

Aus der Klinik für Neurologie
(Direktor: Prof. Dr. med. Günther Deuschl)
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**UNTERSUCHUNGEN DER STRUKTURELLEN UND FUNKTIONELLEN KONNEKTIVITÄT IM
MOTORISCHEN SYSTEM MIT HILFE DER TRANSKRANIELLEN MAGNETSTIMULATION UND
DER DIFFUSIONSGEWICHTETEN BILDGEBUNG**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

ZOHREH GHOBADI

aus TEHERAN

Kiel 2012

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. Lang, Klinik für Neurologie
2. Berichterstatter: Prof. Dr. Jansen, Institut für Neuroradiologie
Tag der mündlichen Prüfung: 24.06.2013
Zum Druck genehmigt, Kiel, den 24.06.2013

gez.: Prof. van Eimeren, Klinik für Neurologie

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
1.1 Der primär motorische Kortex (M1)	1
1.2 Nicht primär motorische Kortexareale	2
1.2.1 Prämotorische Kortexareale	2
1.2.1.1 Der ventrale Prämotorkortex (PMv)	2
1.2.2 Der posteriore Parietalkortex (PPC)	3
1.3 Transkranielle Magnetstimulation (TMS)	4
1.3.1 Physikalische Grundlagen	4
1.3.2 Physiologische Grundlagen	5
1.3.3 Indirekte Wellen (I-Wellen)	6
1.3.4 MEPs als Parameter der motorischen Exzitabilität	7
1.3.5 TMS als Tool zur Beurteilung der funktionellen Konnektivität	8
1.4 Magnetresonanztomographie (MRT)	8
1.4.1 Physikalische Grundlagen	8
1.4.2 Diffusionsgewichtete Bildgebung (DTI)	9
2 Fragestellung	11
3 Material und Methoden	11
3.1 Probanden	11
3.2 Neuronavigation	12
3.3 Versuchsdurchführung	14
3.3.1 Stimulation vom ipsilateralen M1 (iM1) und ipsilateralen PMv (iPMv)	16
3.3.1.1 Stimulation vom iM1 mit der Achterspule (MAG & MORE)	16
3.3.1.2 Stimulation vom iM1 mit der runden Spule (MAG & MORE)	17
3.3.2 Stimulation vom iM1 und ipsilateralen PPC (iPPC)	18
3.3.3 Kontralaterale Stimulation	19
3.3.3.1 Stimulation vom kontralateralen M1 (kM1)	19
3.3.3.2 Stimulation vom kontralateralen PPC (kPPC)	20
3.4 MRT-bezogene Datenerhebung und Auswertung	20
3.4.1 Aufnahmen	20
3.4.2 Vorverarbeitung	21
3.4.3 Auswertung	21
3.5 Statistische Auswertung	21

3.5.1 Statistische Auswertung der MEP-Daten	21
3.5.1.1 Experiment 1 (Stimulation vom iM1 und iPMv)	22
3.5.1.2 Experiment 2 (Stimulation vom iM1 und iPPC)	22
3.5.1.3 Experiment 3 (kontralaterale Stimulation)	22
3.5.2 Statistische Auswertung der MRT-Daten	23
4 Ergebnisse	23
4.1 Ergebnisse Experiment 1 (Stimulation vom iM1 und iPMv)	23
4.2 Ergebnisse Experiment 2 (Stimulation vom iM1 und iPPC)	26
4.3 Ergebnisse Experiment 3 (kontralaterale Stimulation)	28
4.4 Ergebnisse der diffusionsgewichteten Bildgebung	31
5 Diskussion	33
5.1 Diskussion Experiment 1 (Stimulation vom iM1 und iPMv)	33
5.2 Diskussion Experiment 2 (Stimulation vom iM1 und iPPC)	36
5.2.1 Funktionelle Konnektivität	36
5.2.2 Strukturelle Konnektivität	38
5.3 Diskussion Experiment 3 (kontralaterale Stimulation)	39
5.4 Klinische Relevanz	40
6 Zusammenfassung	42
7 Anhang	44
7.1 Abkürzungsverzeichnis	44
7.2 Literaturverzeichnis	45
7.3 Danksagung	50

1. Einleitung

1.1 Der primär motorische Kortex (M1)

Der primär motorische Kortex (M1) ist ein Teil des Lobus frontalis, welcher sich rostral des Sulcus praecentralis befindet und weitgehend der Area 4 nach Brodmann entspricht (Brodmann, 1909). M1 gehört zum Neokortex und kann in sechs Schichten unterteilt werden, wobei die Lamina V des primär motorischen Kortex die Betz-Riesenpyramidenzellen enthält. Die Pyramidenzellen besitzen großkalibrige, schnellleitende Fortsätze mit einer maximalen Leitungsgeschwindigkeit von 50-74 m/sec (Boyd et al., 1986). Diese sind monosynaptisch mit den α -Motoneuronen im Rückenmark verbunden (De Noordhout et al., 1999), welche über ihr Axon und eine motorische Endplatte mit den Muskelfasern verbunden sind. Die Axone der hier lokalisierten Pyramidenzellen ziehen über den Tractus corticospinalis zum Rückenmark, über den Tractus corticonuclearis zu den motorischen Hirnnervenkernen und über kortikokortikale Bahnen zu anderen Kortexarealen.

Anhand von Tierexperimenten an Affen, bei denen die Konnektivität zwischen den Hemisphären durchtrennt wurde (split-brain-Affen), konnte man feststellen, dass die distale Extremitätenmuskulatur von der kontralateralen Hirnhälfte versorgt wird. Die proximale Extremitätenmuskulatur wird hingegen bilateral versorgt (Brinkman and Kuypers, 1973). Die meisten Fasern des Tractus corticospinalis (75%) kreuzen in der Pyramide auf die kontralaterale Seite und ziehen als Tractus corticospinalis lateralis zum Rückenmark. Einige Fasern (15%) ziehen ungekreuzt als Tractus corticospinalis anterior nach kaudal, wobei sie auf Segmenthöhe zur Gegenseite kreuzen. Die restlichen Fasern (10%) bleiben ungekreuzt. Die ungekreuzten Fasern enden in der medialen Zellgruppe des Vorderhorns (Liu and Chambers, 1964, Ralston and Ralston, 1985) und versorgen die proximale Muskulatur der oberen Extremität. Die gekreuzten Fasern haben direkten Einfluss auf die laterale Zellgruppe des Vorderhorns (Muir and Lemon, 1983) und sind somit wichtig für die Beweglichkeit der distalen Extremität und der Feinmotorik. Die wichtigste Funktion von M1 ist also die Versorgung der distalen Muskulatur der kontralateralen Körperhälfte, wobei der Feinmotorik eine besondere Rolle zusteht.

Durch elektrische Stimulation entlang des Gyrus praecentralis gelang es Penfield, die Somatotopie des motorischen Kortex darzustellen (Penfield and Boldrey, 1937, Penfield and Rasmussen, 1952). Damit ist gemeint, dass benachbarte Regionen des Körpers auch in ihren Repräsentationen auf der primär-motorischen Rinde nebeneinander liegen. Dabei besitzen unterschiedliche Muskelgruppen eine differenziert ausgeprägte zentrale Repräsentation. So sind die Rindenareale von Körperbereichen mit einer sehr fein und präzise abgestimmten Motorik, wie der Hand, besonders stark ausgeprägt.

Nur etwa die Hälfte der Pyramidenbahn hat M1 als Ursprung. Weitere Anteile dieser Bahn stammen aus den Areae 6 und 8, die rostral von der Area 4 liegen, und aus dem somatosensiblen Kortex des Parietallappens.

1.2 Nicht primär motorische Kortexareale

1.2.1 Prämotorische Kortexareale

Der Lobus frontalis enthält mindestens sechs prämotorische Areale, die direkte Verbindungen zu M1 besitzen (Dum and Strick, 1991, Luppino et al., 1993, He et al., 1995, Kermadi et al., 1998).

Zwei dieser prämotorischen Areale befinden sich rostral des Gyrus praecentralis im lateralen Teil der Area 6 nach Brodmann und werden in einen ventralen (PMv) und einen dorsalen (PMd) Bereich unterteilt (Dum and Strick, 2002). Zu den weiteren prämotorischen Arealen gehören das supplementär-motorische-Areal (SMA) im medialen Teil der Area 6 (Penfield and Welch, 1951, Picard and Strick, 1996) und das rostrale und kaudale Cingulum (CMAr, CMAc) (Luppino et al., 1991, Paus et al., 1993, Paus, 2001).

Der prämotorische Kortex beeinflusst die Motorik, über Projektionen zu M1 (Shimazu et al., 2004), über Projektionen zu den extrapyramidalen Zentren (Formatio reticularis, Ncl. Ruber), aber auch direkt über Projektionen über die Pyramidenbahn zu den spinalen Motoneuronen. Deshalb ist bei einem Ausfall von M1 in der proximalen Extremität noch eine Restmotorik möglich. Bei einer isolierten Läsion im prämotorischen Kortex kommt es durch Enthemmung der extrapyramidalen Hirnstammzentren zu einer spastischen Lähmung und zu einer veränderten senso-motorischen Integration.

In dieser Arbeit geht es darum, die direkten Verbindungen des ipsilateralen M1 (iM1) mit unter anderem prämotorischen Arealen darzustellen. In einer Studie unserer Arbeitsgruppe konnten wir bereits die direkten kortikalen Verbindungen, mit einer kurzen Latenzzeit, zwischen iM1 und dem dorsalen Prämotorkortex (PMd) zeigen (Groppa et al., 2012).

1.2.1.1 Der ventrale Prämotorkortex (PMv)

Der PMv des menschlichen Gehirns befindet sich im lateralen Teil der Area 6 nach Brodmann und kann weiter in einen rostralen und kaudalen Bereich unterteilt werden. Der rostrale Teil entspricht funktionell der Area F5 beim Affen (Rizzolatti et al., 2002) und spielt unter anderem eine wichtige Rolle bei der Anpassung der Finger vor und während des Greifens von Objekten.

Wenn man nach einem Objekt greift, passen sich die Finger schon im Voraus der Form des Objekts an, was eine visuelle Verarbeitung und eine darauf gerichtete motorische Umsetzung voraussetzt.

In Tierexperimenten konnte an Ansätzen mit Affen gezeigt werden, dass diese Verarbeitung auf einen fronto-parietalen Kreislauf zwischen dem anterioren intraparietalen Bereich (AIP) und PMv zurückzuführen ist (Rizzolatti et al., 1988, Murata et al., 1997). Bevor man ein Objekt hochhebt, schätzt man automatisch sein Gewicht und adjustiert dementsprechend die notwendige Kraft beim Heben (Johansson and Westling, 1984).

Bei Affen konnten kaum direkte kortikospinale Projektionen von PMv zum zervikalen Rückenmark festgestellt werden (Dum and Strick, 1991, Luppino et al., 1999, Tanne-Gariepy et al., 2002, Dum and Strick, 2005). So kam es zu der Annahme, dass PMv durch seine kortikokortikale Verbindung mit dem iM1 die Motorik beeinflusst (Cerri et al., 2003, Shimazu et al., 2004). Dies konnte bestätigt werden, als man entdeckte, dass die elektrische Stimulation von F5 zu einer Fazilitierung von den absteigenden kortikospinalen Salven führt, welche durch reversible Inaktivierung vom iM1 aufgehoben wird (Shimazu et al., 2004).

PMv hat nicht nur motorische sondern auch kognitive Funktionen, wie z.B das Nachvollziehen von Bewegungen. Bei Affen enthält PMv sogenannte Spiegelneurone (Rizzolatti and Luppino, 2001). Diese Neurone entladen sich sowohl, wenn die Affen eine Bewegung ausführen, als auch wenn sie einen anderen Affen oder Menschen beobachten, wie er dieselbe Bewegung ausführt. Bewegungen, bei denen die Spiegelneurone besonders aktiviert werden, sind z.B das Greifen oder die Manipulation von Objekten (Gallese et al., 1996). Zusammenfassend hat PMv sowohl visuell-sensorisch-integrative als auch kognitive Funktionen im motorischen System.

1.2.2 Der posteriore Parietalkortex (PPC)

Der Parietalkortex setzt sich aus dem Gyrus postcentralis, dem superioren parietalen Lobulus (SPL) und dem inferioren parietalen Lobulus (IPL) zusammen. SPL und IPL bilden den posterioren Parietallappen und sind durch den Sulcus intraparietalis voneinander getrennt.

Die primäre somatosensorische Rinde ist im Gyrus postcentralis lokalisiert und entspricht weitgehend den Areae 1, 2 und 3 nach Brodmann. Hier enden die somatosensiblen und propriozeptiven Fasern der kontralateralen Körperhälfte. Der Gyrus postcentralis ist wie die primär motorische Rinde somatotop gegliedert. Die sekundäre somatosensorische Rinde ist am basalen Ende des Gyrus postcentralis lokalisiert und weist ebenfalls eine Somatotopie auf. Der posteriore Parietalkortex (PPC), der sich dorsal des Gyrus postcentralis befindet und den Areae 5 und 7 nach Brodmann entspricht, spielt auch eine große Rolle für die

Interpretation und weitere Zuordnung der in der primären somatosensorische Rinde wahrgenommenen Reize.

Wie steht nun der Parietalkortex mit dem motorische Kortex in Verbindung, und welche Rolle spielt er bei exekutiven Funktionen?

Früher wurde dem PPC vor allem eine assoziative Funktion zugesprochen, doch mittlerweile ist durch mehrere Studien belegt, dass der PPC neben der Verarbeitung von höhergradigen sensorischen Informationen eine wichtige Rolle bei der motorischen Kontrolle spielt (Mountcastle et al., 1975, Hyvarinen, 1981).

Patienten, die eine Läsion im Bereich des anterioren Sulcus intraparietalis hatten, zeigten Defizite beim Greifen und bei der Manipulation von Objekten (Binkofski et al., 1998). Mit Hilfe von fMRT-Untersuchungen an gesunden Probanden konnte gezeigt werden, dass es bei der Manipulation von komplexen Objekten unter anderem zu einer Aktivierung des PMv und eines Areals im anterioren Sulcus intraparietalis (höchstwahrscheinlich ein Analogon des Areals AIP des Affen) kommt (Binkofski et al., 1999). Die gemeinsame Aktivierung legt nahe, dass diese Areale einen Aktionskreis für die Koordination von Fingerbewegungen bilden. Bei Affen konnte zuvor schon ein parieto-frontaler Kreislauf zwischen F5 und AIP gezeigt werden (Jeannerod et al., 1995).

Das Areal AIP (das Anteriore Intraparietale Areal) befindet sich in dem rostralen Teil der lateralen Bank des Sulcus intraparietalis. Die Neurone dieses Areals werden während des Greifens nach bestimmten Objekten aktiv. Bei Affen ist das AIP Areal anatomisch mit PMv verbunden (Matelli et al., 1986), vor allem mit dem Areal F5. Die dort lokalisierten Neurone entladen sich ebenfalls bei spezifischen objektbezogenen Handbewegungen und sogar, wenn ein Objekt in 3D präsentiert wird, ohne dass eine Manipulation erfolgt (Murata et al., 1997).

Es wird vermutet, dass das anteriore intraparietale Areal bei Menschen eine ähnliche Funktion wie bei Affen hat. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass es bei Menschen eine entscheidende Rolle bei der Übertragung von modalitätsübergreifenden Objektinformationen zwischen dem visuellen und sensomotorischen System spielt (Grefkes et al., 2002).

1.3 Transkranielle Magnetstimulation (TMS)

1.3.1 Physikalische Grundlagen

Im Jahre 1980 gelang Merton und Morton in London mit Hilfe eines Hochvoltstimulators die „Transkranielle Elektrische Kortexstimulation“ (TES) (Merton and Morton, 1980). Mit dieser Methode konnte man nun erstmals nicht-invasiv am wachen Patienten den motorischen Kortex stimulieren (Rothwell et al., 1987). Durch den hohen ohmschen Widerstand des

Knochens und der Haut sind bei der elektrischen Stimulation hohe Stimulationsintensitäten notwendig, welche zur Erregung peripherer Schmerzrezeptoren führen und deshalb sehr schmerzhaft sind. Dies verhinderte eine Etablierung von TES in der neurologischen Diagnostik.

1985 wurde die transkranielle Magnetstimulation (TMS) von Barker et al. eingeführt (Barker et al., 1985), welche es ermöglichte, das Gehirn nicht-invasiv und schmerzlos durch die intakte Kopfhaut zu stimulieren.

TMS beruht auf dem Prinzip der elektromagnetischen Induktion durch ein sich schnell änderndes Magnetfeld. Durch eine tangential am Schädel angelegte Magnetspule fließt ein starker Strompuls und erzeugt dabei ein kurz anhaltendes Magnetfeld, welches die Schädelkalotte nahezu ohne Abschwächung passiert. Dieses Feld induziert ein elektrisches Feld mit entgegengesetzter Richtung, welches zu einer Potenzialdifferenz an der Zellmembran von Neuronen führt und mit zunehmender Entfernung von der Spule exponentiell abnimmt. Entscheidend für die Erregung von Axonen ist die Größe und Richtung des elektrischen Feldes. Das von der TMS induzierte elektrische Feld ist proportional zur Änderung des magnetischen Feldes.

Im Wesentlichen besteht ein Magnetstimulator aus einem Kondensator, der Stimulationsspule und dem sogenannten Thyristor. Der Hochspannungskondensator entlädt sich, die gespeicherte Ladung fließt als Strom (mit bis zu 10000 A) durch die Spule und baut dort ein transientes Magnetfeld auf. Nach einer halben Schwingung kehrt sich die Stromrichtung des Schwingkreises um. Es wird die monophasische Schaltung von der biphasischen Schaltung unterschieden. Es ist sowohl die Stimulation mit einzelnen Magnetfeld-Pulsen als auch die Stimulation mit Impuls-Salven, die so genannte repetitive Magnetstimulation (rTMS), möglich.

Bei den Spulen kann man die „Rundspule“ von der „Achterspule“ unterscheiden. Die Achterspule besteht aus zwei Rundspulen, die gegenläufig vom Strom durchflossen werden und sich in der Mitte überlagern. Dadurch wird das Magnetfeld beider Teilspulen im Mittelteil verstärkt, was eine relativ fokale Stimulation eines Kortexareals erlaubt.

Der induzierte Strom hat genau die entgegengesetzte Richtung zum in der Spule fließenden Strom.

