

Aus dem Medizinischen Zentrum für Nervenheilkunde
des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg
in Zusammenarbeit mit dem Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH
Standort Marburg
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. med. Jürgen-Christian Krieg

Der Einfluss von Levetiracetam auf die Exzitabilität des menschlichen Motorkortex - eine prospektive doppelblinde placebokontrollierte Studie

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt

von
Andreas Wentrup
aus Lübeck

Marburg, 2007

Angenommen von Fachbereich Marburg der
Philipps-Universität Marburg am: 25.01.2007
Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Professor Dr. med. Bernhard Maisch

Referent: Professor Dr. med. Felix Rosenow

Korreferent: Privatdozent Dr. Ulrich Sure

Meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG.....	6
1.1	EPILEPSIE.....	6
1.1.1	Pathophysiologie epileptischer Anfälle.....	6
1.1.1.1	Iktogenese fokale Anfälle.....	6
1.1.1.2	Iktogenese generalisierter Anfälle.....	8
1.1.2	Antiepileptische Pharmakotherapie.....	8
1.2	LEVETIRACETAM (LEV, KEPPRA®).....	10
1.2.1	Wirkungsmechanismus.....	10
1.2.1.1	Wirkung über Ionenkanäle.....	11
1.2.1.2	Wirkung über Neurotransmitter.....	12
1.2.2	Pharmakokinetik.....	12
1.2.2.1	Absorption und Verteilung.....	12
1.2.2.2	Metabolismus.....	13
1.2.2.3	Elimination.....	13
1.2.3	Wechselwirkungen.....	13
1.2.4	Nebenwirkungen.....	13
1.3	TRANSKRANIELLE MAGNETSTIMULATION (TMS).....	14
1.3.1	Historische Entwicklung.....	14
1.3.2	Grundlagen der transkraniellen Magnetstimulation.....	15
1.3.3	Sicherheitsaspekte der transkraniellen Magnetstimulation.....	18
1.3.4	Einführung in die Variablen der Exzitabilität des Motorkortex.....	18
1.3.4.1	Motorische Schwelle und MEP-Amplitude.....	18
1.3.4.2	Recruitment Curve.....	19
1.3.4.3	Kortikal induzierte Postinnervationsstille.....	20
1.3.4.4	Intrakortikale Inhibition und intrakortikale Fazilitation.....	21
1.3.5	Charakterisierung von Antiepileptika mit TMS.....	22
1.4	FRAGESTELLUNGEN.....	22
2	PROBANDEN UND METHODIK.....	23
2.1	PROBANDEN.....	23
2.1.1	Aufnahme in die Studie.....	23
2.1.1.1	Ausschlusskriterien.....	23
2.1.1.2	Abbruchkriterien.....	24
2.2	STUDIENMEDIKATION.....	24
2.2.1	Levetiracetam.....	24
2.2.2	Placebo.....	25
2.2.3	Geschmacksstoffe.....	25
2.3	VERSUCHSDURCHFÜHRUNG.....	25
2.3.1	Ableitung.....	25
2.3.2	Datenaufzeichnung.....	26
2.3.3	Stimulation.....	26
2.3.4	Stimulationsparameter.....	27
2.3.4.1	Testreiz.....	27
2.3.4.2	Motorische Ruheschwelle.....	28
2.3.4.3	Aktive motorische Schwelle.....	28
2.3.4.4	Kortikal induzierte Postinnervationsstille (CSP).....	28
2.3.4.5	Intrakortikale Inhibition und Fazilitation (ICI und ICF).....	28
2.3.4.6	Recruitment Curve und maximales Summenaktionspotential.....	29
2.3.5	Nebenwirkungsscore.....	29

2.4	STATISTISCHE AUSWERTUNG	30
3	ERGEBNISSE.....	31
3.1	PROBANDENKOLLEKTIV	31
3.2	BASELINE	31
3.3	MOTORISCHE SCHWELLEN	31
3.3.1	Konfirmatorische Analyse.....	31
3.3.2	Explanatorische Analyse	32
3.4	RECRUITMENT CURVE	37
3.4.1	Konfirmatorische Analyse.....	37
3.4.2	Explanatorische Analyse	37
3.5	INRAKORTIKALE INHIBITION.....	39
3.5.1	Konfirmatorische Analyse.....	39
3.5.2	Explanatorische Analyse	40
3.6	INTRAKORTIKALE FAZILITATION	41
3.6.1	Konfirmatorische Analyse.....	41
3.6.2	Explanatorische Analyse	42
3.7	KORTIKAL INDUZIERTER POSTINNERVATIONSSTILLE.....	44
3.7.1	Konfirmatorische Analyse.....	44
3.7.2	Explanatorische Analyse	44
3.8	PLACEBOEFFEKT	45
3.9	NEBENWIRKUNGEN	45
4	DISKUSSION	47
4.1	DISKUSSION DES WIRKMECHANISMUS VON LEVETIRACETAM	47
4.1.1	Wirkung von Levetiracetam über Ionenkanäle	47
4.1.2	Wirkung von Levetiracetam auf Neurotransmitter.....	52
4.1.2.1	Untersuchung mithilfe der intrakortikalen Inhibition und Fazilitation .	52
4.1.2.2	Untersuchung mithilfe der kortikal induzierten Postinnervationsstille .	58
4.2	METHODIK.....	60
4.2.1	Diskussion der Messtechnik	60
4.2.2	Diskussion der Statistik	61
4.2.3	Übertragbarkeit der Ergebnisse auf Patienten	62
4.2.4	Diskussion der Nebenwirkungen.....	63
5	ZUSAMMENFASSUNG.....	64
6	LITERATURVERZEICHNIS	66
7	ANHANG	76
7.1	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	76
7.2	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	77
7.3	TABELLENVERZEICHNIS.....	78
7.4	VERZEICHNIS DER AKADEMISCHEN LEHRER	79
7.5	DANKSAGUNG	80
7.6	PUBLIKATIONEN	81
7.7	ORIGINALARTIKEL.....	83

1 Einleitung

1.1 Epilepsie

Eine Epilepsie liegt definitionsgemäß dann vor, wenn wiederholt epileptische Anfälle ohne Provokationsfaktoren wie Schlaf- oder Alkoholentzug auftreten [Benbadis und Luders 1995]. Zwischen 0,5 und 1 % der Bevölkerung in den westlichen Ländern leiden an Epilepsie [Goodridge und Shorvon 1983; Haerer et al. 1986]. In industrialisierten Ländern beträgt die Inzidenz circa 0,044%, d.h. pro Jahr erkranken etwa 44 von 100.000 Personen an Epilepsie [Hauser et al. 1993].

1.1.1 Pathophysiologie epileptischer Anfälle

Erste Erkenntnisse zur Entstehung epileptischer Anfälle wurden von dem englischen Neurologen Sir Hughlings Jackson (1835-1911) gewonnen. Er folgerte aus klinischen Beobachtungen, dass epileptische Anfälle durch plötzliche, übermäßige und unkoordinierte Entladungen des Gehirns entstehen.

Auf zellulärer Ebene wird ein epileptischer Anfall durch synchrone, hochfrequente Depolarisationen neuronaler Zellverbände ausgelöst [McNamara 1999]. Bei deren Entstehung, d.h. Iktogenese, spielen insbesondere die Neurotransmitter Glutamat und γ -Aminobuttersäure (γ -amino-butyric acid, GABA), Ionenkanäle und strukturelle Umbauprozesse eine Rolle.

1.1.1.1 Iktogenese fokale Anfälle

Intrazelluläre Ableitungen von epileptischen Neuronen haben gezeigt, dass zum Zeitpunkt eines interiktalen „spike“ im Elektroenzephalogramm (EEG) eine hochamplitudige, prolongierte Membrandepolarisation auftritt, die länger andauert als das physiologische, exzitatorische postsynaptische Potential (EPSP) und mit hochfrequenten Salven von Aktionspotentialen einhergeht [Giaretta et al. 1987]. Dieses elektrische Phänomen, das von vielen Forschern als grundlegendes elektrophysiologisches Äquivalent fokaler Entladungen auf zellulärer Ebene betrachtet wird [Matsumoto und Marsan 1964], wird als „Paroxymaler Depolarisationsshift“

(PDS) bezeichnet und durch eine Hyperpolarisation (im EEG als „wave“ sichtbar) beendet [Giaretta et al. 1987; Witte 2000]. Dem PDS liegt ein erhöhter Kalziumeinstrom zugrunde [Armijo et al. 2000; Speckmann et al. 1993; Speckmann et al. 1989; Witte et al. 1987].

Der exzitatorische Neurotransmitter Glutamat aktiviert postsynaptische N-methyl-D-aspartat-Rezeptoren (NMDA)-Rezeptoren und Non-NMDA-Rezeptoren. Als Besonderheit passieren den geöffneten NMDA-Rezeptor neben Natrium- und Kalium- auch Kalziumionen. Infolge einer strukturellen Läsion werden in hippokampalen Zellen Untereinheiten des NMDA-Rezeptors exprimiert, die vermutlich zu einer exzessiven NMDA-Rezeptoraktivierung führen [Mathern et al. 1999]. Die resultierende intrazelluläre Akkumulation von Kalzium setzt insbesondere zwei kalziumabhängige Prozesse in Gang, die für die Ikto- und Epileptogenese eine wichtige Rolle spielen.

Zum einen führt die erhöhte Kalziumkonzentration zu einer Stimulation der Phospholipase A₂ und der Stickoxyd-Oxydase und damit über die Bildung hochreaktiver, freier Sauerstoffradikale zu einem Zelluntergang, der vor allem die empfindlichen GABAergen Neurone erfasst [Robbins et al. 1991].

Zum anderen leitet die Aktivierung von kalziumabhängigen Enzymen wie die Proteinkinase C eine Expression von so genannten „immediate early genes“ (IEG) ein [Watanabe et al. 1996]. Diese IEGs können axonales Wachstum durch Expression neurotropher Faktoren induzieren. Der bekannteste dadurch entstehende strukturelle Umbauprozess ist die Hippokampusklerose, bei der unter anderem Moosfasern der Körnerzellen in die inneren molekularen Schichten des Hippokampus einsprossen [McNamara 1999]. Dies führt durch die eingesprossenen Axone über Tangentialverbindungen zu einer Synchronisierung neuronaler Zellen und zu einer rekurrenten Selbsterregung von Neuronen [McNamara 1999]. Aufgrund der Synchronisierung der Neuronen erfolgt wiederum durch exzessive Glutamatfreisetzung ein massiver Anstieg der Kalziumkonzentration in postsynaptischen Zellen. Damit wird ein circulus vitiosus geschlossen.

Initiale Ereignisse wie Traumen, Fieberkrämpfe oder eine Genmutation führen folglich zu einem sich selbst verstärkenden Prozess, der die Brücke von der Iktogenese zur Epileptogenese schlägt.

1.1.1.2 Iktogenese generalisierter Anfälle

Besonders die Entstehung von Absenzen unterscheidet sich grundlegend von der Iktogenese fokaler Anfälle. Absenzen entstehen durch komplexe Interaktion von Thalamusneuronen, kortikaler Pyramidenzellen, spezifischer Relaiskerne und dem Nucleus reticularis thalami mit der Folge synchroner, bihemispärischer Entladungen thalamokortikaler Zellverbände. Dabei spielen besondere Membraneigenschaften thalamischer Neurone wie der Kalziumkanal vom T-Typ und GABA-Rezeptoren eine Rolle. Eine Aktivierung der GABAergen Neurone des Nucleus reticularis thalami führt über postsynaptische GABA_B-Rezeptoren zu einer Hyperpolarisation von thalamischen Relaiskernen [Crunelli und Leresche 1991]. Die Kalziumkanäle vom T-Typ dieser Zellen werden erst durch diese Hyperpolarisation in einen aktivierbaren Zustand versetzt [Jahnsen und Llinas 1984]. Erst eine glutamatvermittelte Membrandepolarisation kann daraufhin zu einer Öffnung der Kalziumkanäle führen [Futatsugi und Riviello 1998]. Der resultierende Kalziumeinwärtsstrom führt über die Öffnung von spannungsabhängigen Natriumkanälen zu hochfrequenten Aktionspotentialen. Dadurch werden sowohl thalamokortikale Neurone beider Hemisphären als auch erneut der Nucleus reticularis thalami exzessiv erregt [Futatsugi und Riviello 1998].

Generalisierte, tonisch-klonische Anfälle unterliegen ähnlichen Pathomechanismen wie fokale Anfälle. So konnten Speckmann et al. eine Suppression dieses Anfallstyps mittels Kalziumkanalblocker im Tierversuch nachweisen [Speckmann et al. 1989]. Außerdem können Genmutationen über die Expression pathologischer Kalziumkanäle zu generalisierten, tonisch-klonischen Anfällen führen [Armijo et al. 2000]. Die Bedeutung von GABA wird durch Mutationen im GABAergen System deutlich. So wird das Angelman-Syndrom durch eine Mutation des Gens hervorgerufen, das für die β_3 -Untereinheit des GABA_A-Rezeptors kodiert [DeLorey und Olsen 1999]. Mutationen in der δ_2 -Untereinheit des GABA-Rezeptors wurden bei der Absenzen-Epilepsie bei Kindern und bei Fieberkrämpfen gefunden [Wallace et al. 2001].

1.1.2 Antiepileptische Pharmakotherapie

Antiepileptika greifen an einen oder mehreren der beschriebenen Pathomechanismen an:

- 1.) Durch Blockade von spannungsabhängigen Natriumkanälen wird zum Beispiel von Carbamazepin die Ausbreitung hochrepetitiver Aktionspotentiale verhindert.
- 2.) Die Hemmung von Kalziumkanälen über eine Reduzierung des intrazellulären Kalziumspiegels nutzt Ethosuximid als Kalziumkanalblocker vom T-Typ.
- 3.) Die pathologische Aktivität des glutamatergen Systems wird beispielsweise durch eine kompetitive Verdrängung von Glutamat vom Kainat/AMPA-Subtyp des Glutamatrezeptors durch Topiramamat inhibiert [Gibbs et al. 2000].
- 4.) Eine Stärkung des GABAergen Systems etwa durch Bindung von Topiramamat an eine Untereinheit des ligandengesteuerten GABA_A-Rezeptors reduziert ein GABA-Defizit [White et al. 2000]. Allerdings kann eine globale zerebrale Erhöhung des GABA-Spiegels neben einer inhibitorischen auch eine exzitatorische Wirkung in bestimmten Arealen entfalten. Dies ist anhand der Entstehung von Absenzen durch eine weitere Aktivitätssteigerung der GABA-Rezeptoren gut zu erklären.

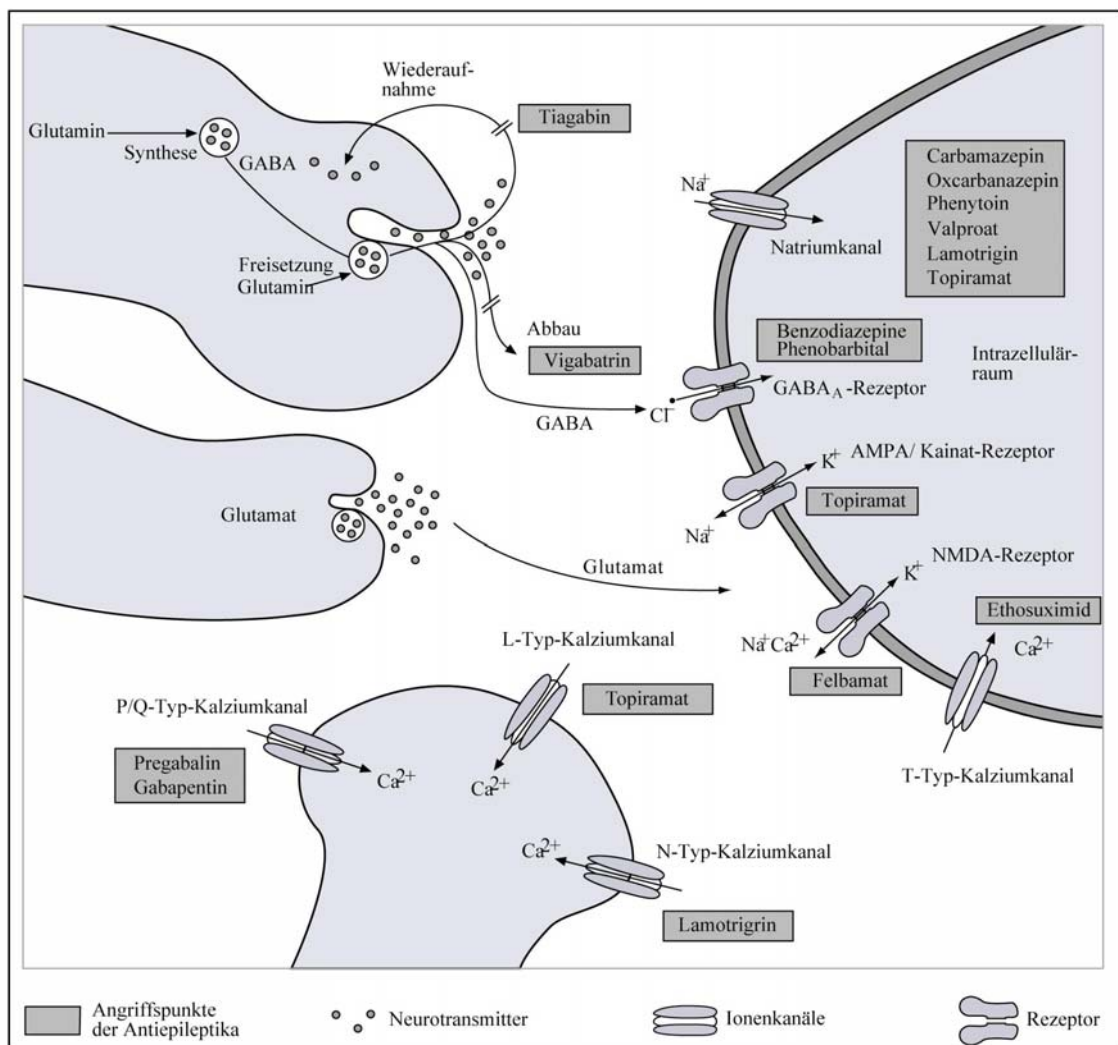


Abbildung 1: Wirkmechanismus von Antiepileptika.

1.2 Levetiracetam (LEV, Keppra®)

Im September 2000 wurde der Wirkstoff Levetiracetam ([S]- α -Ethyl-2-oxo-pyrrolidinacetamid) der Firma UCB S.A. unter dem Handelsnamen Keppra® zur Zusatzbehandlung von partiellen Anfällen mit oder ohne sekundärer Generalisierung auch in Deutschland zugelassen [Hovinga 2001].

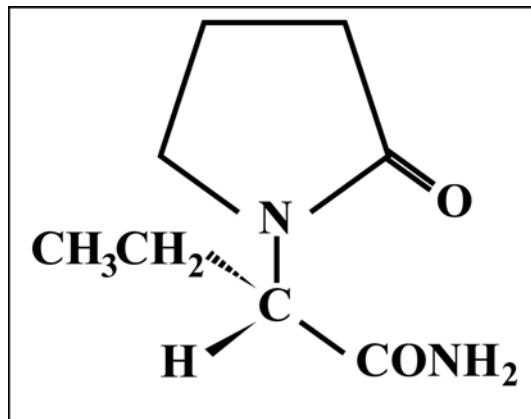


Abbildung 2: Strukturformel von Levetiracetam (modifiziert nach [Shorvon und van Rijckevorsel 2002]).

1.2.1 Wirkungsmechanismus

LEV zeigte sowohl bei den zwei klassische Screening-Methoden, der Maximale-Elektroschock-Test (MES) und der Pentylenetetrazol-Anfallstest, als auch gegen Chemokonvulsiva wie z.B. Pilotoxin, Bicuculin, Caffein und NMDA bei Mäusen keine antikonvulsive Wirkung [Klitgaard et al. 1998].

Demgegenüber entdeckten Gower et al. bei genetisch manipulierten, geräuschsensitiven Mäusen nach akustischer Stimulation eine anfallshemmende Eigenschaft von LEV [Gower et al. 1992]. Auch bei anderen chronischen Epilepsiemodellen [Korneal-, Pentylenetetrazol (PTZ)- und Amydala-Kindling¹ und Pilocarpin-Test] wirkt LEV antikonvulsiv [Klitgaard et al. 1998].

Diese Ergebnisse weisen auf eine selektive Wirkung im „epileptogenen Gehirn“ hin, wohingegen die Iktogenese offenbar weitgehend unbeeinflusst bleibt. LEV scheint vor exzessiven neuronalen Entladungen zu schützen, dabei aber weniger die physiologische Neuronenaktivität zu reduzieren.

Gower et al. beobachteten die deutlich geringere antiepileptische Potenz des

¹ Induktion von epileptischen Anfällen durch zunächst subkonvulsive Reize

R-Enantiomers von LEV und L060 [Gower et al. 1992]. Noyer et al. entdeckten in der synaptischen Membran eine reversible, sättigbare und stereoselektive Bindungsstelle mit zwar geringer Affinität, aber hoher Bindungskapazität für LEV. Diese Bindungsstelle, ein Polypeptid, zeigt eine signifikante Korrelation zwischen der Affinität der Testsubstanz zur Bindungsstelle und der antiepileptischen Wirkung bei genetisch manipulierten, geräusch-sensitiven Mäusen [Noyer et al. 1995]. Mithilfe autoradiographischer Studien mit dem Analogon [³H] und 30889, das eine höhere Affinität zur LEV-Bindungsstelle besitzt, gelang es, eine deutliche Anreicherung der Bindungsstelle im Gyrus dentatus, Cerebellum, Colliculus superior und einigen Thalamuskernen bei gleichzeitig geringerer Anreicherung im Kortex und Hypothalamus vor allem in synaptischen Membranen und in präsynaptischen Vesikeln nachzuweisen [Fuks et al. 2003; Gillard et al. 2003].

In der immunhistochemischen Darstellung zeigt das präsynaptische Vesikelprotein SV2A das gleiche Verteilungsmuster wie die spezifische Bindungsstelle von LEV [Bajjalieh et al. 1994]. Lynch et al. zeigten an genmanipulierten Mäusen, dass das LEV-Derivat [³H] und 30889 ohne SV2A nicht an synaptische Vesikel binden kann [Lynch et al. 2004]. Außerdem wurde bei genetisch manipulierten, geräuschsensitiven Mäusen eine überzeugende Korrelation zwischen Affinität der untersuchten LEV-Derivate zu SV2A und der antikonvulsiven Wirkung der Substanz nachgewiesen [Lynch et al. 2004]. Zwei weitere Studien ergaben, dass das LEV-Derivat mit einer hohen Stereoselektivität sowohl spinal als auch cerebral an das Vesikelprotein bindet [Lambeng et al. 2005; Lambeng et al. 2006].

Der genaue molekulare Wirkmechanismus von SV2A ist unklar. Das multimodal wirkende Glykoprotein scheint aber präsynaptische Vesikel in einen fusionsfähigen Zustand mit der präsynaptischen Membran zu versetzen [Xu und Bajjalieh 2001] und an der Neurotransmitterfreisetzung insbesondere über Reduktion der spannungsabhängigen GABA-Transmission beteiligt zu sein [Crowder et al. 1999].

1.2.1.1 Wirkung über Ionenkanäle

LEV zeigt *in vitro* keine signifikante Affinität zu Ionenkanälen wie z.B. Natrium- und Kalziumkanälen.

Der Nachweis einer Reduktion des hochspannungsabhängigen Kalziumeinstroms in das synaptische Endköpfchen durch LEV gelang *in vitro* an hippokampalen Zellen von

Ratten [Niespodziany et al. 2001]. Differenzierungen durch intrazelluläre Ableitungen mithilfe der „Membranfleckmethode“ („patch-clamp-recording“) wiesen eine partielle, irreversible Inhibition des N-Typ-Kalziumkanals nach [Lukyanetz et al. 2002].

LEV führte durch einen natriumvermittelten Prozess zu einer Senkung des intrazellulären pH-Wertes [Leniger et al. 2004] und zu einer moderaten Reduktion des spannungsabhängigen Kaliumstroms nach Applikation von LEV [Madeja et al. 2003].

1.2.1.2 Wirkung über Neurotransmitter

LEV zeigt in vitro keine signifikante Affinität zu zahlreichen Rezeptoren von Neurotransmittern wie z.B. Glutamat-, GABA-, Acetylcholin- und Dopaminrezeptoren [Noyer et al. 1995].

In vitro erzielt LEV sowohl nach einmaliger als auch nach wiederholter Verabreichung keine signifikante Änderung der Konzentration von GABA, Glutamat und Glutamin und der Aktivität des GABA-aufbauenden Enzyms GABA-Transaminase (GABA-T) und des GABA-abbauenden Enzyms Glutamatsäuredecarboxylase (GAD) [Sills et al. 1997]. Da LEV unter in-vivo-Bedingungen beide Enzyme signifikant beeinflusst, wurde angenommen, dass LEV postsynaptisch in das GABAerge System eingreift und auf diese Weise indirekt eine Wirkung auf beide Enzyme ausübt [Loscher et al. 1996].

In-vitro-Untersuchungen von Rigo et al. ergaben Hinweise auf eine inhibitorische Wirkung von LEV auf die Hemmung von GABA_A- und Glycin-abhängigen Kanälen durch negative Modulatoren wie Zink [Rigo et al. 2002].

1.2.2 Pharmakokinetik

1.2.2.1 Absorption und Verteilung

Levetiracetam unterliegt einer schnellen enteralen Absorption. Die maximale Plasmakonzentration wird circa eine Stunde nach oraler Gabe erreicht [Patsalos 2000]. Eine steady-state-Konzentration wird bei zweimaliger täglicher Einnahme nach zwei Tagen erlangt [Patsalos 2000].

Die Bioverfügbarkeit nach oraler Gabe beträgt fast 100 %. Dabei verringert Nahrungsaufnahme nicht das Ausmaß sondern nur die Geschwindigkeit der Absorption

[Patsalos 2000]. Weniger als 10 % des Medikaments wird im Serum an Proteine gebunden [Patsalos 2000].

1.2.2.2 Metabolismus

LEV unterliegt keinem hepatischen Metabolismus [Nicolas et al. 1999].

24 % der absorbierten Substanz wird im Blut über eine Serinesterase durch enzymatische Hydrolyse in den Hauptmetaboliten ucb LO57 umgewandelt [Patsalos 2000]. Dieser Metabolit erwies sich in anfallsprovozierenden Tierversuchen als unwirksam und zeigte nur eine geringere Affinität zur spezifischen Bindungsstelle von LEV [Klitgaard et al. 1998].

