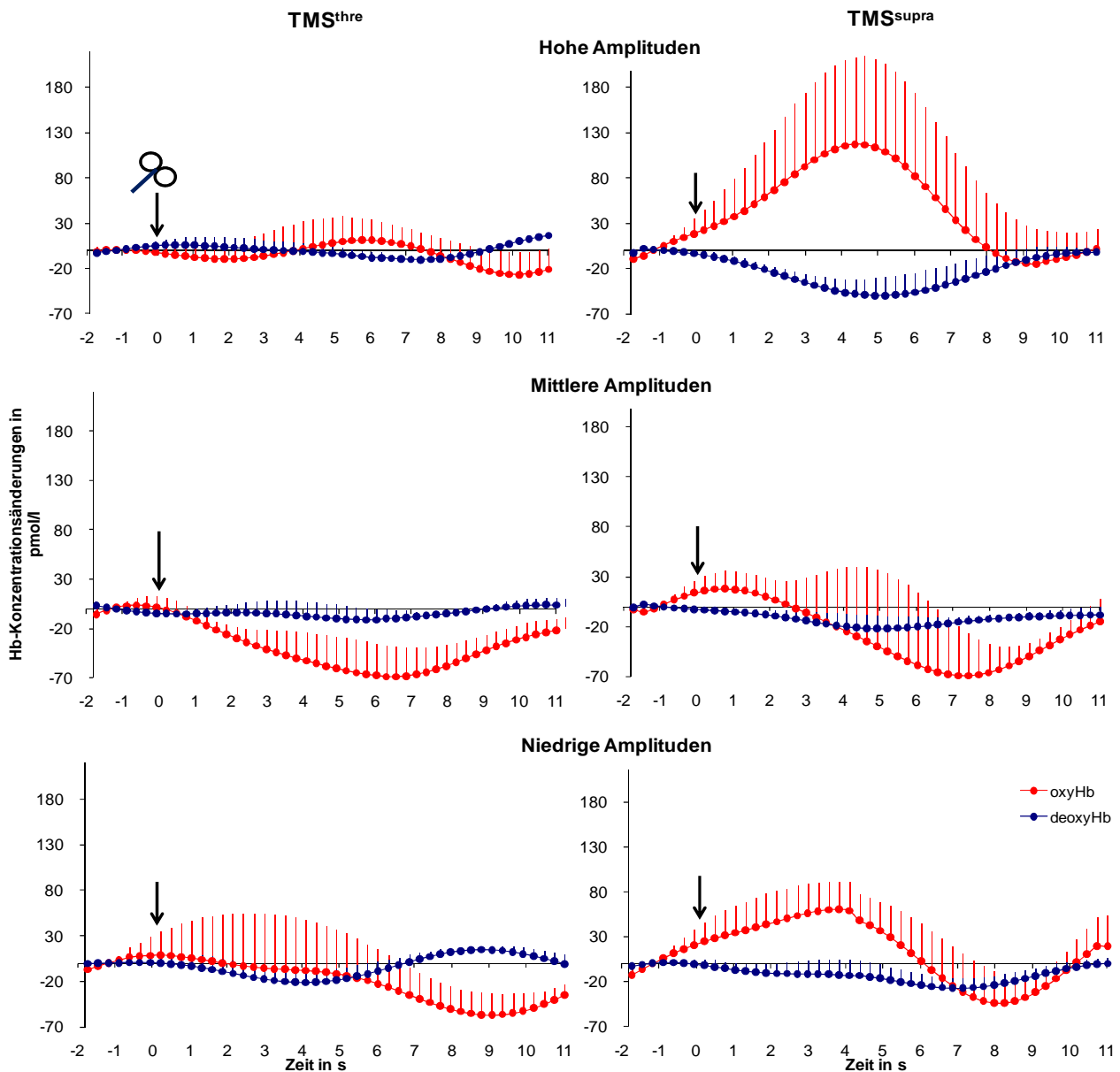


Abbildung 12. Zeitkurvenverläufe der Hb-Konzentrationsänderungen bei TMS nach MEP-Größe ausgewertet: Dargestellt sind die Oxygenierungsantworten beim Auftreten großer (**oben**), mittlerer (**mitte**) und niedriger MEP-Amplituden (**unten**) für die Stimulation mit TMS^{thre} (**rechte Spalte**) und TMS^{supra} (**linke Spalte**). Angegeben sind die Konzentrationsänderungen für oxy- und deoxyHb in pmol/l. Der Zeitpunkt der Stimuluspräsentation zum Zeitpunkt t=0s ist durch Pfeile und eine Spule gekennzeichnet. Einzelheiten der Auswertung siehe Kapitel 2.4.3

Auch bei der Auswertung der Oxygenierungsantwort nach der Größe der TMS-induzierten MEPs zeigen sich unterschiedliche Ergebnisse innerhalb der Stimulation mit ein und derselben Intensität (siehe Abbildung 12).

Das einzige signifikante Ergebnis tritt nach überschwelliger Stimulation mit TMS^{supra} im Zusammenhang mit hohen MEP-Amplituden auf. Es ist durch einen deoxyHb-Abfall um -49.7 pmol/l (SEM 19.3 pmol/l) 5 Sekunden nach Stimuluspräsentation gekennzeichnet (p=0.049). Gleichzeitig zeigt sich ein Anstieg von oxyHb mit einem Maximum von 117 pmol/l (SEM 97.1 pmol/l, p=1.5) bei +4.3 Sekunden. Auch in der Gruppe der mittleren MEP-Amplituden deutet sich bei überschwelliger TMS ein deoxyHb-Abfall mit dem typischen Peak um +5s an, jedoch erreicht dieser keine statistische Signifikanz (21.8 pmol/l, SEM 12.9, p=0.61).

Bei der Stimulation im Schwellenbereich (TMS^{thre}) treten in keiner der drei Gruppen signifikante hämodynamische Veränderungen auf.

Kondition	oxyHb in pmol/l	SEM	p	deoxyHb in pmol/l	SEM	p	MEP-Amplitude in mV	STD
VM	294.19**	±83.3	0.001	-85.61**	±12.6	>0.0001	-	-
TMS ^{supra}	21.1	±27.4	0.227	-11.05*	±5.2	0.024	1.01	±0.34
TMS ^{thre}	-8.98	±16.7	0.299	-3.98	±4.76	0.213	0.47	±0.33
<i>TMS^{supra} mit</i>								
hohen MEPs	113.58	±98.3	0.150	-49.73*	±19.3	0.025	1.85	±0.6
mittleren MEPs	-39.64	±77.2	0.315	-21.82	±12.9	0.076	0.28	±0.16
niedrigen MEPs	36.87	±32.8	0.156	-15.99	±15.4	0.173	0.78	±0.39
<i>TMS^{thre} mit</i>								
hohen MEPs	8.04	±28.9	0.396	-3.61	±8.02	0.335	0.87	±0.97
mittleren MEPs	68.87	±30.8	0.062	-10.09	±14.5	0.259	0.20	±0.18
niedrigen MEPs	-11.66	±48.8	0.410	-18.73	±13.1	0.106	0.09	±0.08

Tabelle 2 Ergebnisübersicht. Für jede Kondition (Willkürmotorische Kontraktion und TMS^{thre}, sowie TMS^{supra}) sind die Mittelwerte für die Oxygenierungsantwort bei 5s nach Stimulationsbeginn, bzw. TMS-Puls angegeben. Neben jedem Mittelwert finden sich der zugehörige Standardfehler (SEM) und die statistische Power (p) bei einseitigem t-Test. Gemittelt wurden die Daten von 18 Probanden. Gleiches ist für die Auswertung der Oxygenierungsantwort bei TMS in Abhängigkeit von der MEP-Größe aufgelistet. In diese Auswertung gingen die Daten von 6 Probanden ein. Die Tabelle wird durch die Angabe der mittleren MEP-Amplitude für jede Kondition und jede einzelne Gruppe (hoch, mittel, niedrig) mit zugehöriger Standardabweichung (STD) vervollständigt.

4 Diskussion:

Ziel dieses Kapitels ist die Einordnung der Ergebnisse in die bestehende Literatur, sowie eine Diskussion möglicher, ihnen zugrunde liegender neurovaskulärer Vorgänge.