1.3.2 Physiologische Grundlagen

Wie schon oben erwähnt (1.1) gehört der motorische Kortex zum Neokortex und kann in sechs Schichten unterteilt werden, wobei die Lamina V des M1 die Betz-Riesenpyramidenzellen enthält. Durch transkranielle Magnetstimulation können die Pyramidenzellen aktiviert werden und in der kontralateralen Muskulatur eine Reizantwort

erzeugen, die elektromyographisch als motorisch evoziertes Potential (MEP) aufgezeichnet werden kann. Der TMS-Puls ruft ein elektrisches Feld hervor, welches das Ruhepotential des Axons einer Nervenzelle von ungefähr -60 mV auf etwa -30 mV depolarisieren muss, um ein Aktionspotential auszulösen. Das Axon besitzt eine semipermeable Zellmembran mit spannungsabhängigen Kanälen und Ionenpumpen, die das Ruhepotential aufrechterhalten und bei hinreichender Depolarisation das Aktionspotential auslösen.

Es wird grundsätzlich angenommen, dass der Kortex durch einen TMS-Puls umso stärker erregt wird, je stärker das dort induzierte elektrische Feld ist. Damit tritt die Stimulation am ehesten an der Stelle des kortikalen Feldmaximums auf. Generell gilt auch, dass eine größere Eindringtiefe mit stärkeren Stimulationsimpulsen oder mit größeren Spulen erreicht werden kann.

1.3.3. Indirekte Wellen (I-Wellen)

Patton und Amassian waren die ersten, denen es gelang, nach elektrischer Kortexstimulation von Katzen und Affen multiple deszendierende Erregungswellen im kortikospinalen Trakt darzustellen (Patton and Amassian, 1954). Sie lieferten Beweise zu der Annahme, dass die erste Welle durch direkte Erregung der kortikospinalen Neuronen entsteht und die nachfolgenden Wellen durch indirekte Aktivierung über kortikale Interneurone zustande kommen. So entstand die Nomenklatur der direkten Erregungswelle (D-Welle) und der indirekten Erregungswelle (I-Welle). Die D-Welle persistiert als einzige der deszendierenden Wellen nach Ablation des motorischen Kortex. Die erste nach der D-Welle auftretende I-Welle wird als I₁-Welle bezeichnet, die darauffolgende I-Welle entsprechend als I₂-Welle und so weiter.

Man kann ein tiefes (Lamina V) von einem oberflächlichen (Lamina I) System von horizontal ausgerichteten Axonenbündeln im primären motorischen Kortex unterscheiden. Durch selektive Stimulation kann nur das tiefe System eine monophasisch generierte I-Welle auslösen (Amassian et al., 1987) und scheint somit wesentlich zur Generierung der deszendierenden kortikospinalen Wellen beizutragen. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die Kühlung und somit die vorübergehende Funktionsunterbrechung der oberflächlichen Rindenschicht zunächst zum Verschwinden der späten I-Wellen führten. Im Verlauf wurden auch die tiefen Schichten gekühlt, was dazu führte, dass nun auch die frühen I-Wellen verschwanden. So kam es zu der Hypothese, dass die I-Wellen durch die Anregung einer Kette von exzitatorischen Interneuronen ausgelöst werden, wobei die späten I-Wellen durch weiter oberflächlich gelegene und die frühen I-Wellen durch tiefer gelegene Interneuronenpopulationen generiert werden (Amassian et al., 1987).

Nach einer Läsion des Thalamus konnten deszendierende Erregungswellen im

kortikospinalen Trakt ohne Veränderung ausgelöst werden, was zu der Annahme führte, dass thalamokortikale Projektionen keine Bedeutung für die Generierung der D- und I-Wellen haben (Amassian et al., 1987). Dagegen führte die Stimulation des primär somatosensorischen Kortex oder des prämotorischen Kortex zu einer Auslösung von I-Wellen im kortikospinalen Trakt, welche nach der Ablation des primären motorischen Kortex verschwanden (Patton and Amassian, 1960). Hieraus zeigt sich, dass die Aktivierung von kortikokortikalen Afferenzen zu einer indirekten, transsynaptischen Erregung der kortikospinalen Axone und zur Auslösung deszendierender I-Wellen führt.

Ziemann et al. untersuchten den motorischen Kortex mit der Doppel-Puls-TMS, also mit zwei zeitlich nah aufeinander folgenden Pulsen, die durch die selbe Spule appliziert wurden. Folgt dabei einem überschwelligem Impuls ein unterschwelliger Impuls, so entsteht eine zeitlich spezifische MEP-Fazilitierung, welche wohl infolge der I-Wellen-Interaktion zustande kommt. Der erste Puls wird auf eine Stimulationsintensität eingestellt, die ein MEP von 1 mV erzeugt. Der zweite Puls wird auf eine Stimulationsintensität von 90% der motorischen Reizschwelle in Ruhe eingestellt. Eine MEP-Fazilitierung ereignete sich bei den folgenden Interstimulusintervallen (ISI): 1.1-1.5, 2.3-2.9 und 4.1-4.4 ms (Ziemann et al., 1998).

1.3.4 MEPs als Parameter der motorischen Exzitabilität

Durch TMS des M1 lässt sich gezielt eine Muskelkontraktion auslösen. Die Erregung gelangt über kortikospinale Bahnen zu den spinalen Motoneuronen, wird über die peripheren motorischen Nervenfasern zum Arm- bzw. Beinmuskel weitergeleitet und führt zu einer elektrischen Erregung der motorischen Einheiten eines Muskels. Mit Oberflächenelektroden kann nun nach einer überschwelligem TMS des kortikalen Repräsentationsareals im entsprechenden kontralateralen Zielmuskel ein Muskelsummenaktionspotenzial abgeleitet werden, welches als motorisch evoziertes Potenzial (MEP) bezeichnet wird (Barker et al., 1985, Rossini et al., 1994).

Die Latenz, Amplitude und Form des MEP werden von der Summation vieler Eingänge (engl. inputs) beeinflusst. Die durch die TMS induzierte kortikomuskuläre Erregung wird über kortikale, spinale und neuromuskuläre Synapsen fortgeleitet. Daraus erschließt sich, dass die Erregbarkeitsniveaus des stimulierten motorischen Kortex, der spinalen Motoneurone und der neuromuskulären Strukturen das MEP beeinflussen. Die Amplitude des MEP erlaubt Rückschlüsse auf die Integrität der absteigenden motorischen Bahnen und der Erregbarkeit im motorischen System.

Um die Summenantwort aller motorischen Einheiten eines Muskels zu erfassen, werden die MEP vorzugsweise mit Oberflächenelektroden abgeleitet. Es wird die Ableitung von distalen Handmuskeln wie dem Musculus interosseus dorsalis I (engl. first dorsal interosseus muscle,

FDI) bevorzugt, da im Vergleich zu proximalen Muskeln die kortikalen Repräsentationen distaler Muskeln und die monosynaptischen kortikospinalen Projektionen stärker ausgeprägt und somit mit der TMS einfacher zu lokalisieren und leichter überschwellig zu stimulieren sind.

1.3.5 TMS als Tool zur Beurteilung der funktionellen Konnektivität

Die TMS kann unter anderem eingesetzt werden, um die kortikale Erregbarkeit und Konnektivität insbesondere des motorischen Systems zu untersuchen. Um die funktionelle Konnektivität zwischen unterschiedlichen Hirnarealen und M1 zu untersuchen, eignen sich Doppelpulsprotokolle, bei denen ein Areal mit einem TMS-Puls konditioniert und einige Millisekunden später ein Testpuls über M1 appliziert wird. Es können sowohl inhibitorische als auch fazilitierende Interaktionen untersucht werden.

Es konnte bereits gezeigt werden, dass sich abhängig von der Intensität, der Lokalisation, der Stromflussrichtung und dem ISI des konditionierten Pulses über prämotorischen Arealen unterschiedliche Effekte auf die M1-MEPs erzeugen lassen (Civardi et al., 2001).

1.4 Magnetresonanztomographie (MRT)

Die wichtigsten bildgebenden Verfahren zur Darstellung des zentralen Nervensystems sind die Computertomographie (CT) und die Magnetresonanztomographie (MRT). Im Gegensatz zu der CT benutzt die MRT keine Röntgenstrahlen, sondern magnetische Felder und hochfrequente elektromagnetische Wellen. Die Stärke des Magnetfeldes wird in Tesla (T)-Einheiten angegeben.

Es gibt zahlreiche spezielle MRT-Verfahren, die außer Lage und Form der Organe auch Informationen über ihre Mikrostruktur und Funktion darstellen können. Zu diesen speziellen Verfahren gehören zum Beispiel die Magnetresonanzangiographie (MRA), die funktionelle Magnetresonanztomographie (fMRT), die Perfusions-MRT sowie die diffusionsgewichtete Bildgebung (engl. Diffusion Tensor Imaging, DTI).

1.4.1 Physikalische Grundlagen

Ein MRT-Gerät besteht aus einem starken Magneten, der das Magnetfeld erzeugt, aus Gradientenspulen zur Ortskodierung und aus speziellen Spulen für die Sendung und den Empfang der Hochfrequenzsignale. Die Magnetresonanztomographie nutzt die magnetischen Eigenschaften des Wasserstoffs. Atomkerne des menschlichen Körpers mit ungerader Kernladungszahl, also mit ungleich vielen Protonen und Neutronen, besitzen

einen Eigendrehimpuls (Kernspin) und erhalten dadurch ein magnetisches Moment. Nach Anlegen eines starken statischen Magnetfeldes erzeugen diese Atomkerne eine messbare Magnetisierung in Richtung des statischen Feldes. Wird nun ein Radiosignal eingestrahlt, dessen Frequenz mit der Umlaufbewegung in Resonanz ist, so dreht sich die Magnetisierung aus der ursprünglichen Richtung heraus. Diese Präzessionsbewegung der Gewebemagnetisierung kann über die induzierte Spannung in einer Spule (Empfängerstromkreis) gemessen werden.

Nach Abschalten des hochfrequenten Wechselfeldes kommen die Protonen zur Ruhelage und die Kerne fallen in ihre ursprüngliche Lage zurück (Relaxationsphänomen). Durch unterschiedliche Protonendichten und Kernspin-Relaxationszeiten (T1 und T2) in verschiedenen biologischen Geweben entstehen Bilder verschiedener Signalintensität, die entweder signalreich (hell) oder signalarm (dunkel) sind. Die Signalstärke wird in Grauwerten abgebildet. Um den Ort der jeweiligen Atomkerne zu bestimmen, wird ein ortsabhängiges Magnetfeld (Magnetfeldgradient) angelegt, was eine genaue Bildgebung ermöglicht.

1.4.2 Diffusionsgewichtete Bildgebung (DTI)

Mit den heutigen Methoden ist es nicht möglich, Nervenfasern direkt abzubilden. Mit Hilfe von DTI kann die Darstellung der Nervenfasern indirekt erfolgen, indem Ausmaß und Richtung der Diffusion von Wassermolekülen im Bereich der Nervenfasern erfasst werden (Basser et al., 1994). Die Diffusion von Wasser im Hirngewebe ist durch die Mikrostruktur des Gewebes relativ eingeschränkt, weil das Gehirn aus Fasern mit zusammenhängender Ausrichtung besteht. In solchen Systemen tendiert das Wasser dazu, entlang der Fasern zu diffundieren, die Diffusion ist anisotrop. Innerhalb des Liquorsystems als Beispiel hingegen können die Wassermoleküle uneingeschränkt in jede Richtung diffundieren, was als isotrop bezeichnet wird. Die anisotrope Diffusion entlang der Nervenfasern wird zunehmend isotrop, wenn die anatomischen Barrieren durch neuropathologische Prozesse (z.B. bei der multiplen Sklerose) zerstört werden.

Richtung und Stärke der Diffusion können durch ein Ellipsoid beschrieben werden, welches durch einen Tensor charakterisiert ist. Es sind mindestens 6 gemessene Diffusionsrichtungen notwendig, die sich auf 3 Vektoren in 3 Ebenen aufteilen (Basser and Pierpaoli, 1998, Le Bihan et al., 2001). Um die Vektorkomponenten bestimmen zu können, müssen DTI-Aufnahmen mit mindestens 6 unterschiedlichen Richtungen gemessen werden.

$$D = \begin{pmatrix} D_{xx} & D_{xy} & D_{xz} \\ D_{yx} & D_{yy} & D_{yz} \\ D_{zx} & D_{zy} & D_{zz} \end{pmatrix}$$

Die Elemente einer Tensormatrix werden als Komponenten bezeichnet. Durch Diagonalisierung der Tensormatrix können Eigenvektoren und Eigenwerte berechnet werden. Die Eigenvektoren definieren die Hauptrichtung der Diffusion und die Eigenwerte die Stärke der Diffusion in der jeweiligen Richtung. Die räumliche Orientierung des Ellipsoids ist charakterisiert durch die Eigenvektoren, die räumliche Ausdehnung entlang der drei Hauptachsen durch die Eigenwerte. Bei einer anisotropen Diffusion hebt sich der höchste Eigenwert deutlich von den anderen beiden Eigenwerten ab. Sind die drei Eigenwerte gleich groß, ist die Diffusion isotrop.

Die fraktionale Anisotropie (FA) ist ein mathematisches Maß für die Ausrichtung der Diffusion (Basser et al., 1994). Es wird dabei die anisotrope Komponente des Diffusionstensors ins Verhältnis zum gesamten Tensor gesetzt:

$$FA = \frac{\sqrt{3((\lambda_1 - \langle \lambda \rangle)^2 + (\lambda_2 - \langle \lambda \rangle)^2 + (\lambda_3 - \langle \lambda \rangle)^2)}}{\sqrt{2(\lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2)}}$$

FA kann zwischen 0 (Isotropie) und 1 (vollständige Anisotropie) liegen. Mit Hilfe der Eigenvektoren und Eigenwerte kann nun für jedes Voxel die Hauptrichtung der Diffusion sowie deren Stärke berechnet werden. Die Richtung des Eigenvektors mit dem größten Eigenwert kann die Richtung für den Faserverlauf in einem Voxel angeben.

Verbindet man die Richtung des Maximalwerts des Diffusionsellipsoids in jedem Voxel mit der Richtung des entsprechend liegenden Nachbarvoxels, kann auf den wahrscheinlichsten Verlauf eines Faserbündels geschlossen werden. So können mögliche Faserverbindungen zwischen Hirnarealen ermittelt werden (Traktographie, 'Fiber tracking'). Nach den entsprechenden Rekonstruktionen der Bilddaten können bedeutsame Informationen über die Textur des Hirngewebes und über den Verlauf und die Integrität von Faserverbindungen im Marklager abgeleitet werden. Eine erst seit kurzer Zeit angewandte Methode zur Bestimmung und Analyse der FA ist die sogenannte „tract-based spatial statistics“ (TBSS) (Smith et al., 2006). TBSS hat die Verbesserung der Sensitivität und Objektivität zum Ziel und vermindert Einordnungsschwierigkeiten der dreidimensionalen Aufnahmen.

2 Fragestellung

Wir haben mit Hilfe der transkraniellen Magnetstimulation und der diffusionsgewichteten Bildgebung die kortikalen Verbindungen des iM1 mit prämotorischen und parietalen Arealen untersucht. Der ipsilaterale PMv (iPMv) sowie der ipsi- aber auch kontralaterale PPC (iPPC bzw. kPPC) wurden auf die Beeinflussbarkeit des iM1 untersucht. Dabei wurden die TMS-Daten mit den FA- Werten korrelativ analysiert. Unser Ziel war es, auf diese Weise eine Verbindung zwischen der funktionellen Konnektivität und der strukturellen Konnektivität darzustellen.

In einer Studie unserer Arbeitsgruppe konnten wir bereits die direkten kortikalen Verbindungen, mit einer kurzen Latenzzeit, zwischen M1 und PMd zeigen (Groppa et al., 2012). Nun stellt sich die Frage, ob M1 ebenfalls durch direkte schnell-leitende Bahnen mit dem PMv und PPC verbunden ist.

In dieser Studie sollten folgende Hypothesen geprüft werden:

1. Der iM1 und der iPMv sind durch direkte kortikale Bahnen mit einer kurzen Latenzzeit verbunden.
2. Der iM1 und der iPPC sind durch direkte kortikale Bahnen mit einer kurzen Latenzzeit verbunden. Eine überschwellige Stimulation von M1, gefolgt von einer unterschwelligen Stimulation vom PPC, führt zu einer MEP-Fazilitierung infolge einer I-Wellen Generierung.
3. Eine zusätzliche kontralaterale M1-Stimulation kann die ipsilaterale Fazilitierung aufheben.
4. Die funktionelle Konnektivität vom iM1 und iPPC korreliert mit der strukturellen Konnektivität.

3 Material und Methoden

3.1 Probanden

Insgesamt wurden 59 gesunde Probanden (29 Männer, 30 Frauen) mit einem durchschnittlichen Alter von 24.8 Jahren (Standardabweichung +/- 2.56) untersucht. An dem ersten Versuch nahmen 30 Probanden teil, an dem zweiten Versuch 13 Probanden und an dem dritten Versuch nahmen 16 Probanden teil. Alle Probanden waren nach dem Edinburgh-Händigkeitstest konsistente Rechtshänder mit einem Händigkeitsindex > 85 (Oldfield, 1971). Die Probanden wurden ausführlich über die geplanten Untersuchungen mit möglichen

Nebenwirkungen wie Kopfschmerzen und epileptische Anfälle aufgeklärt und gaben alle ihr Einverständnis zur Untersuchung. Die Untersuchungen erfolgten mit zustimmendem Votum der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Universität Kiel.

3.2 Neuronavigation

Von jedem Probanden wurde vor dem TMS-Experiment eine MRT-Aufnahme des Kopfes angefertigt. Vorverarbeitete T1-gewichtete Bilder wurden zur Neuronavigation und zur gezielten Ansteuerung der gewünschten Kortexareale verwendet.

Die T1-gewichteten MRT-Aufnahmen der Probanden wurden normalisiert, die Kopfoberfläche rekonstruiert und die Koordinaten für den iPMv und den iPPC berechnet. Die Normalisierung der MRT-Aufnahmen wurde mit Hilfe der Software SPM (statistic parametric mapping), welche eine Applikation der mathematischen Software MATLAB ist, durchgeführt (MathWorks, Natick, MA). Durch die Normalisierung wird die individuelle Anatomie, die zum Teil sehr unterschiedlich ist, auf einen standardisierten Raum, das Talairach-Koordinatensystem, angepasst. Somit befinden sich die gleichen anatomischen Strukturen immer auf den gleichen Koordinaten und die Ergebnisse können innerhalb von und zwischen Untersuchungsgruppen verglichen werden. Eine bereits publizierte Metaanalyse zu der dreidimensionalen Lokalisation von PMv, sowie Kartierungstudien zu der Lokalisation von PPC lieferten uns die Koordinaten für PMv (Mayka et al., 2006) und PPC (Della-Maggiore et al., 2004). Diese Koordinaten wurden in MATLAB eingegeben und daraus für jeden Probanden seine individuellen Koordinaten berechnet, welche aus 3 Zahlen bestanden, jeweils für die x-, y- und z-Achse. Nach der Normalisierung wurden die Kopfoberfläche mit dem Programm R (<http://rniftilib.r-forge.r-project.org/>, Dipl.-Inf. O. Granert, Klinik für Neurologie, Uni-Kiel) rekonstruiert und die individuellen Koordinaten für PMv und den PPC auf der Kopfoberfläche berechnet (siehe Abb. 1).