1.2.2.3 Elimination

Die Plasmahalbwertszeit von LEV beträgt bei Erwachsenen 6-8 Stunden und ist unabhängig von Dosierung und Frequenz der Applikation [Perucca und Bialer 1996]. LEV wird durch glomeruläre Sekretion und nachfolgender tubulärer Reabsorption zu 66% unverändert über die Niere ausgeschieden [Patsalos 2000]. Infolge einer Niereninsuffizienz sinkt die Ausscheidung und eine Dosisreduktion ist erforderlich [Patsalos 2000].

1.2.3 Wechselwirkungen

Bei Epilepsiepatienten beeinflusst LEV nicht die Serumkonzentration von Carbamazepin, Lamotrigin, Phenobarbital, Primidon und Gabapentin [Browne et al. 2000; Gidal et al. 2005]. Dahingegen führte eine Studie an 297 Patienten eine Komedikation von LEV mit Carbamazepin und Phenytoin zu einer Senkung der Serumkonzentration von LEV um 20 bis 30 % [May et al. 2003].

1.2.4 Nebenwirkungen

LEV gilt als sehr gut verträglich. Im Rahmen von vier plazebokontrollierten Doppelblindstudien mit insgesamt 1023 Patienten mit Levetiracetam-Dauermedikation

als Add-on-Therapie oder als Monotherapie traten am häufigsten die in Abbildung 3 und in Tabelle 1 dargestellten unerwünschten Ereignisse auf [Ben-Menachem und Falter 2000; Betts et al. 2000; Cereghino et al. 2000; Shorvon et al. 2000].

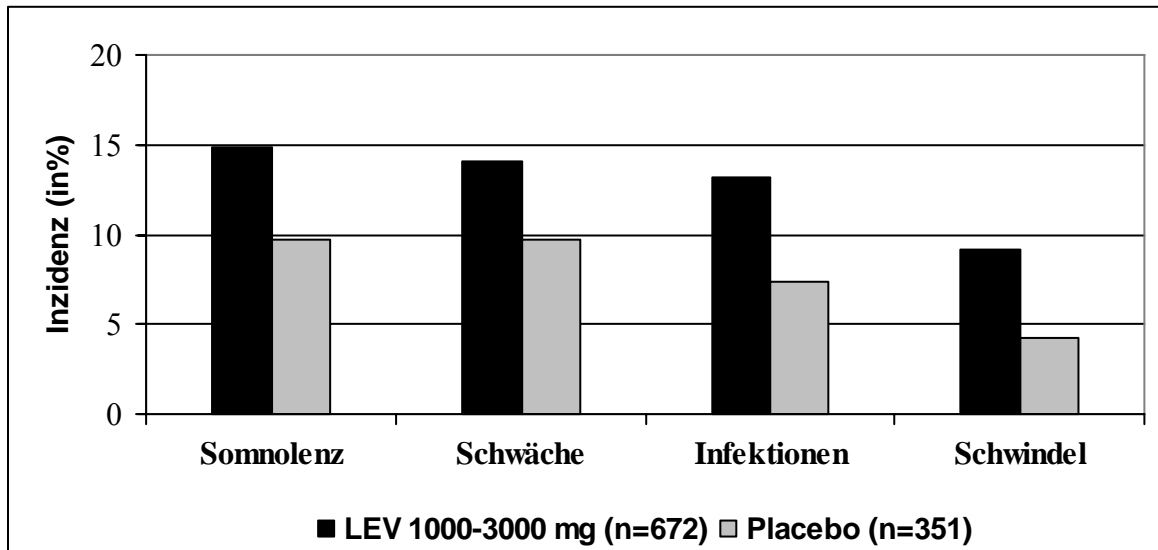


Abbildung 3: Häufigste unerwünschte Wirkungen nach Levetiracetam und Placebo bei Patienten.

Weitere seltenere Nebenwirkungen wurden unter LEV signifikant häufiger als unter Placebo beobachtet:

Tabelle 1: Darstellung von Nebenwirkungen bei 672 Patienten mit LEV-Therapie mit einer Dosis von 1000 mg bis 3000 mg im Vergleich zu 351 Patienten mit Placebo.

Nebenwirkungen (in%)	Levetiracetam	Placebo
Amnesie	1,6	0,3
Emotionale Labilität	1,6	0,3
Feindseligkeit	2,1	0,6
Nervosität	3,9	1,7

1.3 Transkranielle Magnetstimulation (TMS)

1.3.1 Historische Entwicklung

Bereits Fritsch und Hitzig gelang es 1870, durch elektrische Stimulation des Kortex eines exponierten Hundehirns eine Kontraktion der kontralateralen Körperhälfte zu erzeugen. Erst 1954 führten Gualtierrotti und Paterson eine für die klinische Routine zu schmerzhaft elektrische Reizung des humanen Kortex bei intakter Schädeldecke durch.

Merton und Morton gelang es 1980, die transkranielle elektrische Stimulation salonfähig zu machen, indem durch höhere Spannungsintensitäten und kürzere Impulsanstiegszeiten eine Schmerzreduktion erzielt wurde.

Polson und Mitarbeiter gelang 1982 mithilfe eines Magnetstimulators die transkutane Reizung peripherer Nerven. Nach Weiterentwicklung dieses Stimulators etablierten Barker et al. kurze Zeit später die transkranielle Magnetstimulation (TMS) am Menschen [Barker et al. 1987].

Die Vorteile dieser technisch einfach durchführbaren, risikoarmen und nahezu schmerzlosen nichtinvasiven Untersuchungsmethode erleichterten den raschen Einzug in die Basisdiagnostik neurologischer Erkrankungen [Barker et al. 1986].

1.3.2 Grundlagen der transkraniellen Magnetstimulation

Die transkranielle Magnetstimulation besteht aus zwei Grundelementen, dem Magnetstimulator und einer Spule.

Die Abbildung 4 zeigt den Aufbau eines Magnetstimulators.

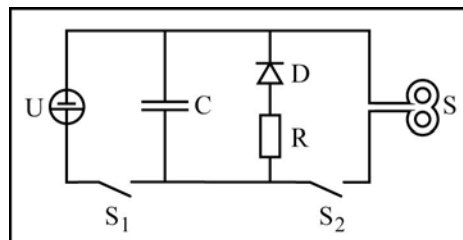


Abbildung 4: Schematischer Aufbau eines Magnetstimulators. Netzanschluss (U), Kondensator (C), Diode (D), Widerstand (R), Spule (S), Schalter 1 (S₁), Schalter 2 (S₂) [modifiziert nach Polson et al. 1982].

Über einen Netzanschluss wird ein hoch-kapazitiver Kondensator aufgeladen. Durch Schließen des Schalters (S₂) zwischen Kondensator und Kupferspule erfolgt eine schnelle Entladung des Kondensators und damit ein kurzer und intensiver Stromfluss durch die Kupferspule.

Das entstehende Magnetfeld mit einer magnetischen Flussdichte von bis zu 2,2 Tesla induziert nach dem Prinzip der elektromagnetischen Induktion einen Stromfluss von bis zu 15.000 Ampère in anderen elektrischen Leitern wie z.B. dem Motorkortex.

Da der induzierte Strom der Änderungsgeschwindigkeit des Magnetfeldes proportional ist, weist der optimale Magnetfeldpuls eine möglichst große Anstiegssteilheit auf. Um einen relevanten entgegenwirkenden Stromfluss im elektrischen Leiter (z.B.

Hirngewebe) zu vermeiden, fällt der Magnetfeldspuls in der Abklingphase relativ langsam wieder ab. Ein parallel eingeschalteter Widerstand gewährleistet das optimale Magnetfeldprofil (siehe Abbildung 5).

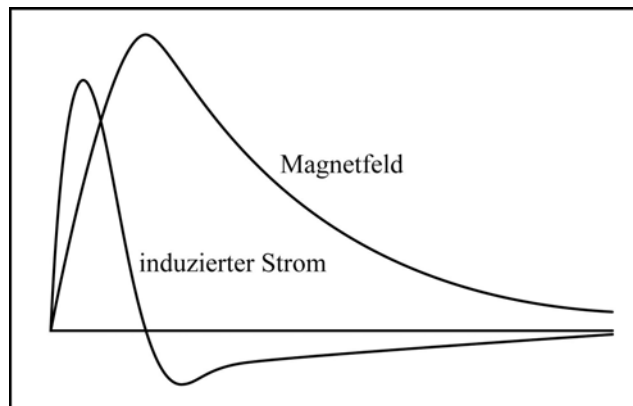


Abbildung 5: Zeitlicher Verlauf eines Magnetfeldimpulses [Hess und Ludin 1988].

Bei senkrechter Ausrichtung des Magnetfeldes zur Schädelkalotte entsteht ein dem Spulenstrom entgegengesetzter Induktionsstrom im Kortex, der parallel zur Spulenebene verläuft. Auf diese Weise werden vor allem parallel zur Kortexoberfläche verlaufende Nervenfasern erregt, sobald der induzierte Strom die neuronale Reizschwelle überschreitet [Roth et al. 1991; Tofts 1990].

Da sich der Induktionsstrom umgekehrt proportional zum Gewebewiderstand verhält, reizen induzierte Hautströme kaum die Schmerzrezeptoren [Mills et al. 1992]. Dies ist der Grund für die geringe Schmerzbelastung dieses Verfahrens [Barker et al. 1987].

Da die Magnetfeldstärke überproportional mit der Entfernung von der Spule abnimmt, ist die Eindringtiefe auf wenige Zentimeter beschränkt [Roth et al. 1991] (siehe Abbildung 6).

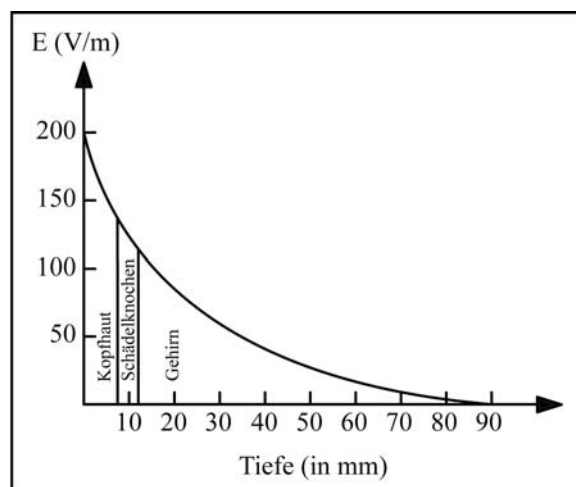


Abbildung 6: Magnetfeldstärke (E) im Verhältnis zur Eindringtiefe [modifiziert nach Roth et al. 1991].

Untersuchungen von Epstein und Rudiak zufolge findet bei niedrigen Stimulusintensitäten eine effektive Erregung neuronaler Strukturen in einer Tiefe von circa zwei Zentimetern statt [Epstein et al. 1990; Rudiak und Marg 1994].

Es kommen zwei Spulentypen, eine Rundspule und eine Doppelspule, zur Anwendung. Im Gegensatz zur Rundspule mit torusförmiger Magnetfeldausbreitung ermöglichen 8-förmige Doppelspulen – so genannten Schmetterlingsspulen - eine deutlich fokalerere kortikale Stimulation mit maximaler Magnetfeldstärke unter dem Zentrum der Spule [Amassian et al. 1989; Cohen et al. 1990; Roth et al. 1991].

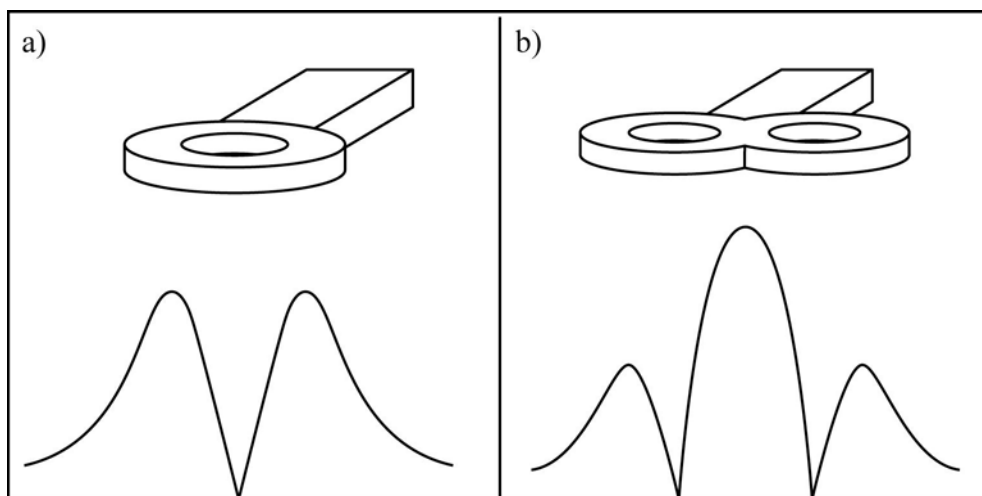


Abbildung 7: Darstellung der Einzelspule (a) und der Doppelspule (b) mit dem unter der Spule generierten Magnetfeldprofil.

1954 leiteten Patton und Amassian nach einem einzigen elektrischen Stimulus am exponierten Kortex von Affen repetitive Entladungen der deszendierenden Pyramidenzellen im Rückenmark ab. Sie postulierten, dass die erste Salve durch direkte Stimulation der Nervenzellen am Axonhügel oder an einem der ersten Schnürringe evoziert würde und nannten sie infolgedessen direkte Welle (D-Welle). Dieser Reizmechanismus wurde durch Tierexperimente an Affen bestätigt [Hern et al. 1962]. Darauf folgende verzögerte Salven führten sie auf eine indirekte transsynaptische Erregung über Interneurone zurück und nannten diese deshalb indirekte Wellen (I-Wellen) [Day et al. 1987]. Derzeit herrscht Übereinkunft, dass bei der transkraniellen Magnetstimulation bei niedrigen Intensitäten und senkrecht zum Kortex verlaufenden Induktionsströmen transsynaptisch über intrakortikale Interneurone aktivierte I-Wellen entstehen [Day et al. 1987; Ziemann et al. 1998b]. Bei nicht korrekt ausgerichteter Spulenebene und zu hohen Stimulusintensitäten entstehen allerdings auch D-Wellen mit einer geringeren Latenz [Nakamura et al. 1997].

1.3.3 Sicherheitsaspekte der transkraniellen Magnetstimulation

TMS gilt unter Berücksichtigung der Ausschlusskriterien als eine sichere Methode [Bridgers und Delaney 1989; Chokroverty et al. 1995; Dressler et al. 1990]. Obgleich Einzelfalldarstellungen über die Induktion epileptischer Anfälle bei Epilepsiepatienten existieren [Classen et al. 1995; Fauth et al. 1992; Kandler 1990], erbrachten nur Classen et al. einen reproduzierbaren und sicheren Nachweis der Auslösung von epileptischen Anfällen bei einem Epilepsiepatienten mit dem epileptogenen Fokus direkt unter der Spule [Classen et al. 1995; Gates et al. 1992].

Histologische Untersuchungen zeigten keine signifikanten Veränderungen des Temporallappens nach Applikation von 2000 Magnetstimuli bei Epilepsiepatienten [Classen et al. 1995; Gates et al. 1992].

Bei hohen Intensitäten wurden während der Applikation signifikante Kurzzeitgedächtnisstörungen beobachtet. Außerdem verlangsamt sich während des Magnetpulses die Reaktionszeit [Pascual-Leone et al. 1992].

1.3.4 Einführung in die Variablen der Exzitabilität des Motorkortex

1.3.4.1 Motorische Schwelle und MEP-Amplitude

Die motorische Schwelle („motor threshold“, MT) bezeichnet die minimale Reizstärke, die benötigt wird, um in einem Zielmuskel ein gerade eben messbares motorisch evoziertes Potential (MEP) zu erzielen. Die motorischen Schwellen werden zum einen bei Entspannung des Zielmuskels als so genannte motorische Ruheschwelle („resting motor threshold“, RMT) und zum anderen unter Fazilitierung (willkürliche tonische Kontraktion) als so genannte aktive motorische Schwelle („aktive motor threshold“, AMT) ermittelt. Die niedrigsten Schwellen weisen die intrinsischen Handmuskeln auf [Wassermann et al. 1992].

Eine Vorinnervation erhöht die Exzitabilität kortikospinaler Neurone [Datta et al. 1989] und führt zu einer Zunahme der Anzahl und der Größe von I-Wellen [Di Lazzaro et al. 1998]. Deshalb wird unter Vorinnervation bei unveränderter Reizstärke sowohl eine höhere Amplitude des MEPs als auch eine niedrigere Schwelle erzielt [Claus et al. 1988; Hess et al. 1987]. Die Auswirkung der Fazilitierung auf die MEP-Amplitude steht

nicht wie bei der elektrischen Kortexstimulation in einem linearen Verhältnis zur Kontraktionsstärke des Zielmuskels, sondern erreicht schon bei circa 10 % der möglichen Kontraktionsfähigkeit das Maximum [Hess et al. 1988]. Die physiologischen Grundlagen der motorischen Schwellen sind im Detail noch unverstanden. Weitgehend besteht Konsens darüber, dass die MT sowohl von membrangebundenen Regulationsmechanismen und dabei insbesondere von der Leitfähigkeit von Ionenkanälen als auch von der Anzahl erregter kortikospinaler Neurone und der neuromuskulären Übertragung abhängt [Manganotti et al. 1999; Reis et al. 2002; Ziemann et al. 1996b].

1.3.4.2 Recruitment Curve

Unter der Recruitment Curve (RC) wird der Anstieg der MEP-Amplitude bei zunehmender transkranieller Stimulusintensität verstanden. Üblicherweise wird die MEP-Amplitude in das Verhältnis zum maximalen Muskelsummenpotential („maximal compound muscle action potentials“, mCMAP) gesetzt, das mittels supramaximaler, elektrischer Nervenstimulation peripherer Nerven erhoben wird [Facchini et al. 2002; Sohn et al. 2001]. Dies erlaubt eine anteilige Erfassung der durch die transkranielle Magnetstimulation aktivierten spinalen α -Motorneuronen.

Während bei niedrigen Stimulusintensitäten kortikale Neurone mit niedriger Schwelle erregt werden, werden bei höheren Intensitäten in zunehmendem Maße auch Neurone mit höheren Schwellen und größerer Entfernung rekrutiert [Facchini et al. 2002; Sohn et al. 2001]. Hierdurch erhöht sich die Summe der deszendierenden Erregungen und führt zu einer Konvergenz der Erregungen auf einzelne spinale Motorneurone und damit zu einer erhöhten Anzahl überschwellig erregter Neuronen. Durch eine verbesserte zeitliche Erregungssummation entstehen zudem Mehrfachentladungen von spinalen Motorneuronen [Zanette et al. 2004].

Aus pharmakologischen TMS-Studien lässt sich ableiten, dass sowohl membrangebundene als auch GABAergen und monoaminerge Mechanismen der RC zugrunde liegen [Borojerdi et al. 2001].

Daraus wird verständlich, dass die RC zwar einen sensitiven, aber eher unspezifischen Parameter zur Erfassung der kortikalen Exzitabilität darstellt.

1.3.4.3 Kortikal induzierte Postinnervationsstille

Die kortikal induzierte Postinnervationsstille („cortical stimulation induced silent period“, CSP) stellt eine transitorische Verminderung oder Suppression der Aktivität des Elektromyogramms während willkürlicher Muskelanspannung des Zielmuskels nach einem Magnetstimulus dar [Cantello et al. 1992; Holmgren et al. 1990] (siehe Abbildung 8).

Die Dauer der CSP verlängert sich zwar annähernd proportional zur Stimulusintensität [Inghilleri et al. 1993; Kukowski und Haug 1992; Wilson et al. 1993], wird durch das Ausmaß der Vorinnervation des Zielmuskels jedoch kaum beeinflusst [Inghilleri et al. 1993; Kukowski und Haug 1992; Wilson et al. 1993].

Untersuchungen mit H-Reflexen, die einen Rückschluss auf den Erregungszustand von spinalen α -Motorneuronen ermöglichen, zeigten eine deutliche Suppression der α -Motorneurone während der frühen Phase der CSP, jedoch eine Normalisierung der Aktivität der Neurone während der späten Phase [Fuhr et al. 1991].

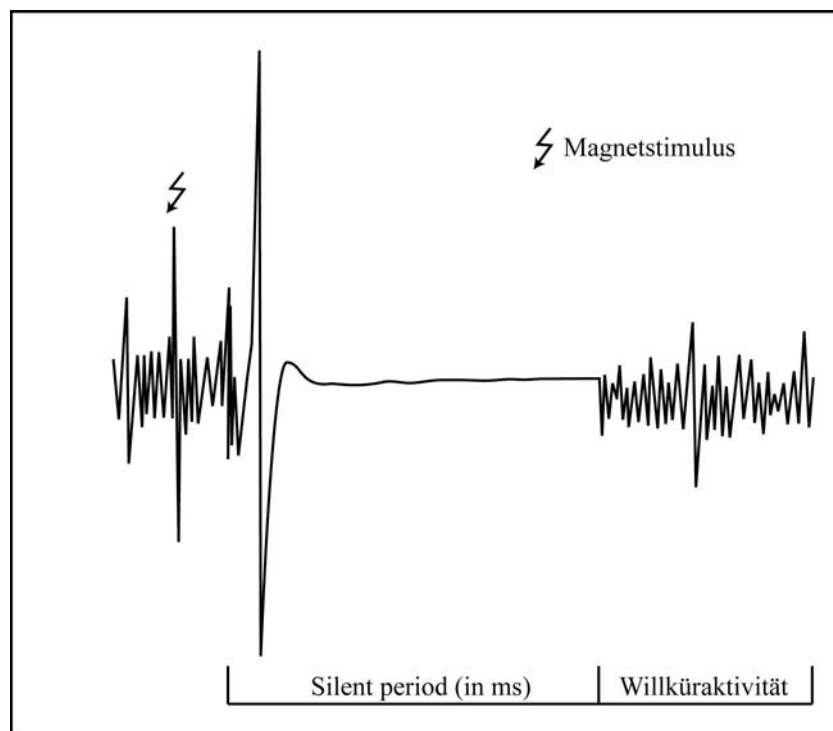


Abbildung 8: Schematische Darstellung einer CSP.

Dies führt zu der Annahme, dass die frühe Phase der CSP auf spinale Mechanismen mit Unterdrückung der α -Motorneurone und die späte Phase auf supraspinalen Prozessen

beruhen [Cantello et al. 1992; Inghilleri et al. 1993; Robinson et al. 1993; Roick et al. 1993].

1.3.4.4 Intrakortikale Inhibition und intrakortikale Fazilitation

Bei der TMS-Doppelstimulation werden zwei Stimuli in kurzen zeitlichen Abständen durch die gleiche Spule appliziert. Damit kann die Auswirkung des ersten, unterschwelligeren so genannten konditionierenden Reizes (CR) auf die durch den Testreiz (TR) evozierte Amplitude des MEPs gemessen werden. Die Intensität des konditionierenden Reizes wird so niedrig gewählt, dass der Stimulus keine kortikospinalen Erregungen auslöst und folglich keine Kontraktion des Zielmuskels bewirkt. Bei Interstimulusintervallen von 1 bis 6 ms führt der CR zu einer Inhibition der MEP-Amplitude (intrakortikale Inhibition, ICI) und bei Interstimulusintervallen von 7 bis 20 ms zu einer Zunahme der MEP-Amplitude (intrakortikale Fazilitation, ICF) (siehe Abbildung 9).

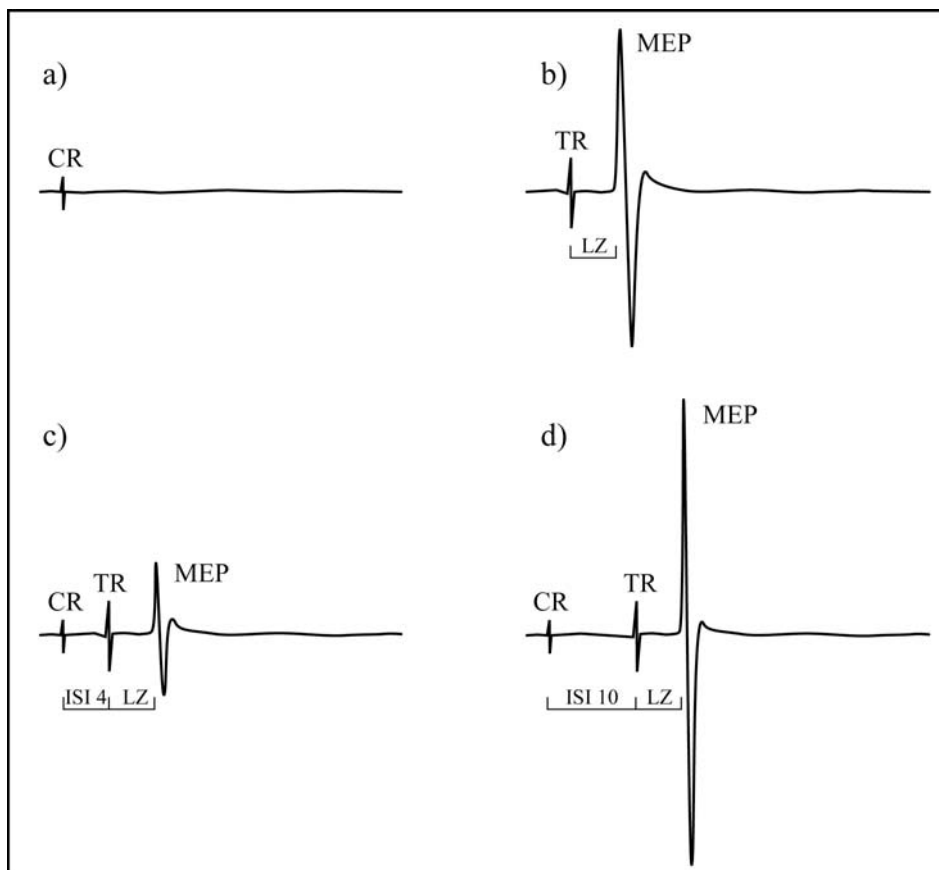


Abbildung 9: Schematische Darstellung der MEP-Amplituden des CR (a) und des TR (b) als Einzelstimulus. Gemeinsame Applikation der beiden Reize bei einem Interstimulusintervall von 4 ms (c) und 10 ms (d). Latenzzeit (LZ).