4.1 Einfluss der TMS-Intensität - Vergleich mit bestehender Literatur

Die Einordnung der Ergebnisse ist aufgrund der unterschiedlichen Stimulationsparadigmen in den verschiedenen publizierten Studien schwierig. Zudem bietet bislang keine Arbeit eine übersichtliche Darstellung der Datenlage. Zur besseren Übersicht sind daher in Tabelle 4. die wichtigsten Arbeiten mit TMS des Motorkortex in tabellarischer Form dargestellt und die Ergebnisse hinsichtlich des Einflusses der Intensität auf den regionalen zerebralen Blutfluss (rCBF) im Motorkortex angegeben. Um die größtmögliche Vergleichbarkeit zu erreichen, werden im Folgenden

Arbeiten mit TMS von M1 bei entspannter Muskulatur und mit einheitlicher Definition der Motorschwelle zu einem Vergleich herangezogen. Da nach Pridmore et al. (1998) die Schwellenbestimmung bei 50 μ V und bei sichtbaren Bewegungen zu ähnlichen Werten für die RMT führte, sind beide Methoden als gleichwertig anerkannt. Die in den Studien verwendeten Intensitäten sind in den prozentualen Anteil der RMT umgerechnet und als solche in den Tabellen angegeben, um ein einheitliches Ausgangsmaß zu erhalten. Das Verhältnis, nach dem 130% der aktiven Motorschwelle (Active Motor Threshold = AMT) 100% der Ruhemotorschwelle entspricht, ergibt sich aus den Arbeiten von Tergau et al. (1999), Khedr et al. (2004), Sale et al. (2007) und Arai et al. (2007), in denen AMT und RMT unabhängig von einander bestimmt wurden (Tabelle 3).

Die folgenden 6 Arbeiten sind in der Tabelle aufgrund mangelnder oder nicht vergleichbarer Definition der Motorschwelle in der Übersicht nicht berücksichtigt: Kemna et al. (2003), Oliviero et al. (1999), Fox et al. (1997, 2006), Siebner et al. (2000), Paus et al. (1998).

Autor	100% RMT = AMT in %
Tergau (1999)	142.9
Khedr (2004)	125
Sale (2007)	126.9
Arai (2007)	125.5
Mittelwert	130

Tabelle 3. Verhältnis von AMT zu RMT. Links: Autoren der Paper, in denen sowohl AMT als auch RMT der Probanden bestimmt wurde. **Rechts:** Verhältnis der Intensitäten beider Motorschwellen.

Quelle	n	Frequenz	Messmethode	Gemessene Parameter	Intensität in %RMT	rCBF in M1	Hb-Änderung bzw. rCBF-Änderung in %	Definition der Motorschwelle						
Neumann (2009)	24	Sp-TMS	NIRS	oxyHb	100-109%	→	Ø	RMT Siehe Methodikteil (2.2.3)						
Mochizuki (2006)	8	sp-TMS	NIRS	deoxyHb	110-120%	↑	deoxyHb↓	AMT= 5/10 >100µV bei 5% max. Kontr.						
				oxyHb	77%	→	Ø							
				deoxyHb	92%,	↓	deoxyHb↓; totHb↓							
Nogushi (2003)	6	sp-TMS	NIRS	totHb	107%,	↓	deoxyHb↓; totHb↓	AMT= 5/10 >50µV bei 10% max. Kontr.						
				oxyHb	53%,	→	Ø							
				deoxyHb	69%,	↑	oxyHb↑							
Hada (2006)	12	0.5Hz u. 2Hz	NIRS	oxyHb	80%	↑	oxyHb↑	RMT= 5/10 > 50µV						
				deoxyHb	120%	↓	bei beiden: deoxyHb↑;							
				totHb		↓	oxyHb↓; totHb↓							
Baudewig (2001)	6	10Hz	fMRT	BOLD	90%	→	0.2%	RMT= 50% sichtb. Bew. eines Fingers						
Bestmann (2003)	8	4Hz	fMRT	BOLD	110%	↑	1-2%	RMT= sichtb. Bew. FID in 2/4 rTMS-trains						
					69%	→	0.1%							
					85%	→	0.1%							
Bestmann (2004)	11	3Hz	fMRT	BOLD	110%	↑	0.5%	AMT= idem RMT b. 10% max. Kontr. RMT= 4/8 sichtb. Bew						
					69%	→	0.1%							
					110%,	↑	0.5-1%							
Bohning (2000b)	5	sp-TMS	fMRT	BOLD	120%	↑	1-1.5%	RMT= 50% sichtb. Bew.						
Bohning (1998)	3	0.83Hz	fMRT	BOLD	110%	↑	5-10%	RTM= 50% sichtb. Bew.						
Bohning (1999)	7	1Hz	fMRT	BOLD	80%	↑	1%	RMT= 5/10 sichtb. Bew.						
					110%	↑	2-3%							
					110%	↑								
Bohning (2000a)	5	1Hz	fMRT	BOLD	110%	↑	3.10%	RMT= 5/10 sichtb. Bew.						
Bohning (2003)	4	1Hz	fMRT	BOLD	120%	↑	1-3%	RMT= 50% sichtb. Bew.						
Chouinard (2003)	7	1Hz	15O ² PET	rCBF	90%	↑	Ø	RMT= 5/10 >50µV						
Denslow (2004)	9	1Hz	fMRT	BOLD	110%	↑	1.69%	RMT= 5/10 sichtb. Bew.						
Denslow (2005)	11	1Hz	fMRT	BOLD	110%	↑	1.00%	RMT= 5/10 sichtb. Bew.						
Hakanawa (2009)	16	0.15Hz	fMRT	BOLD	40%	→	0.05%	RMT= 5/10 >50µV APB						
					50%	→	0%							
					65%	→	0%							
					75%	→	0.1%							
					90%	→	0.1%							
					100%	→	0.15%							
					110%	↑	0.35%							
					115%	↑	0.45%							
					Lee et al. (2003)	8	1Hz		15O ² PET	rCBF	90%	↑	Ø	RMT= 5/10 sichtb. Bew. FDI
					McConnell (2003)	11	1Hz		fMRT	BOLD	110%	↑	1.8-1.9%	RMT= 50% sichtb. Bew.
Moisa (2009)	5	5Hz	fMRT	BOLD	110%	↑	1.20%	RMT= 5/10 sichtb. Bew.						
Okabe (2003)	5	1Hz	SPECT	rCBF	85%	→	Ø	AMT= MEPs 50µV bei 5% max. Kontr.						
Rounis (2005)	8	5Hz	15O ² PET	rCBF	90%	↑	Ø	RMT= sichtb. Bew. FDI 5/10						
Siebner (1998)	6	2Hz	18FDG PET	rCMRglc	140%	↑	7.80%	RMT= sichtb. Bewegung re Ext. Dig II						
Siebner (1999)	12	2Hz	18FDG PET	rCMRglc	140%	↑	6.90%	RMT= 50% >50µV FID						
Siebner (2001a)	12	2Hz	18FDG PET	rCMRglc	140%	↑	7.60%	RMT= 50% >50µV FID						
Siebner (2001b)	6	1-5Hz	15O ² PET	rCBF	69%	↑	↑ frequenzabh.	AMT= Bew. des FID bei isometr. Kontr.						
Speer 2003a)	10	1Hz	15O ² PET	rCBF	80%	↑	3.5%	RMT= 5/10 ≥50µV (APB) (entspricht sichtb. Bew.)						
					90%	↑	5%							
					100%	↑	4%							
					110%	↑	6%							
					120%	↑	11%							
Takano (2004)	6	5Hz	15O ² PET	rCBF	69%	↑	Ø	AMT= 200µV in 5/10 bei 20% max. Kontr.						

Tabelle 4. Bildgebende Arbeiten mit TMS des Motorkortex (M1). Die Spalten geben (von links nach rechts) Auskunft über 1. den Namen des Erstautors und das Veröffentlichungsdatum der Studie; 2. die Anzahl der Probanden mit TMS des M1 (n); 3. die Stimulationsfrequenz; 4. die Messmethode und 5. die gemessenen Parameter; 6. die verwendete Stimulationsintensität, einheitlich in %RMT angegeben (Umrechnung von AMT in RMT siehe Text). In der 7. Spalte von links symbolisieren Pfeile die resultierende rCBF-Änderung im primär stimulierten Areal für die einzelnen Intensitäten. Rechts daneben (8. Spalte v. li) ist die Größe der jeweiligen rCBF-Änderung in Prozent, bei NIRS-Daten die Art der Hb-Konzentrationsänderungen angegeben. Für beide Spalten gilt die Farbkodierung: **Rot:** signifikanter rCBF-bzw. Hb-Anstieg. **Grün:** signifikanter rCBF- bzw. Hb-Abfall. **Schwarz:** keine signifikanten Veränderungen. **Rechts außen** wird die Definition der in der Studie verwendeten Motorschwelle beschrieben. Nur Arbeiten mit vergleichbarer Definition der Motorschwelle sind aufgelistet (Einzelheiten siehe Text). **Abkürzungen:** Ø – keine Daten angegeben, APB – abduktor pollicis brevis, FID - Musculus interosseus dorsalis I, Ext. Dig. II – Musculus extensor digitorum II, sichtb. Bew. – sichtbare Bewegung, max. Kontr. – maximale Kontraktion, isometr. Kontr. – isometrische Kontraktion, rCMRglc – Regional Cerebral Metabolic Rate of Glucose Consumption, 18FDG Pet - ¹⁸F-Fluorodesoxyglucose - PET.