Die Neuronavigation erfolgte mit dem LOCALITE TMS Navigator (LOCALITE GmbH Schloss Birlinghoven 53757 Sankt Augustin, www.localite.de), welcher eine genaue Stimulation von bestimmten Hirnarealen ermöglicht (siehe Abb. 3). Das Localite-System besteht aus 3 Komponenten. Die erste Komponente ist ein dynamischer Referenzrahmen, der aus einem Träger mit 3 infrarot reflektierenden Kugeln gebildet wird. Je ein Träger wird am Kopf des Probanden (Kopfband) und am Griff der Stimulationsspule befestigt. Die infrarot reflektierenden Kugeln erfassen die Information über den jeweiligen Ort von Kopf und Spule im Raum spezifisch und liefern somit die nötige räumliche Information über die Spulen und Kopfposition, um sie in einem gemeinsamen stereotaktischen Bezugssystem darzustellen. Als zweite Komponente ist ein Detektorsystem erforderlich, welches als Empfänger dient und über eine Kamera die Positionen der dynamischen Referenzrahmen erfasst. Die dritte

Komponente ist die Computereinheit mit der Navigationssoftware, welche die Rauminformationen berechnet und die Stimulationsspule und den Kopf des Probanden im Verhältnis zur individuellen MRT-Aufnahme auf dem Bildschirm visualisiert.

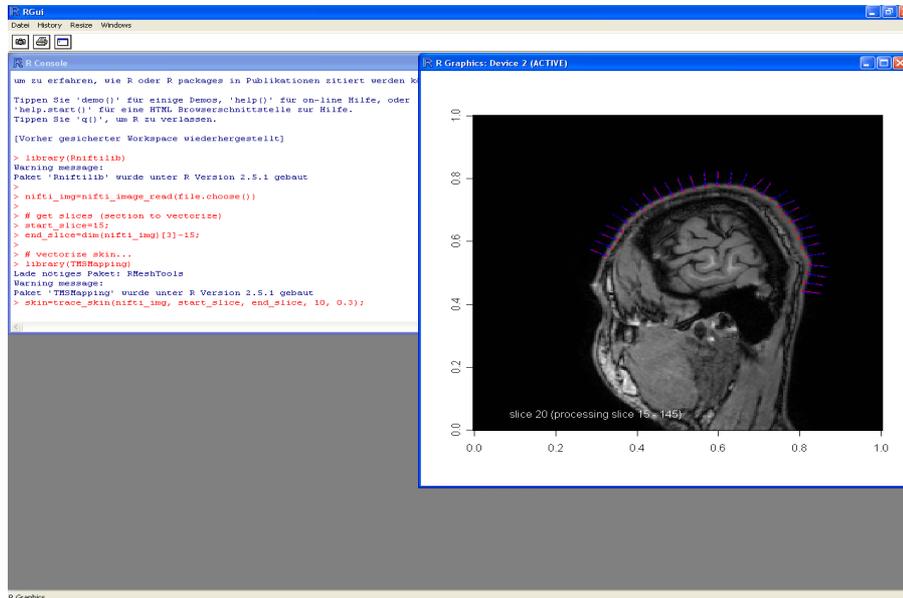


Abb. 1: Kopfhautrekonstruktion mit dem Programm R. Durch manuelle Markierungen entlang der Kopfhaut wird diese begrenzt und durchläuft 160 sagittale Schichten.

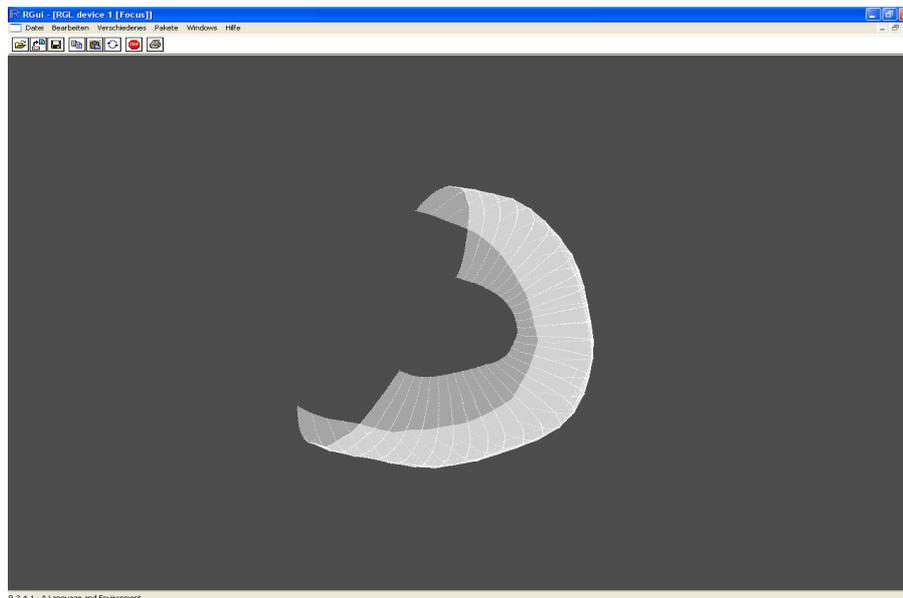


Abb. 2: Mit dem Programm R wurden die Kopfhaut für jeden Probanden rekonstruiert und die Entry-Koordinaten errechnet.

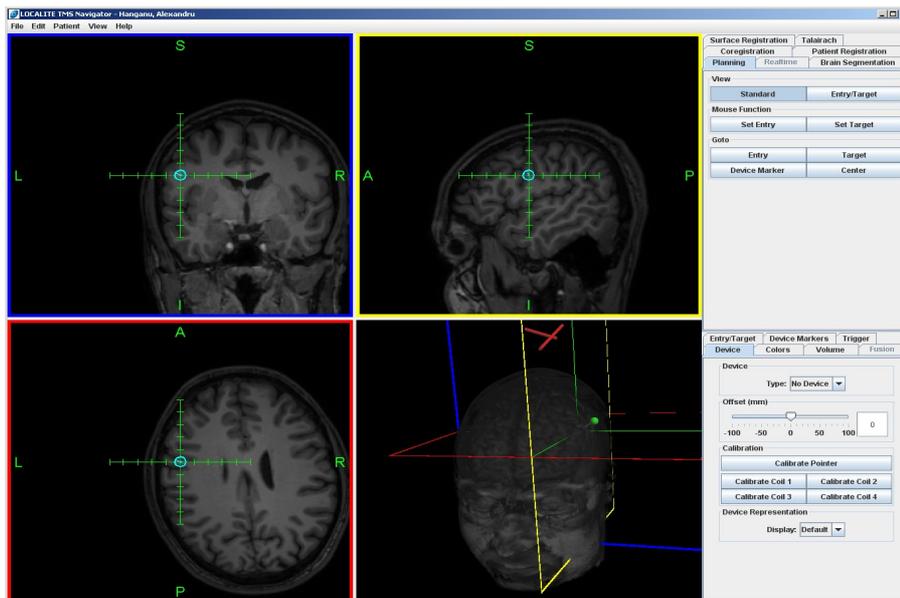


Abb. 3: Neuronavigation mit dem LOCALITE TMS Navigator. Abgebildet sind die Target-Koordinaten für den linken PMv.

Für das zu stimulierende Areal wurden zwei Koordinaten ausgerechnet: die sogenannten Entry und Target. Dabei ist Entry der Punkt auf der Kopfhaut und Target der zu stimulierende Punkt im Gehirn. Entry und Target wurden für jeden Probanden in das Localite-System eingegeben. Es wurde ein mit 3 infrarot reflektierenden Kugeln ausgestatteter dynamischer Referenzrahmen (Kopfband) am Kopf des Probanden befestigt. Dann erfolgte die Koregistrierung. Mit dem Referenzierungsstift, der ebenfalls 3 reflektierende Kugeln besitzt, wurden 3 zuvor an der individuellen MRT-Aufnahme definierte, genau zu bestimmende anatomische Referenzpunkte (landmarks) berührt und bei Berührung die Rauminformation gespeichert. Diese 3 Punkte waren die lateralen Augenwinkel und die Nasenwurzel. Auf dem Bildschirm konnte nach der Koregistrierung die Spulenposition im Verhältnis zur individuellen Neuroanatomie des Gehirns dargestellt werden. Nun konnte der Stimulationsort mit dem Referenzierungsstift und/oder mit der Spule aufgesucht und markiert werden.

3.3 Versuchsdurchführung

Die Experimente fanden in einem ruhigen Raum statt. Die Probanden saßen während des Experiments in bequemer Haltung in einem Stuhl, während die mit Kissen gepolsterten Arme in Pronationsstellung auf den Armlehnen des Stuhls ruhten. Die Probanden sollten während des Experiments entspannt sitzen, geradeaus schauen und sich weder bewegen noch sprechen. Um Kopfbewegungen so weit wie möglich zu minimieren, wurde der Kopf des

Probanden mit einem Stirnband in bequemer Haltung in einer Kopfhalterung fixiert. Die Elektromyographie (EMG) wurde mit Oberflächenelektroden von dem FDI abgeleitet. Die EMG-Signale wurden während der Messung kontinuierlich akustisch über Lautsprecher und visuell mit Hilfe eines Oszilloskops überwacht.

Zur Bestimmung der optimalen Spulenposition über dem iM1 war keine Neuronavigation notwendig, da der Stimulationserfolg mit Hilfe der MEPs unmittelbar überprüft wurde. Die Stimulationsspule wurde rasterartig in kleinen Schritten (ca. 2 mm) über die Schädeloberfläche bewegt, bis ein überschwelliger Reiz im Zielmuskel ein maximales MEP auslöste. Um die Ruheschwelle (engl. Resting motor threshold, RMT) zu ermitteln, wurde die überschwellige Intensität der Spule langsam reduziert, bis von 10 gegebenen Impulse nur noch 5 ein MEP auslösten (Rossini et al., 1994). Aus dieser Ruheschwelle wurde die Stimulationsintensität für den iPMv und iPPC errechnet. Die in 3.2 und 3.3 dargestellten Schritte erfolgten in allen Experimenten. Die Versuche unterschieden sich untereinander durch die verwendeten Spulen, die Hirnareale, die zusätzlich zum iM1 stimuliert wurden, die Stimulationsintensitäten und die Doppelpuls-Sequenzen.

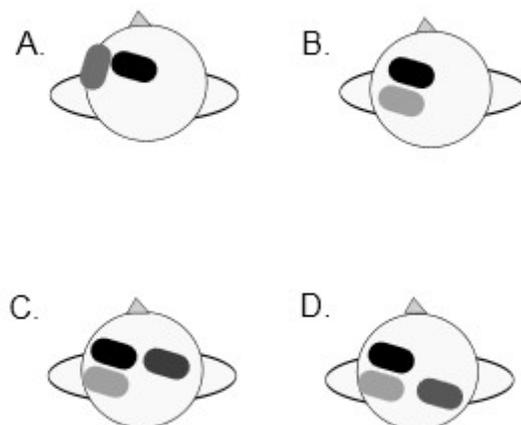


Abb. 4: Spulenposition. **A.** Experiment 1. Stimulation vom iM1 (schwarz) und iPMv (dunkelgrau). **B.** Experiment 2. Stimulation vom iM1 (schwarz) und iPPC (grau). **C.** Experiment 3.1. Zusätzlich Stimulation vom kM1 (dunkelgrau). **D.** Experiment 3.2. Zusätzliche Stimulation vom kPPC (dunkelgrau).

3.3.1 Stimulation vom iM1 und iPMv

In dem ersten Experiment wurden iM1 und iPMv bei gesunden Probanden stimuliert. Die Stimulationsareale befanden sich auf der linken Kortexhälfte. Dementsprechend wurden die MEPs der rechten Handmuskulatur abgeleitet.

Das erste Experiment bestand aus zwei Telexperimenten. Der iPMv wurde bei beiden Versuchen mit der kleinen Stimulationsspule (MAG & MORE) stimuliert. Entry und Target wurden in das Localite System eingegeben. Die Spule konnte nun mit Hilfe der Neuronavigation platziert werden. Dabei erfolgte die Stimulation vom iM1 einmal mit der Achterspule von MAG & MORE (Experiment 1.1) und einmal mit der runden Spule von MAG & MORE (Experiment 1.2). Bei beiden Experimenten erfolgte eine überschwellige Stimulation vom iM1 (Testpuls), gefolgt von einer unterschwelligen Stimulation vom iPMv (konditionierter Stimulus), in einem ISI von 0.8 bis 4.8 ms in Schritten von 0.4 ms, oder eine alleinige Stimulation über dem iM1 (Testpuls).

3.3.1.1 Stimulation vom iM1 mit der Achterspule (MAG & MORE)

Im Experiment 1.1 wurden bei 15 gesunden Probanden (8 Männer, 7 Frauen) der iM1 (Achterspule von MAG & MORE) und iPMv (kleinen Spule von MAG & MORE) der linken Kortexhälfte stimuliert. Die Schritte Neuronavigation, Spulenpositionierung und Bestimmung der Ruheschwelle erfolgten wie bereits zuvor erläutert.

Das Experiment bestand aus 4 Messungen, die sich in der Stimulationsintensität vom iPMv unterschieden. Als Stimulationsintensität für den iM1 wurde eine Intensität gewählt, die konstant ein MEP von circa 1 mV auslöste. Diese Intensität wurde dann für alle 4 Messungen verwendet. Aus der Ruheschwelle vom iM1 wurde die Stimulationsintensität vom iPMv errechnet, welche für 2 Messungen 90% der Ruheschwelle vom iM1, und für die anderen 2 Messungen 70% der Ruheschwelle vom iM1 betrug. Die Reihenfolge der Messungen war zufällig. Jede Messung bestand aus 140 Impulsen und dauerte ungefähr 20 Minuten.



Abb. 5: *Experiment 1.1: Stimulation vom iM1 mit der Achterspule und iPMv mit der kleinen Spule.*

3.3.1.2 Stimulation vom iM1 mit der runden Spule (MAG & MORE)

Experiment 1.2 unterschied sich vom Experiment 1.1 durch die verwendete Stimulationsspule für den iM1.



Abb. 6: *Experiment 1.2: Stimulation vom iM1 mit der runden Spule und iPMv mit der kleinen Spule.*

Diesmal wurde statt der Achterspule (MAG & MORE) eine einfache Rundspule (MAG & MORE) verwendet. Ansonsten verlief alles identisch zum Experiment 1.1, und es nahmen die selben Probanden teil.

3.3.2 Stimulation vom iM1 und iPPC

An dem zweiten Experiment nahmen 13 gesunde Probanden teil (7 Männer, 6 Frauen). Bei ihnen wurden der iM1 und iPPC der linken Kortexhälfte stimuliert. Dabei wurden die MEPs der rechten Hand abgeleitet.

Die Koordinaten für den PPC waren schon aus einer anderen Arbeit bekannt ($x = -36$, $y = -64$, $z = 54$) (Della-Maggiore et al., 2004). Die Neuronavigation vom iPPC erfolgte wie die schon beschriebene Neuronavigation vom iPMv. Auch die Spulenpositionierung und die Bestimmung der Ruheschwellen und der Stimulationsintensität vom iM1 verliefen identisch zu den ersten beiden Versuchen.

Die zu stimulierenden Areale (iM1 und iPPC) wurden beide jeweils mit einer kleinen Spule (MAG & MORE) stimuliert. Es erfolgte eine überschwellige Stimulation vom iM1 (Testpuls), gefolgt von einer unterschwelligen Stimulation vom iPPC (konditionierter Stimulus), in einem ISI von 0.8 bis 4.8 ms in Schritten von 0.4 ms. Dieses Experiment bestand aus 4 Messungen, die sich in der Stimulationsintensität vom iPPC unterschieden, welche zweimal 90% und zweimal 70% der Ruheschwelle vom iM1 betrug. Jede Messung dauerte ungefähr 20 Minuten und bestand aus 140 Impulsen. Die Reihenfolge der Messung war zufällig.

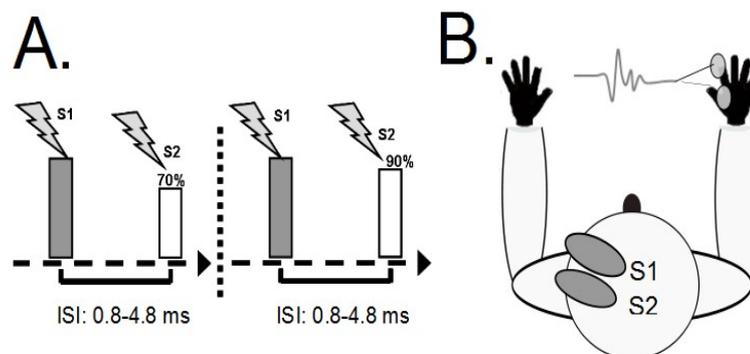


Abb. 7: Experimentaufbau für Experiment 2. A: Stimulationsparadigmen. Konditionierter Stimulus (S2) über dem iPPC wurde nach dem Teststimulus (S1) über dem iM1 appliziert. Das ISI variierte in den Messungen nach dem Zufallsprinzip. Es gab 4 Messungen mit unterschiedlichen S2-Intensitäten (2 x 70%, 2 x 90%). B: Schematische Darstellung der Spulenpositionierung mit zwei kleinen Spulen (MAG & MORE).

3.3.3 Kontralaterale Stimulation

An dem dritten Experiment nahmen 16 gesunde Probanden teil (6 Männer, 10 Frauen). Das Experiment bestand aus zwei Telexperimenten, wobei zusätzlich zu der Stimulation vom iM1 und iPPC eine Stimulation vom kontralateralen M1 (kM1) (Experiment 3.1) und kPPC (Experiment 3.2) erfolgte. Die MEPs wurden dementsprechend an beiden Händen abgeleitet. Beide Versuche bestanden aus jeweils zwei Messungen, die sich in der Stimulationsintensität für den iPPC unterschieden, welcher einmal 70% und einmal 90% der Ruheschwelle vom iM1 betrug. Jede Messung bestand aus 180 Impulsen und dauerte ungefähr 25 Minuten.

Für die ipsilaterale Kortexstimulation der linken Seite wurden die kleinen Spulen (MAG & MORE), für die Stimulation vom kM1/ kPPC die Achterspule von Magstim verwendet. Die Bestimmung der Ruheschwelle vom iM1, die Positionierung der Spulen und die Festlegung der Intensitäten des iM1 und iPPC erfolgten genau wie im zweiten Experiment. Die kontralaterale Stimulation wird im Folgenden genauer erläutert.