Es wird angenommen, dass der konditionierende Reiz zur Aktivierung von inhibitorischen und exzitatorischen Interneuronen im Kortex führt und damit die MEP-Amplitude des Testreizes beeinflusst [Kujirai et al. 1993; Ziemann et al. 1996b].

1.3.5 Charakterisierung von Antiepileptika mit TMS

Die transkranielle Magnetstimulation ermöglicht durch Bestimmung der bereits erläuterten Parameter eine Untersuchung des Wirkmechanismus von zentralwirksamen Substanzen. Tabelle 2 stellt Ergebnisse von TMS-Studien mit wichtigen AEDs dar.

Tabelle 2: Signifikante Veränderungen von TMS-Parametern bei acht Antiepileptika.

	MT	ICI	ICF	CSP	RC
Carbamzepin	↑	=	=	↑	
Lamotrigin	↑	↑ (ISI 2)	=	=	↓
Phenytoin	↑	=	=	=	
Topiramal	=	↑	=	=	
Vigabatrin	=	=	↓	=	
Gabapentin	=	↑	↓	↑	
Lorazepam	=	↑	↓	↑	↓
Tiagabin	=	↓	↑	↑	

1.4 Fragestellungen

Im Rahmen dieser Studie wurde mithilfe der TMS der Wirkmechanismus des Antiepileptikums Levetiracetam im humanen Motorkortex untersucht. Dies ist angesichts der relativ unbekanntem Wirkungsweise des Medikamentes von besonderem Interesse.

Auf folgende Fragestellungen sollten im Detail eingegangen werden:

1. Beeinflusst eine einmalige orale Verabreichung von 500 mg bzw. 2000 mg LEV die Parameter der Exzitabilität des humanen Motorkortex?
2. Welche Nebenwirkungen werden beobachtet? Entsprechen diese den Nebenwirkungen den bisher publizierten?
3. Kann der Einfluss von LEV auf die Exzitabilität des menschlichen Motorkortex mittels TMS gemessen werden?
4. Gibt es Placeboeffekte?

2 Probanden und Methodik

Die prospektive, doppelblinde und pseudorandomisierte Studie wurde von Februar 2001 bis April 2002 in der elektrophysiologischen Abteilung der Neurologischen Klinik der Philipps-Universität Marburg durchgeführt. Der Studie ging eine Beratung durch das Institut für Biomathematik der Philipps-Universität Marburg (Herr PD Dr. H. H. Müller) voraus. Durchführung und Ziele der Studie wurden in einem Studienprotokoll festgelegt und mit einem Antrag an die Ethikkommission der Philipps-Universität Marburg eingereicht. Daraufhin wurde die Studie vor dem Hintergrund der Deklaration von Helsinki von der Ethikkommission genehmigt.

2.1 Probanden

Vor Beginn einer Untersuchungsreihe wurde den Teilnehmern zur Aufklärung eine Probandeninformation ausgehändigt und eventuelle Fragen beantwortet. Außerdem wurde die Händigkeit der Probanden mithilfe des Edinburgh-Händigkeits-Fragebogen bestimmt.

2.1.1 Aufnahme in die Studie

Die Aufnahmekriterien für die Studie waren ein Probandenalter zwischen 18 und 75 Jahren und eine unterschriebene Einverständniserklärung. Zudem musste sich der Proband bereit erklären, auf die Einnahme von zentralwirksamen Substanzen einschließlich Alkohol und Drogen in den letzten 24 Stunden vor Untersuchungsbeginn zu verzichten.

2.1.1.1 Ausschlusskriterien

Ausgeschlossen von der Studie wurden Probanden mit folgenden Kriterien:

- Schwere neurologische Erkrankung (z.B. Epilepsie, Multiple Sklerose)
- Bekannte Unverträglichkeit gegen die Studienmedikation
- Psychiatrische Erkrankung (z. B. Psychosen)
- Suizidversuch in der Anamnese

- Schwere Lebererkrankung (z. B. Hepatitis, Leberzirrhose, M. Wilson)
- Mäßige bis schwere Niereninsuffizienz
- Schwere gastrointestinale Erkrankung (z.B.Ulkus)
- Schwere Herz-Kreislauf-Erkrankung (z. B. Herzinfarkt)
- Schwere endokrine Störung
- Onkologische Erkrankungen
- Teilnahme an einer anderen Medikamentenstudie während des Untersuchungszeit raumes
- Schwangerschaft oder Stillzeit
- Andere Erkrankungen , die sich nachteilig auf die Ergebnisse der Studie oder die Gesundheit des Probanden auswirken könnten

2.1.1.2 Abbruchkriterien

Die Studie konnte zu jedem Zeitpunkt abgebrochen werden:

- auf Wunsch des Probanden ohne Anführung von Gründen
- bei bekannt werden oder Auftreten von Ausschlusskriterien

Kein Proband musste die Studie vorzeitig beenden.

2.2 Studienmedikation

Die gesamte Studienmedikation wurde vor Zuteilung der Reihenfolge der Dosierungen zu Probandennummern gemörsert. So konnte eine Zuordnung zu Placebo oder LEV sowohl vom Proband als auch vom Untersucher nicht erfolgen.

2.2.1 Levetiracetam

Bekanntermaßen entfaltet LEV bei Tagesdosen von 500 mg bis 2000 mg in der klinischen Praxis antiepileptische Wirkung [Betts et al. 2000; Grant und Shorvon 2000; Shorvon et al. 2000]. Um sowohl eine ausreichende Wirkung als auch ein vertretbares Nebenwirkungsprofil zu gewährleisten, wurden bei jedem Probanden einmal 500 mg und einmal 2000 mg LEV oral verabreicht.

2.2.2 Placebo

Als Placebo-Präparat diente die „P-Tablette weiß Lichtenstein 7 mm“ der Pharmafirma „Lichtenstein Pharmazeutica“.

2.2.3 Geschmacksstoffe

Jeder Studienmedikation wurde eine Spur Chininhydrochlorid-Pulver zugefügt. Auf diese Weise wurde eine geschmackliche Zuordnung unterbunden.

2.3 Versuchsdurchführung

Die Versuchsdurchführung folgte der Studie von Reis et. al. [Reis et al. 2002].

Jeder Proband nahm an drei Sitzungen teil. Während einer Sitzung erfolgte die Messungen der TMS-Parameter sowohl vor (Baseline, BSL) als auch 2 Stunden nach (MED) oraler Verabreichung von Placebo oder 500 mg oder 2000 mg LEV.

Sowohl der Proband als auch der Untersucher und Auswerter waren über die Reihenfolge der verabreichten Dosierungen bis zum Abschluss der Untersuchungsreihe verblindet. Die Aufteilung der Medikation erfolgte durch den Untersuchungsleiter Professor Dr. F. Rosenow.

Eine Sitzung dauerte ungefähr drei Stunden. Der Abstand zweier Untersuchungen durfte maximal 28 Tage und minimal drei Tagen betragen, um zu gewährleisten, dass die vorherige Medikation die Ergebnisse nicht mehr beeinflusste.

2.3.1 Ableitung

Die Probanden setzten sich zu Beginn der Untersuchung in halb sitzender Position auf einen bequemen Untersuchungsstuhl. Der Kopf wurde mit einer Kopfstütze in Neutralstellung fixiert und die Unterarme wurden in entspannter Haltung auf die Armlehnen abgelegt. Das EMG ermöglicht mithilfe zweier Oberflächenelektroden die Ableitung von MEPs von Muskeln. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die MEPs des Musculus abductor digiti minimi (ADM) registriert, der kontralateral zur dominanten Hemisphäre lag. Dazu wurde die differente Elektrode über dem Muskelbauch und die Referenzelektrode über der Sehne des ADM im Bereich des ersten Interphalangealgelenkes des kleinen Fingers mit durchsichtiger, selbstklebender

Folie fixiert (so genannte Tendon-Belly-Methode). Zur Minderung des Hautwiderstandes wurde die Haut zuvor mit einer Bürste aufgeraut und die Elektroden mit Elektrodengel benetzt. Außerdem wurde ein Masseband am Unterarm befestigt und geerdet. Die Positionierung der Elektroden und der Kontraktionszustand des Zielmuskels konnte laufend audiovisuell mithilfe eines Oszillographen überprüft werden.

Kontraktion anderer Muskelpartien, Sprechen oder Kauen sollten wegen der nachgewiesenen faszilitierenden Wirkung auf die MEP-Amplitude unterlassen werden [Hess et al. 1987; Izumi et al. 1995; Muellbacher et al. 2000].

2.3.2 Datenaufzeichnung

Zunächst wurden die EMG-Rohsignale über einen Differenzverstärker geleitet. Dieser verstärkt proportional die Differenz zweier Eingänge. Danach wurden die Potentiale mit einer unteren Grenzfrequenz von 20 Hz und einer oberen Grenzfrequenz von 10 kHz gefiltert und digitalisiert. Die Datenanalyse, Paradigmeneinstellung und Speicherung erfolgte daraufhin durch ein spezielles Computerprogramm (Magnetix®, Dipl.-Ing. J. Ditterich, Zentrum für sensomotorische Forschung, München, D).

2.3.3 Stimulation

Für die Applikation transkranieller Magnetstimuli standen zwei Magnetstimulatoren, ein Verbindungsmodul (BiStim®-Modul) und eine Schmetterlingsspule zur Verfügung (alle Geräte von der Firma Magstim Company, Dyfed, UK).

Im Rahmen der Doppelstimulation bietet das BiStim®-Modul die Möglichkeit, sowohl den konditionierenden Reiz als auch den Testreiz in kurzen zeitlichen Abständen über die gleiche Spule zu applizieren. Die Reizintensität kann in 1 %-Schritten der maximalen Ausgangsleistung des Magnetstimulators reguliert werden.

Um eine möglichst fokale Erregung des Motorkortex zu gewährleisten, wurde die Schmetterlingsspule gewählt, wodurch eine Fokussierung der elektrischen Feldstärke unter dem Spulenzentrum ermöglicht wurde [Cohen und Cuffin 1991; Yunokuchi und Cohen 1991].

Die Spule wurde tangential mit nach dorsolateral weisendem Spulengriff in einem Winkel von 45 Grad zur Sagitalebene über der Kalotte der dominanten Hemisphäre positioniert.

Auf diese Weise wird ein kortikaler Induktionsstrom, der von posterior nach anterior und praktisch rechtwinklig zum Sulcus centralis fließt, erzeugt. Dadurch wird eine optimale transsynaptische Erregung des Motorkortex gewährleistet [Brasil-Neto et al. 1992; Mills et al. 1992]. Die Lokalisation des Gyrus praecentralis unterliegt in anterioposteriorer Ausrichtung eine interindividuelle Variabilität von circa zwei Zentimetern [Meyer et al. 1991].

Aus diesem Grund waren zur individuellen Bestimmung des optimalen Reizortes zu Beginn der Untersuchung einige Leerversuche notwendig.

Die Spule wurde zentimeterweise bewegt, bis bei einer Stimulusintensität von ca. 50 % der maximalen Ausgangsleistung des Magnetstimulators die größte EMG-Amplitude im ADM abgeleitet wurde. Die Position wurde auf der Kopfhaut mit einem Filzstift markiert, um eine bessere Reproduzierbarkeit bei erneuter Stimulation zu gewährleisten.

2.3.4 Stimulationsparameter

Zur Untersuchung der kortikalen Exzitabilität wurden vor Studienbeginn folgende TMS-Parameter definiert und in unten dargestellter Reihenfolge erhoben. Bis auf die Parameter ICI und ICF wurden alle Variablen mithilfe der Einzellstimulation, d.h. mit nur einem Stimulator, ermittelt. Die Angabe der Intensitäten erfolgte in Prozent der maximalen Stimulatorengangsleistung.

2.3.4.1 Testreiz

Als Testreiz (TR) wurde die Intensität definiert, die nötig war, um eine konstante Evozierung einer peak-to-peak-MEP-Amplitude (Addition der negativen und positiven Amplitude) von 1-1,5 mV zu gewährleisten. Vor dem Hintergrund einer interindividuellen Variabilität der kortikalen Exzitabilität lag der TR in der Regel zwischen 50 und 60 %.

Die Magnetreize wurden mit einem Abstand von fünf Sekunden appliziert.

2.3.4.2 Motorische Ruheschwelle

Die motorische Ruheschwelle wurde definiert als die niedrigste Reizstärke, bei der in mindestens vier von acht mit einem Abstand von fünf Sekunden aufeinander folgende Stimulationen eine peak-to-peak-EMG-Amplitude von mehr als 50 μV erzielten. Der Zielmuskel musste sich dabei im Ruhetonus befinden. Dies konnte audiovisuell anhand des Oszillographen kontrolliert werden.

2.3.4.3 Aktive motorische Schwelle

Die AMT wurde dagegen unter mäßiger Kontraktion der ADM bestimmt (circa 30 % der maximalen Kraft). Dies konnte wiederum oszillographisch überprüft werden. Hierbei mussten erneut mindestens vier von acht aufeinander folgende MEPs einer peak-to-peak-Amplitude von mindestens 50 μV überschreiten.

2.3.4.4 Kortikal induzierte Postinnervationsstille (CSP)

Unter aktiver Muskelanspannung des ADM wurde die CSP mit jeweils zehn Wiederholungen im Abstand von je zehn Sekunden bei den Stimulusintensitäten von 100 %, 110 %, 120 %, 130 % und 140 % der AMT bestimmt [Reis et al. 2002; Wilson et al. 1993]. Die CSP-Dauer wurde als Zeitspanne zwischen dem ersten Wendepunkt des stimulationsinduzierten MEPs bis zum ersten Wiedereintritt der EMG-Aktivität definiert. Der erste Wendepunkt wurde von der Software, das Ende der CSP vom Untersucher offline festgelegt. Für die zehn Wiederholungen der vier verschiedenen Intensitäten wurden jeweils die Durchschnittswerte berechnet.

2.3.4.5 Intrakortikale Inhibition und Fazilitation (ICI und ICF)

Diese Parameter wurden mithilfe der Doppelstimulation erhoben. Der konditionierende Reiz wurde auf 90 % der AMT gesetzt. Der darauf folgende überschwellige TR war bereits zu Beginn der Messreihe ermittelt worden (siehe 2.3.4.1.). Beide Reize wurden getrennt von je einen Stimulator generiert und mithilfe des BiStim®-Moduls über die gleiche Spule geleitet.

15 Testreizstimuli und 15 Doppelstimuli (CR und TR) wurden für jedes Interstimulusintervall (ISI) in einer von der Software randomisierten Reihenfolge im Abstand von fünf bis acht Sekunden generiert.

Die Applikation der Doppelstimuli erfolgte zur Erfassung der intrakortikalen Inhibition mit den Interstimulusabständen 2 ms, 3 ms und 4 ms und zur Erfassung der intrakortikalen Fazilitation mit den Interstimulusintervallen 10 ms und 15 ms in einer von der Software randomisierten Reihenfolge [Reis et al. 2002]. Die mit der Doppelstimulation erhobenen peak-to-peak-Amplituden wurden genauso wie die peak-to-peak-Amplituden der Einzelstimulation für jedes ISI gemittelt und die Durchschnittswerte der Doppelstimulation in Prozent der Einzelstimulation für jedes ISI ausgedrückt.

2.3.4.6 Recruitment Curve und maximales Summenaktionspotential

Bei Reizintensitäten von 100 %, 110 %, 120 % und 130 % der motorischen Ruheschwelle wurden jeweils zehn MEPs mit einem zeitlichen Abstand von fünf Sekunden vom entspannten Zielmuskel abgeleitet und aus den peak-to-peak-Amplituden der jeweiligen MEPs der Mittelwert gebildet.

Einmalig wurde zu Beginn einer Sitzung durch periphere, supramaximale Stimulation des Nervus ulnaris am Handgelenk das maximale Summenaktionspotential (CMAP) des Musculus abductor digiti minimi erfasst. Daraufhin wurden nach dreimaliger Stimulation die durchschnittlichen CMAP-Amplituden berechnet.

Die durch TMS induzierten peak-to-peak-Amplituden wurden hierauf in prozentualer Relation zu den CMAP-Amplituden gesetzt.

2.3.5 Nebenwirkungsscore

Zwei Stunden nach Verabreichung der Testsubstanz wurden vom Probanden die Nebenwirkungen anhand eines semiquantitativen Fragebogens mit Punkten auf einer Skala von null bis neun Punkte bewertet. Dabei entsprachen null Punkte keinen und neun Punkte maximalen Nebenwirkungen. Aus diesen Punkten wurde jeweils für Placebo, 500 mg LEV und 2000 mg LEV getrennt ein kumulativer Gesamtscore aller Angaben der zehn Probanden ermittelt. Der maximal zu erreichende Gesamtscore betrug 45 Punkte.

Ein Gesamtscore von kleiner 0,5 % des maximalen Scores wurde als sehr leichte Nebenwirkung, eine Score von 0,5 % bis 10 % als leichte Nebenwirkung, ein Gesamtscore von 10% bis 20% als mäßig und ein Score größer 20 % der maximalen Punktzahl als starke Nebenwirkung eingestuft.

2.4 Statistische Auswertung

Da für die erhobenen Daten nicht immer einer Normalverteilung angenommen werden konnte, wurde ein nichtparametrisches statistisches Verfahren gewählt.

Unter verbundenen Messreihen versteht man zwei Stichproben, die in Bezug auf Einflussgrößen und Störgrößen voneinander abhängen. Dies ist sowohl beim Vergleich von Daten vor und nach Medikamenteneinnahme als auch bei Prüfung zweier Medikamentendosierungen der Fall. Aus diesem Grund wurde der Vorzeichen-Rang-Test von Wilcoxon in der vorliegenden Studie angewandt.

Zur Prüfung der intraindividuellen Variabilität wurden die Baselines der motorischen Schwellen und der fünf Interstimulusintervalle der drei Sitzungen miteinander verglichen.

In der konfirmatorischen Analyse wurde 2000 mg LEV mit Placebo bezüglich der fünf Parameter MT, RC, CSP, ICF und ICI verglichen. Dazu wurden zunächst für jeden Probanden Durchschnittswerte berechnet. So wurden beispielsweise die Ergebnisse der RMT und AMT gemittelt und als MT bezeichnet und auf gleiche Weise ISI 2, ISI 3 und ISI 4 zur ICI und ISI 10 und ISI 15 zur ICF zusammengefasst. Nun wurden die Differenzen der Werte vor und nach Placebo mit der Differenzen der Ergebnisse vor und nach 2000 mg LEV mittels Wilcoxon-Rangtest verglichen.

Bereits im Studienprotokoll und Ethikantrag wurden ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ für die konfirmatorische Analyse vorgesehen. Nach Bonferroni-Korrektur für fünf Tests wurde ein p-Wert von $p < 0,01$ als signifikant betrachtet.

Bei der explanatorische Analyse wurden die BSL-Werte mit den MED-Werten einer Sitzung mittels Wilcoxon-Test verglichen. Daraus ergaben sich insgesamt 45 Tests.

Durch Anpassung des p-Wertes nach Bonferroni resultierte damit ein p-Wert von $< 0,001$ pro Test.

3 Ergebnisse

3.1 Probandenkollektiv

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden zehn Probanden, sechs Männer und vier Frauen, untersucht. Das Alter reichte von 22 bis 37 Jahre und betrug durchschnittlich $25,8 \pm 4,0$ Jahre. Alle Probanden waren Rechtshänder.

Keiner der 10 Probanden brach die Studie frühzeitig ab.

3.2 Baseline

Mithilfe des Vorzeichen-Rang-Tests für verbundene Stichproben wurde bei einem Signifikanzniveau von 0,0024 der Vergleich der Baselines der motorischen Schwellen und der Interstimulusintervalle der drei Messreihen durchgeführt. Dabei ergab sich in keinem der 21 Tests ein signifikanter Unterschied, so dass von einer geringen intraindividuellen Variabilität ausgegangen werden kann.

3.3 Motorische Schwellen

3.3.1 Konfirmatorische Analyse

Um die statistische Aussagekraft der Ergebnisse der Schwellenbestimmungen zu erhöhen, wurden die Ergebnisse der RMT und AMT zu MT zusammengefasst.

Die MT nahm zwei Stunden nach Einnahme von 2000 mg LEV im Vergleich zu Placebo signifikant zu ($p=0,0069$).

Der Anstieg scheint unter Berücksichtigung der Dosis von 500 mg LEV dosisabhängig zu sein, auch wenn zwei Stunden nach 500 mg LEV nur eine tendenzielle, nicht aber signifikante Schwellenerhöhung im Vergleich zu Placebo zu verzeichnen war.

Abbildung 10 stellt die MT nach Einnahme der Testsubstanz im Vergleich zur Baseline dar.

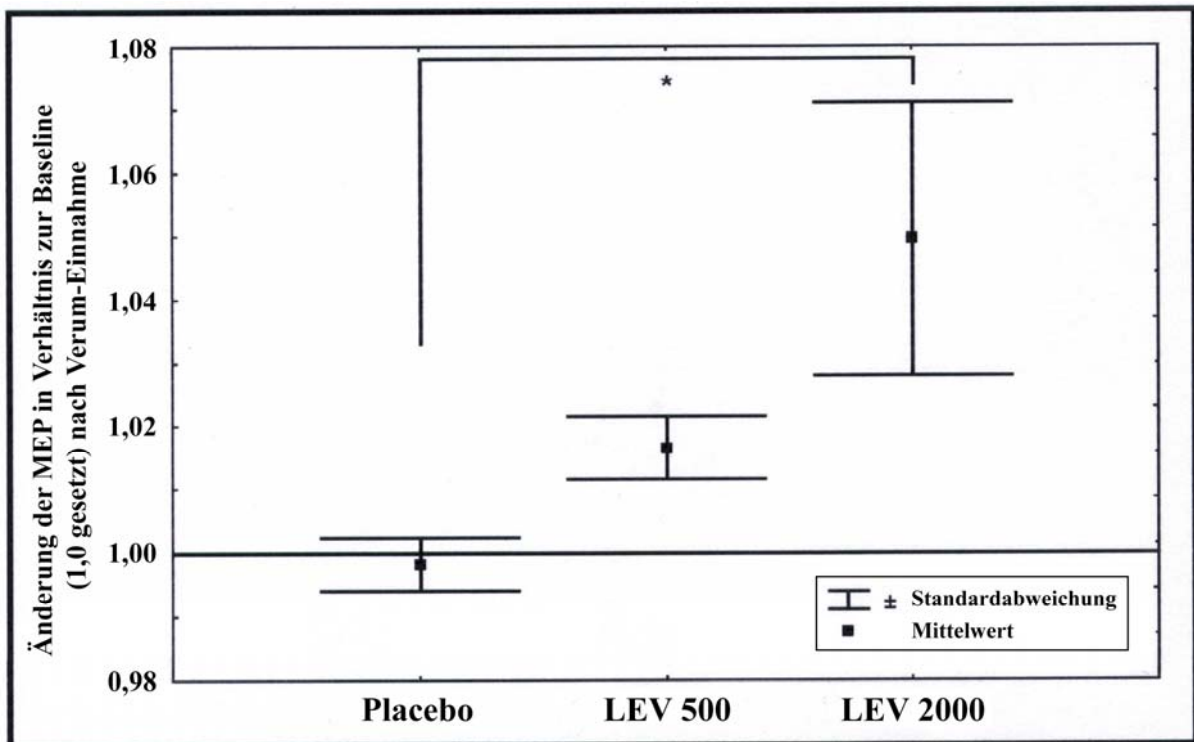


Abbildung 10: Darstellung der Differenzen der MT vor und nach Gabe von Placebo, LEV 500 mg und LEV 2000 mg im Vergleich zur Baseline (= 1,0 gesetzt) mit Angabe von Mittelwert und Standardabweichung. Der signifikante Schwellenanstieg zwei Stunden nach Einnahme von LEV 2000 mg im Vergleich zu Placebo ist mit (*) gekennzeichnet ($p < 0,01$).

3.3.2 Explanatorische Analyse

Die im Rahmen der Studie erhobenen Werte der RMT und AMT werden in Tabelle 3 sowie in den Abbildungen 11 und 12 für jeden Probanden im Einzelnen dargestellt. Ein Proband setzte sich durch deutlich geringere Schwellenwerte von den anderen ab (Proband 6).

Tabelle 3: Die RMT und AMT für jeden Probanden vor und zwei Stunden nach Medikamenteneinnahme in Prozent der maximalen Stimulatorausgangsleistung.