4.1.1 Oxygenierungsantwort bei TMS^{supra}

In der vorliegenden Studie zeigt sich bei überschwelliger TMS ein hämodynamisches Muster, das in seiner Form dem neurovaskulären Aktivierungsmuster bei physiologischer Kontraktion der stimulierten Muskulatur gleicht (siehe Abbildung 7 und Abbildung 8). Hierbei entwickelt sich im Zeitraum von ca. 5 Sekunden nach dem Stimulus eine Zunahme des regionalen Blutflusses und Blutvolumens mit Anstieg der oxyHb- und Abfall der deoxyHb-Konzentration im zerebralen Gefäßbett. Da, wie in 2.2.1 bereits erwähnt, deoxyHb der validere Parameter bei funktionellen Messungen ist, entspricht das Ergebnis der vorliegenden Studie bei TMS^{supra} trotz mangelnder Signifikanz der oxyHb Änderungen einem rCBF-Anstieg bei neuronaler Aktivierung.

Damit ist das vorliegende Ergebnis im Einklang mit der Literatur: 18 von 26 vergleichbaren Studien führten Stimulationen im Bereich $\geq 110\%$ RMT durch. Lediglich in einer davon trat ein rCBF-Abfall auf (Hada et al. (2006)). In den übrigen 17 Arbeiten zeigte sich trotz der Unterschiede in Stimulationsfrequenz und -dauer ein Anstieg des regionalen zerebralen Blutflusses (siehe Abbildung 13), der, wie vergleichende Arbeiten zeigen, in Größe und Lokalisation physiologischer Aktivität entspricht (Bohning et al. (2000), Bestmann et al. (2003), Denslow et al. (2004, 2005) Baudewig et al. (2001), Moisa et al. (2009)).

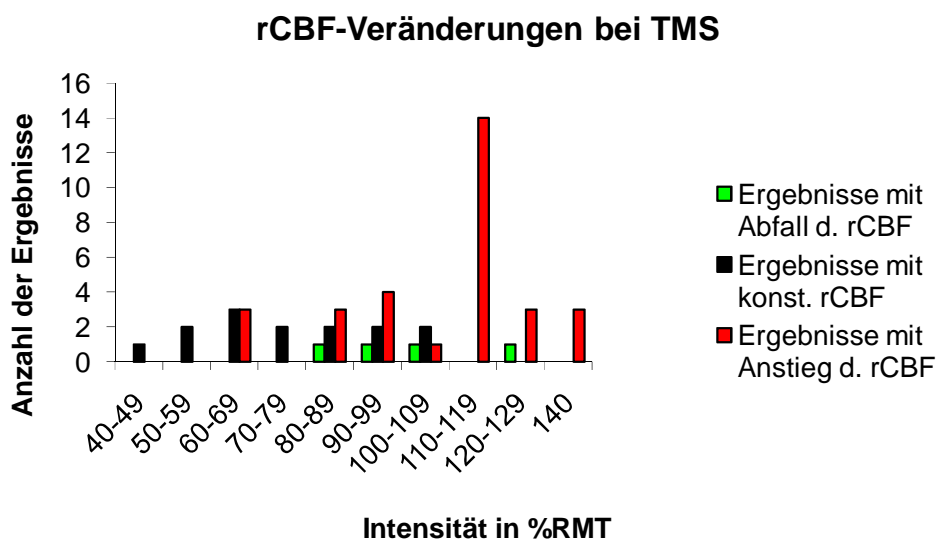


Abbildung 13. Zusammenfassung des Effekts von TMS des M1 in der Literatur. Übersicht über die Verteilung der Ergebnisse bei unterschiedlichen Stimulationsintensitäten. Angegeben ist die Anzahl der Versuche je Intensität, bei der sich ein rCBF-Anstieg, -Abfall und konstanter rCBF zeigte. Alle Ergebnisse sind in Tabelle 2 in gleicher Farbgebung mit Angabe des Stimulationsparadigmas aufgelistet.

4.1.2 *Oxygenierungsantwort bei TMS^{thre}*

Die Stimulation im Bereich der Ruhemotorschwelle bleibt ohne signifikanten Einfluss auf die Hämodynamik. Lediglich eine Tendenz zum deoxyHb-Abfall ist erkennbar. Dies steht im Einklang mit dem Ergebnis von Hanakawa et al. (2009), bei denen sich im stimulierten Motorkortex erst ab 110%RMT ein signifikanter Einfluss auf den rCBF messen ließ. Allerdings sind die Befunde in der Literatur nicht einheitlich. So berichtet die NIRS-Studie von Mochizuki und Kollegen (2006) bei der Stimulation mit 107%RMT bereits einen Abfall von deoxyHb. Da aber gleichzeitig die Konzentration des Gesamthämoglobins (totHb) abfiel, ist ihr Ergebnis im Sinne eines rCBF-Abfalls zu interpretieren. Dies würde einer Deaktivierung des stimulierten Hirnareals entsprechen und ist nicht einfach in seiner Signifikanz zu deuten. Eine andere Arbeit berichtet bei TMS mit 100%RMT einen Anstieg des rCBF (Speer et al. (2003a)) und steht damit im Gegensatz zu den vorliegenden Ergebnissen.

4.1.3 *Wie ist das Verhältnis von Stimulusintensität und Oxygenierungsantwort charakterisiert?*

Das vorgestellte Ergebnis legt die Existenz einer Intensitäts-Schwelle für das Entstehen messbarer hämodynamischer Antworten in der stimulierten Region nahe, die nicht der elektrophysiologischen Schwelle zur Erzeugung von MEPs entspricht.

Gestützt wird diese These durch die Ergebnisse von Bestmann et al. (2003, 2004) und Baudewig et al. (2001), die ebenfalls erst oberhalb der RMT bei Intensität von 110%RMT signifikante rCBF-Änderungen nachweisen können. Auf der anderen Seite gibt es Studien, in denen sich bereits im unterschwelligen Bereich ein Anstieg des rCBF zeigen lässt (Noguchi et al. (2003), Bohning et al. (1999), Siebner et al. (2001), Takano et al. (2004), Speer et al. (2003a)).

Die kleinschrittigste Untersuchung des Verhältnisses zwischen der Intensität und der hämodynamischen Antwort wurde bisher von Hanakawa und Kollegen (2009) durchgeführt. Hanakawa konnte dabei einen Bereich linearer und einen nicht-linearer Zusammenhänge zeigen. Der Übergang zwischen diesen Bereichen für M1 lag bei einer Stimulusintensität um 100-110%RMT, wobei unterhalb dieser Grenze, ebenso wie bei der vorliegenden Studie, kein signifikanter rCBF-Anstieg, sondern lediglich eine Tendenz messbar war. Bei der Auswertung der Daten bei TMS unterhalb der RMT deutete sich ein linearer Zusammenhang zwischen Stimulusintensität und der Größe der hämodynamischen Veränderungen an. Im Gegensatz dazu folgten die rCBF-Änderungen ab 110%RMT einem

eher sigmoiden Anstieg. Diese Daten geben einen deutlichen Hinweis auf eine Schwelle innerhalb des Verhältnisses zwischen Intensität und rCBF. Betrachtet man exemplarisch die rCBF-Änderungen in Prozent, die in der Literatur zu finden sind (siehe Tabelle 4), scheint sich dieses Bild widerzuspiegeln (Abbildung 14).

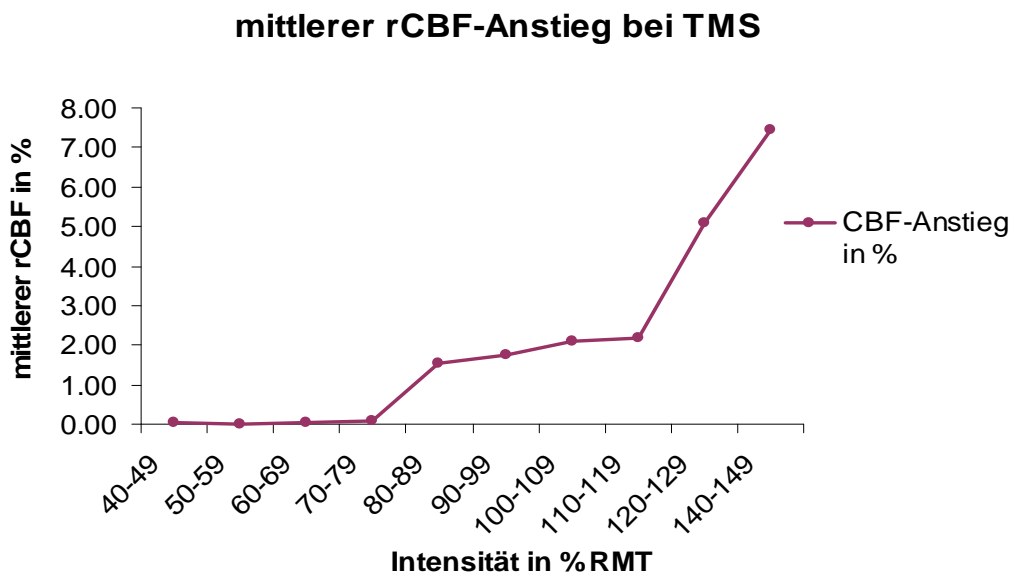


Abbildung 14. Orientierender Überblick über den rCBF-Anstieg bei TMS des M1. Gemittelt wurden die in Tabelle 2. aufgeführten prozentualen Angaben über die rCBF-Änderungen bei TMS. Die Angaben sind orientierend, da nicht in allen Arbeiten Aussagen über prozentuale rCBF-Änderungen zu finden sind und NIRS-Daten nicht berücksichtigt werden konnten.