3.3.3.1 Stimulation vom kM1

Im Experiment 3.1 erfolgte zusätzlich zu der Stimulation vom iM1 und iPPC eine Stimulation vom kM1. Die ipsilaterale Stimulation wurde schon oben beschrieben. Für die kontralaterale Kortexstimulation wurde die Magstimspule auf der rechten Kopfhälfte platziert und die Position solange modifiziert, bis ein überschwelliger Reiz im Zielmuskel ein maximales MEP auslöste. Um die Ruheschwelle zu ermitteln, wurde die überschwellige Intensität der Spule langsam reduziert, bis von 10 gegebenen Impulsen nur noch 5 ein MEP auslösten (Rossini et al., 1994). Die Stimulationsintensität für den kM1 betrug für beide Messungen 110% der Ruheschwelle vom kM1.

Es erfolgte entweder eine überschwellige Stimulation von kM1, gefolgt von einer überschwelligen Stimulation von iM1 (Testpuls), gefolgt von einer unterschwelligen Stimulation vom iPPC (konditionierter Stimulus) oder nur eine überschwellige Stimulation von iM1, gefolgt von einer unterschwelligen Stimulation vom iPPC in einem ISI von 0,8, 1,2 und 2 ms, oder nur eine überschwellige Stimulation von kM1, gefolgt von einer überschwelligen Stimulation von iM1 in einem ISI von 10 ms. Die Reihenfolge der Messungen war zufällig.

Die ISI wurden aufgrund der Ergebnisse des Experiment 2 eingeschränkt. Wir haben somit gezielt während der Zeiten stimuliert (0,8 und 1,2 ms), bei denen wir eine Fazilitierung erwarteten. Zusätzlich hierzu haben wir einen konditionierten Stimulus 2 ms nach dem Testpuls gegeben, um eine eventuelle Hemmung darzustellen. Die interhemisphärische Latenz von 10 ms wurde aus vergleichbaren Studien übernommen (Quartarone et al., 2003,

Baumer et al., 2006).

3.3.3.2 Stimulation vom kPPC

Für die Stimulation vom kPPC mussten die Koordinaten für Entry und Target des iPPCs, die für jeden Probanden individuell berechnet wurden, umgerechnet werden. Dabei wurden die x- und y-Werte, die ursprünglich negativ waren, als positive Werte in das Localite-System eingegeben. Auf diese Weise konnte die Spulenpositionierung für den kPPC ebenfalls mit der Neuronavigation erfolgen. Um nun die Stimulationsintensität für den kPPC zu bestimmen, musste wie im Experiment 3.1 die Ruheschwelle für den kM1 bestimmt werden. Die Intensität für den kPPC wurde für beide Messungen auf 110% der Ruheschwelle der kM1 gesetzt.

Es erfolgte entweder eine überschwellige Stimulation von kPPC, gefolgt von einer überschwelligen Stimulation von iM1 (Testpuls), gefolgt von einer unterschwelligen Stimulation von iPPC (konditionierter Stimulus) oder nur eine überschwellige Stimulation von iM1, gefolgt von einer unterschwelligen Stimulation vom iPPC in einem ISI von 0.8, 1.2 und 2 ms, oder nur eine überschwellige Stimulation von kPPC, gefolgt von einer überschwelligen Stimulation von iM1 in einem ISI von 10 ms. Die Reihenfolge der Messungen war zufällig.

3.4 MRT-bezogene Datenerhebung und Auswertung

3.4.1 Aufnahmen

Die MRT-Messung des Gehirns wurde an einem 3-Tesla-Magnetresonanztomographen (Philips Achieva, Philips Medical Systems, Best, The Netherlands) durchgeführt.

Die Probanden erhielten während der Messung einen Gehörschutz. Sie waren angehalten, sich vor allem im Kopfbereich möglichst ruhig zu verhalten. Der Proband konnte jederzeit Kontakt zu außerhalb des MRT-Raums befindlichen Personen aufnehmen und die Untersuchung unterbrechen lassen.

Folgende Sequenzen wurden verwendet: Für die Neuronavigation wurde eine T1-MPRAGE-Sequenz (Magnetization Prepared Rapid Acquired Gradient Echo) mit folgenden Parametern verwendet: 160 sagittale Schichten, Repetitionszeit (TR) 7.7 ms, Echozeit (TE) 3.6 ms, Impulswinkel (flip angle) 8°, Voxelgröße 1x1x1 mm.

Die diffusionsgewichteten Daten wurden unter Verwendung einer 8-Kanal-Phased-Array-Kopfspule akquiriert (TR 11855 ms; TE 59 ms, 5 b_0 Bilder pro Akquirierung). Die Bilder hatten eine Matrixgröße von 112 x 112 mm bei einem Field of View von 224 x 224 x 120, mit einer resultierenden Voxelgröße von 2 x 2 x 2 mm. Insgesamt wurden 3 Messungen mit 60

Schichten, die anschließend separat gemittelt wurden, aufgenommen.

3.4.2 Vorverarbeitung

Die Daten wurden in das NifTI-Format (dcm2nii, <http://www.sph.sc.edu>) umgewandelt und in die weiterführende Analyse mittels FSL (<http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/>; Oxford Centre for Functional MRI of the Brain; University of Oxford, Großbritannien) und TBSS eingeleitet. Detaillierte Angaben hierzu findet man in anderen Arbeiten (Smith et al. 2006).

Die FA-Volumina der Probanden wurden nichtlinear in einem gemeinsamen Raum (MNI1521mm) registriert. Ein mittleres FA-Volumen von allen Probanden wurde aus den Bahnen der gemeinsamen Teilnehmer generiert. Die Schwelle des Skeletts wurde auf $FA < 0.2$ gesetzt, um Bereiche mit einer isotropen (ungerichteten) Diffusion auszuschließen und vor allem die anisotrope (gerichtete) Diffusion der weißen Substanz darzustellen. Die Ergebnisse jedes Probanden wurden im Anschluss in eine voxelweise und probandenübergreifende Statistik eingefügt.

3.4.3 Auswertung

Das Programm „randomise“ wurde benutzt, um die Korrelation zwischen den TMS-Effekten und den FA-Werten zu untersuchen. Die FA- Werte von jedem Probanden wurden in einer univariablen Regressionsanalyse, mit dem Alter der Probanden sowie der Ruheschwelle vom iM1 als Kovariaten, zu den Parametern der funktionellen Konnektivität, wie von den TMS Daten ermittelt, korreliert.

3.5 Statistische Auswertung

3.5.1 Statistische Auswertung der MEP-Daten

In dieser Arbeit werden die etablierten statistischen Methoden, die in ähnlichen Studien für solche Messungen verwendet wurden, angewendet. Die aufgezeichneten MEPs wurden mit der Software NuCursor ausgewertet (Sobell Research Dept. of Motor Neuroscience and Movement Disorders, Institute of Neurology, University College of London, Großbritannien). Es wurde für jede Stimulationsbedingung ein Mittelwert der einzelnen MEP-Amplitude errechnet. Die gewonnenen Rohdaten wurden in einer Tabelle dokumentiert und für die statistische Auswertung vorbereitet. Die MEP-Daten wurde mit dem Programms SPSS statistisch analysiert (Version 16.0, SPSS Inc, Chicago, IL, USA). Zur statistischen Auswertung wurde eine Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt. Im Falle eines signifikanten

Effektes (Signifikanzniveau $p \leq 0,05$) schloss sich ein Post-Hoc-Vergleich mittels Fischers t-Test an, bei dem die einzelnen Bedingungen paarweise miteinander verglichen wurden zur Berechnung von Einzelkontrasten. Wegen der bereits vorhandenen festen Hypothesen zu der zeitlichen Abfolge der Effekte haben wir auf eine Post-Hoc Korrektur verzichtet.

3.5.1.1 Experiment 1 (Stimulation vom iM1 und iPMv)

Das erste Experiment bestand aus zwei Telexperimenten, die sich in der verwendeten Stimulationsspule für den iM1 unterschieden. Jedes Telexperiment bestand aus 4 Messungen, wobei die Stimulationsintensität für den iPMv jeweils zweimal 90% und zweimal 70% der Ruheschwelle vom iM1 betrug. Es wurde für jedes Telexperiment eine separate Analyse berechnet, wobei die gleiche Methodik angewandt wurde. Für die Messungen mit den identischen Stimulationsintensitäten für den iPMv wurde ein Mittelwert der Daten berechnet. Anschließend wurde für jede Messung (Mittelwert 90%, Mittelwert 70%) eine Varianzanalyse durchgeführt. Als Faktoren galten die verschiedenen ISI in ms (0.8, 1.2, 1.6, 2, 2.4, 2.8, 3.2, 3.6, 4, 4.4, 4.8) und die zugehörigen MEP in mV.

3.5.1.2 Experiment 2 (Stimulation vom iM1 und iPPC)

Das zweite Experiment beinhaltete 4 Messungen, die sich in der Stimulationsintensität vom iPPC unterschieden (zweimal 70% und zweimal 90% der Ruheschwelle vom iM1). Die statistischen Methoden sind identisch mit dem Experiment 1.

3.5.1.3 Experiment 3 (kontralaterale Stimulation)

Das dritte Experiment bestand aus zwei Telexperimenten. Es wurde eine separate Statistik für jedes Telexperiment berechnet. Jedes Telexperiment beinhaltete 2 Messungen, die sich in der Stimulationsintensität für den iPPC unterschieden, welche jeweils einmal 70% und einmal 90% der Ruheschwelle vom iM1 betrug.

Die Statistik des dritten Experiments unterscheidet sich von den ersten beiden Experimenten, da hierbei zusätzlich zu der ipsilateralen Kortextstimulation eine kontralaterale Kortextstimulation hinzukam und die ISI sich von den anderen Experimenten unterschieden. Als Faktoren galten die Stimulationsseite (ipsilateral, kontralateral) und die verschiedenen ISI in ms (0.8, 1.2, 2, Testpuls) mit den zugehörigen MEP in mV.

3.5.2 Statistische Auswertung der MRT-Daten

Die DTI-Sequenzen der Probanden wurden, wie in dem Punkt 3.4.2 bereits erläutert, vorverarbeitet. Anschließend wurde die TMS-Daten, wie in dem Punkt 3.4.3 beschrieben, mit den FA-Werten korrelativ in Verbindung gesetzt. Wir verwendeten eine einfache lineare Regressionsanalyse, um die Effekt-spezifische PPC-M1 Fazilitierung der stimulierten linken Hemisphäre darzustellen und suchten eine positive Korrelation in dem uns interessierenden Bereich (volume of interest) der juxtakortikalen Areale in der Nähe von BA 4a, 4b, 5, 6 und 7. Die Maske wurde von einem probabilistischen Atlas ohne eine vorangegangene Schwellenfestlegung generiert (Mazziotta et al., 1995).

Die Cluster-basierte Grenzwertfestlegung ist die am häufigsten angewandte Methode in der Auswertung der strukturellen Datensätze bei der T1- und diffusionsgewichteten Bildgebung (Hayasaka and Nichols, 2003). Eine Einschränkung ist jedoch die Notwendigkeit der initialen Festlegung eines willkürlichen Cluster-Grenzwertes, welcher einen hohen Einfluss auf die Ergebnisse ausübt.

Eine neue Methode mit gleicher Sensitivität, aber mit dem Vorteil des Verzichtes auf eine Grenzwertfestlegung ist das Threshold-Free Cluster Enhancement (TFCE) (Smith and Nichols, 2009). Nachdem wir den uns interessierenden Bereich definiert und eine positive Korrelation vorhergesagt hatten, schätzten wir die statistische Signifikanz der Effekte mit Hilfe von TFCE (Smith and Nichols, 2009).

4 Ergebnisse

Die TMS-Experimente wurden von allen Probanden gut toleriert und konnten unterbrechungsfrei und komplikationslos durchgeführt werden.

4.1 Ergebnisse Experiment 1 (Stimulation vom iM1 und iPMv)

Experiment 1 bestand aus zwei Telexperimenten, die sich in den verwendeten Spulen für die iM1-Stimulation unterschieden.

Im Experiment 1.1 betrug der Mittelwert der Ruheschwelle vom iM1 64.8 +/- 11.9 % und der Mittelwert für die iM1-Stimulation 71.8 +/- 7.9 % der maximalen Stimulationsintensität. Die Varianzanalyse zeigte keinen Effekt der ISI [$F(11, 154)=0.99$, $p=0.46$] bei einer Intensität des zweiten Stimulationsreizes (S2) von 70% der Ruheschwelle und dementsprechend konnte keine signifikante Modulation vom iM1 dargestellt werden (siehe Abb. 8). Im selben Experiment zeigte sich die Varianzanalyse bei einer S2-Intensität von 90% der Ruheschwelle vom iM1 signifikant für die Haupteffekte vom ISI [$F(11,154)=2.59$, $p<0.05$] (siehe Abb. 9). Die

Post-Hoc-Tests zeigten ein signifikantes Ansteigen der mittleren MEP-Amplitude bei den ISI 0.8 ms (0.87 +/- 0.62 mV) im Vergleich zum Testpuls allein (0.75 +/- 0.57 mV, $p < 0.05$).

Im Experiment 1.2 betrug der Mittelwert der Ruheschwelle vom iM1 50.5 +/- 7.7 % und der Mittelwert für die iM1-Simulation 59.1 +/- 9 % der maximalen Stimulationsintensität. Die Varianzanalyse zeigte keinen Effekt der ISI [$F(11, 143) = 0.82$, $p = 0.62$] bei einer S2-Intensität von 70% der Ruheschwelle und dementsprechend konnte keine signifikante Modulation vom iM1 dargestellt werden (siehe Abb. 10). Bei einer S2-Intensität von 90% der Ruheschwelle zeigte die Varianzanalyse keinen Effekt der ISI [$F(11, 143) = 0.66$, $p = 0.77$] (siehe Abb.11). In der Tat zeigte sich in der Korrelation von der Stimulation vom iPMv und iM1 mit der runden Spule (MAG & MORE) keine signifikante Modulation von M1.

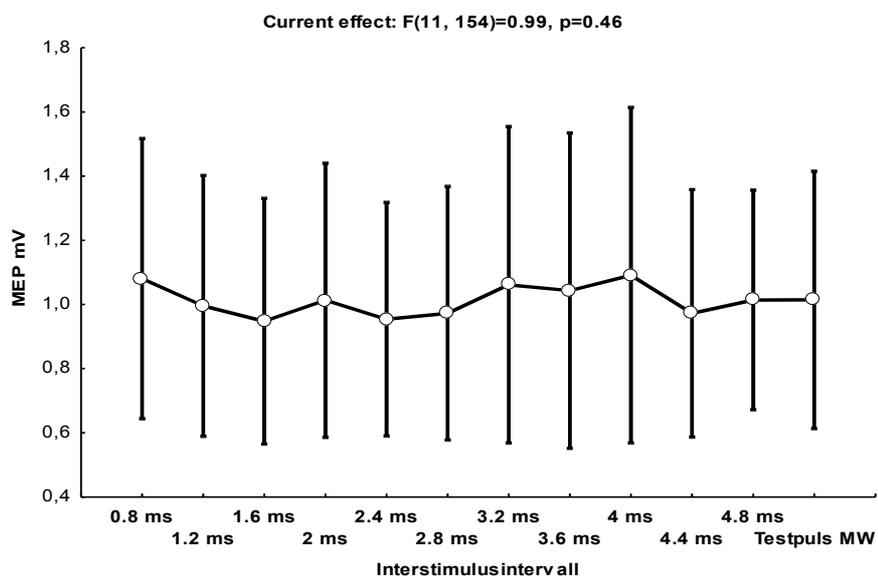


Abb. 8: Ergebnisse Experiment 1.1, Stimulation vom iM1 und iPMv mit der Achterspule (MAG & MORE), SI vom iPMv (S2) 70% der RMT vom iM1.

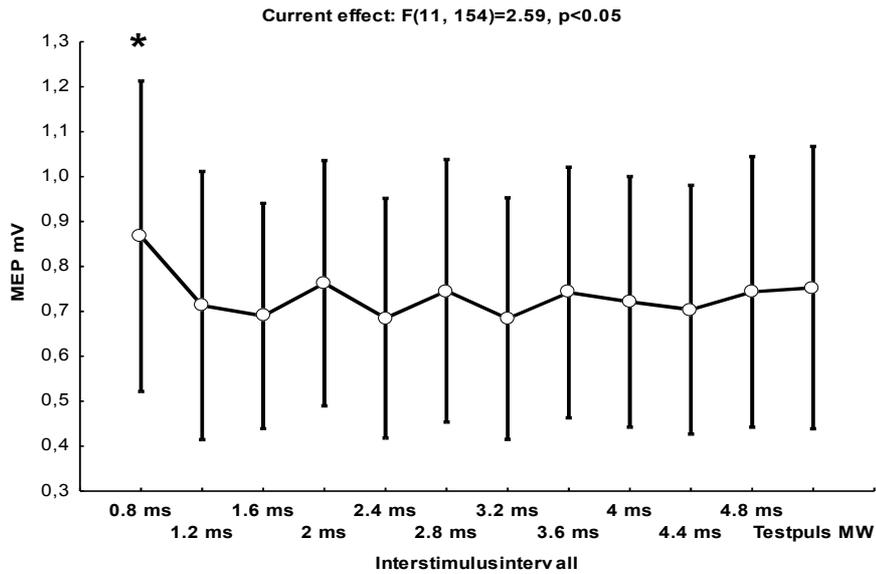


Abb. 9: Ergebnisse Experiment 1.1, Stimulation vom iM1 und iPMv mit der Achterspule (MAG & MORE), SI vom iPMv (S2) 90% der RMT vom iM1. Signifikante MEP-Fazilitierung bei einem ISI von 0.8 ms.

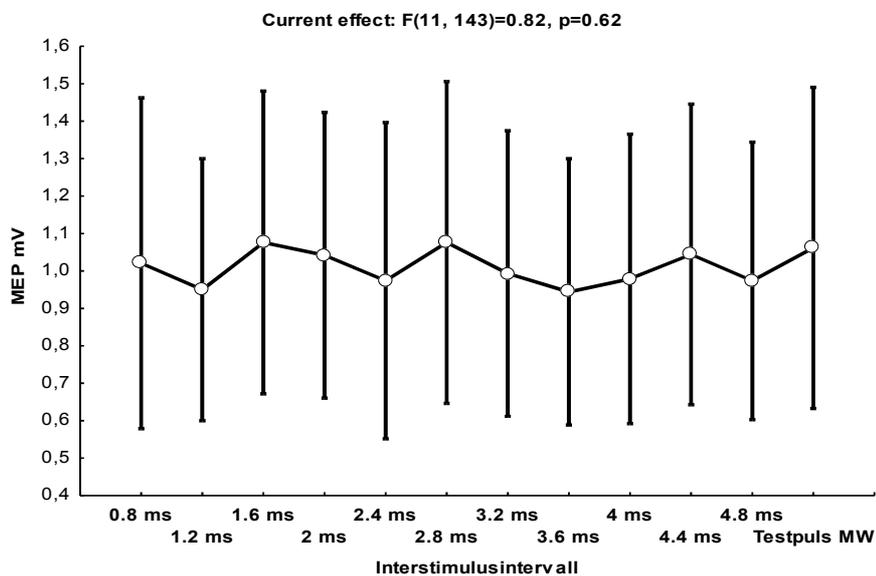


Abb. 10: Ergebnisse Experiment 1.2, Stimulation vom iM1 und iPMv mit der runden Spule (MAG & MORE), SI vom iPMv (S2) 70% der RMT vom iM1.