Motorische Ruheschwelle						
Proband	BSL	Placebo	BSL	500	BSL	2000
1	44	43	42	42	44	45
2	44	44	43	45	43	45
3	38	40	38	39	37	39
4	41	41	41	42	43	43
5	41	41	41	42	41	43
6	33	33	34	34	33	35
7	41	42	42	42	40	42
8	45	45	45	45	45	46
9	45	45	43	43	44	45
10	45	43	44	45	44	45

Aktive motorische Schwelle						
Proband	BSL	Placebo	BSL	500	BSL	2000
1	32	32	32	32	32	33
2	36	35	36	37	36	37
3	28	28	28	29	26	37
4	37	36	35	36	38	39
5	36	37	36	37	37	39
6	28	28	28	28	29	29
7	33	32	34	34	31	32
8	34	34	34	34	34	36
9	31	31	30	32	31	30
10	33	32	34	34	33	33

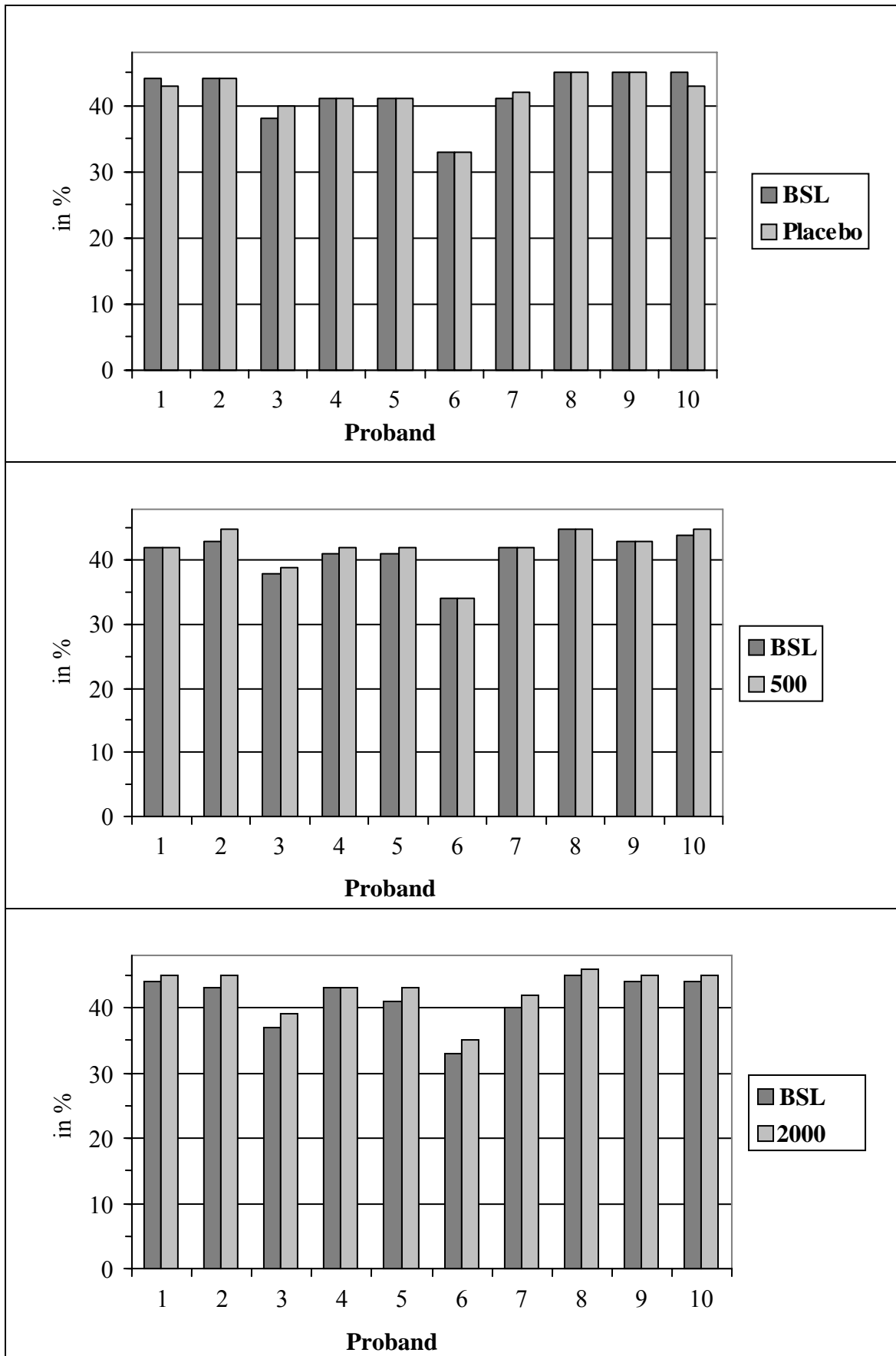


Abbildung 11: RMT der Probanden in Prozent der maximalen Stimulatorausgangsleistung. Dargestellt sind die Schwellen bei Baseline-Messung und bei Gabe von Placebo, 500 oder 2000 mg LEV.

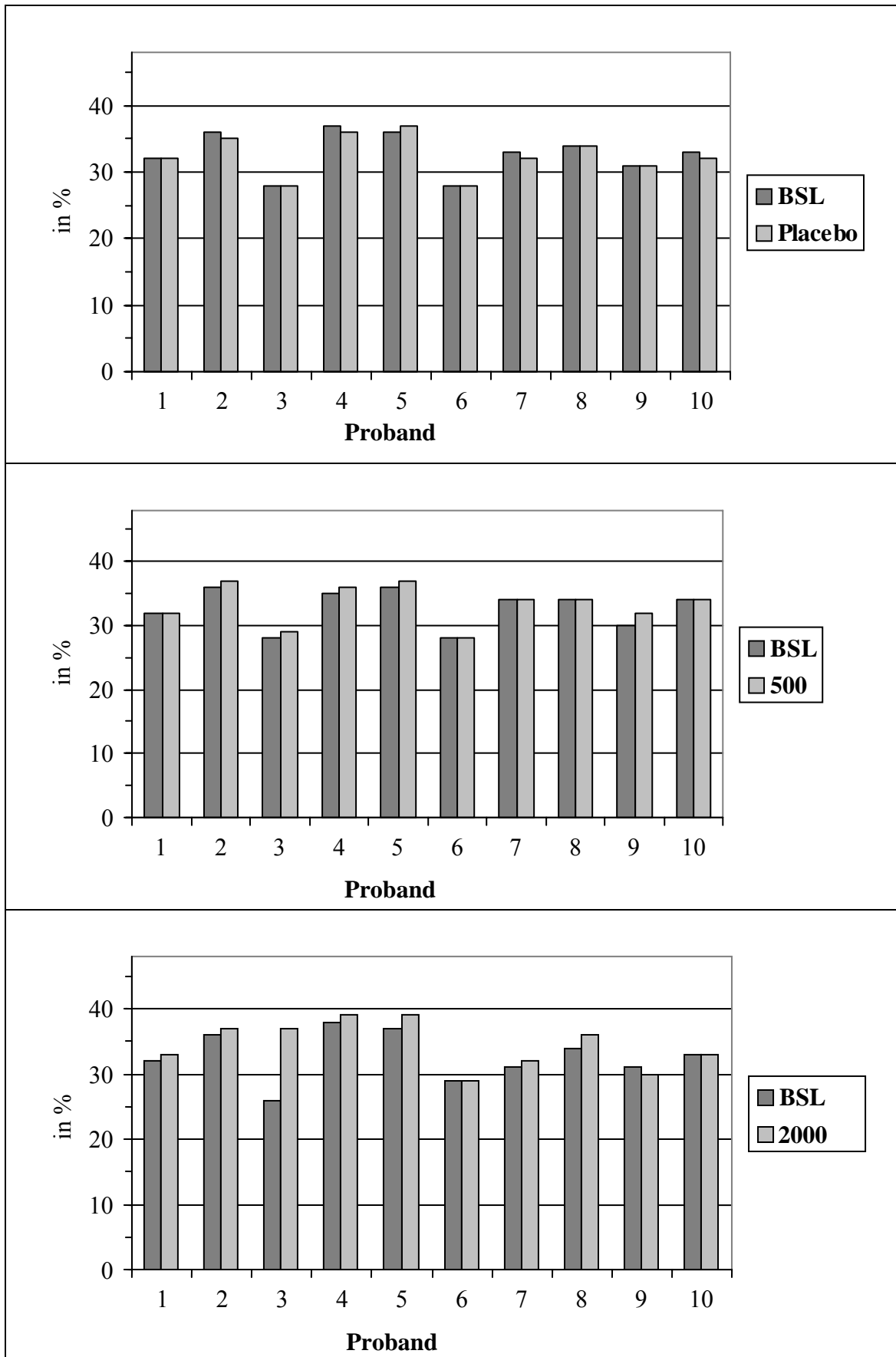


Abbildung 12: AMT der Probanden in Prozent der maximalen Stimulatorausgangsleistung. Dargestellt sind die Schwellen bei Baseline-Messung und bei Gabe von Placebo, 500 oder 2000 mg LEV.

Tabelle 4 und Abbildung 13 stellen die Daten der motorischen Schwellen mit Mittelwert und Standardabweichung dar.

Tabelle 4: Motorische Schwellen in Prozent der maximalen Ausgangsleistung des Stimulators vor und nach Medikamenteneinnahme mit Standardabweichung.

	BSL	Placebo	BSL	LEV500	BSL	LEV2000
RMT	41,5 ± 3,7	41,7 ± 3,5	41,3 ± 3,2	41,9 ± 3,3	41,4 ± 3,8	42,8 ± 3,4
AMT	32,8 ± 3,2	32,5 ± 3,1	32,7 ± 3,1	33,3 ± 3,1	32,7 ± 3,7	34,5 ± 3,1
MT	37,2 ± 3,0	37,2 ± 2,8	37,0 ± 2,8	37,8 ± 3,1	37,1 ± 3,3	38,7 ± 2,8

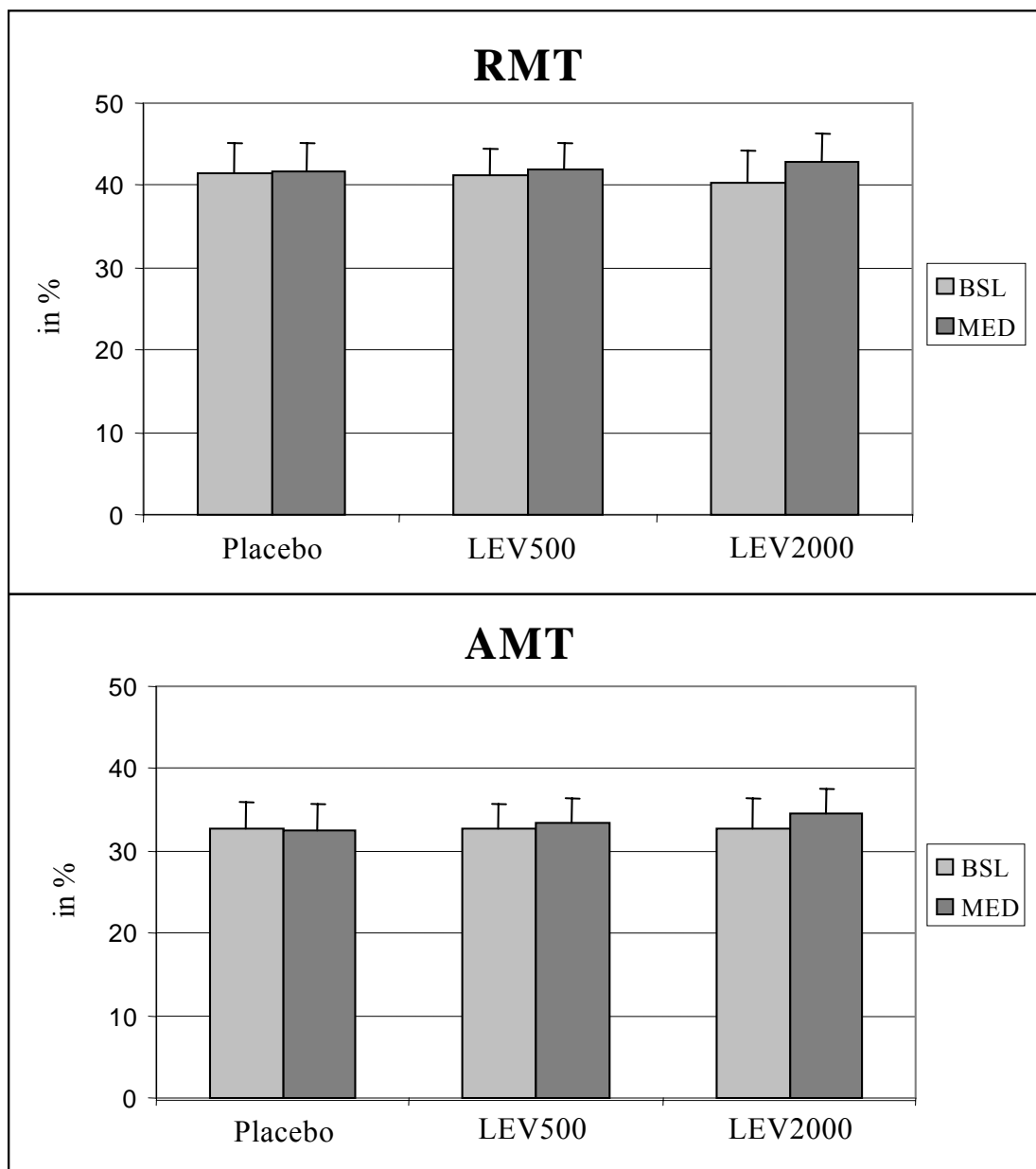


Abbildung 13: Mittelwert der Schwellen mit Standardabweichung für RMT, AMT und MT vor (BSL) und zwei Stunden nach (MED) Einnahme der Testsubstanz in Prozent der maximalen Stimulatorausgangsleistung.

Die durchschnittliche RMT betrug bei den BSL-Messungen 41,4 % der maximalen Stimulatorausgangsleistung, während die AMT bei durchschnittlich 32,7 % lag.

Der deutlichste Schwellenanstieg nach 2000 mg LEV wurde für die AMT mit 1,8 % registriert. Auch nach Verabreichung von 500 mg LEV zeichnete sich eine Zunahme der MT um jeweils 0,6 % ab.

Jedoch ergaben sich weder für die RMT, noch für die AMT sowohl nach Placebo als auch nach 500 mg und 2000 mg LEV signifikante Abweichungen im Vergleich zu den jeweiligen BSL-Werten (siehe Tabelle 5).

Tabelle 5: p-Werte der motorischen Schwellen (BSL versus MED) nach dem Wilcoxon-Test berechnet.

	Placebo	LEV 500	LEV 2000
RMT	0,655345	0,090979	0,00769
AMT	0,795624	0,027715	0,02840

3.4 Recruitment Curve

3.4.1 Konfirmatorische Analyse

Die Recruitment Curve (RC) der erhobenen vier Intensitäten wurde wiederum für die konfirmatorische Analyse zu RC_{gesamt} zusammengefasst.

Der Vergleich zwischen Placebo und 2000 mg LEV jeweils vor und nach Einnahme ergab keine signifikanten Unterschiede ($p=0,0796$).

3.4.2 Explanatorische Analyse

Eine Übersicht über die Recruitment Curve der unterschiedlichen Intensitäten bietet Tabelle 6 und Abbildung 14.

Tabelle 6: Darstellung der Recruitment Curve (peak-to-peak-Amplituden bei 100 %, 110 %, 120 % und 130 % der RMT in Prozent des 100 % gesetzten CMAP).

	BSL	Placebo	BSL	LEV 500	BSL	LEV 2000
RC 100 %	0,4 ± 0,2	0,8 ± 0,5	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,5 ± 0,4	0,2 ± 0,1
RC 110 %	0,9 ± 0,4	1,7 ± 1,0	0,9 ± 0,4	0,7 ± 0,3	1,7 ± 0,7	1,0 ± 0,7
RC 120 %	3,0 ± 1,8	3,8 ± 1,6	2,9 ± 2,2	2,0 ± 1,5	4,5 ± 2,7	3,0 ± 2,0
RC 130 %	6,2 ± 2,0	6,8 ± 2,6	6,8 ± 3,7	5,1 ± 2,6	9,6 ± 4,2	1,7 ± 4,8

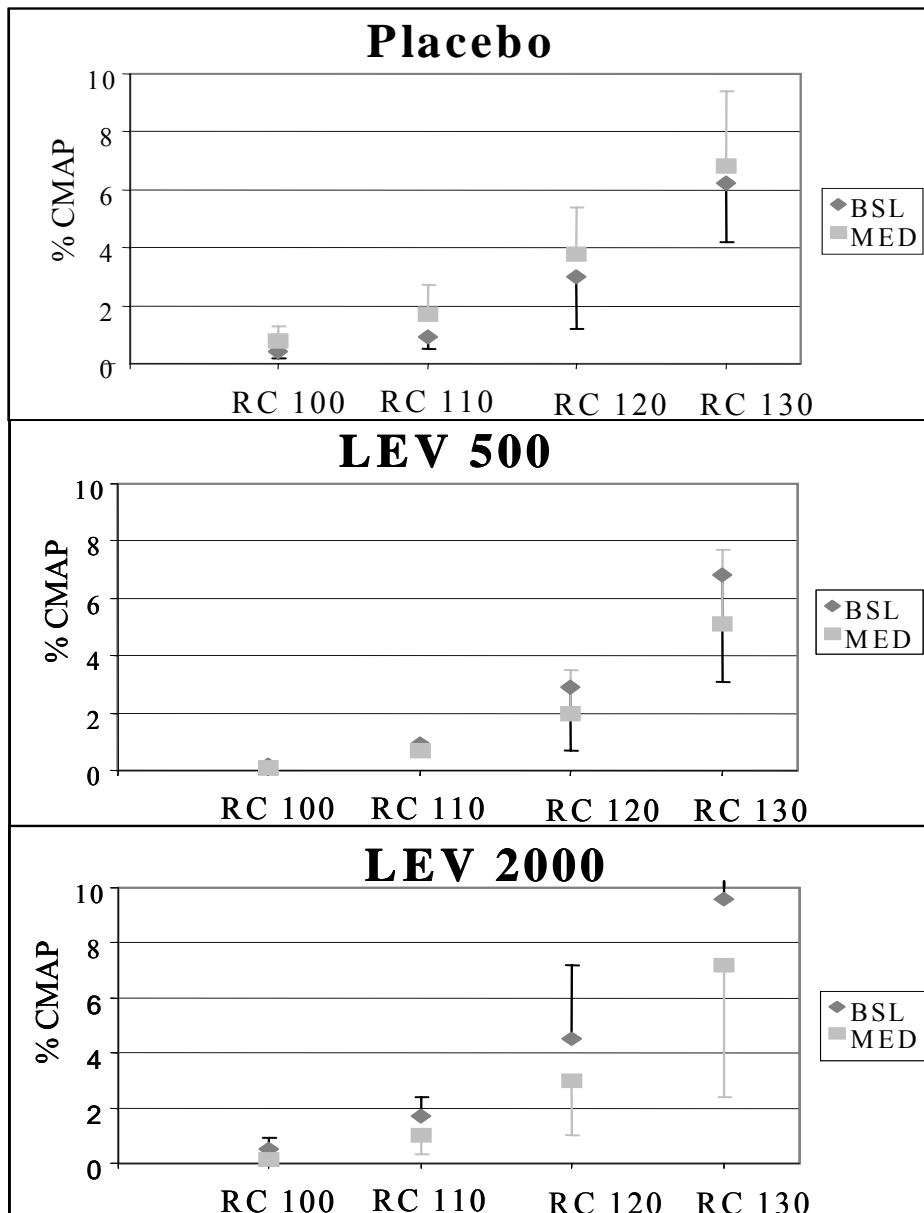


Abbildung 14: MEP-Amplituden der Intensitäten 100 %, 110 %, 120 % und 130 % der RMT in Prozent des 100 % gesetzten CMAP vor und zwei Stunden nach Medikamenteneinnahme.

Zur besseren Darstellung von Veränderungen der RC nach oraler Verabreichung der Substanz werden deren MEP-Amplituden in Abbildung 15 prozentual zur Amplitude der Baseline gezeigt.

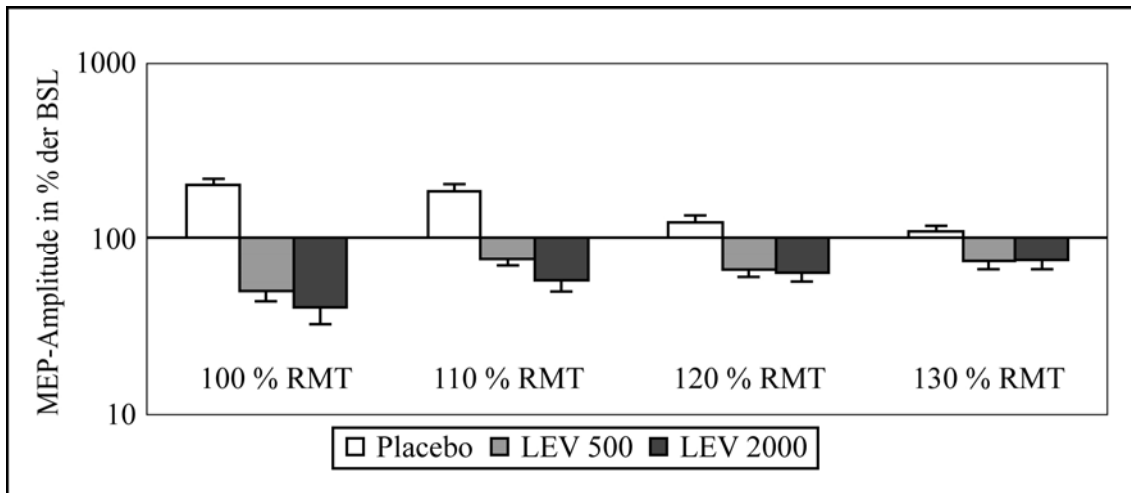


Abbildung 15: Änderung der MEP-Amplitude zwei Stunden nach Einnahme von Placebo, LEV 500 mg und LEV 2000 mg für die vier Reizstärken in Prozent der Baseline (100 % gesetzt).

Wie zu erwarten nahm mit steigender Stimulusintensität die RC zu. Die maximale RC betrug 9,6 %. Bei allen Intensitäten wurde nach Einnahme von 500 mg oder 2000 mg LEV eine Abnahme der RC verzeichnet, wobei die Abnahme mit Ausnahme der RC 140 % dosisabhängig erfolgte. Nach Placebo wurden für alle Reizstärken eine Zunahme der RC bis zu 0,8 % beobachtet.

Wiederum ergab der Vergleich der RC 100 %, RC 110 %, RC 120 % und RC 130 % vor und nach Einnahme von Placebo, 500 mg und 2000 mg LEV keine statistische Signifikanz (siehe Tabelle 7).

Tabelle 7: p-Werte für die Recruitment Curve (BSL vs. MED) nach dem Wilcoxon-Test berechnet.

	Placebo	LEV 500	LEV 2000
RC 100 %	0,734561	0,079625	0,0431
RC 110 %	0,527658	0,043123	0,0796
RC 120 %	0,426578	0,224925	0,0796
RC 130 %	0,365434	0,043123	0,1380

3.5 Inrakortikale Inhibition

3.5.1 Konfirmatorische Analyse

Durch Bildung von Mittelwerten wurden die Interstimulusintervalle 2 ms, 3 ms und 4 ms zur ICI zusammengefasst. Die ICI unterlag zwei Stunden nach Einnahme von 2000 mg LEV im Vergleich zu Placebo keiner signifikanten Abweichung ($p=0,799$).

3.5.2 Explanatorische Analyse

Tabelle 8 und Abbildung 16 geben die Mittelwerte der konditionierten MEP-Amplituden für die Interstimulusintervalle der ICI für Placebo, LEV 500 mg und LEV 2000 mg mit Standardabweichung wieder.

Tabelle 8: Konditionierte MEP-Amplituden in Prozent der MEP-Amplitude des Testreizes mit Standardabweichung für ISI 2, ISI 3 und ISI 4.

	BSL	Placebo	BSL	LEV 500	BSL	LEV 2000
ISI 2	38,2 ± 27,6	38,1 ± 22,9	38,8 ± 22,8	38,4 ± 23,0	38,7 ± 15,2	41,2 ± 17,0
ISI 3	27,8 ± 18,6	28,5 ± 15,2	31,3 ± 18,1	32,2 ± 19,2	32,7 ± 21,6	33,1 ± 22,7
ISI 4	54,6 ± 24,2	55,6 ± 15,1	62,6 ± 21,0	60,4 ± 22,2	62,0 ± 27,2	60,8 ± 27,0

2000 mg LEV führten nur bei einem ISI von 4 ms zu einer Reduktion der konditionierten MEP-Amplitude im Sinne einer Inhibitionszunahme um 1,2 % im Vergleich zur Baseline, während für ISI 3 mit 2,5 % und für ISI 4 mit 0,4 % sogar ein Amplitudenanstieg im Vergleich zur Baseline zu verzeichnen war.

Auch für 500 mg LEV wurde eine MEP-Amplitudenreduktion um 2,2 % für ISI 4 im Vergleich zur Baseline beobachtet.

In der explanatorische Analyse wurde aber weder für ISI 4 noch für ISI 2 und ISI 3 signifikante Veränderungen erreicht (siehe Tabelle 9).

Tabelle 9: p-Werte der intrakortikalen Inhibition für ISI 2, ISI 3 und ISI 4 mit dem Wilcoxon-Test berechnet (BSL vs. MED).

	Placebo	LEV 500	LEV 2000
ISI 2	0,678143	0,646465	0,7213
ISI 3	0,823644	0,959354	0,7988
ISI 4	0,747623	0,444592	0,2845

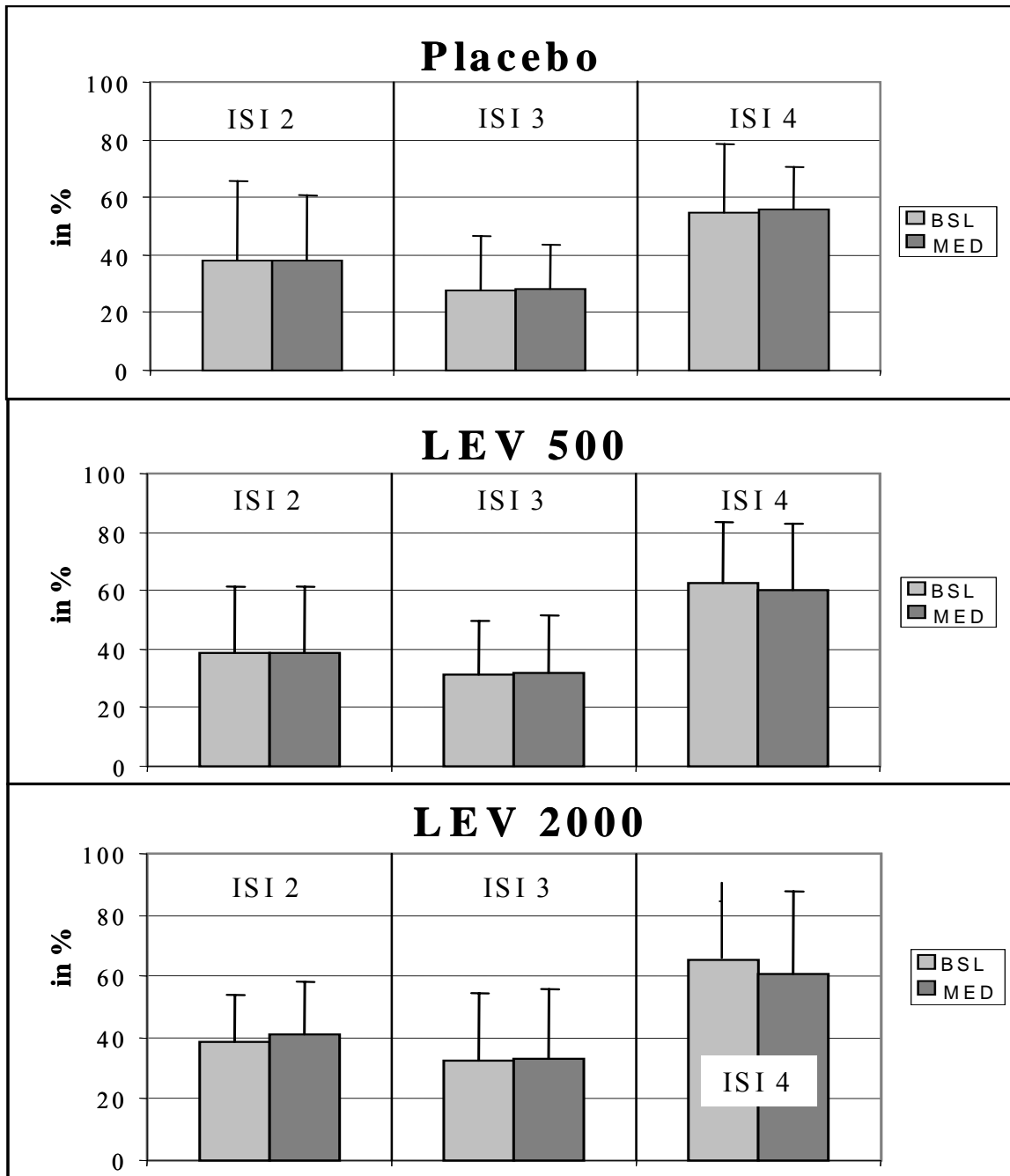


Abbildung 16: Konditionierte MEP-Amplituden in Prozent der MEP-Amplitude des Testreizes für ISI 2, ISI 3 und ISI 4.