Der Gedanke, dass TMS mit steigender Intensität sowohl lineare als auch nicht-lineare Steigerung der Effekte im stimulierten Gewebe verursacht, ist nicht neu. Für die Elektrophysiologie wurde er anhand von kortiko-kortikalen Potenzialen unter anderem von Komssi et al. (2004) beschrieben. Weiterhin konnten die Autoren zeigen, dass Einzelpuls-TMS bereits ab Intensitäten von 60%RMT eine Folge von exzitatorischen und inhibitorischen neuronalen Prozessen im stimulierten Bereich und in verknüpften Hirnregionen verursacht, wobei vor allem die exzitatorischen Signalanteile eine nicht-lineare Steigung mit zunehmender Intensität aufweisen.

Die Beobachtungen bestätigen die von Hanakawa et al. (2009) formulierte These, dass der Zusammenhang von TMS-Intensität und hämodynamischer Veränderung durch zwei unterschiedliche Phasen charakterisiert ist: Ab ca. 60%RMT ist erstmals ein Effekt von TMS, vor allem in mit M1 verknüpften Hirnregionen nachweisbar (Hanakawa et al.

(2009), Speer et al. (2003a), Bestmann et al. (2003,2004)). Am Stimulationsort selbst ist die Tatsache, dass es zu geringen oder fehlenden hämodynamischen Veränderungen kommt, am ehesten ein Hinweis darauf, dass die synaptische Aktivität nur gering ansteigt. Dies könnte darauf basieren, dass zunächst inhibitorische Aktivitäten überwiegen und daher keine synchrone Depolarisation der kortiko-spinalen und anderer Neuronen auftritt. Eine weitere mögliche Erklärung ergibt sich aus dem geringen Signal/Rausch-Verhältnis der BOLD-fMRT und der NIRS. So ist es möglich, dass bei geringer Stimulationsintensität das induzierte elektrische Feld und damit die Anzahl der aktivierten Neuronen so klein ist, dass nur geringe hämodynamische Veränderungen auftreten, die vor allem bei kumulativen Stimulationsparadigmen und mit sehr sensitiven Methoden wie der PET gemessen werden können. Dies würde erklären, warum rCBF-Veränderungen im unterschwelligen Bereich in sieben von acht PET- Studien, jedoch nur in einer von vier fMRT-Studien messbar waren (siehe Tabelle 4).

Mit Zunahme der Intensität gewinnen die exzitatorischen Prozesse an Bedeutung und es kommt in der stimulierten Region vermehrt zur transsynaptischen und bei höheren Intensitäten zur direkten Aktivierung kortiko-spinaler Neuronen. Ebenso werden bei unterschiedlichen Schwellenintensitäten verknüpfte Hirnareale transsynaptisch über kortiko-kortikale und kortiko-thalamische Neurone aktiviert. Nach der aktuell führenden Hypothese zur neuro-vaskulären Kopplung sorgen vor allem die mit der erhöhten synaptischen Aktivität einhergehenden metabolischen Anforderungen für eine Zunahme von Blutfluss und –volumen im primär aktivierten Areal und den damit verknüpften Regionen (Logothetis et al. (2001)).

Geht man wie Komssi et al. (2004) von einer Gauß'schen Normalverteilung für die Erregungsschwelle von Neuronenpopulationen aus, so ist erklärlich, dass bei Stimulation im Bereich der nötigen Schwellenintensität (den Daten zu Folge bei ca. 110%RMT) eine nahezu exponentielle Zunahme der induzierten synaptischen Aktivitäten und der Anzahl entstehender Aktionspotentiale und damit auch eine nun messbare vaskuläre Antwort auftritt. Dies würde die elektrophysiologisch und hämodynamisch beschriebene Schwelle im Zusammenhang von Intensität und induziertem Effekt erklären. Dass diese Schwelle nicht der Motorschwelle entspricht, entkräftet die Bedeutung der sensori-motorischen Rückkopplung für das Auftreten hämodynamischer Veränderungen in M1.

Der Fakt, dass nicht alle Arbeiten diesen Zusammenhang bei der gleichen Intensität feststellen, lässt sich zu einem Teil durch Unterschiede in den Stimulationsparadigmen

erklären. Neben der Intensität ist für den Effekt der TMS die Stimulationsdauer und –frequenz (Pascual-Leone et al. (1994)) und die aktuelle Aktivität der Neuronen während der Stimulation entscheidend (Allen et al. (2007)). Das deutlichste Beispiel hierfür ist beim Motorkortex die Steigerung der kortiko-spinalen Erregbarkeit und damit der Amplitude des MEP durch willkürmotorische Aktivierung. Weiterhin ist sie abhängig von zusätzlichen externen Reizen (Allen et al. (2007)), dem Input aus verknüpften Hirnregionen (Bestmann et.al. (2008), Ruff et al. (2008)), der Spulenausrichtung und der allgemeinen kortikalen Erregbarkeit (Massimini et al. (2005)). Doch auch bei ähnlichen experimentellen Anordnungen bezüglich der Versuchsparadigmen und der genutzten Intensitäten werden unterschiedliche Größen der vaskulären Antwort berichtet. Dies zeigt sich auf Studienebene etwa im Vergleich der Arbeit von Bohning et al. (1998), die bei TMS mit 1Hz und 110%RMT einen rCBF-Anstieg von 5-10% zeigen und der Arbeit von Denslow et al. (2005), die bei gleichem Paradigma und gleicher Messmethode (fMRT) nur ein Zehntel dieses Ergebnisses misst. Die Analyse der Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigt, dass neben den Stimulationsmodalitäten auch die Größe der im Effektormuskel gemessenen MEP-Amplitude die vaskuläre Antwort modifiziert. Damit ergibt sich aus unseren Messungen der Hinweis darauf, dass der durch das Messparadigma bestimmte Input nicht allein die evozierte elektrophysiologische und konsekutive vaskuläre Antwort bestimmt.

4.2 Zusammenhang zwischen MEP-Amplitude und vaskulärer Antwort

Die Daten zeigen, dass nur hochamplitudige MEPs mit signifikanten hämodynamischen Änderungen im stimulierten kortikalen Areal einhergehen. Doch worauf beruht dieser Zusammenhang? Grundsätzlich stellt sich die Frage, ob das Auftreten großer MEPs eine Folge starker exzitatorischer Aktivierung im M1-Kortex ist, oder ob ein größeres sensorimotorisches Feedback bei überschwelliger Stimulation die größere vaskuläre Antwort erklärt.

4.2.1 Sensori-motorisches Feedback

Die Erklärung, die MEPs seien durch den Vorgang des „sensori-motorischen Feedbacks“ die entscheidende Ursache der vermehrten neuronalen Aktivität und damit des starken rCBF-Anstiegs oberhalb der Ruhemotorschwelle, ist naheliegend: Aufgrund der engen nachbarschaftlichen Beziehungen zwischen M1 und dem primär sensorischen Kortex (S1), ist es schwierig, bildgebend die Signale der absteigenden (efferenten), kortiko-spinalen

Signale von dem aufsteigenden (afferenten) Feedback zu unterscheiden. Arbeiten wie die von Baudewig et al. (2001), Bestmann et al. (2003, 2004) und Denslow et al. (2005), die allein beim Vorhandensein von Muskelkontraktionen auch signifikante Veränderungen des Blutflusses in M1 nachweisen konnten, zogen daher den Schluss, dass vor allem die Verarbeitung der afferenten Signale in S1 und, wie Naito et al. (2002) zeigen konnte, zum Teil in M1 selbst, zum Anstieg des regionalen zerebralen Blutflusses führt. Unterstützt wird diese These durch die Ergebnisse von Weiller et al. (1996), die bei rein passiver Bewegung der Extremitäten ähnliche hämodynamische Muster in M1 nachweisen können wie bei willkürmotorischer Kontraktion und Spiegel et al. (1999), die eine Aktivierung von M1 bei Stimulation des N.medianus zeigen.