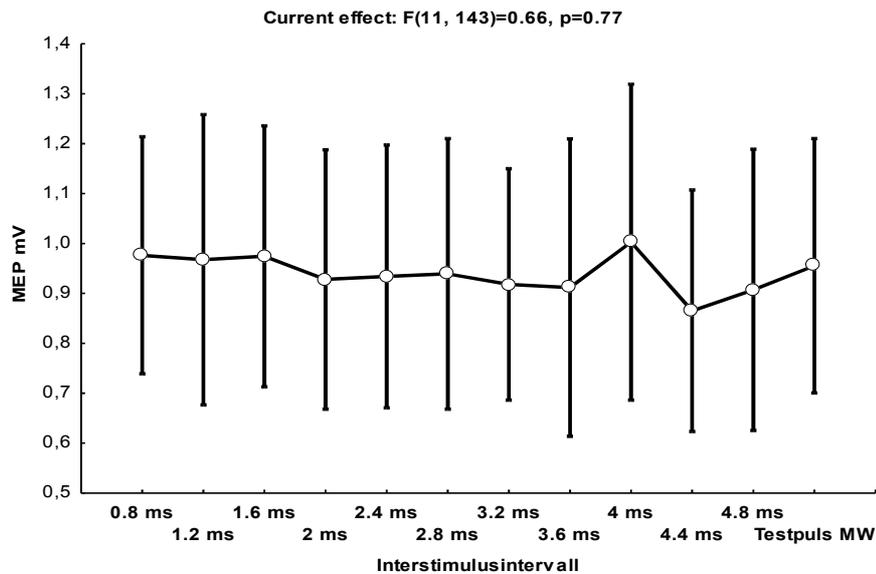


Abb. 11: Ergebnisse Experiment 1.2, Stimulation vom iM1 und iPMv mit der runden Spule (MAG & MORE), SI vom iPMv (S2) 90% der RMT vom iM1.

4.2 Ergebnisse Experiment 2 (Stimulation vom iM1 und iPPC)

Im Experiment 2 betrug der Mittelwert der Ruheschwelle vom iM1 $60.2 \pm 8.7\%$ und der Mittelwert für die iM1-Stimulation $70.5 \pm 8.5\%$ der maximalen Stimulationsintensität.

Bei einer S2-Intensität von 70% der Ruheschwelle zeigte die Varianzanalyse keinen Effekt der ISI [$F(11,132)=1.6, p>0.1$] und dementsprechend konnte keine signifikante Modulation vom iM1 bewiesen werden (siehe Abb. 12).

Die Varianzanalyse bei einer S2-Intensität von 90% der Ruheschwelle vom iM1 zeigte sich signifikant für die Haupteffekte vom ISI [$F(11, 132)=1.98, p<0.05$] (siehe Abb. 13). Die Post-Hoc-Tests zeigten ein signifikantes Ansteigen der mittleren MEP-Amplitude bei den ISI 1.2 (0.92 ± 0.4 mV), 2.4 (0.94 ± 0.54 mV) und 4.8 ms (0.93 ± 0.5 mV) im Vergleich zum Testpuls allein (0.77 ± 0.4 mV) oder konditionierten MEP bei 0.8 ms (0.74 ± 0.34 mV, $p<0.05$).

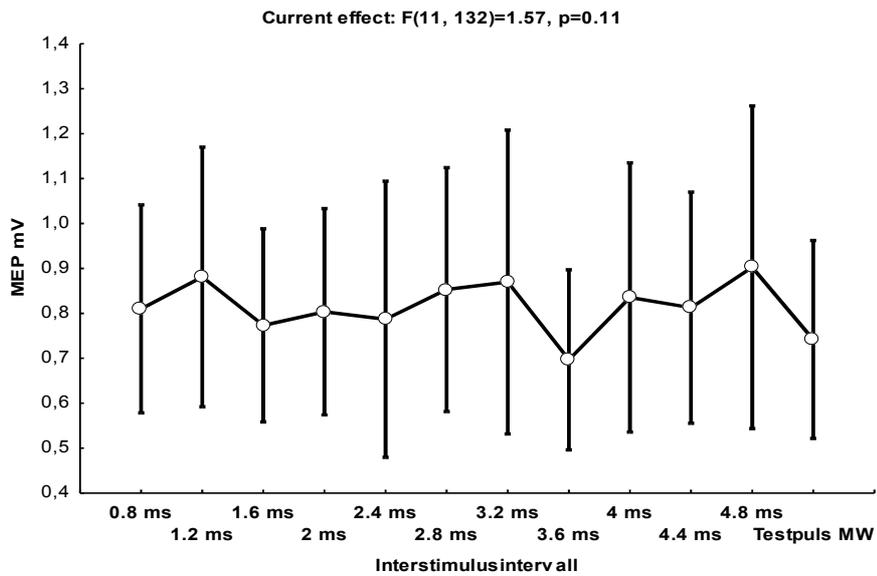


Abb. 12: Ergebnisse Experiment 2, Stimulation vom iM1 und iPPC, SI vom iPPC (S2) 70% der RMT vom iM1.

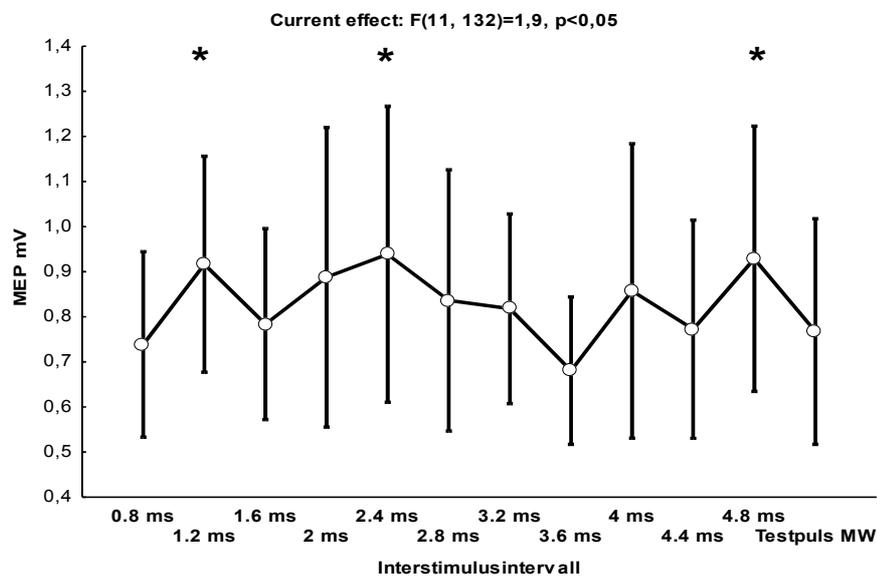


Abb. 13: Ergebnisse Experiment 2, Stimulation vom iM1 und iPPC. SI vom iPPC (S2) 90% der RMT vom iM1. Signifikante MEP-Fazilitierung bei den ISI 1.2, 2.4 und 4.8 ms.

4.3 Ergebnisse Experiment 3 (kontralaterale Stimulation)

Das dritte Experiment bestand aus zwei Teilerperimenten, wobei zusätzlich zu der Stimulation vom iM1 und iPPC eine Stimulation vom kM1 (Experiment 3.1) und kPPC (Experiment 3.2) erfolgte.

Im Experiment 3.1 betrug der Mittelwert der Ruheschwelle vom iM1 57.6 +/- 7% und der Mittelwert für die iM1-Stimulation 67.5 +/- 8.1 % der maximalen Stimulationsintensität.

Die Varianzanalyse zeigte sich bei einer S2-Intensität von 70% der Ruheschwelle vom iM1, signifikant für die Haupteffekte vom ISI [$F(3, 21)=3.68, p<0.05$] (siehe Abb. 15-16). Die Post-Hoc-Tests zeigten ein signifikantes Ansteigen der mittleren MEP-Amplitude bei den ISI 1.2 ms (0.93 +/- 0.5 mV) im Vergleich zum Testpuls allein (0.81 +/- 0.6 mV, $p<0.05$). Wenn vor dem konditionierten Puls eine Stimulation von kM1 erfolgte, wurde die Fazilitierung bei 1.2 ms aufgehoben (0.6 +/- 0.5 mV). Bei einer S2-Intensität von 90% der Ruheschwelle zeigte die Varianzanalyse keinen Effekt der ISI [$F(3, 21)=2.28, p=0.11$] (siehe Abb. 17 und Abb.19). Ein Ansteigen der MEP-Amplitude in dem ISI von 1.2 ms (0.83 +/- 0.5 mV) wurde aufgehoben, wenn zuvor eine Stimulation vom kM1 erfolgte (0.43 +/- 0.22 mV).

Im Experiment 3.2 betrug der Mittelwert der Ruheschwelle vom iM1 61 +/- 7 % und der Mittelwert für die iM1-Stimulation 69 +/- 9.3 % der maximalen Stimulationsintensität. Bei diesem Experiment konnten wir keine signifikante Modulation der M1-MEPs durch den kPPC feststellen.

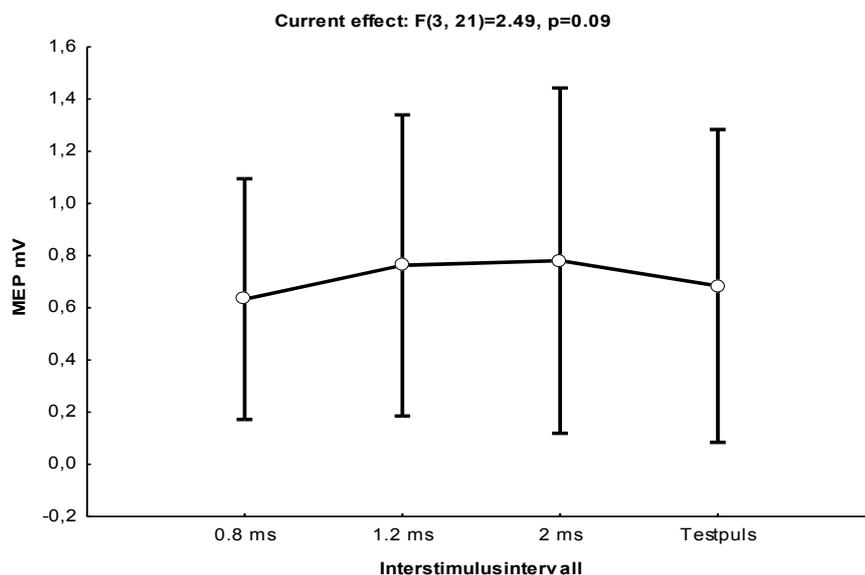


Abb. 14: Ergebnisse Experiment 3.1, Stimulation vom iM1, iPPC und kM1, SI vom iPPC 70% der RMT vom iM1, SI vom kM1 110% der RMT vom kM1. Aufgeführt sind die MEPs beider Seiten während der jeweiligen ISI.

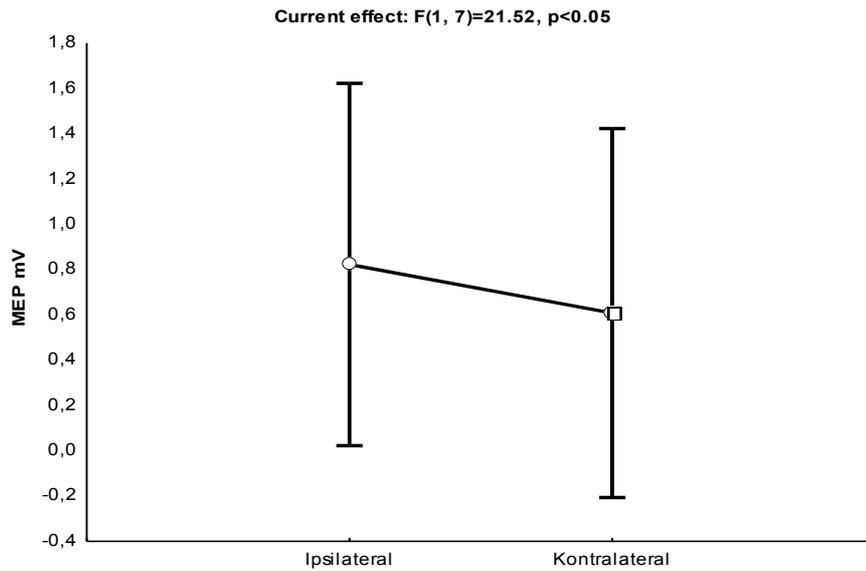


Abb. 15: Ergebnisse Experiment 3.1, Stimulation vom iM1, iPPC und kM1, SI vom iPPC 70% der RMT vom iM1, SI vom kM1 110% der RMT vom kM1. Aufgeführt sind die MEPs aller ISI der jeweiligen Seite der Kortexstimulation.

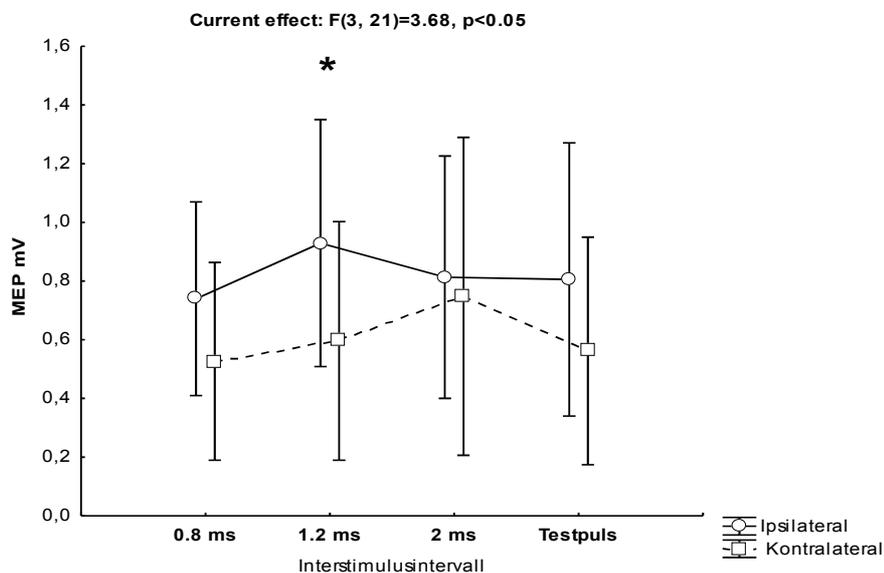


Abb. 16: Ergebnisse Experiment 3.1, Stimulation vom iM1, iPPC und kM1, SI vom iPPC 70% der RMT vom iM1, SI vom kM1 110% der RMT vom kM1. Aufgeführt sind sie MEPs während der jeweiligen ISI für die ipsilaterale und kontralaterale Kortexstimulation. Signifikante MEP-Fazilitierung bei dem ISI 1.2 ms.

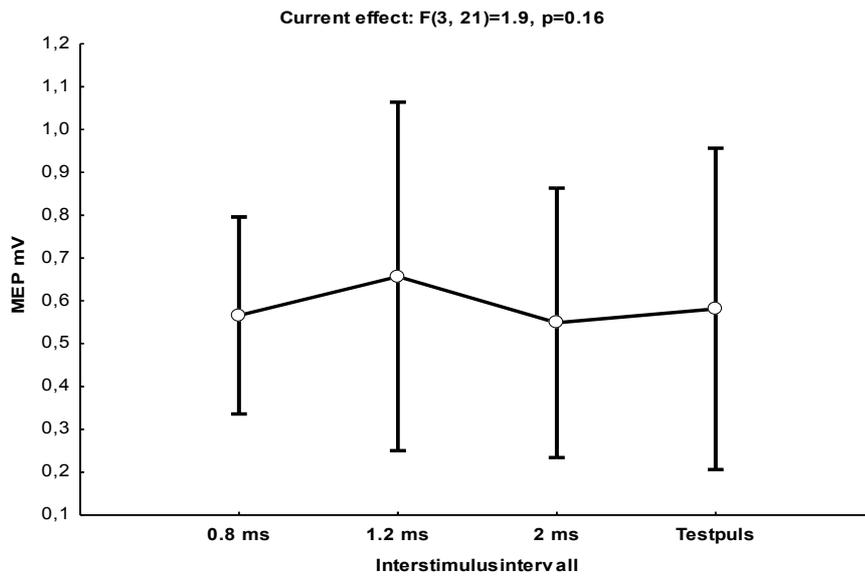


Abb. 17: Ergebnisse Experiment 3.1, Stimulation vom iM1, iPPC und kM1, SI vom iPPC 90% der RMT vom iM1, SI vom kM1 110% der RMT vom kM1. Aufgeführt sind die MEPs beider Seiten während der jeweiligen ISI.

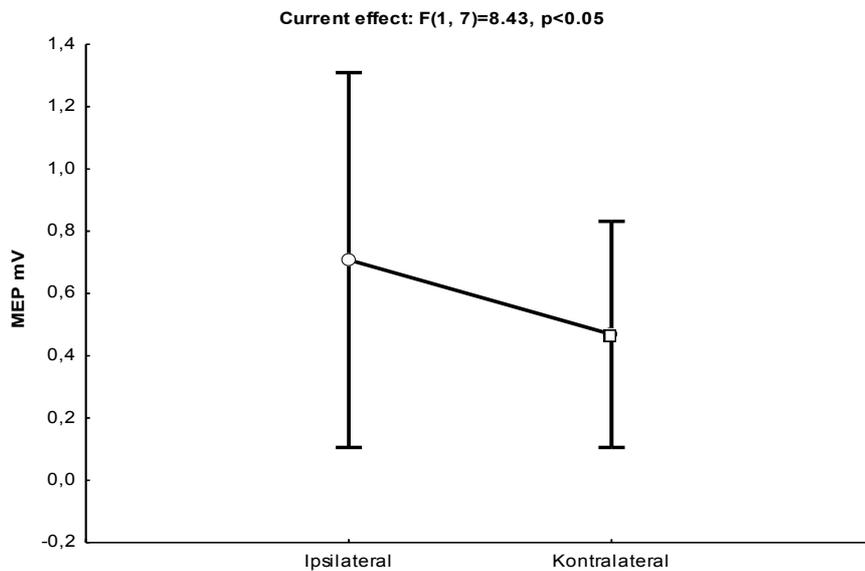


Abb. 18: Ergebnisse Experiment 3.1, Stimulation vom iM1, iPPC und kM1, SI vom iPPC 90% der RMT vom iM1, SI vom kM1 110% der RMT vom kM1. Aufgeführt sind die MEPs aller ISI der jeweiligen Seite der Kortextstimulation.