3.6 Intrakortikale Fazilitation

3.6.1 Konfirmatorische Analyse

Für die konfirmatorische Analyse wurden die Interstimulusintervalle 10 und 15 ms gepoolt und als ICF bezeichnet.

Die intrakortikale Fazilitation unterschied sich zwei Stunden nach Einnahme von 2000 mg LEV im Vergleich zu Placebo nicht signifikant ($p=0.959$).

3.6.2 Explanatorische Analyse

Die konditionierten MEP-Amplituden bei ISI 10 und ISI 15 vor und zwei Stunden nach Verabreichung von Placebo, 500 mg LEV und 2000 mg LEV werden in Tabelle 10 und Abbildung 17 dargestellt.

Tabelle 10: Konditionierte MEP-Amplituden in Prozent der MEP-Amplitude des Testreizes mit Standardabweichung für ISI 10 und ISI 15.

	BSL	Placebo	BSL	LEV 500	BSL	LEV 2000
ISI 10	128,4 ± 26,5	127,1 ± 28,6	126,6 ± 28,8	128,1 ± 24,7	125,7 ± 28,6	134,7 ± 26,8
ISI 15	127,6 ± 21,5	128,6 ± 25,2	125,8 ± 25,2	129,5 ± 24,7	122,0 ± 20,0	125,1 ± 23,5

Für ISI 10 ergab sich eine dosisabhängige Zunahme der konditionierten MEP-Amplitude zwei Stunden nach Einnahme der Testsubstanz für 500 mg LEV um 4,5 % und für 2000 mg LEV um 9,0 %. Im Gegensatz dazu stieg die konditionierte MEP-Amplitude nach 500 mg LEV mit 3,7 % stärker an, als nach 2000 mg LEV mit 3,1 %, so dass in diesem Fall keine Dosisabhängigkeit vorzuliegen scheint.

Wiederum wurden für ISI 10 und für ISI 15 nach einmaliger Gabe von Placebo, 500 mg LEV oder 2000 mg LEV im Vergleich zur Baseline keine signifikanten Unterschiede erreicht (siehe Tabelle 11).

Tabelle 11: p-Werte für ISI 10 und ISI 15 (BSL vs. MED) mit dem Wilcoxon-Test ermittelt.

	Placebo	LEV 500	LEV 2000
ISI 10	0,835973	0,721279	0,5751
ISI 15	0,736579	0,646465	0,5751

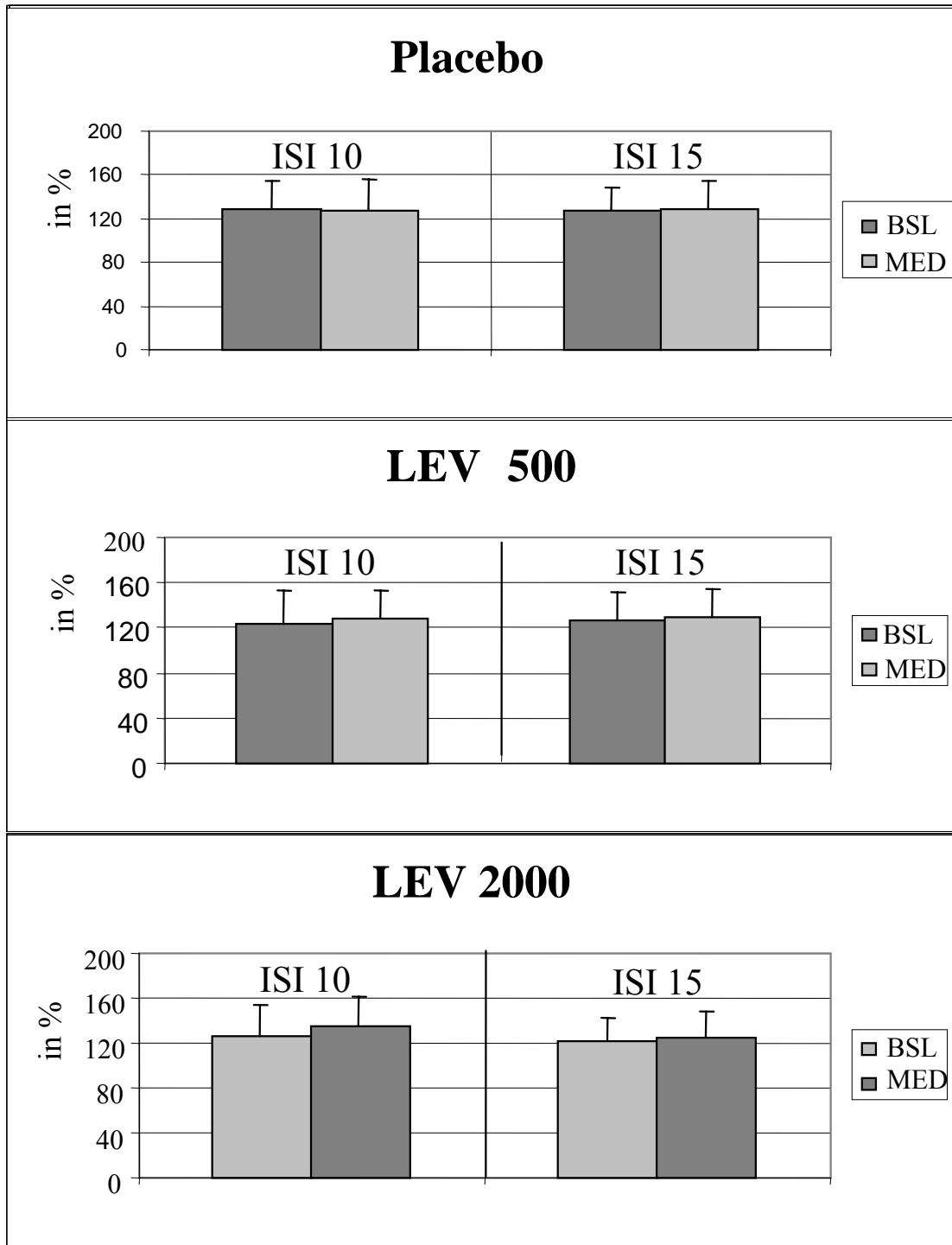


Abbildung 17: Darstellung der konditionierten MEP-Amplituden in Prozent der MEP-Amplitude des Testreizes für Placebo, LEV 500 und LEV 2000.

3.7 Kortikal induzierte Postinnervationsstille

3.7.1 Konfirmatorische Analyse

Die Werte der CSP 100 %, CSP 110 %, CSP 120 %, CSP 130 % wurden zur CSP_{gesamt} zusammengefasst (Methodik siehe 2.4).

Die Dauer der CSP wurde nach Einnahme von 2000 mg LEV im Vergleich zu Placebo nicht signifikant beeinflusst ($p=0,11$).

3.7.2 Explanatorische Analyse

Tabelle 12 gibt einen Überblick über die Messwerte der CSP.

Tabelle 12: Darstellung der CSP in ms mit Standardabweichung.

	BSL	Placebo	BSL	LEV 500	BSL	LEV 2000
CSP 110 %	86,1	87,8	85,7	74,4	83,5	82,6
CSP 120 %	133,4	140,9	135,0	130,7	139,8	131,3
CSP 130 %	174,5	182,3	169,0	167,1	174,1	165,7
CSP 140 %	194,7	204,6	195,9	191,1	193,4	189,0

Bei alle Intensitäten sank die Dauer der CSP nach der Einnahme von LEV. Die deutlichste Verkürzung um 11,3 ms wurde zwei Stunden nach Verabreichung von 500 mg LEV bei einer Intensität von 110 % der AMT im Vergleich zur Baseline gemessen, während bei gleicher Intensität und Einnahme von 2000 mg LEV nur eine Reduktion der CSP-Dauer um 0,9 ms zu beobachten war.

Für alle Intensitäten wurde nach Placebo eine Zunahme der Dauer der CSP registriert. Bei einer Intensität von 140 % der AMT lag die deutlichste Zunahme der CSP um 9,9 ms vor.

Bei Vergleich der CSP-Dauer vor und nach Einnahme der Testsubstanz waren weder für Placebo noch für 500 mg LEV und 2000 mg LEV eine signifikante Änderung zu verzeichnen (siehe Tabelle 13).

Tabelle 13: p-Werte der Dauer der CSP in ms (BSL vs. MED) nach dem Wilcoxon-Test.

	Placebo	LEV 500	LEV 2000
CSP 110 %	0,623454	0,172308	0,441274
CSP 120 %	0,523765	0,441274	0,213533
CSP 130 %	0,628754	0,441274	0,85841
CSP 140 %	0,983234	0,374266	0,514674

3.8 Placeboeffekt

Wie zu erwarten kam es bei keinem der untersuchten Parameter zu einer signifikanten Änderung infolge einer Einnahme von Placebo im Vergleich zur Baseline.

Geringe Differenzen sind als zufällige Abweichungen zu betrachten und nicht als Placeboeffekt zu verstehen.

3.9 Nebenwirkungen

Zwei Stunden nach Medikamenteneinnahme traten in absteigender Häufigkeit Müdigkeit, Benommenheit, Schwindel, Ataxie und Kopfschmerzen auf. Andere Nebenwirkungen wurden nicht angegeben.

Abbildung 18 stellt die fünf Nebenwirkungen graphisch dar. Der maximal mögliche kumulative Score pro Nebenwirkung betrug neun Punkte.

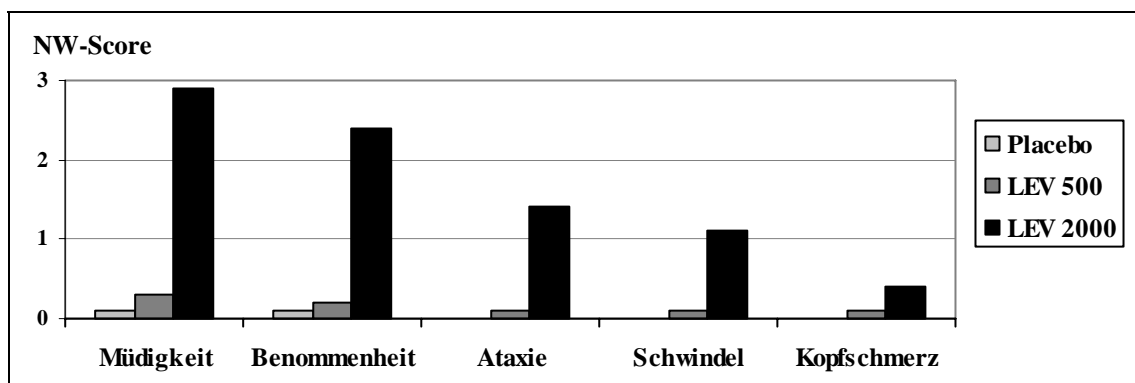


Abbildung 18: Darstellung der Nebenwirkungen nach Einnahme der Testsubstanz mit errechnetem Nebenwirkungsscore (maximaler Score neun Punkte).

Nach Verabreichung von Placebo wurden von zwei Probanden sehr leichte Nebenwirkungen angegeben, während nach 500 mg LEV bei vier Probanden leichte und nach 2000 mg LEV bei neun Teilnehmer leichte bis mäßige Nebenwirkungen auftraten.

Der maximal erreichbare Gesamtscore belief sich bei fünf aufgetretenen Nebenwirkungen und zehn Probanden auf 45 Punkte. Nach Einnahme von Placebo betrug der Gesamtscore 0,2 (< 1% des Gesamtscores), nach 500 mg LEV 0,8 (< 1% des Gesamtscores) und nach der vollen Dosis Levetiracetam 8,2 (18 % des maximalen Scores).

Die Nebenwirkungen waren dosisabhängig, traten circa 30 Minuten nach Verabreichung des Medikamentes auf und dauerten zwischen zwei bis maximal 24 Stunden an.

Die gute Verträglichkeit des Medikamentes stimmt mit den bisher veröffentlichten Studien und der klinischen Erfahrung überein.

4 Diskussion

4.1 Diskussion des Wirkmechanismus von Levetiracetam

4.1.1 Wirkung von Levetiracetam über Ionenkanäle

Die Wirkung von Antiepileptika über Natrium- und Kalziumkanäle gilt als etablierter Mechanismus. So wirken beispielsweise Carbamazepin, Phenytoin, Topiramat, Valproat und Lamotrigin über spannungsabhängige Natriumkanäle [Leach und Brodie 1995; Macdonald und Kelly 1995; Wu et al. 2004].

Die vorliegende Studie macht sich die Möglichkeit zunutze, durch Bestimmung der motorischen Schwellen vor und nach Medikamenteneinnahme ein Maß für ionkanalabhängige Exzitabilität zu erheben [Manganotti et al. 1999; Ziemann et al. 1996b].

AEDs mit Hinweisen auf eine ionkanalvermittelten Wirkungsweise erzielen in der Regel in TMS-Studien eine Erhöhung der MT ohne Wirkung auf die intrakortikale Inhibition und Fazilitation.

So führen die spannungsabhängigen Natriumkanalinhibitoren Carbamazepin, Lamotrigin, Phenytoin und das vermutlich über Kalziumkanäle wirksame Losigamon [Kohr und Heinemann 1990] nach einmaliger oraler Verabreichung zu einer Reizschwellerhöhung [Chen et al. 1997; Ziemann et al. 1996b]. Hingegen wurde in einer Studie von Carbamazepin keine Wirkung auf die MT beobachtet [Schulze-Bonhage et al. 1996]. Riluzol, das neben einer glutamatergen Transmissionsinhibition auch über eine natriumkanalabhängige Wirkungskomponente verfügt [Bryson et al. 1996], führt ebenfalls zu einer geringen, aber signifikanten Erhöhung der MT [Schwenkreis et al. 2000].

Im Gegensatz dazu konnte nach oraler Verabreichung von Topiramat keine Veränderung der Reizschwelle beobachtet werden [Reis et al. 2002]. Damit ist die Bedeutung der von Wu et al. in vitro beobachtete Natriumkanalblockade [Wu et al. 2004] als Wirkungskomponente von Topiramat in vivo beim Menschen in Frage zu stellen [Reis et al. 2002].

In Anbetracht dieser relativ homogenen Datenlage scheint die motorische Schwelle ein reliabler Parameter zur Untersuchung der ionenkanalabhängigen Wirkung von AEDs zu sein.

Die Bedeutung der Recruitment Curve in der in-vivo-Diagnostik von Antiepileptika wird kontrovers diskutiert, da unter anderem eine Reduktion der MEP-Amplituden sowohl bei dem Ionenkanalblocker Lamotrigin, als auch bei den transmitterwirksamen Substanzen Lorazepam und Amphetamin zu beobachten ist [Boroojerdi 2002].

Zudem bleibt die RC nach einmaliger oraler Verabreichung von 150 mg des NMDA-Rezeptorantagonisten und Natrium- und Kalziumkanalblockers Dextromethorphan (DM) unverändert [Netzer et al. 1993; Ziemann et al. 1998a]. Die ausbleibende Wirkung von DM auf die MEP-Amplituden kann jedoch darauf zurückzuführen sein, dass der kanalvermittelte Mechanismus erst bei höheren Konzentrationen als der transmitterwirksame Mechanismus zum Tragen kommt. Infolgedessen könnte die Konzentration von DM im Motorkortex in der Studie von Ziemann et al. zu gering gewesen sein, um eine MEP-Reduktion zu erzielen.

Da bezüglich der RC im Gegensatz zu der MT erst deutlich weniger TMS-Studien mit AEDs existieren, ist die diagnostische Aussagekraft der RC noch nicht abschließend zu beurteilen. Der Parameter scheint aber weniger spezifisch zu sein.

2000 mg LEV führten in der vorliegenden Studie in der konfirmatorischen Analyse zu einem signifikanten Anstieg der motorischen Schwelle im Vergleich zu den Baseline-Werten ($p=0,0069$).

Aus diesem Grund ist anzunehmen, dass LEV auch im humanen Motorkortex über Ionenkanäle wirkt.

In-vitro-Untersuchungen beschreiben unter LEV eine signifikante Reduktion des hochspannungsabhängigen (high-voltage-activated, HVA) Kalziumeinwärtsstroms und eine Hemmung des N-Typ-Kalziumkanals [Lukyanetz et al. 2002; Niespodziany et al. 2001]. Bestätigung fand dies in einer Studie, in der an neokortikalen Zellen von Ratten eine signifikante Reduktion des N-Typ-Kalziumeinwärtsstroms und gleichzeitig eine partielle Inhibition des HVA-Kalziumstroms vom P- und Q-Typ belegt wurde [Pisani et al. 2004].

Die Hemmung des N-Typ-Kalziumkanals könnte mit der Bindung von LEV an das Vesikelprotein SV2A erklärt werden. Genmanipulierte Mäuse, die nicht über das normalerweise in allen Vesikeln des ZNS vorkommende SV2A verfügen, entwickeln schwere generalisierte Anfälle [Crowder et al. 1999].

Somit ist eine antikonvulsive Wirkung des Vesikelproteins anzunehmen. SV2A interagiert wiederum in unbekannter Weise kalziumabhängig mit dem synaptischen Vesikelprotein Synaptotagmin [Kim und Catterall 1997], das vor allem die schnelle Transmitterfreisetzung fördert [Nishiki und Augustine 2004]. Synaptotagmin bildet ferner mit dem N-Typ-Kalziumkanal einen Proteinkomplex und reguliert direkt und indirekt die Aktivität des Kanals [Zamponi 2003]. Auf diese Weise könnte eine Hemmung des N-Typ-Kalziumkanals nach Bindung von LEV an SV2A erklärt werden. Der Kalziumkanal scheint dabei nicht nur über den Einstrom von Kalzium die Exozytose von Transmittern zu beeinflussen, sondern zusammen mit Synaptotagmin und anderen membranösen Proteinen einen Proteinkomplex zu bilden [Leveque et al. 1994], der nicht nur funktionell sondern auch strukturell die Fusion von Vesikeln mit der präsynaptischen Membran vermittelt [Sheng et al. 1998]. Welcher Transmitter letztlich freigesetzt wird bleibt unklar. Zwar ist eine SV2A-vermittelte Ausschüttung von GABA beschrieben [Crowder et al. 1999], diese scheint aber angesichts einer nicht signifikanten Beeinflussung der intrakortikalen Inhibition und Fazilitation in der vorliegenden Studie in vivo im humanen Motorkortex keine besondere Relevanz zu besitzen.

Infolge von Amygdala-Kindling an hippocampalen Neuronen von Ratten wurde eine Zunahme der membranösen N-Typ-Kalziumkanäle an Dendriten und präsynaptischen Endköpfchen beobachtet [Bernstein et al. 1999a, 1999b]. Die Hypothese einer Wirkung von LEV über N-Typ-Kalziumkanäle wird durch das protektive Verhalten des Antiepileptikums bei Kindling-Experimenten unterstützt.

Interessanterweise zeigt auch Lamotrigin wie LEV in der vorliegenden Studie in TMS-Studien neben einer signifikanten, dosisabhängigen Steigerung der motorischen Schwellen [Manganotti et al. 1999; Tergau et al. 2003; Ziemann et al. 1996b] ein Suppression der RC [Borojerdj et al. 2001] ohne Wirkung auf die CSP und die intrakortikale Fazilitation und Inhibition [Manganotti et al. 1999].

Neben einer Natriumkanalblockade [Leach und Brodie 1995] und einer kürzlich erforschten Hemmung des A-Typ-Kaliumkanals [Huang et al. 2004] führt Lamotrigin ebenfalls zu einer selektiven Inhibition des N-Typ-Kalziumkanals [Wang et al. 1996]. Es existieren sogar Hinweise, dass LEV und Lamotrigin über eine gemeinsame Bindungsstelle verfügen, da Lamotrigin die Wirkung von LEV in neokortikalen Zellen von Ratten reduziert [Pisani et al. 2004].

Aufgrund der Ergebnisse der vorliegenden Studie und unter Berücksichtigung dargelegter Literatur ist es anzunehmen, dass die N-Typ-Kalziumkanalblockade ein wesentlicher Wirkmechanismus von LEV auch in vivo im humanen Motorkortex ist.

Neben Lamotrigin scheint LEV ein weiteres N-Typ-Kalziumkanal-wirksames Antiepileptikum mit klinischer Relevanz zu sein.

Schon die L-Typ-Kalziumkanalblocker Gabapentin [Gee et al. 1996], Felbamat [Stefani et al. 1996], Topiramate [Shank et al. 2000] und der niedrigspannungsabhängige T-Typ-Kalziumkanalblocker Ethosuximid fanden Einzug in den klinischen Alltag [Matthews und Dickenson 2001].

Die vorliegende Untersuchung zeigte in der konfirmatorischen Analyse keine signifikante Beeinflussung der RC. In dieser Studie wurde lediglich eine RC bis zu 130 % der MEP untersucht. Dabei hat sich gezeigt, dass sich in einer Studie erst höhere Stimuli eine Reduktion der MEP-Amplituden ergab [Sohn et al. 2001]. Aus diesem Grund ist es denkbar, dass in der vorliegenden Studie eine zu geringe Stimulusintensität eine signifikante MEP-Reduktion in der konfirmatorischen Analyse kaschierte.

Bei in-vitro-Untersuchungen an isolierten hippokampalen Neuronen von Schweinen wurde eine moderate Senkung des spannungsabhängigen, langsamen Kaliumauswärtsstromes um 26 % durch LEV beobachtet [Madeja et al. 2003].

Die vorliegende Arbeit könnte eine Wirkung von LEV über Kaliumkanäle stützen.

Bei Phenytoin und Lamotrigin wird bereits eine Inhibition des Kaliumstromes als Wirkungskomponente angenommen [Huang et al. 2004; Nobile und Vercellino 1997]. In TMS-Studien führten diese Medikamente ebenfalls zu einer MT-Erhöhung [Chen et al. 1997; Ziemann et al. 1996b].

Erkenntnisse aus Tierexperimenten sprechen gegen eine Wirkung von LEV über Natriumkanäle. Natriumkanalblocker wie Phenytoin und Carbamazepin zeigen zumindest bei einem der beiden Methoden Maximale-Elektroschock-Test (MES) und der Pentylenetetrazol-Anfallstest antikonvulsive Wirkung. Demgegenüber war LEV bei beiden Tests wirkungslos [Klitgaard et al. 1998]. Weiterhin wirkt LEV im Gegensatz zu den Natriumkanalinhibitoren den pilocarpininduzierten fokalen Anfällen entgegen [Klitgaard et al. 1998].

Bei in-vitro-Untersuchungen an Neuronen von Ratten wurde kein Einfluss von LEV auf den Natriumstrom nachgewiesen [Zona et al. 2001; Pisani et al. 2004].

Infolgedessen ist es wahrscheinlicher, dass die beobachtete MT-Erhöhung auf einer Kalziumkanalblockade als auf einer Inhibition des Natriumstroms beruht.

Allerdings senkt LEV in vitro über einen natriumabhängigen Mechanismus den intrazellulären pH-Wert. Dieser Wirkmechanismus ist mit der TMS jedoch nicht zu erfassen.

Im Gegensatz zur vorliegenden Arbeit ergab eine TMS-Studie mit 3000 mg LEV eine signifikante Suppression der RC bei gleichzeitig fehlender signifikanter Beeinflussung der motorischen Schwelle [Sohn et al. 2001]. Die differenten Ergebnisse bei der motorischen Schwelle könnte auf die unterschiedliche Dosierung in den Studien zurückzuführen sein, da LEV an hippocampalen Pyramidalzellen von Ratten bei einer Konzentration von 32 μM eine signifikant stärkere Inhibition des hochspannungsabhängigen Kalziumstroms (um 45%) erzielte als bei einer höheren Konzentration von 100 μM (um 25%) [Niespodziany et al. 2001]. Ebenso konnten Margineanu und Klitgaard bei einer LEV-Konzentration von 32 μM im Gegensatz zu einer Konzentration von 100 μM eine signifikante Verminderung des Amplitudenanstieges der 1. Potentialentladung (population spike, PS) als Ausdruck einer stärkeren antiepileptischen Wirkung in vitro bei Ratten erzielen [Margineanu und Klitgaard 2000]. Für LEV scheint also ein Wirkungsoptimum zu existieren. Somit könnte in der Studie von Sohn et al. eine zu hohe LEV-Konzentration einen signifikanten Schwellenanstieg verhindert haben. Zum anderen zeichnet sich zumindest ein tendenzieller MT-Anstieg (absolut 1%, relativ 2,4%) eine Stunde nach Verabreichung von 3000 mg LEV ab, so dass ein signifikanter Schwellenanstieg möglicherweise bei einer höheren Fallzahl zu beobachten gewesen wäre.

4.1.2 Wirkung von Levetiracetam auf Neurotransmitter

4.1.2.1 Untersuchung mithilfe der intrakortikalen Inhibition und Fazilitation

Eine Vielzahl von Antiepileptika wie z.B. Vigabatrin, Baclofen und Lorazepam wirken über einen GABAergen Mechanismus [Bowery et al. 1980; Zakusov et al. 1977].

Der Glutamat-Antagonist Felbamat ist für die Therapie des Lennox-Gastaut-Syndroms in Deutschland zugelassen und findet wegen ausgeprägter Nebenwirkungen nur begrenzt Einzug in den klinischen Alltag.

Die Parameter der ICI und ICF ermöglichen im Rahmen der Doppelimpuls-TMS eine Beurteilung der Aktivierung inhibitorischer und exzitatorischer Neuronenverbände.