Es gibt jedoch triftige Gründe, an der alleinigen Bedeutung des Feedback-Mechanismus für die Entstehung der funktionellen Veränderungen in M1 zu zweifeln: So lassen sich zum Beispiel auch bei deafferenzierten Patienten bei Handbewegungen (Weeks et al. (1999), Reddy et al. (2002)) oder der Vorstellung von Bewegungsabläufen (Enzinger et al. (2008)) normale Aktivierungsmuster des Motorkortex nachweisen, während bei reiner Stimulation der Propriozeption keine Aktivierung in M1/S1 auftritt (Mima et al. (1999)). Studien über anderen Hirnarealen, wie z.B. dem präfrontalen Kortex, können nicht zum direkten Vergleich herangezogen werden, zeigen aber die Möglichkeit hämodynamischer Aktivierungsmuster bei TMS unter Ausschluss eines sensori-motorischen Feedbacks (Bestmann et al. (2005), Speer et al. (2003b)). Gleiches gilt für die Aktivierung bei unterschwelligen Intensitäten, wie sie in einigen PET-Studien gezeigt wird (Tabelle 4). Ein weiteres Argument gegen den Rückschluss der oben genannten Kollegen, allein MEPs wären verantwortlich für die hämodynamischen Veränderungen, findet sich in den Ergebnissen der vorliegenden Studie: Bei TMS mit Schwellenintensitäten erzeugten 75% der Stimuli MEPs, ohne dass dabei signifikante Hb-Konzentrationsänderungen messbar waren. Ähnliches zeigte sich bei Hanakawa et al. (2009), bei denen signifikante rCBF-Änderungen bei Stimulation mit 100%RMT ausblieben.

Die sensori-motorische Rückkopplung evoziert demnach nur einen Teil der vaskulären Antwort. Aus den Arbeiten der Literatur und der vorliegenden Studie muss angenommen werden, dass die Erregung der motorischen Neuronen im Kortex einen relevanten Einfluss auf die vaskuläre Antwort hat.

4.2.2 *Einfluss der kortikalen Erregbarkeit auf die hämodynamische Antwort*

Wenn MEPs selbst nicht die hämodynamische Antwort im Motorkortex verursachen, aber, wie sich bei Fox et al. (2006) zeigt, ein Zusammenhang zwischen der Größe der MEPs und der Größe der hämodynamischen Veränderungen besteht, so sind sie Ausdruck einer Einfluss nehmenden Komponente. Motorisch-evozierte Potentiale haben in der Elektrophysiologie eine große Bedeutung als Maß für die kortikale Erregbarkeit, die, wie in Kapitel 4.1.3 angeführt, ebenso einen großen Anteil an der vaskulären Antwort hat.

Demnach wären große MEPs Ausdruck stärkerer kortikaler Erregbarkeit im Augenblick der Stimulation. Dies führte zu einer effizienteren Stimulation, da durch die vermehrte neuronale Aktivität das Membranpotential einer größeren Anzahl von Zellen näher an der notwendigen Schwelle zum Auslösen eines Aktionspotentials liegt. Durch die effizientere Stimulation kommt es zu einem größeren Maß an induzierter synaptischer Aktivität und intrakortikaler Projektion in verknüpfte Hirnareale. Die damit verbundenen metabolischen Anforderungen würden die stärkere hämodynamische Antwort erklären.

4.2.3 *Mögliche Ursachen intra- und interindividueller Differenzen*

Wie es zu den großen intra- und interindividuellen Schwankungen der MEP-Größe (Bsp. Abbildung 7) bei der Stimulation mit ein- und derselben Intensität kommt, ist nicht vollständig geklärt. Intraindividuell üben eine ganze Reihe von Faktoren einen Einfluss auf die Größe und die Variabilität der MEPs aus. Dazu gehören sowohl Änderungen der allgemeinen kortikalen Erregbarkeit (Pascual-Leone et al. (1994)), Änderungen der Wachheit (Massimini et al. (2005)) und Aufmerksamkeit (Stefan et al. (2004)), als auch spontane Fluktuationen der Erregbarkeit kortiko-spinaler Motorneuronen (Kiers et al. (1993), Ellaway (1998), Mitchell et al. (2007)). Ebenso bedeutsam sind intrakortikale Einflüsse durch andere Hirnbereiche wie den prämotorischen Kortex (Mars et al. (2007)) oder die Inhibition durch den kontralateralen Motorkortex (Ferbert et al. (1992)), die Erwartungshaltung gegenüber einem Stimulus (Mars et al. (2007)) und Habituationseffekte. Zudem führen schon geringste Kopfbewegungen zu großen Unterschieden in der Effizienz der Stimulation. Letzteres konnte durch die Fixierung in einem individuell angepassten Vakuumkissen minimiert werden.

Interindividuell spielen für die Größe der MEPs vor allem anatomische Unterschiede (Schädeldicke, Abstand des Gehirns zur Schädeldecke) und genetische Komponenten eine

Rolle (Wassermann (2002)). Auch bei pseudorandomisierter Stimuluspräsentation und einheitlicher Versuchsdurchführung lassen sich diese Einflüsse nicht vollständig ausschalten. So könnte es zu unterschiedlichen Grundzuständen der Erregbarkeit des Motorkortex während einer langen Stimulationsperiode kommen, in denen Stimuli mit gleicher Intensität unterschiedliche kortiko-spinale Efferenzen und eben auch hämodynamische Veränderungen hervorrufen können.

5 Ausblick

Neben der Bedeutung der transkraniellen Magnetstimulation für die Erforschung grundlegender Fragen der funktionellen Konnektivität und der Relevanz bestimmter Hirnareale besteht eine breite Perspektive für die Anwendung der TMS im klinischen Bereich. Daher ist die Frage nach den TMS-induzierten Effekten am Ort der primären Stimulation essentiell. Bisher erschweren die unterschiedlichen Versuchsparadigmen beginnend bei der Definition der Motorschwelle über die Frequenz bis zur Stimulationsdauer, den Vergleich zwischen den Studien. Es erscheint daher wünschenswert, einheitliche Parameter für die Versuchsbedingungen zu definieren und vor allem diese einheitlich zu berichten. Dies ist nicht trivial, da selbst mit dem Versuch einer einheitlichen Motorschwellenbestimmung, wie sie von Rossini et al. (1994) vorgeschlagen wurde, nur vage Vergleichbarkeit erreicht werden kann (Awiszus et al. (2007)).

Die vorliegende Studie zeigt auf, dass neben den Parametern der Stimulationsdauer, -frequenz und -intensität weitere kontextsensitive Faktoren die kortikale Aktivierung beeinflussen. Darstellen ließ sich dies, indem die Variabilität der EMG-Antwort bei konstanten Stimulationsbedingungen in Zusammenhang mit der auftretenden Oxygenierungsantwort gesetzt wurde. Es konnte gezeigt werden, dass eine Auswertung der parallel erfassten EMG-Daten relevante zusätzliche Information über die funktionelle Aktivierung des Motorkortex erlaubt. Es wird Aufgabe weiterer Studien sein, mit größeren Fallzahlen und einer systematischen Variation der Stimulationsparameter, die Variabilität der hämodynamischen Antworten genauer zu charakterisieren. Studien mit kleinschrittigen Veränderungen einzelner Parameter sind ferner notwendig, um die Einflussgrößen im Bereich der Motorschwellenintensität genauer ihrer Bedeutung nach beschreiben zu können.

Ein sehr vielversprechender Weg zum Verständnis der Variabilität von kortiko-spinaler Efferenz und hämodynamischer Antwort auf TMS-Stimuli ergibt sich durch die Kombination mit der EEG: Eine aktuelle Studie konnte zeigen, dass die Amplitude des sensori-motorischen μ -Rhythmus unmittelbar vor der Stimulation prädiktiv für die Amplitude des erzeugten MEPs ist (Sauseng et al. (2009)). Der μ -Rhythmus ist eine Unterform des Alpha-Rhythmus, einer Oszillation um 10-13Hz, die vor allem in Ruhephasen im sensori-motorischen Kortex zu finden ist. Bei motorischer Aktivität der kontralateralen Körperhälfte verkleinern sich die Amplituden und ein Beta-Rhythmus (14-30Hz) setzt ein. Interessanter Weise reicht nicht allein die Vorstellung von Aktivität, um

den μ -Rhythmus zu beeinflussen, hierfür sind direkte Muskelkontraktionen notwendig. Die Arbeitsgruppe um Ritter et al. (2009) konnte nun beweisen, dass Änderungen des μ -Rhythmus durch motorische Aktivität ebenso mit einem Anstieg des BOLD-Kontrasts in der fMRT verbunden ist.