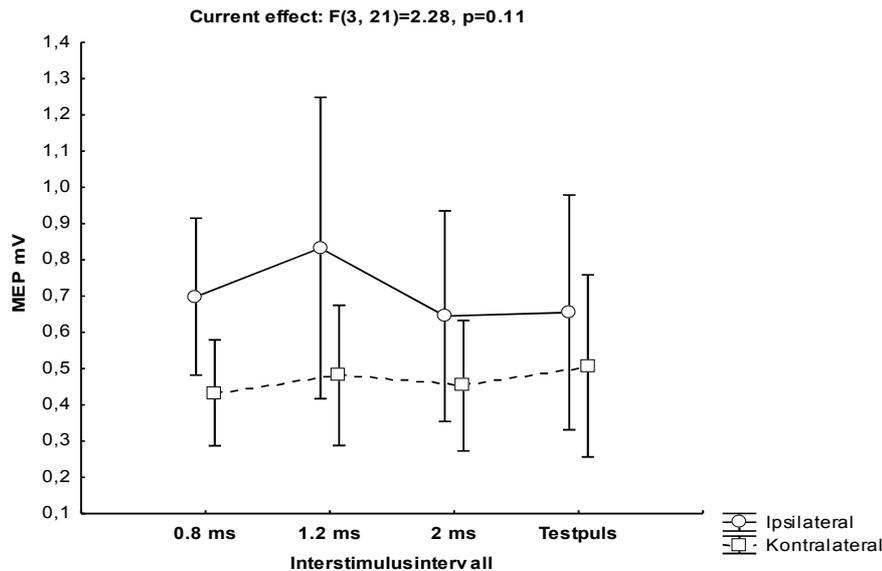


Abb. 19: Ergebnisse Experiment 3.1, Stimulation vom iM1, iPPC und kM1, SI vom iPPC 90% der RMT vom iM1, SI vom kM1 110% der RMT vom iM1. Aufgeführt sind sie MEPs während der jeweiligen ISI für die ipsilaterale und kontralaterale Cortexstimulation. Deskriptiv ist ein Ansteigen der MEP-Amplitude bei dem ISI von 1.2 ms mit einem MEP von 0.83 mV bei der ipsilateralen Stimulation im Vergleich zu einem MEP von 0.43 mV bei einer kontralateralen Stimulation zu sehen.

4.4 Ergebnisse der diffusionsgewichteten Bildgebung

Die lineare Korrelation zwischen dem regionalen FA-Wert und der MEP-Fazilitierung bei einer PPC Stimulationsintensität von 90% im Vergleich von 70% war Signifikant mit einem Maximum mit den MNI-Koordinaten $x, y, z = -18, -22, 63$ ($r = 0.41, t_{max} = 4.56, p < 0.005$) für den ISI 1.2 ms (siehe Abb. 20) und $x, y, z = -47, -18, 36$ ($r = 0.76, t_{max} = 4.86, p < 0.005$) und $x, y, z = -13, -21, 61$ ($r = 0.74, t_{max} = 4.00, p < 0.005$) für den ISI 2.4 ms (siehe Abb. 21). Diese Analyse war in dem ISI 4.8 ms nicht signifikant.

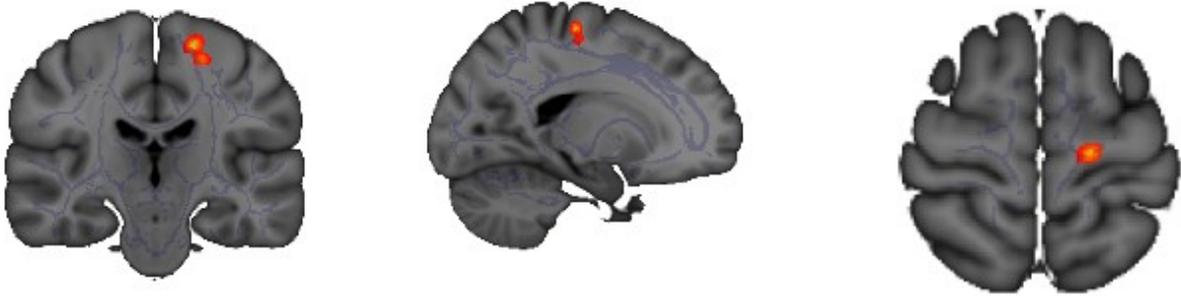


Abb. 20: Beziehung zwischen der Mikrostruktur der weißen Substanz und der Konnektivität zwischen dem linken iPPC und iM1. Cluster in der subkortikal gelegenen weißen Substanz unter dem linken M1 zeigen eine signifikant positive lineare Korrelation zwischen der FA und der MEP-Fazilitierung bei einem ISI von 1.2 ms. Das Maximum hatte die MNI-Koordinaten $x, y, z = -18, -22, 63$.

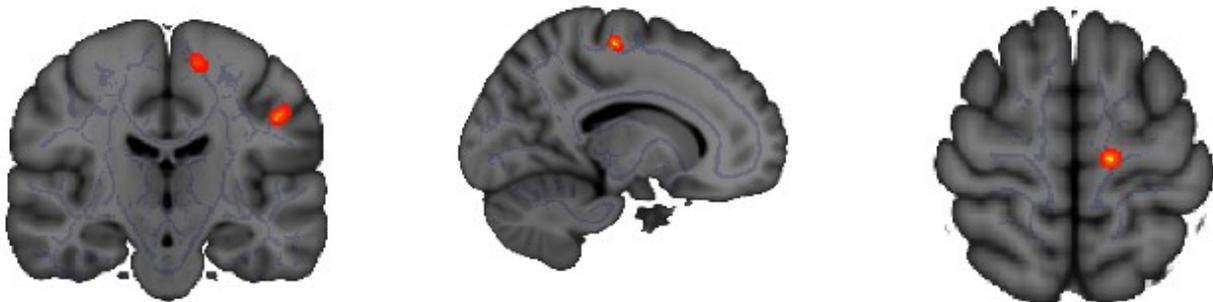


Abb. 21: Beziehung zwischen der Mikrostruktur der weißen Substanz und der Konnektivität zwischen dem linken iPPC und iM1. Cluster in der subkortikal gelegenen weißen Substanz unter dem linken M1 aber auch PPC zeigen eine signifikant positive lineare Korrelation zwischen der FA und der MEP-Fazilitierung bei einem ISI von 2.4 ms. Das Maximum hatte die MNI-Koordinaten $x, y, z = -47, -18, 36$ und $x, y, z = -13, -21, 61$.

5 Diskussion

Für diese Arbeit wurde die Konnektivität im motorischen System mit Hilfe von zwei verschiedenen Methoden untersucht. Die hierfür angewandten Methoden waren zum einen die TMS und zum anderen die diffusionsgewichtete Bildgebung. Dabei wurden die TMS-Daten mit den bildgebenden Daten der DTI korrelativ in Verbindung gesetzt. Auf diese Weise konnten wir eine Abhängigkeit zwischen der funktionellen Konnektivität, gemessen mit der TMS, und der Integrität der weißen Substanz, dargestellt mit der DTI, herstellen.

Von besonderer Bedeutung waren für die Studie die Frage, welchen Einfluss der ipsilaterale ventrale Prämotorikortex sowie der ipsi- aber auch kontralaterale posteriore Parietalkortex auf den primär motorischen Kortex haben könnten, sowie die zeitliche Abfolge dieser Effekte.

5.1 Diskussion Experiment 1 (Stimulation vom iM1 und iPMv)

Im ersten Versuch wurde die ipsilaterale kortikokortikale Verbindung zwischen dem linken iPMv und iM1 untersucht. PMv befindet sich rostral des Gyrus praecentralis, im lateralen Teil der Area 6 nach Brodmann (Dum and Strick, 2002).

Bisher haben Studien durch Verwendung von histologischen Markern und Mikrostimulation eine direkte Verbindung zwischen dem iPMv und iM1 in Primaten darstellen können (Matelli et al., 1984, Dum and Strick, 2002). Durch ähnliche Experimente konnten aber kaum direkte kortikospinale Projektionen von PMv zum zervikalen Rückenmark gezeigt werden (Dum and Strick, 1991, Luppino et al., 1999, Tanne-Gariepy et al., 2002, Dum and Strick, 2005). Hierdurch kam es zu der Annahme, dass der iPMv durch seine kortikokortikale Verbindung mit dem iM1 die Motorik beeinflusst (Cerri et al., 2003, Shimazu et al., 2004). Dies konnte anhand von Experimenten an Primaten bestätigt werden, bei denen die elektrische Stimulation von F5, zu einer Fazilitierung von absteigenden kortikospinalen Salven führte (Shimazu et al., 2004).

Über die funktionelle Konnektivität der prämotorischen Areale bei Menschen ist noch wenig bekannt. In Doppel-Puls-Protokollen sind Interaktionen zwischen verschiedenen Kortexarealen untersucht wurden (Civardi et al., 2001, Baumer et al., 2006, Koch et al., 2006, Koch et al., 2007a, Baumer et al., 2009). Mit 2 kleinen Achterspulen erfolgte eine TMS-Stimulation 5 cm anterior von iM1 und führte zu einer Unterdrückung der iM1-Erregbarkeit, wenn ein unterschwelliger konditionierter Reiz 6 ms vor einem Teststimulus appliziert wurde (Civardi et al., 2001). Dieser inhibitorische Effekt ging allmählich in eine Fazilitierung über, wenn die Intensität des konditionierten Stimulus schrittweise von 90% auf 120% der Ruheschwelle vom iM1 erhöht wurde (Civardi et al., 2001). Die Fazilitierung der M1-MEPs wurde durch einen zusätzlichen unterschwelligen konditionierten Stimulus unterdrückt, wenn

dieser 5 ms vor dem überschwelligen konditionierten Stimulus über PMd appliziert wurde (Koch et al., 2007b).

Bisher war es aufgrund der relativ großen Spulen technisch herausfordernd gewesen, zeitgleich eine ipsilaterale Stimulation von iM1 und einem prämotorischen Areal (PMv/PMd) durchzuführen. Erst kürzlich gelang es unserer Arbeitsgruppe, mit zwei extra für die Fragestellung entwickelten kleinen und fokalen Spulen (MAG & MORE) eine Magnetstimulation des iM1 und iPMd durchzuführen (Groppa et al., 2012). Dabei erfolgte die erste überschwellige Stimulation über dem iM1 und die zweite unterschwellige Stimulation über dem iPMd 2 bis 5,2 ms später. In dieser Studie kam es während der ISI 2.4, 2.8 und 4.4 ms zu einer Fazilitierung vom iM1 durch PMd-inputs, was auf das Vorhandensein von ipsilateralen PMd-M1-Bahnen mit einer kurzen Latenzzeit hindeutet (Groppa et al., 2012).

In unserer aktuellen Studie untersuchten wir die kortikokortikale Verbindung vom iM1 und iPMv auf eine nicht-invasive Art. Es wurden für die iM1-Stimulation zwei verschiedene Spulen verwendet (runde und Achterspule von MAG & MORE), iPMv wurde mit der kleinen Spule (MAG & MORE) stimuliert. Im Experiment 1.1 zeigte sich bei einer S2-Intensität von 90% der Ruheschwelle vom iM1 ein signifikantes Ansteigen der mittleren MEP-Amplitude bei dem ISI 0.8 ms im Vergleich zum Testpuls allein (siehe Abb. 9). Im Experiment 1.2 konnten wir keine signifikante Modulation der iM1-MEPs durch den PMv Puls feststellen, wenn der iM1 mit der runden Spule (MAG & MORE) untersucht wurde (siehe Abb. 10-11).

Die zeitliche Abfolge des ersten Experiments ist vergleichbar mit der bereits zitierten Studie aus unserer Arbeitsgruppe (Groppa et al., 2012). Auch bei unserem Experiment applizierten wir zuerst den überschwelligen Teststimulus über iM1 und danach den unterschwelligen konditionierten Stimulus über dem prämotorischen Areal, welches in dieser Studie der iPMv war. Die beiden Studien unterscheiden sich jedoch unter anderem in den verwendeten Spulen. Aufgrund der sehr nah beieinander liegenden Lokalisation ist es uns nicht gelungen beide Areale (iPMv und iM1) mit zwei kleinen Spulen (MAG & MORE) zu stimulieren. Deshalb mussten wir für die M1-Stimulation auf größere Spulen (Achterspule und runde Spule von MAG & MORE) zurückgreifen, die eine Stimulation vom iM1 und iPMv mit zwei Spulen möglich machten. Es ist anzunehmen, dass die im ersten Experiment für die iM1-Stimulation verwendeten Spulen zu groß und wenig fokal waren und somit nicht nur das M1-Areal, sondern auch die in der Umgebung lokalisierten prämotorischen Areale, die mit dem iM1 verbunden sind, stimulierten. Somit konnte keine fokale iM1-Stimulation stattfinden und es entstand ein Mischbild aus erregenden und hemmenden Einflüssen auf die Pyramidenzellen vom iM1. Durch eine intrakortikale elektrische Stimulation, wie sie an Primaten durchgeführt wurde, wäre eine topographisch fokussierte Stimulation der benachbarten Kortexarealen möglich (Cerri et al., 2003, Shimazu et al., 2004). Diese Methode ist aber bei Menschen wegen der Schmerzhaftigkeit und der Invasivität nicht

anwendbar.

Je nach Ausrichtung der Spule über M1 und der daraus resultierenden Stromflussrichtung im Kortex werden im kortikospinalen Trakt Salven mit unterschiedlicher Zusammensetzung erzeugt. Ein postero-anterior gerichteter Stromfluss in M1 erzeugt im wesentlichen I-Wellen, während ein latero-medial gerichteter Stromfluss sowohl I-Wellen als auch eine D-Welle hervorrufen kann (Di Lazzaro et al., 1998). D-Wellen lassen sich nicht durch kortiko-kortikale Verbindungen beeinflussen.

Aufgrund der sehr engen Nachbarschaft von M1 und PMv konnten wir die M1-Spule nur in latero-medialer Ausrichtung positionieren (siehe Abb. 4). Dies könnte durch die Generierung von D-Wellen die Beeinflussbarkeit durch Stimuli über PMv eingeschränkt haben.

Bäumer untersuchte in einer Studie ebenfalls den linken iPMv und iM1 mit der bifokalen TMS (Baumer et al., 2009), wobei hierbei jedoch zuerst der konditionierte Puls über dem iPMv und dann der Testpuls in einem ISI von 2, 4, 6, 8 oder 10 ms über iM1 appliziert wurde. Der konditionierte Puls führte bei einer Intensität von 80% der aktiven motorischen Schwelle zu einer Fazilitierung der iM1-MEPs in den ISI 4 und 6 ms und zu einer Inhibition, wenn die Intensität 90% der aktiven motorischen Schwelle betrug. Dies lieferte den Beweis, dass die kortikospinale Erregung durch einen konditionierten Puls über den iPMv fazilitiert und inhibiert werden können. Außerdem zeigte diese Studie, dass der iPMv und iPMd durch unterschiedliche Interneuronverschaltungen mit dem iM1 verbunden sein müssen, da bei der Stimulation vom iPMd und iM1 unter den gleichen Bedingungen andere Ergebnisse entstanden.

Wir haben in unserer Studie den konditionierten Stimulus über dem iPMv nach dem Teststimulus über dem iM1 appliziert, da nach unserer Hypothese iPMv und iM1 durch Bahnen mit einer kurzen Latenzzeit verbunden sind und wir eine Fazilitierung erwarteten, selbst wenn der konditionierte Stimulus kurz nach dem Teststimulus appliziert wird, so wie wir es bei dem iPMd bereits gezeigt wurde (Groppa et al., 2012). Im Experiment 1.1 beobachteten wir eine signifikante Fazilitierung bei einem ISI von 0.8 ms, wenn die S2-Intensität 90% der Ruheschwelle vom iM1 betrug. Man kann vermuten, dass diese sehr frühe Fazilitierung durch die Aktivierung von sogenannten U-Fasern zustande kommt. Diese Verbindungen sind Assoziationsfasern, die eng benachbarte Kortexareale miteinander verbinden und eine kurze Latenzzeit haben. Dies würde erklären, warum die Fazilitierung bereits nach 0.8 ms auftritt, bei 1.2 und 2.4 ms jedoch fehlt.

Für die weitere Erforschung der ipsilateralen Verbindung zwischen M1 und PMv könnte in zukünftigen Studien die Verwendung von kleinen fokalen Spulen für die Stimulation vom iM1 versucht werden. Die Lokalisationssuche vom iPMv erfolgte in unserer Studie mit der Neuronavigation. Für eine präzisere Lokalisationssuche könnten die fMRT- oder PET-Aktivierungsdaten in Erwägung gezogen werden. Weiterhin könnte man alternative Verfahren

wie die o.g. transkranielle elektrische Kortexstimulation (TES) erwägen, welche jedoch durch die Aktivierung peripherer Schmerzrezeptoren sehr unangenehm sein kann. Die TMS spielt als nicht-invasive und schmerzfreie Methode eine wichtige Rolle in der klinisch-experimentellen Hirnforschung, und mit Hilfe der neu entwickelten kleinen Spulen wird die fokale Stimulation von einzelnen benachbarten Hirnarealen ermöglicht.

Da wir mit unserem Experiment nur die funktionelle Konnektivität zwischen dem iM1 und iPMv mit einer sehr kurzen Latenz darstellen konnten und die Ergebnisse eher für die Stimulation von sogenannten U-Fasern sprechen, war eine Untersuchung der strukturellen Konnektivität in unseren Augen methodisch nicht sinnvoll. In Zukunft könnte man versuchen diese Merkmale durch eine probabilistische Traktographie oder durch die Anwendung anderer Sequenzen oder Berechnungstechniken darzustellen.

5.2 Diskussion Experiment 2 (Stimulation vom iM1 und iPPC)

Im zweiten Experiment untersuchten wir die ipsilaterale Konnektivität vom linken PPC und M1. Der PPC befindet sich dorsal des Gyrus postcentralis und setzt sich aus dem superioren parietalen Lobulus (SPL) und dem inferioren parietalen Lobulus (IPL) zusammen, die durch den Sulcus intraparietalis voneinander getrennt sind. PPC entspricht den Areae 5 und 7 nach Brodmann und spielt unter anderem eine Rolle für die Interpretation der in der primären somatosensorischen Rinde wahrgenommenen Reize. Wie in der Einleitung bereits erwähnt, konnte bei gezielten Greifbewegungen eine gemeinsame Aktivierung des iPMv und eines Areals im iPPC (höchstwahrscheinlich ein Analogon des Areals AIP des Affen) festgestellt werden (Binkofski et al., 1999), was zu der Annahme führte, dass diese Areale einen Aktionskreis für die Koordination von Fingerbewegungen bilden.