Anfangs wurde die intrakortikale Inhibition als ein relativ spezifischer Parameter zur Erfassung von GABA_A-abhängigen Mechanismen betrachtet [Kujirai et al. 1993].

Diese Annahme wurde durch pharmakologische Studien, in denen die GABA_A-ergen Substanzen Lorazepam, Zolmitriptan und Ethanol eine Verstärkung der intrakortikalen Inhibition erzielten, konsolidiert [Werhahn et al. 1998; Ziemann et al. 1995; Ziemann et al. 1996a].

Jedoch sprechen auch Studien gegen diese Hypothese. So erzielt der GABA-Wiederaufnahmehemmer Tigabin sogar eine Reduktion der ICI [Werhahn et al. 1999]. Werhahn et al. führten diesen Effekt des Antiepileptikums auf eine Aktivierung präsynaptischer GABA_B-Rezeptoren zurück, die wiederum die postsynaptischen GABA_A-Rezeptoren supprimieren [Werhahn et al. 1999].

Infolgedessen müsste aber der selektive GABA_B-Rezeptoragonist Baclofen ebenfalls die intrakortikale Inhibition reduzieren. Dahingegen führt Baclofen aber zu einer Verstärkung der ICI [Ziemann et al. 1996b].

Vigabatrin führt über eine irreversible Hemmung der GABA-Transaminase zu einer Anreicherung von GABA im synaptischen Spalt. Auch dieses Medikament erzielt keine signifikante Wirkung auf die ICI [Ziemann et al. 1996b].

Aber auch andere Neurotransmittersysteme üben eine signifikante Wirkung auf die intrakortikale Inhibition aus.

So verstärken die NMDA-Rezeptorantagonisten Memantin und Dextromethorphan die ICI [Schwenkreis et al. 1999; Ziemann et al. 1998a].

Dahingegen verstärkt der Glutamatantagonist Riluzol die ICI in einer Studie nur am ersten Tag, nicht aber an den folgenden Tagen nach täglicher Applikation [Schwenkreis et al. 1999]. Auch nach einmaliger Gabe von Riluzol wurde nur eine tendenzielle, nicht aber signifikante Zunahme der ICI beobachtet [Liepert et al. 1997].

Weitere Hinweise auf die Bedeutung des glutamatergen Systems ergeben sich aus Untersuchungen von Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose, da bei diesen Patienten eine Suppression der ICI gemessen wurde [Yokota et al. 1996] und dieser Motorneuronenerkrankung pathophysiologisch unter anderem eine Konzentrationszunahme der neurotoxisch wirkenden Substanz Glutamat zugrunde liegt [Plaitakis 1990].

Darüber hinaus beeinflusst auch das dopaminerge System die intrakortikale Inhibition. Darauf deutet eine verminderte ICI bei Parkinson-Patienten hin [Bares et al. 2003; Strafella et al. 2000].

Der Dopaminrezeptoragonist Pergolid verstärkt die intrakortikale Inhibition bei Probanden, nicht jedoch bei Parkinsonpatienten [Strafella et al. 2000; Ziemann et al. 1996c]. Im Gegensatz dazu senkt der Dopaminrezeptorantagonist Haloperidol die ICI [Ziemann et al. 1997].

In Anbetracht dieser übereinstimmenden Datenlage ist ein Einfluss des dopaminergen Systems auf die ICI anzunehmen.

Mit der Ausnahme von Lamotrigin bei einem ISI von 2 ms zeigten alle bisher mit TMS untersuchten natriumkanalblockierenden Medikamente einschließlich Valproat keine signifikante Wirkung auf die ICI [Chen et al. 1997; Schulze-Bonhage et al. 1996; Ziemann et al. 1996b].

Das Antiepileptikum Losigamon, das vermutlich über eine Hemmung der Kalziumkanäle wirkt, bleibt ebenfalls ohne Effekt auf die ICI [Chen et al. 1997; Kohr und Heinemann 1990; Ziemann et al. 1996b].

Im Gegensatz dazu führt die einmalige, orale Verabreichung von 1200 mg Gabapentin zu einer Verstärkung der ICI [Ziemann et al. 1996b]. Neuere Untersuchungen legen nahe, dass Gabapentin, genauso wie Pregabalin, durch selektive Bindung an die $\alpha_2\delta$ -Untereinheit des präsynaptischen HVA-Kalziumkanals vom P/Q-Typ zu einer Verminderung des Kalziumeinwärtsstroms führt [Fink et al. 2002].

Resümierend lässt sich feststellen, dass die ICI keineswegs nur die Exzitabilität der GABAergen, inhibitorischen Interneurone widerspiegelt.

Die ICI beruht vielmehr auf einem komplexen Zusammenspiel unterschiedlicher Neurotransmittersysteme. Hier ist insbesondere das dopaminerge System anzuführen. Dies limitiert die Wertigkeit dieses Parameters in der in-vivo-Diagnostik hinsichtlich einer genaueren Differenzierung zwischen Transmittersystemen.

Wie sich am Beispiel von Vigabatrin zeigen lässt, schließt ein ausbleibender Effekt auf die ICI eine Wirkung über Neurotransmitter keineswegs aus.

Bezüglich der intrakortikalen Fazilitation wurde zunächst angenommen, dass diese in erster Linie auf glutamatergen Mechanismen beruht [Nakamura et al. 1997].

Die Natriumkanalblocker Phenytoin und Lamotrigin und der Kalziumkanalblocker Losigamon führen zu keiner signifikanten Veränderung der ICF [Chen et al. 1997; Ziemann et al. 1996b]. Hinsichtlich der Wirkung von Carbamazepin existieren kontroverse Ergebnisse [Chen et al. 1997; Schulze-Bonhage et al. 1996; Ziemann et al. 1996b]. Die Suppression von Carbamazepin auf die ICF ist jedoch wegen inhomogener Daten dieser Studie nicht sicher zu verwerten [Schulze-Bonhage et al. 1996].

Sowohl die GABAergen Substanzen Lorazepam, Diazepam, Vigabatrin und Ethanol als auch die glutamatergen Substanzen Memantin, Riluzol und Dextromethorphan führen zu einer signifikanten Verringerung der ICF [Inghilleri et al. 1993; Liepert et al. 1997; Schwenkreis et al. 2000; Schwenkreis et al. 1999; Ziemann et al. 1998a; Ziemann et al. 1995; Ziemann et al. 1996b].

Außerdem erzeugen auch Amphetamine und der Dopaminrezeptorantagonist Haloperidol eine Zunahme der ICF [Boroojerdi et al. 2001; Ziemann et al. 1997].

Daraus wird deutlich, dass auch die ICF nicht nur dem glutamatergen, sondern auch den monoaminergen, GABAergen und dopaminergen Transmittersystemen unterliegt.

Zur Differenzierung verschiedener Transmittersysteme ist der Parameter der ICF deshalb nicht geeignet.

Dahingegen ist eine signifikante Zunahme der ICF ein verlässlicher Hinweis auf einen neurotransmittervermittelten Mechanismus.

Es stellt sich die Frage, ob die ICF ein von der ICI unabhängiger Parameter ist. Dafür sprechen mehrere Hinweise.

So beeinflussen D-Amphetamin und Vigabatrin zwar nicht die ICI, aber die ICF signifikant [Borojerdi et al. 2001; Ziemann et al. 1996b].

Bestimmte GABAerge Medikamente wie zum Beispiel Lorazepam erzielen eine stärkere Wirkung auf die ICF als auf die ICI [Ziemann et al. 1996a]. Vermutlich aktiviert der konditionierende Reiz inhibitorische Interneurone bereits so weitgehend, dass GABAerge Medikamente keinen wesentlichen Effekt mehr erzielen [Ziemann et al. 1996a].

Ferner verfügt die ICI über niedrigere motorische Schwellen als die ICF. So zeigt der konditionierende Reiz bei einem ISI von 3 ms und einer Intensität von 70 % der AMT eine signifikante Suppression des Testreizes. Bei einem ISI von 10 ms wird eine Fazilitation des Testreizes erst bei einem CR mit der 80 %-igen Intensität der AMT erzielt [Ziemann et al. 1996c]. Zudem ist die ICI gegenüber unkorrekter Spulenausrichtungen deutlich robuster als die ICF [Ziemann et al. 1996c]. Aufgrund dieser Erkenntnisse sind die ICI und ICF als unabhängige Parameter zu betrachten.

LEV zeigte in der vorliegenden Studie keine signifikante Wirkung auf die ICI und ICF. Aus diesem Grund scheinen Neurotransmitter eine untergeordnete Rolle bei der Wirkung des Medikamentes im humanen Motorkortex in vivo zu spielen.

In bisherigen Studien wurde für keinen Neurotransmitter eine signifikante Affinität für die spezifische Bindungsstelle von LEV nachgewiesen.

Untersuchungen an hippocampalen CA 3-Neuronen von Ratten ergaben ebenfalls keinen Effekt von LEV auf die synaptische Übertragung [Birnstiel et al. 1997]. Allerdings wurde sowohl in vitro als auch in vivo beobachtet, dass LEV epileptische Aktivitäten unterdrückt, die durch den GABA_A-Antagonisten Bicuculin erzeugt werden. Der Kalziumkanalblocker Flunarizin führt zu einer Hemmung der konvulsiven Wirkung von Bicuculin.

Somit scheint Bicuculin nicht nur über einen GABAergen, sondern auch über einen kalziumvermittelten Wirkungsmechanismus zu verfügen.

Infolgedessen könnte die suppressive Wirkung von LEV auf Bicuculin als weiterer Hinweis auf einen kalziumkanalabhängigen Mechanismus von LEV gewertet werden.

Diese Hypothese wird dadurch untermauert, dass an neokortikalen Zellen von Ratten durch LEV bei gleichzeitiger Senkung des intrazellulären Kalziumspiegels eine Verminderung der bicuculininduzierten epileptischen Entladungen zu beobachten ist [Pisani et al. 2004].

Rigo et al. beschrieben eine inhibitorische Wirkung von LEV auf die durch zinkvermittelte hemmende, allosterische Modulation von GABA_A- und Glycinrezeptoren [Rigo et al. 2002].

Bereits im Rahmen eines Cholesterin-Synthese-Inhibitions-Modells zur Induktion von Absencen-Epilepsien wurde bei Long-Evans-Hooded-Ratten die Bedeutung von Zink bei der Iktogenese durch eine Zunahme der Zink-vermittelten Inhibition der GABA_A-Rezeptoren nachgewiesen [Wu et al. 2004].

Allerdings erlaubt die von Rigo et al. verwendete „whole-cell-patch-clamp“-Untersuchung keine sichere Differenzierung zwischen Rezeptoren, die in oder außerhalb der Synapse liegen.

So könnte in der Studie von Rigo et al. gar nicht der Einfluss von LEV auf die Zinkmodulation an Synapsen nachgewiesen worden sein. Genau die synaptische Transmission wird aber mit der TMS-Doppelstimulation am humanen Motorkortex untersucht.

Außerdem zeigte sich bei einem Kindling-Modell an Ratten, dass Zink in erster Linie die GABA_A-Rezeptoren von epileptogenen, nicht aber von gesunden Granularzellen inhibiert. Somit ist auch denkbar, dass Hinweise auf einen zinkvermittelten Wirkmechanismus von LEV im Rahmen der vorliegenden Studie nur fehlen, weil gesunde Personen untersucht wurden. Eine weitere TMS-Studie zur Untersuchung von LEV auf die intrakortikale Exzitabilität bei Epilepsiepatienten wäre nötig.

Auch eine Wirkung von LEV über Zink auf andere Kanalproteine ist denkbar. So beschrieb eine Untersuchung die Inhibition des Kalziumeinwärtsstromes durch Zink mittels Hemmung von Kalziumkanälen an humanen Speicheldrüsenzellen [Gore et al. 2004]. Dies könnte die Brücke zu der bereits diskutierten Wirkung von LEV über N-Typ-Kalziumkanäle schlagen.

Gegen einen zinkvermittelten Effekt von LEV spricht allerdings, dass die Zinkmodulation postsynaptisch stattfindet, während die Bindungsstelle von LEV in präsynaptischen Vesikeln nachzuweisen ist [Fuks et al. 2003; Rigo et al. 2002].

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sprechen angesichts der genannten Einschränkungen also nur bedingt gegen einen zinkvermittelten Mechanismus beim Menschen *in vivo*.

Obwohl LEV *in vitro* bei Ratten zu keiner signifikanten Veränderung der Enzymaktivität des GABA-aufbauenden Enzyms Glutamatsäuredecarboxylase (GAD) und des GABA-abbauenden Enzyms GABA-Aminotransferase (GABA-T) führt, beeinflusst das Medikament beide Enzyme unter *in-vivo*-Bedingungen bei Ratten signifikant [Loscher et al. 1996].

Jedoch war die Modulation des GABA-Metabolismus häufig gering und wahrscheinlich ohne funktionelle Relevanz und in verschiedenen Hirnregionen zum Teil entgegengesetzt. So erhöht LEV bei Ratten den GABA-Umsatz 15 Minuten nach *i.v.*-Applikation von LEV in einer Konzentration von 170 mg/kg im Kortex, vermindert diesen aber unter gleichen Bedingungen im Striatum.

Entgegen der Studie von Loscher et al. bewirkt LEV bei Mäusen keine Aktivitätsänderung von GAD und GABA-T [Loscher et al. 1996; Sills et al. 1997]. Vier Stunden nach intraperitonealer Applikation von LEV in sechs verschiedenen Konzentrationen (1 mg/kg bis 300 mg/kg) resultiert weder eine signifikante Beeinflussung der Konzentration von GABA und Glutamat noch von GAD und GABA-T [Sills et al. 1997].

Da einer Gruppe von Mäusen zuvor über 5 Tage LEV verabreicht wurde, stellt sich möglicherweise auch bei chronischer Applikation keine GABAerge Wirkung von LEV ein.

Studien zur Untersuchung einer glutamatergen Wirkungskomponente von LEV ergeben weitgehend konforme Ergebnisse.

So verfügt LEV nach intraventrikulärer Applikation der Chemokonvulsiva Kainat, AMPA und NMDA bei Mäusen über keine antikonvulsive Potenz [Klitgaard et al. 1998].

Ferner verdrängt LEV in vitro an Ratten bis zu einer Konzentration von 10 μM weder AMPA noch Kainat vom korrespondierendem Glutamatrezeptor [Noyer et al. 1995].

Des Weiteren erzeugt sowohl die einfache, als auch die wiederholte intraperitoneale Gabe von LEV bei Mäusen keine signifikante Wirkung auf die Glutaminsynthetase, das Schlüsselenzym des Glutamatstoffwechsels [Fraser et al. 1999].

Angesichts der nicht signifikant veränderten ICF kann geschlossen werden, dass der antikonvulsive Effekt von LEV auf Neurotransmitter im humanen Motorkortex in vivo von geringer Relevanz ist.

Diese Schlussfolgerung lässt sich jedoch nicht sicher bezüglich der zinkvermittelte Inhibition des GABA_A-Rezeptors ableiten.

Das Ergebnis dieser Arbeit steht damit im Konsens mit der Mehrzahl bisher publizierter Studien zu LEV insbesondere in Hinblick auf den glutamatergen Mechanismus.

4.1.2.2 Untersuchung mithilfe der kortikal induzierten Postinnervationsstille

Es besteht weitgehende Übereinkunft, dass der frühen und der späten Phase der CSP unterschiedliche Entstehungsmechanismen zugrunde liegen. So scheint die frühe Phase auf spinaler Ebene und die späte Phase der CSP auf supraspinaler Ebene generiert zu werden [Hallett 1995; Inghilleri et al. 1993]. Da im Rahmen der vorliegenden Arbeit die Exzitabilität des humanen Motorkortex untersucht wurde, stellt sich die Frage, inwieweit die Generierung der CSP im primären Motorkortex stattfindet.

Die CSP verlängert sich bei Patienten mit Läsionen in Arealen, die in den primären Motorkortex projizieren wie Thalamus, Capsula interna, prämotorischen Kortex, Temporal- oder Parietallappen, während Läsionen im primären Motorkortex selbst zu einer Verkürzung der CSP führen. Vermutlich beruht die Verlängerung der CSP auf einer Enthemmung kortikaler Neurone des Motorkortex [von Giesen et al. 1994]. Diese Studie legt eine herausragende Rolle des primären Motorkortex bei der Generierung der CSP nahe.

Bei Huntingtonpatienten wurde eine Verlängerung der CSP gegenüber Probanden gemessen [Modugno et al. 2001]. Im Gegensatz dazu verfügen Parkinsonpatienten über signifikant kürzere CSPs [Cantello et al. 1992; Priori et al. 1994]. In Einklang damit führen Dopaminrezeptoragonisten wie Pergolid [Ziemann et al. 1996c] zu einer Zunahme und Dopaminrezeptorantagonisten wie Biperiden zu einer Verkürzung der

CSP. Es wird davon ausgegangen, dass die dargestellten Veränderungen der CSP den Einfluss von Efferenzen der Basalganglien über den ventrolateralen Thalamus auf die Exzitabilität der inhibitorischen Interneurone des Motorkortex reflektieren [Abbruzzese und Trompetto 2002].

Wegen eines ähnlichen zeitlichen Verlaufs der CSP und der GABA_B-induzierten inhibitorischen, postsynaptischen Potentiale wurde angenommen, dass die CSP in erster Linie einen GABA_B-vermittelten Parameter darstellt [Hallett 1995].

Dies fand durch einige pharmakologische Studien zunächst Bestätigung. So wurde nach intrathekaler Applikation von 1000 µg des GABA_B-Rezeptoragonisten Baclofen bei einem Dystoniepatienten eine Verlängerung der CSP registriert [Siebner et al. 1998].

Zwar führt dagegen eine intravenöse Verabreichung von Baclofen zu keiner signifikanten Wirkung auf die CSP [Inghilleri et al. 1993], jedoch kann die Substanz nur begrenzt die Blut-Hirn-Schranke überwinden.

Der GABA-Reuptake-Hemmer Tiagabin wirkt in erster Linie über postsynaptische GABA_B-Rezeptoren, da der durch Tiagabin erzeugte Konzentrationsanstieg im synaptischen Spalt die Kapazität des GABA_A-Rezeptors schnell übersteigt [Thompson und Gahwiler 1992]. Aus diesem Grund untermauert die registrierte CSP-Verlängerung bei TMS nach einmaliger Verabreichung von Tiagabin einen GABA_B-Rezeptor abhängigen Entstehungsmechanismus der kortikalen Innervationspause [Werhahn et al. 1999].

Im Gegensatz dazu zeigt die durch periphere, elektrische Stimulation induzierte periphere Silent Period (PSSP) nach Gabe von Tiagabin keine Verlängerung [Werhahn et al. 1999]. Da die PSSP spinalen Mechanismen unterliegt, ist die Verlängerung der CSP gegenüber der PSSP unter Tiagabin als weiteren Hinweis auf einen supraspinalen Entstehungsmechanismus der CSP - über den GABA_B-Rezeptor- zu werten [Werhahn et al. 1999].

Glutamaterge Medikamente zeigen keinen signifikanten Effekte auf die CSP [Liepert et al. 1997; Schwenkreis et al. 2000; Schwenkreis et al. 1999; Ziemann et al. 1998a].

Im Rahmen weiterer pharmakologischer TMS-Studien erzielten die GABAergen Substanzen Lorazepam [Ziemann et al. 1996a] und Ethanol [Ziemann et al. 1995] sowie der Kanalinhistor Carbamazepin [Schulze-Bonhage et al. 1996] eine Verlängerung der

CSP während Diazepam sogar zu einer Verkürzung der CSP führte [Inghilleri et al. 1993] und Vigabatrin ohne Wirkung auf die CSP blieb [Ziemann et al. 1996b].

Dadurch wird offenkundig, dass Medikamente mit unterschiedlichen Wirkmechanismen eine Verlängerung der CSP erzeugen können (z.B. Carbamazepin und Lorazepam), während Substanzen mit gleichem Mechanismus auch entgegengesetzte Wirkungen auf die CSP erzielen können (z.B. Diazepam und Lorazepam).

Aufgrund dieser kontroversen Studienlage ist die diagnostische Verwertbarkeit der CSP bei pharmakologischen TMS-Studien begrenzt. Außerdem stellt dies die Hypothese, dass eine kortikale GABAerge Hemmung zur CSP führt, in Frage.

Wie sich am Beispiel von Patienten zeigen ließ, stellt die CSP aber ein geeigneter Parameter zur Erfassung der motorischen, kortikalen Exzitabilität bei Patienten dar [Cantello et al. 1992; von Giesen et al. 1994].

In der vorliegenden Arbeit zeigte LEV im Vergleich zur Baseline keine signifikante Wirkung auf die CSP. Angesichts der dargelegten inhomogenen Studienlage ist ein verlässlicher Schluss auf den Wirkmechanismus von LEV aber daraus nicht ableitbar.

4.2 Methodik

4.2.1 Diskussion der Messtechnik

Die Wahl der Paradigmen der kortikalen Exzitabilität erfolgte nach bewährten Kriterien [Reis et al. 2002].

Zur Ermittlung möglichst einwandfreier Daten wurde auf strikte Einhaltung des vor Beginn der Studie erstellten Studienprotokolls geachtet. So wurden Einfluss- und Störfaktoren weitgehend minimiert. Mithilfe der audiovisuellen Kontrolle der EMG-Aktivität des Zielmuskels durch den Oszillographen wurden minimale Kontraktionen des Zielmuskels, die zu einer Verringerung der ICI und ICF führen können [Ridding und Rothwell 1995], registriert. Jede Bewegung eines Probanden wurden sofort unterbunden, da beispielsweise eine Verlängerung der CSP durch Kaubewegungen [Boroojerdi et al. 2000] und eine Amplitudenzunahme der MEP bei Bewegungen der

untersuchten oder kontralateralen Hand beobachtet werden [Maeda et al. 2002; Muellbacher et al. 2000].

Ein weiterer Störfaktor stellt die individuelle Reaktionszeit eines Probanden dar, weil diese Einfluss auf die CSP-Dauer ausübt [Mathis et al. 1998]. Eine ausreichende Vorinnervation minimiert diesen Störfaktor jedoch weitgehend [Mathis et al. 1998].

Bekanntermaßen unterliegen die Messergebnisse eine hohe interindividuelle, aber niedrige intraindividuelle Variabilität. So registrierten Fritz et al. beispielsweise an 28 Probanden eine CSP zwischen 44 und 258 ms. Die wiederholte Messung der CSP eines Probanden ergab jedoch relativ konstante Werte [Fritz et al. 1997]. Eine andere Studie lieferte vergleichbare Ergebnisse für die ICI und ICF [Boroojerdi et al. 2000].

Um sicherzustellen, dass eine Beeinflussung der Parameter nicht auf die intraindividuelle Variabilität, sondern auf die Wirkung des Medikaments zurückzuführen war, wurde vor Verumgabe bei jedem Probanden die Baseline aller Parameter bestimmt und die Ergebnisse der Messung zwei Stunden nach Verabreichung auf die Baseline bezogen.

Bekanntermaßen unterliegt die Auswertung bei unterschiedlichen Untersuchern einer ausgeprägten Variabilität [Boroojerdi et al. 2000]. Aus diesem Grund wurde die Auswertung der Messwerte dieser Arbeit nur von einer Person (Andreas Wentrup) vollzogen.

4.2.2 Diskussion der Statistik

Zur Auswahl des richtigen statistischen Verfahrens erfolgte eine umfangreiche Beratung durch das Institut für Biometrie der Philipps-Universität Marburg.

Aufgrund der Fallzahl musste für die konfirmatorische Analyse die Messwerte der einzelnen Paradigmen zusammengefasst werden (z.B. RMT und AMT zur MT) (Methodik siehe 2.4.). Auf diese Weise konnten alle fünf Parameter konfirmatorisch getestet werden.

Um die Werte im Einzelnen nicht zu vernachlässigen, wurden mit der explanatorischen Analyse BSL- und MED-Werte miteinander verglichen (z.B. ISI 2-BSL vs. ISI 2-MED). Daraus konnten weitere Hinweise gewonnen werden.

Wegen der nicht anzunehmenden Normalverteilung wurde als statistisches Verfahren der Vorzeichen-Rang-Test nach Wilcoxon gewählt.

Als Signifikanzniveau wurde ein p-Wert von $p < 0,05$ bereits im Studienprotokoll festgelegt.

Für die konfirmatorische Analyse ergab sich nach Bonferroni-Korrektur bei fünf Tests somit ein Signifikanzniveau von $p < 0,01$. Bei 45 Tests in der explanatorischen Analyse wurde nach Bonferroni-Korrektur ein p-Wert von $p < 0,001$ als signifikant angenommen. Die Bonferroni-Korrektur bietet den Vorteil, nur signifikante Ergebnisse zu ermitteln.

Ein Placeboeffekt bei AED-Studien mit TMS wurde wie bereits in einer anderen Studie nicht festgestellt [Reis et al. 2002]. Trotzdem sollte eine Placebokontrolle zum Standard weiterer pharmakologischer TMS-Studien gehören.

4.2.3 Übertragbarkeit der Ergebnisse auf Patienten

Diese Studie wurde an Gesunden durchgeführt. Bezüglich einer Übertragung der Ergebnisse auf Epilepsiepatienten müssen unterschiedliche Aspekte Berücksichtigung finden.

Zum einen sind Epilepsien häufig Ursache oder Folge von Hirnschäden und beeinflussen damit TMS-Parameter [von Giesen et al. 1994].

Selbst wenn der epileptogene Fokus außerhalb des motorischen Kortex liegt, ist eine Reduktion der intrakortikalen Fazilitation und Inhibition bei Patienten mit fokaler Epilepsie bei unveränderter RMT und CSP nachzuweisen [Werhahn et al. 2000]. Auch ergaben sich Unterschiede zwischen der Hemisphäre mit dem epileptogenen Fokus und der kontralateralen Hemisphäre [Werhahn et al. 2000].

In der vorliegenden Studie wurde nur die einmalige, nicht aber die chronische Gabe des Medikamentes untersucht. Diese ist bei Gesunden ethisch nicht vertretbar, aber für die Übertragung der Ergebnisse auf Patienten von Bedeutung. So führte die chronische Gabe von Lorazepam zu einem Schwellenanstieg [Ziemann et al. 1996b], während die einmalige Einnahme des Medikamentes die MT nicht signifikant veränderte.

Darüber hinaus ist es denkbar, dass LEV bei Gesunden eine andere Wirkung als bei Epilepsie-Patienten ausübt. So wurde bei Ratten in vitro beobachtet, dass LEV zwar epileptische Erregung aber nicht die normale Transmission hemmt [Birnstiel et al. 1997].