Es wird eine spannende Herausforderung sein, die drei Methoden - EEG, TMS und bildgebende Verfahren wie die NIRS - zu kombinieren, um die Wissenslücke im Bereich der internen Voraussetzungen zu schließen und die ‚Blackbox‘ der kortikalen Vorgänge zwischen Input und Output und die Fragen der neurovaskulären Kopplung weiter zu beleuchten.

6 Zusammenfassung:

Die Aktivierung kortikaler Netzwerke nach Reizung des Motorkortex (M1) durch Einzelpuls TMS wurde durch verschiedene Methoden der funktionellen Bildgebung (funktionelle Kernspintomographie, funktionelle Positron Emissions Tomographie) nachgewiesen. Dabei konnte anhand der hämodynamischen Antwort dargestellt werden, dass TMS nicht nur im primären Motorkortex, dem Fokus der Stimulation, Aktivitätsänderungen hervorruft, sondern einen Einfluss auf die damit verbundenen kortikalen und subkortikalen Areale ausübt.

Im Gegensatz zu den relativ einheitlichen Ergebnissen bei der Aktivierung konnektiver Areale, sind die Ergebnisse zur Antwort in M1 - also am Ort der primären Stimulation - widersprüchlich: Es wird sowohl ein Anstieg (Aktivierung) als auch einen Abfall (Deaktivierung) des rCBF berichtet. Zudem gibt es Arbeiten, die gar keine hämodynamischen Veränderungen nachweisen. Es konnte in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, dass überschwellige Einzelpuls-TMS im primär stimulierten Areal eine vaskuläre Antwort erzeugt, die dem Muster einer „physiologischen“ funktionellen Aktivierung des Motorkortex entspricht. Schwellige Stimulation hingegen führte zu keiner signifikanten Oxygenierungsänderung im stimulierten Areal. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit der Literatur, in der sich ab Intensitäten $\geq 110\%$ RMT einheitlich ein rCBF-Anstieg findet, der sich unterhalb dieser Grenze nur unzuverlässig (in weniger als 50% der Studien über M1, siehe Abbildung 13) nachweisen lässt.

Im Vergleich der verschiedenen in der Literatur berichteten Ergebnisse fällt weiterhin auf, dass auch innerhalb einer Intensität unterschiedliche rCBF-Änderungen auftreten, die sich nicht immer durch die Unterschiede in den externen Stimulationsparametern erklären lassen. Dies weist auf die Bedeutung weiterer Faktoren für den Effekt der Stimulation hin, welche als kontextsensitive Modulatoren des efferenten Signals eingeordnet werden können. Ein Beispiel hierfür ist das Maß der kortikalen Grundaktivität, messbar z.B. durch MEPs.

In der vorliegenden Studie wurde zum ersten Mal das motorisch-evozierte Potential simultan mit einer funktionellen Bildgebungsmethode (funktionelle Nahinfrarot-Spektroskopie) aufgezeichnet und beides miteinander korreliert. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass auch bei überschwelliger Stimulation nur im Zusammenhang mit großen MEP-Amplituden signifikante hämodynamische Änderungen auftreten. Dies beleuchtet die entscheidende Rolle der bei Stimulation vorhandenen kortikalen Aktivität für das Maß der erzeugten neuronalen und damit auch

hämodynamischen Aktivierung. Es erscheint aufgrund unserer Ergebnisse wichtig, in zukünftigen Studien nicht allein die Intensität der Stimulation sondern auch detailliertere Angaben zur Efferenz berichten.

7 Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen und Einheiten

7.1 Abkürzungen

Abb.	Abbildung
AMT	active motor threshold (= aktive Motorschwelle)
Bsp.	Beispiel
EEG	Elektroenzephalogramm
EMG	Elektromyographie
FID I	Musculus interosseus dorsalis Dig. I
Hb	Hämoglobin: oxyHb → oxygeniertes Hämoglobin deoxyHb → deoxygniertes Hämoglobin
ISI	Interstimulusintervall
fMRT	funktionelle Magnetresonanz-Tomographie
M1	primärer Motorkortex
M1S1	primärer Sensorimotorischer Kortex
MEG	Magentenzephalographie
MEP	motorisch-evoziertes Potential
MID I	Musculus interosseus dorsalis Dig. I
NIRS	Nahinfrarotspektroskopie
PET	Positron-Emissions-Tomographie
rCBF	regional Cerebral Blood Flow
RMT	resting motor threshold (= Ruhemotorschwelle)
ROI	Region of Interest
SEM	Standard Error of Mean (= Standardfehler)
STD	Standard Deviation (= Standardabweichung)
SPECT	Single Photon Emission Computed Tomography
TMS	Transkranielle Magnetstimulation sp – TMS single-pulse-TMS = Einzelpuls-TMS rTMS repetitive TMS
TMS ^{supra}	TMS bei 110-120% RMT
TMS ^{thre}	TMS bei 100-109% RMT
VM	voluntary movement = willkürmotorische Kontraktion

7.2 Einheiten

cm	Zentimeter
Hz	Hertz
mV	Millivolt
ms	Millisekunden
µs	Mikrosekunden
µV	Mirkovolt
pmol/l	Pikomol/Liter
s	Sekunden
+s	Sekunden nach Stimulusbeginn

8 Literaturverzeichnis

1. Allen EA, Pasley BN, Duong T and Freeman RD. "Transcranial magnetic stimulation elicits coupled neural and hemodynamic consequences." *Science* 2007;317(5846): 1918-21.
2. Anand S and Hotson J. "Transcranial magnetic stimulation: neurophysiological applications and safety." *Brain Cogn* 2002;50(3): 366-86.
3. Arai N, Okabe S, Furubayashi T, et al. "Differences in after-effect between monophasic and biphasic high-frequency rTMS of the human motor cortex." *Clin Neurophysiol* 2007;118(10): 2227-33.
4. Awiszus F and Feistner H (2007). Kortikale Reizschwelle. *Das TMS-Buch*. H Siebner and U Ziemann. Heidelberg, Springer Medizin: 149-158.
5. Barker AT, Jalinous R and Freeston IL. "Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex." *Lancet* 1985;1(8437): 1106-7.
6. Baudewig J, Siebner HR, Bestmann S, et al. "Functional MRI of cortical activations induced by transcranial magnetic stimulation (TMS)." *Neuroreport* 2001;12(16): 3543-8.
7. Baumer T, Lange R, Liepert J, et al. "Repeated premotor rTMS leads to cumulative plastic changes of motor cortex excitability in humans." *Neuroimage* 2003;20(1): 550-60.
8. Bestmann S, Baudewig J, Siebner HR, Rothwell JC and Frahm J. "BOLD MRI responses to repetitive TMS over human dorsal premotor cortex." *Neuroimage* 2005;28(1): 22-9.
9. Bestmann S, Baudewig J, Siebner HR, Rothwell JC and Frahm J. "Functional MRI of the immediate impact of transcranial magnetic stimulation on cortical and subcortical motor circuits." *Eur J Neurosci* 2004;19(7): 1950-62.
10. Bestmann S, Baudewig J, Siebner HR, Rothwell JC and Frahm J. "Subthreshold high-frequency TMS of human primary motor cortex modulates interconnected frontal motor areas as detected by interleaved fMRI-TMS." *Neuroimage* 2003;20(3): 1685-96.
11. Bestmann S, Ruff CC, Blankenburg F, et al. "Mapping causal interregional influences with concurrent TMS-fMRI." *Exp Brain Res* 2008;191(4): 383-402.
12. Boden S, Obrig H, Kohncke C, et al. "The oxygenation response to functional stimulation: is there a physiological meaning to the lag between parameters?" *Neuroimage* 2007;36(1): 100-7.
13. Bohning DE, Shastri A, Lomarev MP, et al. "BOLD-fMRI response vs. transcranial magnetic stimulation (TMS) pulse-train length: testing for linearity." *J Magn Reson Imaging* 2003;17(3): 279-90.
14. Bohning DE, Shastri A, McConnell KA, et al. "A combined TMS/fMRI study of intensity-dependent TMS over motor cortex." *Biol Psychiatry* 1999;45(4): 385-94.
15. Bohning DE, Shastri A, McGavin L, et al. "Motor cortex brain activity induced by 1-Hz transcranial magnetic stimulation is similar in location and level to that for volitional movement." *Invest Radiol* 2000a;35(11): 676-83.
16. Bohning DE, Shastri A, Nahas Z, et al. "Echoplanar BOLD fMRI of brain activation induced by concurrent transcranial magnetic stimulation." *Invest Radiol* 1998;33(6): 336-40.
17. Bohning DE, Shastri A, Wassermann EM, et al. "BOLD-fMRI response to single-pulse transcranial magnetic stimulation (TMS)." *J Magn Reson Imaging* 2000b;11(6): 569-74.
18. Brasil-Neto JP, Cohen LG and Hallett M. "Central fatigue as revealed by postexercise decrement of motor evoked potentials." *Muscle Nerve* 1994;17(7): 713-9.