Im zweiten Experiment fokussierten wir unseren Einsatz auf die ipsilaterale kortikokortikale Verbindung zwischen dem linken iPPC und iM1. In diesem Experiment ging es um die funktionelle und strukturelle Charakterisierung der Konnektivität vom iM1 und iPPC.

5.2.1 Funktionelle Konnektivität

Mit Hilfe der TMS wurden der iPPC und iM1 auf ihre funktionelle Konnektivität untersucht. Beide Areale wurden bei 13 gesunden Probanden mit der kleinen Spule (MAG & MORE) stimuliert. Es erfolgte eine Stimulation vom iM1, gefolgt von einer Stimulation vom iPPC, mit einem ISI von 0.8 bis 4.8 ms in Schritten von 0.4 ms. Dabei zeigte sich eine signifikante MEP-Fazilitierung während der ISI von 1.2, 2.4 und 4.8 ms, wenn die S2-Intensität vom iPPC 90% der Ruheschwelle vom iM1 betrug. Dieser Effekt zeigte sich bei einer S2-Intensität von 70% der Ruheschwelle vom iM1 nicht signifikant.

Die bifokale TMS offenbarte eine ISI- und S2-Intensität abhängige Modulation der MEP-Fazilitierung, möglicherweise durch eine gezielte Aktivierung der iPPC-iM1 Bahn. Unsere Ergebnisse weisen darauf hin, dass der iPPC durch schnellleitende Bahnen mit einer kurzen Latenzzeit mit dem iM1 verbunden ist. Wegen der kurzen Latenz nehmen wir an, dass die Verbindung monosynaptisch erfolgen muss und auf kortikaler und nicht etwa auf subkortikaler oder spinaler Ebene stattfindet. Weiterhin liefert die zeitliche Abfolge der Effekte Hinweise dafür, dass die Verbindung vom iPPC zum iM1 zu der Generierung von I-Wellen beitragen könnte.

I-Wellen können indirekt durch die Doppelpuls-TMS als nicht-invasive Methode über dem intakten M1 generiert werden (Tokimura et al., 1996, Ziemann et al., 1998). Ziemann et al. untersuchten den motorischen Kortex mit der Doppel-Puls-TMS, also mit zwei zeitlich nah aufeinander folgenden Pulsen, die durch die selbe Spule appliziert wurden. Dabei folgt einem überschwelligen Stimulus ein unterschwelliger Stimulus und führt zu einer zeitlich spezifischen MEP-Fazilitierung, welche wohl durch die I-Wellen-Interaktion zustande kommt. Die MEP Peaks zeigten sich bei den ISI von 1.1-1.5, 2.3-2.9 und 4.1-4.4 ms (Ziemann et al., 1998). Die ISI, bei denen die Fazilitierung beobachtet werden konnte, stimmen also mit unseren Ergebnissen aus dem zweiten Experiment überein. Wir verwendeten jedoch zwei Spulen und applizierten zuerst den überschwelligen Stimulus über dem iM1 und den unterschwelligen Stimulus über dem iPPC.

Unsere Ergebnisse weisen auf eine Interaktion zwischen dem PPC und M1 hin, die ebenfalls bei der Generierung von I-Wellen eine Rolle spielen könnte. Eine direkte Registrierung der I-Wellen wäre durch invasive Aufnahmen der induzierten deszendierenden Erregungswellen im kortikospinalen Trakt im Bereich des Rückenmarks möglich (Di Lazzaro et al., 2010). Diese Aufnahmen sind jedoch invasiv, technisch komplex und bei gesunden Probanden ethisch nicht vertretbar. Somit stellt die dargestellte Methode ein Alternativverfahren zur indirekten Charakterisierung der I-Wellen und der beteiligten Netzwerke im intakten Gehirn dar.

Beim zweiten Experiment konnte sowohl für die Stimulation vom iPPC als auch für die iM1-Stimulation die kleine Spule (MAG & MORE) verwendet werden, da die zu stimulierenden Areale topographisch distinkt und genug entfernt voneinander waren, so dass die Spulen sich nicht überlagerten. Weiterhin ist es anzunehmen, dass der iM1 mit der kleinen Spule (MAG & MORE) fokaler stimuliert werden konnte als mit der runden (MAG & MORE) oder der Achterspule (MAG & MORE) (Experiment 1) und es zu keiner Interaktion von erregenden und hemmenden Effekte kam.

5.2.2 Strukturelle Konnektivität

Wie bereits erwähnt, untersuchten wir die Konnektivität zwischen dem iM1 und iPPC nicht nur funktionell, sondern auch strukturell mit Hilfe der diffusionsgewichteten Bildgebung. Nach der Vorverarbeitung der MRT-Aufnahmen wurden die TMS-Daten mit den FA-Werten korrelativ in Verbindung gesetzt.

Für die statistische Untersuchung der diffusionsgewichteten Daten haben wir eine Maske verwendet, welche die uns interessierenden Bereiche, in denen wir eine Interaktion erwarteten, beinhaltete. Mit der Maske konnten wir das Gebiet, das statistisch untersucht wurde, eingrenzen und somit die Wahrscheinlichkeit von falsch positiven Ergebnissen minimieren.

Wir verwendeten eine einfache lineare Regressionsanalyse, um die Effekt-spezifische PPC-M1-Fazilitierung der stimulierten linken Hemisphäre darzustellen und suchten eine positive Korrelation in dem uns interessierenden Bereich (volume of interest) der juxtakortikalen Areale in der Nähe von BA 4a, 4b, 5, 6 und 7. Die Analyse der DTI-Daten zeigte, dass die individuellen Unterschiede der funktionellen Konnektivität, welche sich durch die Intensitätsabhängigkeit des konditionierten Stimulusreizes zeigten, höchst spezifisch mit der FA der weißen Substanz, die direkt unter dem motorischen Kortex liegt, korrelierten. Je höher der FA-Wert in der weißen Substanz unter dem motorischen Kortex war, desto höher war die Zunahme der ipsilateralen PPC-M1-Konnektivität. Bei den ISI 1.2 und 2.4 zeigte sich eine signifikante Korrelation (siehe Abb. 20-21).

Hierzu schauten wir uns die Differenz der Fazilitierung im Bezug auf den konditionierenden PPC-Puls an. Wir betrachteten die signifikante Fazilitierung bei den ISI 1.2, 2.4 und 4.8 ms, bei einer Stimulationsintensität von 90% der Ruheschwelle vom iM1, und die fehlende Fazilitierung bei einer Stimulationsintensität von 70% der Ruheschwelle. Es stellt sich die Frage, warum es bei einer Stimulationsintensität von 90% zu einer signifikanten Fazilitierung der M1-MEPs kommt, bei einer Stimulationsintensität von 70% jedoch keine deutliche Fazilitierung zu beobachten ist. Die Antwort aus den Ergebnissen der diffusionsgewichteten Bildgebung ist, dass die weiße Substanz und die mikrostrukturellen Unterschiede in diesen Regionen entscheidend für die Unterschiede sind. Dabei zeigte sich der Maximaleffekt bei dem ISI 1.2 ms mit den MNI-Koordinaten $x, y, z = -18, -22, 63$ und beim ISI 2.4 ms mit den MNI-Koordinaten $x, y, z = -47, -18, 36$ und $x, y, z = -13, -21, 61$. Die Analyse war für den ISI von 4.8 ms nicht signifikant.

Mit Hilfe der synergistischen Anwendung von TMS und DTI konnten wir eine Verbindung zwischen der funktionellen Konnektivität und der Integrität der weißen Substanz darstellen und die Konnektivität zwischen dem iM1 und dem iPPC beweisen.

Die bifokale TMS vom iPPC und iM1 führte zu einer dynamischen Modulation der

Erregbarkeit vom iM1 infolge einer Generierung von I-Wellen. Diese innovative Art der Gehirnkartierung (engl. Brain mapping) kann eingesetzt werden, um nicht-invasiv die Konnektivität von schnellen ipsilateralen Bahnen vom iPPC zum iM1 zu erforschen. Intra-individuelle Unterschiede der Konnektivität korrelieren mit der Mikrostruktur der Fasern, die zu M1 ziehen.

5.3 Diskussion Experiment 3 (kontralaterale Stimulation)

Das dritte Experiment bestand aus zwei Telexperimenten, wobei zusätzlich zu der Stimulation vom iM1 und iPPC eine Stimulation vom kM1 (Experiment 3.1) und kPPC (Experiment 3.2) erfolgte. Für die ipsilaterale Kortexstimulation der linken Seite wurden die kleinen Spulen (MAG & MORE), für die Stimulation vom kM1/ kPPC eine kleine Achterspule von Magstim verwendet. Die Spulenpositionierung für den kPPC erfolgte wie beim iPPC ebenfalls mit der Neuronavigation.

Aus anderen Studien ist bekannt, dass eine kontralaterale Stimulation, die der ipsilateralen Stimulation von M1 10 ms voraus geht, zu einer Hemmung von M1 führt (Quartarone et al., 2003, Baumer et al., 2006). Nun war Ziel dieser Experimentenreihe, die Einflüsse der kontralateralen Stimulation auf die ipsilaterale iPPC-iM1-Konnektivität zu untersuchen. Im zweiten Experiment führte eine ipsilaterale Stimulation von PPC zu einer Fazilitierung der M1-MEPs. Es stellte sich die Frage, wie sich die ipsilaterale Fazilitierung unter der kontralateralen Stimulation entwickelt.

Im Experiment 3.1 erfolgte zusätzlich zu der ipsilateralen Stimulation von M1 und PPC eine kontralaterale Stimulation von M1. Hierbei zeigte sich bei einer S2-Intensität von 70% der Ruheschwelle vom iM1 nur bei ipsilateraler Stimulation ein signifikantes Ansteigen der mittleren MEP-Amplitude beim ISI von 1.2 ms im Vergleich zum Testpuls allein ($p < 0.05$), der unter einer zusätzlichen Stimulation vom kM1 verschwand (siehe Abb. 15-16). Die Varianzanalyse zeigte bei einer S2-Intensität von 90% der Ruheschwelle keine signifikante Modulation vom iM1. Dennoch zeigte die deskriptive Statistik bei der ipsilateralen Stimulation eine Modulierung der M1-MEPs bei einem ISI von 1.2 ms, die ebenfalls bei einer zusätzlichen Stimulation vom kM1 inhibiert wurde (siehe Abb. 17 und Abb. 19).

Im Experiment 3.2 erfolgte zusätzlich zu der Kortexstimulation vom iM1 und iPPC eine Stimulation des kPPC. Dabei konnten wir keine signifikante Modulation der iM1-PPC-Konnektivität durch den kPPC feststellen.

Im zweiten Experiment konnten wir durch eine ipsilaterale Stimulation von iM1 und iPPC eine ISI- und S2-abhängige Modulation der MEP-Fazilitierung der Bahnen, die vom PPC zu M1 führen, beobachten (siehe Abb. 13). Dabei zeigte sich eine signifikante MEP-Fazilitierung während der Interstimulationsintervalle 1.2, 2.4 und 4.8 ms, wenn die Stimulationsintensität

vom iPPC 90% der Ruheschwelle von M1 betrug. Im Experiment 3.1 stimulierten wir zusätzlich den KM1 mit einer interhemisphärischen Latenz von 10 ms. In anderen Studien konnte man bereits darstellen, dass eine kontralaterale Stimulation von M1 zu einer Inhibition der ipsilateralen M1-MEPs führt (Quartarone et al., 2003, Baumer et al., 2006). In der aktuellen Studie konnten wir zeigen, dass die MEP-Fazilitierung bei einem ISI von 1.2 ms durch eine kontralaterale Stimulation von M1 inhibiert wird.

Der genaue Ort dieser Interaktion ist aktuell nicht bekannt. Möglich wäre eine Interaktion der Stimuli auf Ebene der ipsilateralen inhibitorischen Interneurone, auf die die transkallosalen Fasern projizieren (Lang et al., 2004). Um diese Interaktionen genauer zu untersuchen, bräuhete man weitere multimodale Experimente, die Verfahren wie fMRT, DTI und TMS verbinden.

5.4 Klinische Relevanz

Erörtert man nun die klinische Relevanz und die sich aufzeigende therapeutische Signifikanz unserer Studie, ergeben sich folgende Ansätze.

Die Untersuchungen zu der funktionellen und strukturellen Konnektivität vom iPMv und iM1 könnten wichtige Hinweise für die Reorganisation nach einem Schlaganfall im Bereich von iM1 liefern. Studien konnten bereits die wichtige Rolle von PMv und der PMv-M1-Konnektivität bei der neurophysiologischen Reorganisation als Antwort auf eine kortikale Läsion nach einem Schlaganfall im Bereich von M1 zeigen (Frost et al., 2003). Mit Hilfe der DTI kann eine Differenzierung zwischen den beschädigten Arealen und Arealen in Reorganisation erfolgen und das pathophysiologische Korrelat für die funktionelle Verbesserung gefunden werden. Diese Methoden können auch in der Charakterisierung anderer neurologischer Erkrankungen mit einer veränderten Integrität und Plastizität im motorischen System eine Rolle spielen. Hierzu gehören zum Beispiel die Bewegungsstörungen wie der Morbus Parkinson, Dystonien oder Läsionen des M1 entzündlicher Genese.

Eine Läsion des Parietalkortex ist eine häufige Ursache für Neglect. Als Neglect wird eine Aufmerksamkeitsstörung bezeichnet, die häufig nach größeren Infarkten oder Blutungen der Arteria cerebri media auftritt und dadurch gekennzeichnet ist, dass Reize der kontraläsionären Seite nicht beachtet werden. Einer der gängigen Therapieansätze ist die wiederholte Aktivierung der kontralateralen Extremität. In Hinblick auf unsere Studie kann unsere Methode zur gezielten Darstellung von iPPC-iM1-Netzwerken bei Patienten mit Neglect erwogen werden. Auf diese Weise könnte man erforschen, ob und wie die Reorganisation der lädierten Areale erfolgt. Mit Hilfe der DTI könnte man bei Patienten mit klinischem Verdacht auf einen Neglect oder eine Raumorientierungsstörung eine Läsion in

dem anatomischen Gebiet darstellen, die strukturelle Konnektivität untersuchen und diese mit der funktionelle Konnektivität in Verbindung bringen.

Andere neurologische Erkrankungen, die eine Läsion des Parietalkortexes als Ursache haben, sind unter anderem das Bálint-Syndrom und das Gerstmann-Syndrom. Unter dem Gerstmann-Syndrom versteht man eine Kombination von Fingeragnosie mit Akalkulie, Agraphie und Rechts-Links-Verwechslung. Das Bálint-Syndrom beschreibt eine schwere räumliche Aufmerksamkeits- und Orientierungsstörung und umfasst eine optischen Ataxie, eine okuläre Apraxie und Simultanagnosie. Die diffusionsgewichtete Bildgebung könnte dabei von Nutzen sein, um die genaue Lokalisation der Läsionen darzustellen. Von Interesse könnte auch sein, wie die Konnektivität von PPC und M1 sich bei solchen Patienten funktionell und strukturell darstellt.

6 Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurden die kortikalen Verbindungen des primär motorischen Kortex (M1) mit dem ventralen prämotorischen (PMv) und posterior-parietalen Arealen (PPC) nicht-invasiv untersucht. Weiterhin analysierten wir die Rolle der kontralateralen Verbindungen von M1 und PPC auf die ipsilateralen Areale. Zum einen verwendeten wir die transkranielle Magnestimulation (TMS) mit Einzel- und Doppelpuls-Paradigmen zur Untersuchung der funktionellen Konnektivität. Zum anderen untersuchten wir die strukturellen Verbindungen in den beteiligten Arealen mit der diffusionsgewichteten Bildgebung (DTI). Die fraktionelle Anisotropie (FA) wurde als Maß für die Faserintegrität und strukturelle Konnektivität untersucht.

59 Probanden wurden in die Studie eingeschlossen (Alter 24.8 +/- 2.56, 30 Frauen, 29 Männer). In allen TMS-Experimenten wurde ein überschwelliger Testpuls (S1) über M1 appliziert, um ein motorisch evoziertes Potential (MEP) von etwa 0,5 mV hervorzurufen. Ein unterschwelliger Konditionierungspuls (S2) von 70- oder 90% der Ruheschwelle (engl. resting motor threshold, RMT) folgte über PMv (Experiment 1) oder PPC (Experiment 2). Interstimulusintervalle (ISI) von 0.8- bis 4.8 ms in 0.4 Schritten folgten. Im Experiment 3 applizierten wir 10 ms vor den bereits beschriebenen M1-PPC-Doppelpulsen einen weiteren konditionierenden Puls über dem kontralateralen M1(kM1) oder PPC (kPPC). Die kortikalen FA-Werte der Probanden wurden mit den TMS-Daten korrelativ in Verbindung gesetzt.

Beim ersten Experiment zur funktionellen Konnektivität zwischen PMv und M1 zeigte sich bei einem ISI von 0.8 ms eine signifikante Fazilitierung, bei einer S2-Intensität von 90% der RMT unter Verwendung der Achterspule (MAG & MORE). Im zweiten Experiment zur funktionellen Konnektivität zwischen PPC und M1 führte eine S2-Intensität von 90% über PPC zu einer signifikanten M1-MEP-Fazilitierung bei den ISI 1.2, 2.4 und 4.8 ms im Vergleich zum Testpuls allein. Die DTI-Analyse zeigte, dass die individuellen Unterschiede der funktionellen Konnektivität höchst spezifisch mit den FA-Werten, die direkt unter dem motorischen Kortex liegen, korrelierten. Bei den ISI 1.2 und 2.4 zeigte sich diese signifikante Korrelation. Im Experiment 3 zur funktionellen Konnektivität zwischen den ipsilateralen sowie kontralateralen PPC und M1 konnten wir die bereits beschriebene ipsilaterale MEP-Fazilitierung bei dem ISI 1.2 ms im Vergleich zum Testpuls allein zeigen, die bei einer zusätzlichen Stimulation des kontralateralen M1 aufgehoben wurde.

Die ipsilaterale TMS von PPC führte zu einer dynamischen Modulation der Erregbarkeit vom iM1 infolge einer Generierung von I-Wellen. Die bifokale TMS offenbarte eine ISI- und S2-Intensität-abhängige Modulation der MEP-Fazilitierung. Unsere Ergebnisse weisen darauf hin, dass der iPPC durch schnellleitende Bahnen mit einer kurzen Latenzzeit mit dem iM1 verbunden ist. Wegen der kurzen Latenz nehmen wir an, dass die Verbindung

monosynaptisch erfolgen muss und auf kortikaler und nicht etwa auf subkortikaler oder spinaler Ebene stattfindet.

Eine zusätzliche Stimulation des kM1 mit einer interhemisphärischen Latenz von 10 ms führte zu einer Inhibierung der MEP-Fazilitierung bei einem ISI von 1.2 ms. Möglich wäre eine Interaktion der Stimuli auf Ebene der ipsilateralen inhibitorischen Interneurone, auf die die transkallosalen Fasern projizieren. Um diese Interaktionen genauer zu untersuchen, bräuchte man weitere multimodale Experimente, die Verfahren wie fMRT, DTI und TMS verbinden.