Somit unterliegt die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf Patienten einigen Einschränkungen. Eine prospektive Studie mit Epilepsie-Patienten wäre nötig.

4.2.4 Diskussion der Nebenwirkungen

Wie erwartet wurde das Medikament in der vorliegenden Studie gut vertragen. Die angegebenen Nebenwirkungen waren vergleichbar mit den aus der Langzeittherapie von Epileptikern bekannten Nebenwirkungen. Die Intensität der Nebenwirkungen war dosisabhängig. Am häufigsten wurde Müdigkeit angeführt. Dies kann zum Teil auch auf die monotone Durchführung der Studie zurückzuführen sein.

Außerdem können Kopfschmerzen auch als Folge der transkraniellen Magnetstimulation auftreten. Somit ist anzunehmen, dass der Nebenwirkungsscore dieser Studie sogar etwas zu hoch ausfällt.

Nebenwirkungen von Medikamenten bergen die Gefahr, die Parameter der kortikalen Exzitabilität zu verfälschen. So führt Müdigkeit bekanntermaßen zu einem Schwellenanstieg [Hess et al. 1987]. In Anbetracht der geringen Nebenwirkungen ist eine Verfälschung der Ergebnisse, genauso wie eine Entblindung der Probanden und des Untersuchers, über die verabreichte Dosis aber unwahrscheinlich.

Traditionelle Antiepileptika wirken über eine generelle Hemmung der neuronalen Exzitabilität. Auf diese Weise werden aber auch die physiologischen Prozesse beeinträchtigt.

Eine selektive Suppression pathologischer neuronaler Aktivität könnte diese Nebenwirkungen minimieren.

Für LEV existieren Hinweise auf diese selektive Angriffsweise. In Studien wurde eine Hemmung epileptischer Aktivität in vivo [Klitgaard et al. 1998; Margineanu und Wulfert 1995] und in vitro [Birnstiel et al. 1997] nachgewiesen, während ein Effekt auf die normale neuronale Aktivität ausblieb [Birnstiel et al. 1997; Margineanu und Wulfert 1995].

Dieser selektive Wirkungsansatz von LEV könnte zu den relativ geringen Nebenwirkungen in dieser Studie beitragen.

5 Zusammenfassung

Gegenstand dieser Arbeit war in erster Linie der Wirkmechanismus des neuen Antiepileptikums Keppra® (Wirkstoff: Levetiracetam). Dieses Medikament verfügt über eine ZNS-spezifische Bindungsstelle, dem synaptischen Vesikelprotein SV2A. SV2A ist ein multifunktionales Protein, dass in Zusammenhang mit einer GABA-Ausschüttung und dem synaptotagminvermittelten Kalziumeinstrom zu stehen scheint.

In-vitro-Studien mit Levetiracetam haben eine Hemmung des N-Typ-Kalziumkanals, eine Senkung des intrazellulären pH-Wertes, eine Reduktion des Kalium-einwärtsstroms und eine Inhibition von GABA_A-Rezeptoren über negative Modulatoren wie Zink gezeigt. In-vivo-Studien an Menschen fehlen aber weitgehend.

Die transkranielle Magnetstimulation gilt als eine etablierte klinische Untersuchung zur in-vivo-Diagnostik des Wirkmechanismus von Antiepileptika im humanen Motorkortex.

Mittels einer Magnetspule wurde ein elektrischer Strom im Repräsentationsgebiet des Musculus abductor digiti minimi des Motorkortex der dominanten Hemisphäre induziert und die Muskelkontraktion des Zielmuskels mit einem Oberflächen-EMG abgeleitet.

Vor Studienbeginn wurden fünf TMS-Parameter festgelegt, die jeweils eine Aussage über den Mechanismus der untersuchten Substanz auf zellulärer Ebene ermöglichen.

Zehn Probanden nahmen jeweils an drei Sitzungen teil. Bei jeder Erhebung wurden diese fünf Parameter vor und zwei Stunden nach doppelverblindeter Einnahme von Placebo, 500 mg oder 2000 mg LEV ermittelt.

Durch Einnahme von 2000 mg LEV kam es in der konfirmatorischen Analyse zu einem signifikanten Anstieg der motorischen Schwelle, während die kortikal induzierte Silent Period (CSP), die Recruitment Curve (RC) sowie die intrakortikale Inhibition (ICI) und Fazilitation (ICF) nicht signifikant beeinflusst wurden. Signifikante Placeboeffekte wurden nicht nachgewiesen.

Aus dem signifikanten Anstieg der MT ist zu schließen, dass LEV auf die Exzitabilität des humanen Motorkortex in vivo über einen kanalabhängigen Mechanismus wirkt.

Dies rückt erneut die Hemmung des N-Typ-Kalziumkanals, die möglicherweise über SV2A und Synaptotagmin vermittelt wird, auch beim Menschen in vivo in den Vordergrund.

Angesichts der nicht signifikant beeinflussten ICI und ICF ist anzunehmen, dass glutamaterge, monoaminerge, dopaminerge und GABAerge Mechanismen (auch über SV2A) bei der Wirkung von LEV im menschlichen Motorkortex in vivo eine geringe Relevanz besitzen. Hierfür existieren auch wenige Hinweise aus bisherigen Studien.

Erneut hat sich die transkranielle Magnetstimulation als risikoarmes, kostengünstiges und aussagekräftiges nichtinvasive Instrument in der Charakterisierung der Wirkung von AEDs auf die Exzitabilität des Motorkortex des Menschen bewährt.

6 Literaturverzeichnis

1. Abbruzzese, G., Trompetto, C. (2002). "Clinical and research methods for evaluating cortical excitability." *J Clin Neurophysiol* 19(4): 307-21.
2. Amassian, V.E., Cracco, R.Q., Maccabee, P.J. (1989). "Focal stimulation of human cerebral cortex with the magnetic coil: a comparison with electrical stimulation." *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 74(6): 401-16.
3. Armijo, J.A., de las Cuevas, I., Adin, J. (2000). "[Ion channels and epilepsy]." *Rev Neurol* 30 Suppl 1: S25-41.
4. Bajjalieh, S.M., Frantz, G.D., Weimann, J.M., McConnell, S.K., Scheller, R.H. (1994). "Differential expression of synaptic vesicle protein 2 (SV2) isoforms." *J Neurosci* 14(9): 5223-35.
5. Bares, M., Kanovsky, P., Klajblova, H., Rektor, I. (2003). "Intracortical inhibition and facilitation are impaired in patients with early Parkinson's disease: a paired TMS study." *Eur J Neurol* 10(4): 385-9.
6. Barker, A.T., Freeston, I.L., Jalinous, R., Jarratt, J.A. (1986). "Clinical evaluation of conduction time measurements in central motor pathways using magnetic stimulation of human brain." *Lancet* 1(8493): 1325-6.
7. Barker, A.T., Freeston, I.L., Jalinous, R., Jarratt, J.A. (1987). "Magnetic stimulation of the human brain and peripheral nervous system: an introduction and the results of an initial clinical evaluation." *Neurosurgery* 20(1): 100-9.
8. Benbadis, S., Luders, H. (1995). "[Classification of epileptic seizures. Comparison of two systems]." *Neurophysiol Clin* 25(5): 297-302.
9. Ben-Menachem, E., Falter, U. (2000). "Efficacy and tolerability of levetiracetam 3000 mg/d in patients with refractory partial seizures: a multicenter, double-blind, responder-selected study evaluating monotherapy. European Levetiracetam Study Group." *Epilepsia* 41(10): 1276-83.
10. Bernstein, G.M., Mendonca, A., Wadia, J., Burnham, W.M., Jones, O.T. (1999a). "Kindling induces a long-term enhancement in the density of N-type calcium channels in the rat hippocampus." *Neuroscience* 94(4): 1083-95.
11. Bernstein, G.M., Mendonca, A., Wadia, J., Burnham, W.M., Jones, O.T. (1999b). "Kindling induces an asymmetric enhancement of N-type Ca²⁺ channel density in the dendritic fields of the rat hippocampus." *Neurosci Lett* 268(3): 155-8.
12. Betts, T., Waegemans, T., Crawford, P. (2000). "A multicentre, double-blind, randomized, parallel group study to evaluate the tolerability and efficacy of two oral doses of levetiracetam, 2000 mg daily and 4000 mg daily, without titration in patients with refractory epilepsy." *Seizure* 9(2): 80-7.
13. Birnstiel, S., Wulfert, E., Beck, S.G. (1997). "Levetiracetam (ucb LO59) affects in vitro models of epilepsy in CA3 pyramidal neurons without altering normal synaptic transmission." *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 356(5): 611-8.
14. Borojerdi, B. (2002). "Pharmacologic influences on TMS effects." *J Clin Neurophysiol* 19(4): 255-71.
15. Borojerdi, B., Battaglia, F., Muellbacher, W., Cohen, L.G. (2001). "Mechanisms influencing stimulus-response properties of the human corticospinal system." *Clin Neurophysiol* 112(5): 931-7.
16. Borojerdi, B., Kopylev, L., Battaglia, F., Facchini, S., Ziemann, U., Muellbacher, W., Cohen, L.G. (2000). "Reproducibility of intracortical inhibition and facilitation using the paired-pulse paradigm." *Muscle Nerve* 23(10): 1594-7.

17. Bowery, N.G., Hill, D.R., Hudson, A.L., Doble, A., Middlemiss, D.N., Shaw, J., Turnbull, M. (1980). "(-)Baclofen decreases neurotransmitter release in the mammalian CNS by an action at a novel GABA receptor." *Nature* 283(5742): 92-4.
18. Brasil-Neto, J.P., Cohen, L.G., Panizza, M., Nilsson, J., Roth, B.J., Hallett, M. (1992). "Optimal focal transcranial magnetic activation of the human motor cortex: effects of coil orientation, shape of the induced current pulse, and stimulus intensity." *J Clin Neurophysiol* 9(1): 132-6.
19. Bridgers, S.L., Delaney, R.C. (1989). "Transcranial magnetic stimulation: an assessment of cognitive and other cerebral effects." *Neurology* 39(3): 417-9.
20. Browne, T.R., Szabo, G.K., Leppik, I.E., Josephs, E., Paz, J., Baltes, E., Jensen, C.M. (2000). "Absence of pharmacokinetic drug interaction of levetiracetam with phenytoin in patients with epilepsy determined by new technique." *J Clin Pharmacol* 40(6): 590-5.
21. Bryson, H.M., Fulton, B., Benfield, P. (1996). "Riluzole. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic potential in amyotrophic lateral sclerosis." *Drugs* 52(4): 549-63.
22. Cantello, R., Gianelli, M., Civardi, C., Mutani, R. (1992). "Magnetic brain stimulation: the silent period after the motor evoked potential." *Neurology* 42(10): 1951-9.
23. Cereghino, J.J., Biton, V., Abou-Khalil, B., Dreifuss, F., Gauer, L.J., Leppik, I. (2000). "Levetiracetam for partial seizures: results of a double-blind, randomized clinical trial." *Neurology* 55(2): 236-42.
24. Chen, R., Samii, A., Canos, M., Wassermann, E.M., Hallett, M. (1997). "Effects of phenytoin on cortical excitability in humans." *Neurology* 49(3): 881-3.
25. Chokroverty, S., Hening, W., Wright, D., Walczak, T., Goldberg, J., Burger, R., Belsh, J., Patel, B., Flynn, D., Shah, S. (1995). "Magnetic brain stimulation: safety studies." *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 97(1): 36-42.
26. Classen, J., Witte, O.W., Schlaug, G., Seitz, R.J., Holthausen, H., Benecke, R. (1995). "Epileptic seizures triggered directly by focal transcranial magnetic stimulation." *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 94(1): 19-25.
27. Claus, D., Mills, K.R., Murray, N.M. (1988). "Facilitation of muscle responses to magnetic brain stimulation by mechanical stimuli in man." *Exp Brain Res* 71(2): 273-8.
28. Cohen, D., Cuffin, B.N. (1991). "Developing a more focal magnetic stimulator. Part I: Some basic principles." *J Clin Neurophysiol* 8(1): 102-11.
29. Cohen, L.G., Roth, B.J., Nilsson, J., Dang, N., Panizza, M., Bandinelli, S., Friauf, W., Hallett, M. (1990). "Effects of coil design on delivery of focal magnetic stimulation. Technical considerations." *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 75(4): 350-7.
30. Crowder, K.M., Gunther, J.M., Jones, T.A., Hale, B.D., Zhang, H.Z., Peterson, M.R., Scheller, R.H., Chavkin, C., Bajjalieh, S.M. (1999). "Abnormal neurotransmission in mice lacking synaptic vesicle protein 2A (SV2A)." *Proc Natl Acad Sci U S A* 96(26): 15268-73.
31. Crunelli, V., Leresche, N. (1991). "A role for GABAB receptors in excitation and inhibition of thalamocortical cells." *Trends Neurosci* 14(1): 16-21.
32. Datta, A.K., Harrison, L.M., Stephens, J.A. (1989). "Task-dependent changes in the size of response to magnetic brain stimulation in human first dorsal interosseous muscle." *J Physiol* 418: 13-23.

33. Day, B.L., Thompson, P.D., Dick, J.P., Nakashima, K., Marsden, C.D. (1987). "Different sites of action of electrical and magnetic stimulation of the human brain." *Neurosci Lett* 75(1): 101-6.
34. DeLorey, T.M., Olsen, R.W. (1999). "GABA and epileptogenesis: comparing gabrb3 gene-deficient mice with Angelman syndrome in man." *Epilepsy Res* 36(2-3): 123-32.
35. Di Lazzaro, V., Restuccia, D., Oliviero, A., Profice, P., Ferrara, L., Insola, A., Mazzone, P., Tonali, P., Rothwell, J.C. (1998). "Effects of voluntary contraction on descending volleys evoked by transcranial stimulation in conscious humans." *J Physiol* 508 (Pt 2): 625-33.
36. Dressler, D., Voth, E., Feldmann, M., Benecke, R. (1990). "Safety aspects of transcranial brain stimulation in man tested by single photon emission-computed tomography." *Neurosci Lett* 119(2): 153-5.
37. Epstein, C.M., Schwartzberg, D.G., Davey, K.R., Sudderth, D.B. (1990). "Localizing the site of magnetic brain stimulation in humans." *Neurology* 40(4): 666-70.
38. Facchini, S., Muellbacher, W., Battaglia, F., Boroojerdi, B., Hallett, M. (2002). "Focal enhancement of motor cortex excitability during motor imagery: a transcranial magnetic stimulation study." *Acta Neurol Scand* 105(3): 146-51.
39. Fauth, C., Meyer, B.U., Prosiel, M., Zihl, J., Conrad, B. (1992). "Seizure induction and magnetic brain stimulation after stroke." *Lancet* 339(8789): 362.
40. Fink, K., Dooley, D.J., Meder, W.P., Suman-Chauhan, N., Duffy, S., Clusmann, H., Gothert, M. (2002). "Inhibition of neuronal Ca(2+) influx by gabapentin and pregabalin in the human neocortex." *Neuropharmacology* 42(2): 229-36.
41. Fraser, C.M., Sills, G.J., Forrest, G., Thompson, G.G., Brodie, M.J. (1999). "Effects of anti-epileptic drugs on glutamine synthetase activity in mouse brain." *Br J Pharmacol* 126(7): 1634-8.
42. Fritz, C., Braune, H.J., Pylatiuk, C., Pohl, M. (1997). "Silent period following transcranial magnetic stimulation: a study of intra- and inter-examiner reliability." *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 105(3): 235-40.
43. Fuhr, P., Agostino, R., Hallett, M. (1991). "Spinal motor neuron excitability during the silent period after cortical stimulation." *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 81(4): 257-62.
44. Fuks, B., Gillard, M., Michel, P., Lynch, B., Vertongen, P., Leprince, P., Klitgaard, H., Chatelain, P. (2003). "Localization and photoaffinity labelling of the levetiracetam binding site in rat brain and certain cell lines." *Eur J Pharmacol* 478(1): 11-9.
45. Futatsugi, Y., Riviello, J.J., Jr. (1998). "Mechanisms of generalized absence epilepsy." *Brain Dev* 20(2): 75-9.
46. Gates, J.R., Dhuna, A., Pascual-Leone, A. (1992). "Lack of pathologic changes in human temporal lobes after transcranial magnetic stimulation." *Epilepsia* 33(3): 504-8.
47. Gee, N.S., Brown, J.P., Dissanayake, V.U., Offord, J., Thurlow, R., Woodruff, G.N. (1996). "The novel anticonvulsant drug, gabapentin (Neurontin), binds to the alpha2delta subunit of a calcium channel." *J Biol Chem* 271(10): 5768-76.
48. Giaretta, D., Avoli, M., Gloor, P. (1987). "Intracellular recordings in pericruciate neurons during spike and wave discharges of feline generalized penicillin epilepsy." *Brain Res* 405(1): 68-79.
49. Gibbs, J.W., 3rd, Sombati, S., DeLorenzo, R.J., Coulter, D.A. (2000). "Cellular actions of topiramate: blockade of kainate-evoked inward currents in cultured hippocampal neurons." *Epilepsia* 41 Suppl 1: S10-6.

50. Gidal, B.E., Baltes, E., Otoul, C., Perucca, E. (2005). "Effect of levetiracetam on the pharmacokinetics of adjunctive antiepileptic drugs: a pooled analysis of data from randomized clinical trials." *Epilepsy Res* 64(1-2): 1-11.
51. Gillard, M., Fuks, B., Michel, P., Vertongen, P., Massingham, R., Chatelain, P. (2003). "Binding characteristics of [³H]ucb 30889 to levetiracetam binding sites in rat brain." *Eur J Pharmacol* 478(1): 1-9.
52. Goodridge, D.M., Shorvon, S.D. (1983). "Epileptic seizures in a population of 6000. I: Demography, diagnosis and classification, and role of the hospital services." *Br Med J (Clin Res Ed)* 287(6393): 641-4.
53. Gore, A., Moran, A., Hershinkel, M., Sekler, I. (2004). "Inhibitory mechanism of store-operated Ca²⁺ channels by zinc." *J Biol Chem* 279(12): 11106-11.
54. Gower, A.J., Noyer, M., Verloes, R., Gobert, J., Wulfert, E. (1992). "ucb L059, a novel anti-convulsant drug: pharmacological profile in animals." *Eur J Pharmacol* 222(2-3): 193-203.
55. Grant, R., Shorvon, S.D. (2000). "Efficacy and tolerability of 1000-4000 mg per day of levetiracetam as add-on therapy in patients with refractory epilepsy." *Epilepsy Res* 42(2-3): 89-95.
56. Haerer, A.F., Anderson, D.W., Schoenberg, B.S. (1986). "Prevalence and clinical features of epilepsy in a biracial United States population." *Epilepsia* 27(1): 66-75.
57. Hallett, M. (1995). "Transcranial magnetic stimulation. Negative effects." *Adv Neurol* 67: 107-13.
58. Hauser, W.A., Annegers, J.F., Kurland, L.T. (1993). "Incidence of epilepsy and unprovoked seizures in Rochester, Minnesota: 1935-1984." *Epilepsia* 34(3): 453-68.
59. Hern, J.E., Landgren, S., Phillips, C.G., Proter, R. (1962). "Selective excitation of corticofugal neurones by surface-anodal stimulation of the baboon's motor cortex." *J Physiol* 161: 73-90.
60. Hess, C.W., Ludin, H.P. (1988). "[Transcranial cortex stimulation with magnetic field pulses: methodologic and physiologic principles]." *EEG EMG Z Elektroenzephalogr Elektromyogr Verwandte Geb* 19(4): 209-15.
61. Hess, C.W., Mills, K.R., Murray, N.M. (1988). "[Characteristics of electrical discharges by transcranial cortex stimulation activated motor units of the hand muscles of the human]." *EEG EMG Z Elektroenzephalogr Elektromyogr Verwandte Geb* 19(4): 216-21.
62. Hess, C.W., Mills, K.R., Murray, N.M., Schriefer, T.N. (1987). "Excitability of the human motor cortex is enhanced during REM sleep." *Neurosci Lett* 82(1): 47-52.
63. Holmgren, H., Larsson, L.E., Pedersen, S. (1990). "Late muscular responses to transcranial cortical stimulation in man." *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 75(3): 161-72.
64. Hovinga, C.A. (2001). "Levetiracetam: a novel antiepileptic drug." *Pharmacotherapy* 21(11): 1375-88.
65. Huang, C.W., Huang, C.C., Liu, Y.C., Wu, S.N. (2004). "Inhibitory effect of lamotrigine on A-type potassium current in hippocampal neuron-derived H19-7 cells." *Epilepsia* 45(7): 729-36.
66. Inghilleri, M., Berardelli, A., Cruccu, G., Manfredi, M. (1993). "Silent period evoked by transcranial stimulation of the human cortex and cervicomedullary junction." *J Physiol* 466: 521-34.

67. Izumi, S., Findley, T.W., Ikai, T., Andrews, J., Daum, M., Chino, N. (1995). "Facilitatory effect of thinking about movement on motor-evoked potentials to transcranial magnetic stimulation of the brain." *Am J Phys Med Rehabil* 74(3): 207-13.
68. Jahnsen, H., Llinas, R. (1984). "Voltage-dependent burst-to-tonic switching of thalamic cell activity: an in vitro study." *Arch Ital Biol* 122(1): 73-82.
69. Kandler, R. (1990). "Safety of transcranial magnetic stimulation." *Lancet* 335(8687): 469-70.
70. Kim, D.K., Catterall, W.A. (1997). "Ca²⁺-dependent and -independent interactions of the isoforms of the alpha1A subunit of brain Ca²⁺ channels with presynaptic SNARE proteins." *Proc Natl Acad Sci U S A* 94(26): 14782-6.
71. Klitgaard, H., Matagne, A., Gobert, J., Wulfert, E. (1998). "Evidence for a unique profile of levetiracetam in rodent models of seizures and epilepsy." *Eur J Pharmacol* 353(2-3): 191-206.
72. Kohr, G., Heinemann, U. (1990). "Effects of the tetronic acid derivatives AO33 (losigamone) and AO78 on epileptiform activity and on stimulus-induced calcium concentration changes in rat hippocampal slices." *Epilepsy Res* 7(1): 49-58.
73. Kujirai, T., Caramia, M.D., Rothwell, J.C., Day, B.L., Thompson, P.D., Ferbert, A., Wroe, S., Asselman, P., Marsden, C.D. (1993). "Corticocortical inhibition in human motor cortex." *J Physiol* 471: 501-19.
74. Kukowski, B., Haug, B. (1992). "Quantitative evaluation of the silent period, evoked by transcranial magnetic stimulation during sustained muscle contraction, in normal man and in patients with stroke." *Electromyogr Clin Neurophysiol* 32(7-8): 373-8.
75. Lambeng, N., Gillard, M., Vertongen, P., Fuks, B., Chatelain, P. (2005). "Characterization of [(3)H]ucb 30889 binding to synaptic vesicle protein 2A in the rat spinal cord." *Eur J Pharmacol* 520(1-3): 70-6.
76. Lambeng, N., Grossmann, M., Chatelain, P., Fuks, B. (2006). "Solubilization and immunopurification of rat brain synaptic vesicle protein 2A with maintained binding properties." *Neurosci Lett*.
77. Leach, J.P., Brodie, M.J. (1995). "New antiepileptic drugs--an explosion of activity." *Seizure* 4(1): 5-17.
78. Leniger, T., Thone, J., Bonnet, U., Hufnagel, A., Bingmann, D., Wiemann, M. (2004). "Levetiracetam inhibits Na⁺-dependent Cl⁻/HCO₃⁻ exchange of adult hippocampal CA3 neurons from guinea-pigs." *Br J Pharmacol* 142(7): 1073-80.
79. Leveque, C., el Far, O., Martin-Moutot, N., Sato, K., Kato, R., Takahashi, M., Seagar, M.J. (1994). "Purification of the N-type calcium channel associated with syntaxin and synaptotagmin. A complex implicated in synaptic vesicle exocytosis." *J Biol Chem* 269(9): 6306-12.
80. Liepert, J., Schwenkreis, P., Tegenthoff, M., Malin, J.P. (1997). "The glutamate antagonist riluzole suppresses intracortical facilitation." *J Neural Transm* 104(11-12): 1207-14.
81. Loscher, W., Honack, D., Bloms-Funke, P. (1996). "The novel antiepileptic drug levetiracetam (ucb L059) induces alterations in GABA metabolism and turnover in discrete areas of rat brain and reduces neuronal activity in substantia nigra pars reticulata." *Brain Res* 735(2): 208-16.
82. Lynch, B.A., Lambeng, N., Nocka, K., Kensel-Hammes, P., Bajjalieh, S.M., Matagne, A., Fuks, B. (2004). "The synaptic vesicle protein SV2A is the binding site for the antiepileptic drug levetiracetam." *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(26): 9861-6.