19. Chouinard PA, Van Der Werf YD, Leonard G and Paus T. "Modulating neural networks with transcranial magnetic stimulation applied over the dorsal premotor and primary motor cortices." *J Neurophysiol* 2003;90(2): 1071-83.
20. Cope M and Delpy DT. "System for long-term measurement of cerebral blood and tissue oxygenation on newborn infants by near infra-red transillumination." *Med Biol Eng Comput* 1988;26(3): 289-94.
21. Darling WG, Wolf SL and Butler AJ. "Variability of motor potentials evoked by transcranial magnetic stimulation depends on muscle activation." *Exp Brain Res* 2006;174(2): 376-85.
22. Denslow S, Lomarev M, Bohning DE, Mu Q and George MS. "A high resolution assessment of the repeatability of relative location and intensity of transcranial magnetic stimulation-induced and volitionally induced blood oxygen level-dependent response in the motor cortex." *Cogn Behav Neurol* 2004;17(3): 163-73.
23. Denslow S, Lomarev M, George MS and Bohning DE. "Cortical and subcortical brain effects of transcranial magnetic stimulation (TMS)-induced movement: an interleaved TMS/functional magnetic resonance imaging study." *Biol Psychiatry* 2005;57(7): 752-60.
24. Di Lazzaro V, Oliviero A, Pilato F, et al. "The physiological basis of transcranial motor cortex stimulation in conscious humans." *Clin Neurophysiol* 2004;115(2): 255-66.
25. Ellaway PH. "Variability in the amplitude of skeletal muscle responses to magnetic stimulation of the motor cortex in man." *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1998;109(2): 104-13.
26. Enzinger C, Ropele S, Fazekas F, et al. "Brain motor system function in a patient with complete spinal cord injury following extensive brain-computer interface training." *Exp Brain Res* 2008;190(2): 215-23.
27. Ferbert A, Priori A, Rothwell JC, et al. "Interhemispheric inhibition of the human motor cortex." *J Physiol* 1992;453: 525-46.
28. Fox P, Ingham R, George MS, et al. "Imaging human intra-cerebral connectivity by PET during TMS." *Neuroreport* 1997;8(12): 2787-91.
29. Fox PT, Narayana S, Tandon N, et al. "Intensity modulation of TMS-induced cortical excitation: primary motor cortex." *Hum Brain Mapp* 2006;27(6): 478-87.
30. Garry MI and Thomson RH. "The effect of test TMS intensity on short-interval intracortical inhibition in different excitability states." *Exp Brain Res* 2009;193(2): 267-74.
31. Gratton E, Toronov V, Wolf U, Wolf M and Webb A. "Measurement of brain activity by near-infrared light." *J Biomed Opt* 2005;10(1): 11008.
32. Hada Y, Abo M, Kaminaga T and Mikami M. "Detection of cerebral blood flow changes during repetitive transcranial magnetic stimulation by recording hemoglobin in the brain cortex, just beneath the stimulation coil, with near-infrared spectroscopy." *Neuroimage* 2006;32(3): 1226-30.
33. Hallett M. "Transcranial magnetic stimulation: a primer." *Neuron* 2007;55(2): 187-99.
34. Hanakawa T, Mima T, Matsumoto R, et al. "Stimulus-Response Profile during Single-Pulse Transcranial Magnetic Stimulation to the Primary Motor Cortex." *Cereb Cortex* 2009.
35. Hock C, Villringer K, Muller-Spahn F, et al. "Decrease in parietal cerebral hemoglobin oxygenation during performance of a verbal fluency task in patients with Alzheimer's disease monitored by means of near-infrared spectroscopy (NIRS)--correlation with simultaneous rCBF-PET measurements." *Brain Res* 1997;755(2): 293-303.
36. Jobsis FF. "Noninvasive, infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters." *Science* 1977;198(4323): 1264-7.

37. Kemna LJ and Gembris D. "Repetitive transcranial magnetic stimulation induces different responses in different cortical areas: a functional magnetic resonance study in humans." *Neurosci Lett* 2003;336(2): 85-8.
38. Khedr EM, Gilio F and Rothwell J. "Effects of low frequency and low intensity repetitive paired pulse stimulation of the primary motor cortex." *Clin Neurophysiol* 2004;115(6): 1259-63.
39. Kiers L, Cros D, Chiappa KH and Fang J. "Variability of motor potentials evoked by transcranial magnetic stimulation." *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1993;89(6): 415-23.
40. Kleinschmidt A, Obrig H, Requardt M, et al. "Simultaneous Recording of Cerebral Blood Oxygenation Changes During Human Brain Activation by Magnetic Resonance Imaging and Near-Infrared Spectroscopy." *J Cereb Blood Flow Metab.* 1996;16: 817-826.
41. Komssi S, Kahkonen S and Ilmoniemi RJ. "The effect of stimulus intensity on brain responses evoked by transcranial magnetic stimulation." *Hum Brain Mapp* 2004;21(3): 154-64.
42. Lee L, Siebner HR, Rowe JB, et al. "Acute remapping within the motor system induced by low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation." *J Neurosci* 2003;23(12): 5308-18.
43. Logothetis NK, Pauls J, Augath M, Trinath T and Oeltermann A. "Neurophysiological investigation of the basis of the fMRI signal." *Nature* 2001;412(6843): 150-7.
44. Mars RB, Bestmann S, Rothwell JC and Haggard P. "Effects of motor preparation and spatial attention on corticospinal excitability in a delayed-response paradigm." *Exp Brain Res* 2007;182(1): 125-9.
45. Massimini M, Ferrarelli F, Huber R, et al. "Breakdown of cortical effective connectivity during sleep." *Science* 2005;309(5744): 2228-32.
46. McConnell KA, Bohning DE, Nahas Z, et al. "BOLD fMRI response to direct stimulation (transcranial magnetic stimulation) of the motor cortex shows no decline with age." *J Neural Transm* 2003;110(5): 495-507.
47. Mima T, Sadato N, Yazawa S, et al. "Brain structures related to active and passive finger movements in man." *Brain* 1999;122 (Pt 10): 1989-97.
48. Mitchell WK, Baker MR and Baker SN. "Muscle responses to transcranial stimulation in man depend on background oscillatory activity." *J Physiol* 2007;583(Pt 2): 567-79.
49. Mochizuki H, Ugawa Y, Terao Y and Sakai KL. "Cortical hemoglobin-concentration changes under the coil induced by single-pulse TMS in humans: a simultaneous recording with near-infrared spectroscopy." *Exp Brain Res* 2006;169(3): 302-10.
50. Moisa M, Pohmann R, Ewald L and Thielscher A. "New coil positioning method for interleaved transcranial magnetic stimulation (TMS)/functional MRI (fMRI) and its validation in a motor cortex study." *J Magn Reson Imaging* 2009;29(1): 189-97.
51. Naito E, Roland PE and Ehrsson HH. "I feel my hand moving: a new role of the primary motor cortex in somatic perception of limb movement." *Neuron* 2002;36(5): 979-88.
52. Noguchi Y, Watanabe E and Sakai KL. "An event-related optical topography study of cortical activation induced by single-pulse transcranial magnetic stimulation." *Neuroimage* 2003;19(1): 156-62.
53. Obrig H and Villringer A. "Beyond the visible--imaging the human brain with light." *J Cereb Blood Flow Metab* 2003;23(1): 1-18.
54. Ogawa S, Lee TM, Kay AR and Tank DW. "Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation." *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990;87(24): 9868-72.