Mit der bifokalen TMS untersuchten wir die funktionelle Konnektivität. DTI lieferte weitere Hinweise über die strukturelle Konnektivität zwischen den beteiligten Arealen. Die korrelative Verwendung der Daten der funktionellen und strukturellen Konnektivität stellt eine neue, innovative Art der Gehirnkartierung dar, die weiterhin eingesetzt werden kann, um nicht-invasiv die Konnektivität der benachbarten Hirnarealen zu erforschen.

Die Untersuchungen zu der funktionellen und strukturellen Konnektivität vom iPMv und iM1 könnten wichtige Hinweise für die Reorganisation nach einem Schlaganfall im Bereich von iM1 liefern. Mit Hilfe der DTI kann eine Differenzierung zwischen den beschädigten Arealen und Arealen in Reorganisation erfolgen und das pathophysiologische Korrelat für die funktionelle Verbesserung gefunden werden. Diese Methoden können auch in der Charakterisierung anderer neurologischer Erkrankungen mit einer veränderten Integrität und Plastizität im motorischen System eine Rolle spielen.

Eine Läsion des Parietalkortex ist eine häufige Ursache für Neglect. In Hinblick auf unsere Studie kann unsere Methode zur gezielten Darstellung von iPPC-iM1-Netzwerken bei Patienten mit Neglect erwogen werden. Auf diese Weise könnte man erforschen, ob und wie die Reorganisation der lädierten Areale erfolgt. Mit Hilfe der DTI könnte man bei Patienten mit klinischem Verdacht auf einen Neglect oder eine Raumorientierungsstörung eine Läsion in dem anatomischen Gebiet darstellen, die strukturelle Konnektivität untersuchen und diese mit der funktionelle Konnektivität in Verbindung bringen.

7 Anhang

7.1 Abkürzungsverzeichnis

CT	Computertomographie
DTI	diffusionsgewichtete Bildgebung/ engl. Diffusions Tensor Imaging
EMG	Elektromyographie
FA	Fraktionelle Anisotropie
FDI	Musculus interosseus dorsalis I (engl. first dorsal interosseus muscle)
iM1	Ipsilateraler primär motorischer Kortex
iPMv	Ipsilateraler ventraler Prämotorkortex
iPPC	Ipsilateraler posteriorer Parietalkortex
ISI	Interstimulusintervall
kM1	Kontralateraler primär motorischer Kortex
kPPC	Kontralateraler posteriorer Parietalkortex
M1	primär motorischer Kortex
MEP	motorisch evoziertes Potenzial
MRT/MRI	Magnetresonanztomographie
PMd	dorsaler Prämotorkortex
PMv	ventraler Prämotorkortex
PPC	posteriorer Parietalkortex
RMT	Ruheschwelle (engl. resting motor threshold)
rTMS	Repetitive transkraniale Magnetstimulation
SI	Stimulationsintensität
TES	transkraniale elektrische Stimulation
TFCE	Threshold-Free Cluster Enhancement
TMS	transkraniale Magnetstimulation

7.2 Literaturverzeichnis

- Amassian VE, Stewart M, Quirk GJ, Rosenthal JL (1987) Physiological basis of motor effects of a transient stimulus to cerebral cortex. *Neurosurgery* 20:74-93.
- Barker AT, Jalinous R, Freeston IL (1985) Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. *Lancet* 1:1106-1107.
- Basser PJ, Mattiello J, LeBihan D (1994) MR diffusion tensor spectroscopy and imaging. *Biophys J* 66:259-267.
- Basser PJ, Pierpaoli C (1998) A simplified method to measure the diffusion tensor from seven MR images. *Magn Reson Med* 39:928-934.
- Baumer T, Bock F, Koch G, Lange R, Rothwell JC, Siebner HR, Munchau A (2006) Magnetic stimulation of human premotor or motor cortex produces interhemispheric facilitation through distinct pathways. *J Physiol* 572:857-868.
- Baumer T, Schippling S, Kroeger J, Zittel S, Koch G, Thomalla G, Rothwell JC, Siebner HR, Orth M, Munchau A (2009) Inhibitory and facilitatory connectivity from ventral premotor to primary motor cortex in healthy humans at rest - A bifocal TMS study. *Clin Neurophysiol* 120:1724-1731.
- Binkofski F, Buccino G, Posse S, Seitz RJ, Rizzolatti G, Freund H (1999) A fronto-parietal circuit for object manipulation in man: evidence from an fMRI-study. *Eur J Neurosci* 11:3276-3286.
- Binkofski F, Dohle C, Posse S, Stephan K, Hefter H, Seitz R, Freund H (1998) Human anterior intraparietal area subserves prehension. *Neurology* 50:1253-1259.
- Boyd SG, Rothwell JC, Cowan JM, Webb PJ, Morley T, Asselman P, Marsden CD (1986) A method of monitoring function in corticospinal pathways during scoliosis surgery with a note on motor conduction velocities. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 49:251-257.
- Brinkman J, Kuypers HG (1973) Cerebral control of contralateral and ipsilateral arm, hand and finger movements in the split-brain rhesus monkey. *Brain* 96:653-674.
- Brodmann K (1909) Vergleichende Lokalisationslehre der Großhirnrinde in ihren Prinzipien dargestellt aufgrund ihres Zellenbaues. JA Barth, Leipzig.
- Cerri G, Shimazu H, Maier MA, Lemon RN (2003) Facilitation from ventral premotor cortex of primary motor cortex outputs to macaque hand muscles. *J Neurophysiol* 90:832-842.
- Civardi C, Cantello R, Asselman P, Rothwell JC (2001) Transcranial magnetic stimulation can be used to test connections to primary motor areas from frontal and medial cortex in humans. *Neuroimage* 14:1444-1453.
- De Noordhout AM, Rapisarda G, Bogacz D, Gerard P, De Pasqua V, Pennisi G, Delwaide PJ (1999) Corticomotoneuronal synaptic connections in normal man: an electrophysiological study. *Brain* 122 (Pt 7):1327-1340.

- Della-Maggiore V, Malfait N, Ostry DJ, Paus T (2004) Stimulation of the posterior parietal cortex interferes with arm trajectory adjustments during the learning of new dynamics. *J Neurosci* 24:9971-9976.
- Di Lazzaro V, Oliviero A, Profice P, Saturno E, Pilato F, Insola A, Mazzone P, Tonali P, Rothwell JC (1998) Comparison of descending volleys evoked by transcranial magnetic and electric stimulation in conscious humans. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 109:397-401.
- Di Lazzaro V, Profice P, Pilato F, Dileone M, Oliviero A, Ziemann U (2010) The effects of motor cortex rTMS on corticospinal descending activity. *Clin Neurophysiol* 121:464-473.
- Dum RP, Strick PL (1991) The origin of corticospinal projections from the premotor areas in the frontal lobe. *J Neurosci* 11:667-689.
- Dum RP, Strick PL (2002) Motor areas in the frontal lobe of the primate. *Physiology & Behavior* 77:677-682.
- Dum RP, Strick PL (2005) Frontal lobe inputs to the digit representations of the motor areas on the lateral surface of the hemisphere. *J Neurosci* 25:1375-1386.
- Frost SB, Barbay S, Friel KM, Plautz EJ, Nudo RJ (2003) Reorganization of remote cortical regions after ischemic brain injury: a potential substrate for stroke recovery. *J Neurophysiol* 89:3205-3214.
- Gallese V, Fadiga L, Fogassi L, Rizzolatti G (1996) Action recognition in the premotor cortex. *Brain* 119 (Pt 2):593-609.
- Grefkes C, Weiss PH, Zilles K, Fink GR (2002) Crossmodal processing of object features in human anterior intraparietal cortex: an fMRI study implies equivalencies between humans and monkeys. *Neuron* 35:173-184.
- Groppa S, Schlaak BH, Munchau A, Werner-Petroll N, Dunnweber J, Baumer T, van Nuenen BF, Siebner HR (2012) The human dorsal premotor cortex facilitates the excitability of ipsilateral primary motor cortex via a short latency cortico-cortical route. *Hum Brain Mapp* 33:419-430.
- Hayasaka S, Nichols TE (2003) Validating cluster size inference: random field and permutation methods. *NeuroImage* 20:2343-2356.
- He SQ, Dum RP, Strick PL (1995) Topographic organization of corticospinal projections from the frontal lobe: motor areas on the medial surface of the hemisphere. *J Neurosci* 15:3284-3306.
- Hyvarinen J (1981) Regional distribution of functions in parietal association area 7 of the monkey. *Brain Res* 206:287-303.
- Jeannerod M, Arbib MA, Rizzolatti G, Sakata H (1995) Grasping objects: the cortical mechanisms of visuomotor transformation. *Trends Neurosci* 18:314-320.
- Johansson RS, Westling G (1984) Roles of glabrous skin receptors and sensorimotor memory in automatic control of precision grip when lifting rougher or more slippery objects. *Exp*

Brain Res 56:550-564.

- Kermadi I, Liu Y, Tempini A, Calciati E, Rouiller EM (1998) Neuronal activity in the primate supplementary motor area and the primary motor cortex in relation to spatio-temporal bimanual coordination. *Somatosensory and Motor Research* 15:287-308.
- Koch G, Fernandez Del Olmo M, Cheeran B, Ruge D, Schippling S, Caltagirone C, Rothwell JC (2007a) Focal stimulation of the posterior parietal cortex increases the excitability of the ipsilateral motor cortex. *J Neurosci* 27:6815-6822.
- Koch G, Franca M, Del Olmo MF, Cheeran B, Milton R, Alvarez Saucó M, Rothwell JC (2006) Time course of functional connectivity between dorsal premotor and contralateral motor cortex during movement selection. *J Neurosci* 26:7452-7459.
- Koch G, Franca M, Mochizuki H, Marconi B, Caltagirone C, Rothwell JC (2007b) Interactions between pairs of transcranial magnetic stimuli over the human left dorsal premotor cortex differ from those seen in primary motor cortex. *The Journal of Physiology* 578:551-562.
- Lang N, Nitsche MA, Paulus W, Rothwell JC, Lemon RN (2004) Effects of transcranial direct current stimulation over the human motor cortex on corticospinal and transcallosal excitability. *Exp Brain Res* 156:439-443.
- Le Bihan D, Mangin JF, Poupon C, Clark CA, Pappata S, Molko N, Chabriat H (2001) Diffusion tensor imaging: concepts and applications. *J Magn Reson Imaging* 13:534-546.
- Liu CN, Chambers WW (1964) An Experimental Study of the Cortico-Spinal System in the Monkey (*Macaca Mulatta*). The Spinal Pathways and Preterminal Distribution of Degenerating Fibers Following Discrete Lesions of the Pre- and Postcentral Gyri and Bulbar Pyramid. *J Comp Neurol* 123:257-283.
- Luppino G, Matelli M, Camarda RM, Gallese V, Rizzolatti G (1991) Multiple representations of body movements in mesial area 6 and the adjacent cingulate cortex: an intracortical microstimulation study in the macaque monkey. *J Comp Neurol* 311:463-482.
- Luppino G, Matelli M, Camarda RM, Rizzolatti G (1993) Corticocortical connections of area F3 (SMA-proper) and area F6 (pre-SMA) in the macaque monkey. 338:114-140.
- Luppino G, Murata A, Govoni P, Matelli M (1999) Largely segregated parietofrontal connections linking rostral intraparietal cortex (areas AIP and VIP) and the ventral premotor cortex (areas F5 and F4). *Exp Brain Res* 128:181-187.
- Matelli M, Camarda R, Glickstein M, Rizzolatti G (1984) Interconnections within the postarcuate cortex (area 6) of the macaque monkey. *Brain Res* 310:388-392.
- Matelli M, Camarda R, Glickstein M, Rizzolatti G (1986) Afferent and efferent projections of the inferior area 6 in the macaque monkey. *J Comp Neurol* 251:281-298.
- Mayka MA, Corcos DM, Leurgans SE, Vaillancourt DE (2006) Three-dimensional locations and boundaries of motor and premotor cortices as defined by functional brain imaging: A

- meta-analysis. *NeuroImage* 31:1453-1474.
- Mazziotta JC, Toga AW, Evans A, Fox P, Lancaster J (1995) A Probabilistic Atlas of the Human Brain: Theory and Rationale for Its Development:: The International Consortium for Brain Mapping (ICBM). *NeuroImage* 2:89-101.
- Merton PA, Morton HB (1980) Stimulation of the cerebral cortex in the intact human subject. *Nature* 285:227.
- Mountcastle VB, Lynch JC, Georgopoulos A, Sakata H, Acuna C (1975) Posterior parietal association cortex of the monkey: command functions for operations within extrapersonal space. *J Neurophysiol* 38:871-908.
- Muir RB, Lemon RN (1983) Corticospinal neurons with a special role in precision grip. *Brain Res* 261:312-316.
- Murata A, Fadiga L, Fogassi L, Gallese V, Raos V, Rizzolatti G (1997) Object representation in the ventral premotor cortex (area F5) of the monkey. *J Neurophysiol* 78:2226-2230.
- Oldfield RC (1971) The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. *Neuropsychologia* 9:97-113.
- Patton H, Amassian V (1960) The pyramidal tract: its excitation and functions. *Handbook of Physiology Neurophysiology Section I* 2:837-861.
- Patton HD, Amassian VE (1954) Single and multiple-unit analysis of cortical stage of pyramidal tract activation. *J Neurophysiol* 17:345-363.
- Paus T (2001) Primate anterior cingulate cortex: where motor control, drive and cognition interface. *Nat Rev Neurosci* 2:417-424.
- Paus T, Petrides M, Evans AC, Meyer E (1993) Role of the human anterior cingulate cortex in the control of oculomotor, manual, and speech responses: a positron emission tomography study. *J Neurophysiol* 70:453-469.
- Penfield W, Boldrey E (1937) Somatic motor and sensory representation in the cerebral cortex of man as studied by electrical stimulation. *Brain: A journal of neurology*.
- Penfield W, Rasmussen T (1952) *The cerebral cortex of man*. 2 e ed. New York: The Mac Millan Co.
- Penfield W, Welch K (1951) The supplementary motor area of the cerebral cortex; a clinical and experimental study. *A M A* 66:289-317.
- Picard N, Strick PL (1996) Motor areas of the medial wall: a review of their location and functional activation. *Cereb Cortex* 6:342-353.
- Quartarone A, Bagnato S, Rizzo V, Siebner HR, Dattola V, Scalfari A, Morgante F, Battaglia F, Romano M, Girlanda P (2003) Abnormal associative plasticity of the human motor cortex in writer's cramp. *Brain* 126:2586-2596.
- Ralston DD, Ralston HJ (1985) The terminations of corticospinal tract axons in the macaque monkey. *J Comp Neurol* 242:325-337.

- Rizzolatti G, Camarda R, Fogassi L, Gentilucci M, Luppino G, Matelli M (1988) Functional organization of inferior area 6 in the macaque monkey. II. Area F5 and the control of distal movements. *Exp Brain Res* 71:491-507.
- Rizzolatti G, Fogassi L, Gallese V (2002) Motor and cognitive functions of the ventral premotor cortex. *Curr Opin Neurobiol* 12:149-154.
- Rizzolatti G, Luppino G (2001) The cortical motor system. *Neuron* 31:889-901.
- Rossini PM, Barker AT, Berardelli A, Caramia MD, Caruso G, Cracco RQ, Dimitrijevic MR, Hallett M, Katayama Y, Lucking CH (1994) Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord and roots: basic principles and procedures for routine clinical application. Report of an IFCN committee. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 91:79-92.
- Rothwell JC, Thompson PD, Day BL, Dick JP, Kachi T, Cowan JM, Marsden CD (1987) Motor cortex stimulation in intact man. 1. General characteristics of EMG responses in different muscles. *Brain* 110 (Pt 5):1173-1190.
- Shimazu H, Maier MA, Cerri G, Kirkwood PA, Lemon RN (2004) Macaque ventral premotor cortex exerts powerful facilitation of motor cortex outputs to upper limb motoneurons. *J Neurosci* 24:1200-1211.
- Smith SM, Jenkinson M, Johansen-Berg H, Rueckert D, Nichols TE, Mackay CE, Watkins KE, Ciccarelli O, Cader MZ, Matthews PM, Behrens TEJ (2006) Tract-based spatial statistics: voxelwise analysis of multi-subject diffusion data. *Neuroimage* 31:1487-1505.
- Smith SM, Nichols TE (2009) Threshold-free cluster enhancement: addressing problems of smoothing, threshold dependence and localisation in cluster inference. *NeuroImage* 44:83-98.
- Tanne-Gariepy J, Rouiller EM, Boussaoud D (2002) Parietal inputs to dorsal versus ventral premotor areas in the macaque monkey: evidence for largely segregated visuomotor pathways. *Experimental Brain Research* 145:91-9103.
- Tokimura H, Ridding MC, Tokimura Y, Amassian VE, Rothwell JC (1996) Short latency facilitation between pairs of threshold magnetic stimuli applied to human motor cortex. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 101:263-272.
- Ziemann U, Tergau F, Wassermann EM, Wischer S, Hildebrandt J, Paulus W (1998) Demonstration of facilitatory I wave interaction in the human motor cortex by paired transcranial magnetic stimulation. *J Physiol* 511 (Pt 1):181-190.

7.3 Danksagung

Ich danke ganz herzlich **Herrn Prof. Dr. med. Günther Deuschl**, Direktor der Klinik für Neurologie am Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, für die Möglichkeit, die Arbeit in seiner Abteilung durchzuführen.

Herrn PD Dr. med. Nicolas Lang danke ich herzlich für die inhaltliche Betreuung und besondere Unterstützung in der Abschlussphase der Doktorarbeit.

Herrn Prof. Dr. med. Hartwig R. Siebner danke ich für die freundliche Überlassung des Themas.

Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer, **Herrn Dr. med. Sergiu Groppa**, für seine geduldige, hilfreiche und kompetente Betreuung. Jederzeit war auf seine Unterstützung Verlass, und ohne seine vielfältigen Ideen wäre die Arbeit nie in der Form möglich gewesen.

Gerald Fortmann danke ich für seine treue Unterstützung während der ganzen Arbeit, für das Korrekturlesen und dafür, dass er der beste Freund ist, den man sich vorstellen kann.

Meinen Eltern möchte ich für Ihre Unterstützung und Liebe danken.

Dr. med. Zahra Ghobadi danke ich dafür, dass es sie gibt und sie immer für mich da ist.

Sarah Giravent Helwig, Annika Sievers und **Heidi Topic** danke ich für ihre moralische Unterstützung und Freundschaft.

Abschließend möchte ich gerne allen **Probanden** danken, die an dieser Studie teilgenommen haben und ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.