83. Macdonald, R.L., Kelly, K.M. (1995). "Antiepileptic drug mechanisms of action." *Epilepsia* 36 Suppl 2: S2-12.
84. Madeja, M., Margineanu, D.G., Gorji, A., Siep, E., Boerrigter, P., Klitgaard, H., Speckmann, E.J. (2003). "Reduction of voltage-operated potassium currents by levetiracetam: a novel antiepileptic mechanism of action?" *Neuropharmacology* 45(5): 661-71.
85. Maeda, F., Kleiner-Fisman, G., Pascual-Leone, A. (2002). "Motor facilitation while observing hand actions: specificity of the effect and role of observer's orientation." *J Neurophysiol* 87(3): 1329-35.
86. Manganotti, P., Bongiovanni, L.G., Zanette, G., Turazzini, M., Fiaschi, A. (1999). "Cortical excitability in patients after loading doses of lamotrigine: a study with magnetic brain stimulation." *Epilepsia* 40(3): 316-21.
87. Margineanu, D.G., Klitgaard, H. (2000). "Inhibition of neuronal hypersynchrony in vitro differentiates levetiracetam from classical antiepileptic drugs." *Pharmacol Res* 42(4): 281-5.
88. Margineanu, D.G., Wulfert, E. (1995). "ucb L059, a novel anticonvulsant, reduces bicuculline-induced hyperexcitability in rat hippocampal CA3 in vivo." *Eur J Pharmacol* 286(3): 321-5.
89. Mathern, G.W., Pretorius, J.K., Mendoza, D., Leite, J.P., Chimelli, L., Born, D.E., Fried, I., Assirati, J.A., Ojemann, G.A., Adelson, P.D., Cahan, L.D., Kornblum, H.I. (1999). "Hippocampal N-methyl-D-aspartate receptor subunit mRNA levels in temporal lobe epilepsy patients." *Ann Neurol* 46(3): 343-58.
90. Mathis, J., de Quervain, D., Hess, C.W. (1998). "Dependence of the transcranially induced silent period on the 'instruction set' and the individual reaction time." *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 109(5): 426-35.
91. Matsumoto, H., Marsan, C.A. (1964). "Cortical Cellular Phenomena in Experimental Epilepsy: Ictal Manifestations." *Exp Neurol* 25: 305-26.
92. Matthews, E.A., Dickenson, A.H. (2001). "Effects of ethosuximide, a T-type Ca(2+) channel blocker, on dorsal horn neuronal responses in rats." *Eur J Pharmacol* 415(2-3): 141-9.
93. May, T.W., Rambeck, B., Jurgens, U. (2003). "Serum concentrations of Levetiracetam in epileptic patients: the influence of dose and co-medication." *Ther Drug Monit* 25(6): 690-9.
94. McNamara, J.O. (1999). "Emerging insights into the genesis of epilepsy." *Nature* 399(6738 Suppl): A15-22.
95. Meyer, B.U., Britton, T.C., Klotten, H., Steinmetz, H., Benecke, R. (1991). "Coil placement in magnetic brain stimulation related to skull and brain anatomy." *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 81(1): 38-46.
96. Mills, K.R., Boniface, S.J., Schubert, M. (1992). "Magnetic brain stimulation with a double coil: the importance of coil orientation." *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 85(1): 17-21.
97. Modugno, N., Curra, A., Giovannelli, M., Priori, A., Squitieri, F., Ruggieri, S., Manfredi, M., Berardelli, A. (2001). "The prolonged cortical silent period in patients with Huntington's disease." *Clin Neurophysiol* 112(8): 1470-4.
98. Muellbacher, W., Facchini, S., Boroojerdi, B., Hallett, M. (2000). "Changes in motor cortex excitability during ipsilateral hand muscle activation in humans." *Clin Neurophysiol* 111(2): 344-9.
99. Nakamura, H., Kitagawa, H., Kawaguchi, Y., Tsuji, H. (1997). "Intracortical facilitation and inhibition after transcranial magnetic stimulation in conscious humans." *J Physiol* 498 (Pt 3): 817-23.

100. Netzer, R., Pflimlin, P., Trube, G. (1993). "Dextromethorphan blocks N-methyl-D-aspartate-induced currents and voltage-operated inward currents in cultured cortical neurons." *Eur J Pharmacol* 238(2-3): 209-16.
101. Nicolas, J.M., Collart, P., Gerin, B., Mather, G., Trager, W., Levy, R., Roba, J. (1999). "In vitro evaluation of potential drug interactions with levetiracetam, a new antiepileptic agent." *Drug Metab Dispos* 27(2): 250-4.
102. Niespodziany, I., Klitgaard, H., Margineanu, D.G. (2001). "Levetiracetam inhibits the high-voltage-activated Ca(2+) current in pyramidal neurones of rat hippocampal slices." *Neurosci Lett* 306(1-2): 5-8.
103. Nishiki, T., Augustine, G.J. (2004). "Synaptotagmin I synchronizes transmitter release in mouse hippocampal neurons." *J Neurosci* 24(27): 6127-32.
104. Nobile, M., Vercellino, P. (1997). "Inhibition of delayed rectifier K+ channels by phenytoin in rat neuroblastoma cells." *Br J Pharmacol* 120(4): 647-52.
105. Noyer, M., Gillard, M., Matagne, A., Henichart, J.P., Wulfert, E. (1995). "The novel antiepileptic drug levetiracetam (ucb L059) appears to act via a specific binding site in CNS membranes." *Eur J Pharmacol* 286(2): 137-46.
106. Pascual-Leone, A., Valls-Sole, J., Wassermann, E.M., Brasil-Neto, J., Cohen, L.G., Hallett, M. (1992). "Effects of focal transcranial magnetic stimulation on simple reaction time to acoustic, visual and somatosensory stimuli." *Brain* 115 (Pt 4): 1045-59.
107. Patsalos, P.N. (2000). "Pharmacokinetic profile of levetiracetam: toward ideal characteristics." *Pharmacol Ther* 85(2): 77-85.
108. Perucca, E., Bialer, M. (1996). "The clinical pharmacokinetics of the newer antiepileptic drugs. Focus on topiramate, zonisamide and tiagabine." *Clin Pharmacokinet* 31(1): 29-46.
109. Pisani, A., Bonsi, P., Martella, G., De Persis, C., Costa, C., Pisani, F., Bernardi, G., Calabresi, P. (2004). "Intracellular calcium increase in epileptiform activity: modulation by levetiracetam and lamotrigine." *Epilepsia* 45(7): 719-28.
110. Plaitakis, A. (1990). "Glutamate dysfunction and selective motor neuron degeneration in amyotrophic lateral sclerosis: a hypothesis." *Ann Neurol* 28(1): 3-8.
111. Polson, M.J., Barker, A.T., Freeston, I.L. (1982). "Stimulation of nerve trunks with time-varying magnetic fields." *Med Biol Eng Comput* 20(2): 243-4.
112. Priori, A., Berardelli, A., Inghilleri, M., Polidori, L., Manfredi, M. (1994). "Electromyographic silent period after transcranial brain stimulation in Huntington's disease." *Mov Disord* 9(2): 178-82.
113. Reis, J., Tergau, F., Hamer, H.M., Muller, H.H., Knake, S., Fritsch, B., Oertel, W.H., Rosenow, F. (2002). "Topiramate selectively decreases intracortical excitability in human motor cortex." *Epilepsia* 43(10): 1149-56.
114. Ridding, M.C., Rothwell, J.C. (1995). "Reorganisation in human motor cortex." *ICan J Physiol Pharmacol* 73(2): 218-22.
115. Rigo, J.M., Hans, G., Nguyen, L., Rocher, V., Belachew, S., Malgrange, B., Leprince, P., Moonen, G., Selak, I., Matagne, A., Klitgaard, H. (2002). "The anti-epileptic drug levetiracetam reverses the inhibition by negative allosteric modulators of neuronal GABA- and glycine-gated currents." *Br J Pharmacol* 136(5): 659-72.
116. Robbins, R.J., Brines, M.L., Kim, J.H., Adrian, T., de Lanerolle, N., Welsh, S., Spencer, D.D. (1991). "A selective loss of somatostatin in the hippocampus of patients with temporal lobe epilepsy." *Ann Neurol* 29(3): 325-32.

117. Robinson, L.R., Goldstein, B.S., Little, J.W. (1993). "Silent periods after electromagnetic stimulation of the motor cortex." *Am J Phys Med Rehabil* 72(1): 23-8.
118. Roick, H., von Giesen, H.J., Benecke, R. (1993). "On the origin of the postexcitatory inhibition seen after transcranial magnetic brain stimulation in awake human subjects." *Exp Brain Res* 94(3): 489-98.
119. Rudiak, D., Marg, E. (1994). "Finding the depth of magnetic brain stimulation: a re-evaluation." *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 93(5): 358-71.
120. Ichulze-Bonhage, A., Knott, H., Ferbert, A. (1996). "Effects of carbamazepine on cortical excitatory and inhibitory phenomena: a study with paired transcranial magnetic stimulation." *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 99(3): 267-73.
121. Schwenkreis, P., Liepert, J., Witscher, K., Fischer, W., Weiller, C., Malin, J.P., Tegenthoff, M. (2000). "Riluzole suppresses motor cortex facilitation in correlation to its plasma level. A study using transcranial magnetic stimulation." *Exp Brain Res* 135(3): 293-9.
122. Schwenkreis, P., Witscher, K., Janssen, F., Addo, A., Dertwinkel, R., Zenz, M., Malin, J.P., Tegenthoff, M. (1999). "Influence of the N-methyl-D-aspartate antagonist memantine on human motor cortex excitability." *Neurosci Lett* 270(3): 137-40.
123. Shank, R.P., Gardocki, J.F., Streeter, A.J., Maryanoff, B.E. (2000). "An overview of the preclinical aspects of topiramate: pharmacology, pharmacokinetics, and mechanism of action." *Epilepsia* 41 Suppl 1: S3-9.
124. Sheng, Z.H., Westenbroek, R.E., Catterall, W.A. (1998). "Physical link and functional coupling of presynaptic calcium channels and the synaptic vesicle docking/fusion machinery." *J Bioenerg Biomembr* 30(4): 335-45.
125. Shorvon, S.D., Lowenthal, A., Janz, D., Bielen, E., Loiseau, P. (2000). "Multicenter double-blind, randomized, placebo-controlled trial of levetiracetam as add-on therapy in patients with refractory partial seizures. European Levetiracetam Study Group." *Epilepsia* 41(9): 1179-86.
126. Shorvon, S.D., van Rijckevorsel, K. (2002). "A new antiepileptic drug." *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 72(4): 426-9.
127. Siebner, H.R., Dressnandt, J., Auer, C., Conrad, B. (1998). "Continuous intrathecal baclofen infusions induced a marked increase of the transcranially evoked silent period in a patient with generalized dystonia." *Muscle Nerve* 21(9): 1209-12.
128. Sills, G.J., Leach, J.P., Fraser, C.M., Forrest, G., Patsalos, P.N., Brodie, M.J. (1997). "Neurochemical studies with the novel anticonvulsant levetiracetam in mouse brain." *Eur J Pharmacol* 325(1): 35-40.
129. Sohn, Y.H., Kaelin-Lang, A., Jung, H.Y., Hallett, M. (2001). "Effect of levetiracetam on human corticospinal excitability." *Neurology* 57(5): 858-63.
130. Speckmann, E.J., Straub, H., Kohling, R. (1993). "Contribution of calcium ions to the generation of epileptic activity and antiepileptic calcium antagonism." *Neuropsychobiology* 27(3): 122-6.
131. Speckmann, E.J., Walden, J., Bingmann, D. (1989). "[Functional implication of calcium ions in epileptic seizures. Antiepileptic effects of organic calcium antagonists]." *Arzneimittelforschung* 39(1A): 149-56.
132. Stefani, A., Calabresi, P., Pisani, A., Mercuri, N.B., Siniscalchi, A., Bernardi, G. (1996). "Felbamate inhibits dihydropyridine-sensitive calcium channels in central neurons." *J Pharmacol Exp Ther* 277(1): 121-7.

133. Strafella, A.P., Valzania, F., Nasseti, S.A., Tropeani, A., Bisulli, A., Santangelo, M., Tassinari, C.A. (2000). "Effects of chronic levodopa and pergolide treatment on cortical excitability in patients with Parkinson's disease: a transcranial magnetic stimulation study." *Clin Neurophysiol* 111(7): 1198-202.
134. Tergau, F., Wischer, S., Somal, H.S., Nitsche, M.A., Mercer, A.J., Paulus, W., Steinhoff, B.J. (2003). "Relationship between lamotrigine oral dose, serum level and its inhibitory effect on CNS: insights from transcranial magnetic stimulation." *Epilepsy Res* 56(1): 67-77.
135. Thompson, S.M., Gahwiler, B.H. (1992). "Effects of the GABA uptake inhibitor tiagabine on inhibitory synaptic potentials in rat hippocampal slice cultures." *J Neurophysiol* 67(6): 1698-701.
136. Tofts, P.S. (1990). "The distribution of induced currents in magnetic stimulation of the nervous system." *Phys Med Biol* 35(8): 1119-28.
137. von Giesen, H.J., Roick, H., Benecke, R. (1994). "Inhibitory actions of motor cortex following unilateral brain lesions as studied by magnetic brain stimulation." *Exp Brain Res* 99(1): 84-96.
138. Wallace, R.H., Marini, C., Petrou, S., Harkin, L.A., Bowser, D.N., Panchal, R.G., Williams, D.A., Sutherland, G.R., Mulley, J.C., Scheffer, I.E., Berkovic, S.F. (2001). "Mutant GABA(A) receptor gamma2-subunit in childhood absence epilepsy and febrile seizures." *Nat Genet* 28(1): 49-52.
139. Wang, S.J., Huang, C.C., Hsu, K.S., Tsai, J.J., Gean, P.W. (1996). "Inhibition of N-type calcium currents by lamotrigine in rat amygdalar neurones." *Neuroreport* 7(18): 3037-40.
140. Wassermann, E.M., McShane, L.M., Hallett, M., Cohen, L.G. (1992). "Noninvasive mapping of muscle representations in human motor cortex." *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 85(1): 1-8.
141. Watanabe, Y., Johnson, R.S., Butler, L.S., Binder, D.K., Spiegelman, B.M., Papaioannou, V.E., McNamara, J.O. (1996). "Null mutation of c-fos impairs structural and functional plasticities in the kindling model of epilepsy." *J Neurosci* 16(12): 3827-36.
142. Werhahn, K.J., Forderreuther, S., Straube, A. (1998). "Effects of the serotonin1B/1D receptor agonist zolmitriptan on motor cortical excitability in humans." *Neurology* 51(3): 896-8.
143. Werhahn, K.J., Kunesch, E., Noachtar, S., Benecke, R., Classen, J. (1999). "Differential effects on motorcortical inhibition induced by blockade of GABA uptake in humans." *J Physiol* 517 (Pt 2): 591-7.
144. Werhahn, K.J., Lieber, J., Classen, J., Noachtar, S. (2000). "Motor cortex excitability in patients with focal epilepsy." *Epilepsy Res* 41(2): 179-89.
145. White, H.S., Brown, S.D., Woodhead, J.H., Skeen, G.A., Wolf, H.H. (2000). "Topiramate modulates GABA-evoked currents in murine cortical neurons by a nonbenzodiazepine mechanism." *Epilepsia* 41 Suppl 1: S17-20.
146. Wilson, S.A., Lockwood, R.J., Thickbroom, G.W., Mastaglia, F.L. (1993). "The muscle silent period following transcranial magnetic cortical stimulation." *J Neurol Sci* 114(2): 216-22.
147. Witte, O.W. (2000). "Physiological basis of pathophysiological brain rhythms." *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 60(2): 289-97.
148. Witte, O.W., Speckmann, E.J., Walden, J. (1987). "Motor cortical epileptic foci in vivo: actions of a calcium channel blocker on paroxysmal neuronal depolarizations." *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 66(1): 43-55.

149. Wu, J., Ellsworth, K., Ellsworth, M., Schroeder, K.M., Smith, K., Fisher, R.S. (2004). "Abnormal benzodiazepine and zinc modulation of GABAA receptors in an acquired absence epilepsy model." *Brain Res* 1013(2): 230-40.
150. Xu, T., Bajjalieh, S.M. (2001). "SV2 modulates the size of the readily releasable pool of secretory vesicles." *Nat Cell Biol* 3(8): 691-8.
151. Yokota, T., Yoshino, A., Inaba, A., Saito, Y. (1996). "Double cortical stimulation in amyotrophic lateral sclerosis." *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 61(6): 596-600.
152. Yunokuchi, K., Cohen, D. (1991). "Developing a more focal magnetic stimulator. Part II: Fabricating coils and measuring induced current distributions." *J Clin Neurophysiol* 8(1): 112-20.
153. Zakusov, V.V., Ostrovskaya, R.U., Kozhechkin, S.N., Markovich, V.V., Molodavkin, G.M., Voronina, T.A. (1977). "Further evidence for GABA-ergic mechanisms in the action of benzodiazepines." *Arch Int Pharmacodyn Ther* 229(2): 313-26.
154. Zamponi, G.W. (2003). "Regulation of presynaptic calcium channels by synaptic proteins." *J Pharmacol Sci* 92(2): 79-83.
155. Zanette, G., Manganotti, P., Fiaschi, A., Tamburin, S. (2004). "Modulation of motor cortex excitability after upper limb immobilization." *Clin Neurophysiol* 115(6): 1264-75.
156. Ziemann, U., Chen, R., Cohen, L.G., Hallett, M. (1998a). "Dextromethorphan decreases the excitability of the human motor cortex." *Neurology* 51(5): 1320-4.
157. Ziemann, U., Lonnecker, S., Paulus, W. (1995). "Inhibition of human motor cortex by ethanol. A transcranial magnetic stimulation study." *Brain* 118 (Pt 6): 1437-46.
158. Ziemann, U., Lonnecker, S., Steinhoff, B.J., Paulus, W. (1996a). "The effect of lorazepam on the motor cortical excitability in man." *Exp Brain Res* 109(1): 127-35.
159. Ziemann, U., Lonnecker, S., Steinhoff, B.J., Paulus, W. (1996b). "Effects of antiepileptic drugs on motor cortex excitability in humans: a transcranial magnetic stimulation study." *Ann Neurol* 40(3): 367-78.
160. Ziemann, U., Rothwell, J.C., Ridding, M.C. (1996c). "Interaction between intracortical inhibition and facilitation in human motor cortex." *J Physiol* 496 (Pt 3): 873-81.
161. Ziemann, U., Tergau, F., Bruns, D., Baudewig, J., Paulus, W. (1997). "Changes in human motor cortex excitability induced by dopaminergic and anti-174. dopaminergic drugs." *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 105(6): 430-7.
162. Ziemann, U., Tergau, F., Wassermann, E.M., Wischer, S., Hildebrandt, J., Paulus, W. (1998b). "Demonstration of facilitatory I wave interaction in the human motor cortex by paired transcranial magnetic stimulation." *J Physiol* 511 (Pt 1): 181-90.

7 Anhang

7.1 Abkürzungsverzeichnis

AED	Antiepileptikum
AMT	aktive motorische Schwelle
BSL	Baseline
CR	konditionierender Reiz
CMAP	maximales Muskelsummenpotential
CSP	kortikal induzierte Silent Period
EMG	Elektromyographie
LEV	Levetiracetam
MED	nach Medikamenteneinnahme
MEP	motorisch evoziertes Potential
MT	motorische Schwelle
NW	Nebenwirkung
ICF	intrakortikale Fazilitation
ICI	intrakortikale Inhibition
ISI	Interstimulusintervall
RMT	motorische Ruheschwelle
RC	Recruitment Curve
TMS	transkranielle Magnetstimulation
TR	Testreiz

7.2 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Wirkmechanismus von Antiepileptika.

Abb. 2: Strukturformel von Levetiracetam.

Abb. 3: Die häufigsten unerwünschten Wirkungen von Levetiracetam bei Patienten.

Abb. 4: Schematischer Aufbau des Magnetstimulators.

Abb. 5: Zeitlicher Verlauf des Magnetfeldimpulses.

Abb. 6: Magnetfeldstärke im Verhältnis zur Eindringtiefe.

Abb. 7: Darstellung der Einzelspule und der Doppelspule mit dem unter der Spule generierten Magnetfeldprofil.

Abb. 8: Schematische Darstellung einer CSP.

Abb. 9: Schematische Darstellung der MEP-Amplituden des CR (a) und des TR (b) als Einzellstimulus. Gemeinsame Applikation der beiden Reize bei einem Interstimulusintervall von 4 ms (c) und 10 ms (d). Latenzzeit (LZ).

Abb. 10: Darstellung der Differenzen der MT vor und nach Gabe von Placebo, LEV 500 mg und LEV 2000 mg im Vergleich zur Baseline mit Angabe von Mittelwert und Standardabweichung.

Abb. 11: RMT der Probanden in % der maximalen Stimulatorengangsleistung.

Abb. 12: AMT der Probanden in % der maximalen Stimulatorengangsleistung.

Abb. 13: Mittelwert der Schwellen mit Standardabweichung für RMT, AMT und MT vor (BSL) und zwei Stunden nach (MED) Einnahme der Testsubstanz in Prozent der maximalen Stimulatorengangsleistung.

Abb. 14: MEP-Amplituden der Intensitäten 100 %, 110 %, 120 % und 130 % der RMT in Prozent des 100 % gesetzten CMAP vor und zwei Stunden nach Medikamenteneinnahme.

Abb. 15: Änderung der MEP-Amplitude zwei Stunden nach Einnahme von Placebo, LEV 500 mg und LEV 2000 mg für die vier Reizstärken in % der Baseline (100 % gesetzt).

Abb. 16: Konditionierte MEP-Amplituden in Prozent der MEP-Amplitude des Testreizes für ISI 2, ISI 3 und ISI 4.

Abb. 17: Darstellung der konditionierten MEP-Amplituden in Prozent der MEP-Amplitude des Testreizes für Placebo, LEV 500 und LEV 2000.

Abb. 18: Darstellung der Nebenwirkungen nach Einnahme der Testsubstanz mit errechnetem Nebenwirkungsscore.

7.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Darstellung von Nebenwirkungen bei 672 Patienten mit LEV-Therapie im Vergleich zu 351 Patienten mit Placebo.

Tabelle 2: Signifikante Veränderungen von TMS-Parametern bei acht Antiepileptika.

Tabelle 3: Die RMT und AMT für jeden Probanden vor und zwei Stunden nach Medikamenteneinnahme in Prozent der maximalen Stimulatoreausgangsleistung.

Tabelle 4: Darstellung der motorischen Schwellen in Prozent der maximalen Ausgangsleistung des Stimulators vor und nach Medikamenteneinnahme mit Standardabweichung.

Tabelle 5: p-Werte der motorischen Schwellen (BSL versus MED) nach dem Wilcoxon-Test berechnet.

Tabelle 6: Darstellung der Recruitment Curve (peak-to-peak-Amplituden bei 100 %, 110 %, 120 % und 130 % der RMT in Prozent des 100 % gesetzten CMAP).

Tabelle 7: p-Werte für die Recruitment Curve (BSL vs. MED) nach dem Wilcoxon-Test berechnet.

Tabelle 8: Konditionierte MEP-Amplituden in Prozent der MEP-Amplitude des Testreizes mit Standardabweichung für ISI 2, ISI 3 und ISI 4.

Tabelle 9: p-Werte der intrakortikalen Inhibition für ISI 2, ISI 3 und ISI 4 mit dem Wilcoxon-Test berechnet (BSL vs. MED).

Tabelle 10: Konditionierte MEP-Amplituden in Prozent der MEP-Amplitude des Testreizes mit Standardabweichung für ISI 10 und ISI 15.

Tabelle 11: p-Werte für ISI 10 und ISI 15 (BSL vs. MED) mit dem Wilcoxon-Test ermittelt.

Tabelle 12: Darstellung der CSP in ms mit Standardabweichung.

Tabelle 13: p-Werte der Dauer der CSP in ms (BSL vs. MED) nach dem Wilcoxon-Test.

7.4 Verzeichnis der akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrer waren die Damen und Herren:

Arnold	Aumüller	Bach	Back
Bandmann	Barth	Barth	Basler
Baum	Bertalanffy	Bien	Bolm
Cetin	Christiansen	Cziubayko	Daut
Dobbelstein	Eilers	Engenhardt-Cabillic	Feuser
Fruhstorfer	Gemsa	Gerdes	Geus
Görg	Görg	Gotthardt	Gotzen
Grimm	Griss	Grzesik	Gudermann
Happle	Hamer	Hasilik	Herzum
Hörle	Hoffmann	Hofmann	Joseph
Jungclas	Kaluza	Kern	Kill
Kim-Berger	Klaus	Klenk	Klose
Knake	Koolman	Kraft	Kretschmer
Krieg	Kroh	Kroll	Kuhn
Lammel	Lang	Lange	Lennartz
Lippert	Löffler	Maisch	Mennel
Meyer-Wittstock	Moll	Moosdorf	Müller
Müller	Mutters	Neubauer	Nies
Oertel	Pfeiffer	Prinz	Radsak
Remschmidt	Renz	Richter	Riße ₁
Röhm	Rosenow	Rothmund	Schachtschabel
Schäfer	Schäfer	Schepelmann	Schmidt
Schmidt	Schnabel	Schneider	Schneyer
Schüffel	Schulze	Schwarz	Seitz
Seyberth	Slenczka	Sommer	Steiniger
Sturm	Sundermeyer	Sure	Vogelmeier
Vohland	Voigt	Wagner	Weihe
Werner	Westermann	v.Wichert	Wulf

7.5 Danksagung

Besonderen Dank gilt Professor Dr. med. Felix Rosenow für die Überlassung des Themas und die engagierte und effiziente Betreuung.

Außerdem danke ich Frau Dr. med. Janine Reis für die Einarbeitung in die Untersuchungsmethode und die großzügige Überlassung ihrer Vorarbeit.

Gedankt sei auch allen geduldigen Probandinnen und Probanden, ohne die diese Studie nicht möglich gewesen wäre.

Meinen Eltern, Meike und Peter-Christian Wentrup, danke ich für die zuverlässige Begleitung während dieser Arbeit und des gesamten Studiums und meinem Vater insbesondere für das sorgfältige Korrekturlesen dieser Dissertation.

Außerdem danke ich sehr Christine Alsmann für ihre unermüdliche, tatkräftige und verständnisvolle Unterstützung, die mir die Fertigstellung dieser Arbeit deutlich erleichterte.

Meinem Bruder Stefan Wentrup danke ich insbesondere für die Federführung bei der Erstellung von Graphiken.

Guido Pilgramm, Jens Heyn, Tobias Härle und Lissy Chelangattucherry gilt mein Dank für ihre freundschaftliche und fachliche Hilfe.

Kristina Frey und Andrea Rube danke ich für ihre Unterstützung in Marburg bzw. Würzburg.

7.6 Publikationen

Im Rahmen dieser Arbeit haben sich folgende Veröffentlichungen ergeben:

Orginalartikel:

Reis, J., Wentrup, A., Hamer, H. M., Mueller, H.H., Knake, S., Tergau, F., Oertel, W. H., Rosenow, F. (2004). „Levetiracetam influences human motor cortex excitability mainly by modulation of ion channel function--a TMS study.“ *Epilepsy Res.* 62 (1) : 41-51.

Weitere Abstracts:

Reis, J., Wentrup, A., Hamer, H. M., Mueller, H.H., Knake, S., Tergau, F., Oertel, W. H., Rosenow, F. (2004). „Levetiracetam modulates human motor cortex excitability by ion channels.“ Joint Meeting 2003, American Academy of Electrodiagnostic Medicine and IFCN, San Francisco, USA, 2003. *Muscle and Nerve Suppl.* 12: S131, 2003.

Reis, J., Wentrup, A., Hamer, H. M., Mueller, H.H., Knake, S., Tergau, F., Oertel, W. H., Rosenow, F. (2004). „Levetiracetam influences cortical excitability by modulation of ion-channel function in human motor cortex.“ 76. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Neurologie, Hamburg 2003. *Aktuelle Neurologie* 30 (S1): S70, 2003.