55. Okabe S, Hanajima R, Ohnishi T, et al. "Functional connectivity revealed by single-photon emission computed tomography (SPECT) during repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) of the motor cortex." *Clin Neurophysiol* 2003;114(3): 450-7.
56. Oliviero A, Di Lazzaro V, Piazza O, et al. "Cerebral blood flow and metabolic changes produced by repetitive magnetic brain stimulation." *J Neurol* 1999;246(12): 1164-8.
57. Pascual-Leone A, Valls-Sole J, Wassermann EM and Hallett M. "Responses to rapid-rate transcranial magnetic stimulation of the human motor cortex." *Brain* 1994;117 (Pt 4): 847-58.
58. Paus T, Jech R, Thompson CJ, et al. "Dose-dependent reduction of cerebral blood flow during rapid-rate transcranial magnetic stimulation of the human sensorimotor cortex." *J Neurophysiol* 1998;79(2): 1102-7.
59. Pridmore S, Fernandes Filho JA, Nahas Z, Liberatos C and George MS. "Motor threshold in transcranial magnetic stimulation: a comparison of a neurophysiological method and a visualization of movement method." *J Ect* 1998;14(1): 25-7.
60. Reddy H, Bendahan D, Lee MA, et al. "An expanded cortical representation for hand movement after peripheral motor denervation." *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002;72(2): 203-10.
61. Ridding MC and Rothwell JC. "Is there a future for therapeutic use of transcranial magnetic stimulation?" *Nat Rev Neurosci.* 2007;8(7): 559-67.
62. Ritter P, Moosmann M and Villringer A. "Rolandic alpha and beta EEG rhythms' strengths are inversely related to fMRI-BOLD signal in primary somatosensory and motor cortex." *Hum Brain Mapp* 2009;30(4): 1168-87.
63. Rossini PM, Barker AT, Berardelli A, et al. "Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord and roots: basic principles and procedures for routine clinical application. Report of an IFCN committee." *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1994;91(2): 79-92.
64. Rostrup E, Law I, Pott F, Ide K and Knudsen GM. "Cerebral hemodynamics measured with simultaneous PET and near-infrared spectroscopy in humans." *Brain Res* 2002;954(2): 183-93.
65. Rounis E, Lee L, Siebner HR, et al. "Frequency specific changes in regional cerebral blood flow and motor system connectivity following rTMS to the primary motor cortex." *Neuroimage* 2005;26(1): 164-76.
66. Ruff CC, Driver J and Bestmann S. "Combining TMS and fMRI: From 'virtual lesions' to functional-network accounts of cognition." *Cortex* 2008.
67. Sale MV, Ridding MC and Nordstrom MA. "Factors influencing the magnitude and reproducibility of corticomotor excitability changes induced by paired associative stimulation." *Exp Brain Res* 2007;181(4): 615-26.
68. Sauseng P, Klimesch W, Gerloff C and Hummel FC. "Spontaneous locally restricted EEG alpha activity determines cortical excitability in the motor cortex." *Neuropsychologia* 2009;47(1): 284-8.
69. Schmidt S, Cichy RM, Kraft A, et al. "Does an Initial Transient-State effect Reliable Measures of Corticospinal Excitability?" noch nicht veröffentlicht 2009.
70. Siebner H, Peller M, Bartenstein P, et al. "Activation of frontal premotor areas during suprathreshold transcranial magnetic stimulation of the left primary sensorimotor cortex: a glucose metabolic PET study." *Hum Brain Mapp* 2001a;12(3): 157-67.
71. Siebner HR, Peller M, Willoch F, et al. "Imaging functional activation of the auditory cortex during focal repetitive transcranial magnetic stimulation of the primary motor cortex in normal subjects." *Neurosci Lett* 1999;270(1): 37-40.
72. Siebner HR, Peller M, Willoch F, et al. "Lasting cortical activation after repetitive TMS of the motor cortex: a glucose metabolic study." *Neurology* 2000;54(4): 956-63.

73. Siebner HR, Takano B, Peinemann A, et al. "Continuous transcranial magnetic stimulation during positron emission tomography: a suitable tool for imaging regional excitability of the human cortex." *Neuroimage* 2001b;14(4): 883-90.
74. Siebner HR, Willoch F, Peller M, et al. "Imaging brain activation induced by long trains of repetitive transcranial magnetic stimulation." *Neuroreport* 1998;9(5): 943-8.
75. Speer AM, Willis MW, Herscovitch P, et al. "Intensity-dependent regional cerebral blood flow during 1-Hz repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in healthy volunteers studied with H215O positron emission tomography: I. Effects of primary motor cortex rTMS." *Biol Psychiatry* 2003a;54(8): 818-25.
76. Speer AM, Willis MW, Herscovitch P, et al. "Intensity-dependent regional cerebral blood flow during 1-Hz repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in healthy volunteers studied with H215O positron emission tomography: II. Effects of prefrontal cortex rTMS." *Biol Psychiatry* 2003b;54(8): 826-32.
77. Spiegel J, Tintera J, Gawehn J, Stoeter P and Treede RD. "Functional MRI of human primary somatosensory and motor cortex during median nerve stimulation." *Clin Neurophysiol* 1999;110(1): 47-52.
78. Stefan K, Wycislo M and Classen J. "Modulation of associative human motor cortical plasticity by attention." *J Neurophysiol* 2004;92(1): 66-72.
79. Steinbrink J, Villringer A, Kempf F, et al. "Illuminating the BOLD signal: combined fMRI-fNIRS studies." *Magn Reson Imaging* 2006;24(4): 495-505.
80. Steinmetz H, Furst G and Meyer BU. "Craniocerebral topography within the international 10-20 system." *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1989;72(6): 499-506.
81. Strangman G, Boas DA and Sutton JP. "Non-invasive neuroimaging using near-infrared light." *Biol Psychiatry* 2002;52(7): 679-93.
82. Takano B, Drzezga A, Peller M, et al. "Short-term modulation of regional excitability and blood flow in human motor cortex following rapid-rate transcranial magnetic stimulation." *Neuroimage* 2004;23(3): 849-59.
83. Tergau F, Wanschura V, Canelo M, et al. "Complete suppression of voluntary motor drive during the silent period after transcranial magnetic stimulation." *Exp Brain Res* 1999;124(4): 447-54.
84. Toronov V, Walker S, Gupta R, et al. "The roles of changes in deoxyhemoglobin concentration and regional cerebral blood volume in the fMRI BOLD signal." *Neuroimage* 2003;19(4): 1521-31.
85. Uludag K, Steinbrink J, Villringer A and Obrig H. "Separability and cross talk: optimizing dual wavelength combinations for near-infrared spectroscopy of the adult head." *Neuroimage* 2004;22(2): 583-9.
86. Villringer A and Chance B. "Non-invasive optical spectroscopy and imaging of human brain function." *Trends Neurosci* 1997;20(10): 435-42.
87. Villringer K, Minoshima S, Hock C, et al. "Assessment of local brain activation. A simultaneous PET and near- infrared spectroscopy study." *Adv.Exp.Med.Biol.* 1997;413: 149-153.
88. Wassermann EM. "Risk and safety of repetitive transcranial magnetic stimulation: report and suggested guidelines from the International Workshop on the Safety of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation, June 5-7, 1996." *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1998;108(1): 1-16.
89. Wassermann EM. "Variation in the response to transcranial magnetic brain stimulation in the general population." *Clin Neurophysiol* 2002;113(7): 1165-71.

90. Weeks RA, Gerloff C, Dalakas M and Hallett M. "PET study of visually and non-visually guided finger movements in patients with severe pan-sensory neuropathies and healthy controls." *Exp Brain Res* 1999;128(3): 291-302.
91. Weiller C, Juptner M, Fellows S, et al. "Brain representation of active and passive movements." *Neuroimage* 1996;4(2): 105-10.
92. Wenzel R, Steinbrink J, Voss M, et al. "When Activation witnesses Inhibition: A Neurovascular Paradox." 2009;submitted.
93. Wenzel R, Wobst P, Heekeren HH, et al. "Saccadic suppression induces focal hypooxygenation in the occipital cortex." *J Cereb Blood Flow Metab* 2000;20(7): 1103-10.

9 Lebenslauf

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

10 Danksagung

Allen, die durch ihre Unterstützung, fachlicher und moralischer Natur, zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, sei an dieser Stelle mein herzlichster Dank ausgesprochen! Meinem Doktorvater, Herrn PD Dr. Hellmuth Obrig, Leiter der Klinik für kognitive Neurologie am Universitätsklinikum Leipzig, danke ich für die Überlassung des interessanten Themas, sowie für seine kritischen Beiträge und inspirierenden Ideen, mit denen er die Arbeit betreut hat. Insbesondere gilt mein Dank zudem Herrn Dr. Jens Steinbrink für die überaus engagierte Begleitung, die interessanten Erklärungen und Diskussionen. David Baurmann, Dr. Christoph Schmitz, Dr. Maja Trenner, Silke Telkemeyer, Ina Jürgenson und Paul Koch danke ich für das angenehme Arbeitsklima und die zuverlässige Unterstützung bei kleineren und größeren Schwierigkeiten.

Meiner Familie, meinen Freunden und Herrn Christian Boch sei für ihr offenes Ohr, ihr Interesse und ihr Vertrauen gedankt, mit denen sie mich begleitet haben.

Berlin, Juli 2009

11 Erklärung

„Ich, Friederike Neumann, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Zerebrale Oxygenierungsänderung bei transkranieller Magnetstimulation (TMS) des Motorkortex: Abhängigkeit von der Stimulationsintensität und von der kortiko-spinalen Efferenz“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum: 05.07.2009

Unterschrift: Friederike Neumann