

Aus der Klinik für Neurologie
des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg in Zusammenarbeit mit dem
Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH, Standort Marburg
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. W.H. Oertel

**Einfluss des Antiparkinsonmedikamentes Amantadin
auf die Exzitabilität des menschlichen Motorkortex –
Eine prospektive, placebokontrollierte, doppelblinde Studie**

Inauguraldissertation
zur Erlangung des
Doktorgrades der gesamten Humanmedizin

dem Fachbereich Medizin
der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

Daniel John
aus Aachen

Marburg, 2007

Angenommen vom Fachbereich Medizin
der Philipps-Universität Marburg am 22.2.2007

gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr. B. Maisch
Referent: Prof. Dr. F. Rosenow
Koreferent: Prof. Dr. F. Welter

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG	1
1.1 Amantadin	1
1.1.1 Historische Entwicklung.....	1
1.1.2 Aktueller Wissensstand	1
1.2 Transkranielle Magnetstimulation	3
1.2.1 Historische Entwicklung.....	3
1.2.1.1 Elektrische Stimulation.....	3
1.2.1.2 Magnetische Stimulation	3
1.2.2 Physikalische Grundlagen.....	4
1.2.3 Neurophysiologisch-anatomische Grundlagen	6
1.2.4 Klinische Anwendungen.....	12
1.2.5 Charakterisierung von Wirkmechanismen verschiedener Medikamente.....	12
1.2.6 Sicherheit, Nebenwirkungen und Kontraindikationen.	14
1.3 Fragestellung und Studienziel	15
2. PROBANDEN, MATERIAL UND METHODEN	17
2.1. Selektion der Probanden	17
2.1.1 Einschlusskriterien	18
2.1.2 Ausschlusskriterien	18
2.1.3 Abbruchkriterien.....	19
2.2 Medikamente	19
2.2.1 Amantadin (AMA, PK-Merz [®] Brausetabletten)	19
2.2.1.1 Pharmakodynamik, Pharmakokinetik und Dosierung	20
2.2.1.2 Risiken und Nebenwirkungen.....	21
2.2.1.3 Gegenanzeigen und Anwendungsbeschränkungen	23
2.2.1.4 Studienmedikation.....	23
2.2.1.5 Nebenwirkungsscore und Grooved Pegboard Test.....	24
2.3 Transkranielle Magnetstimulation (TMS)	24
2.3.1 Aufbau und Durchführung.....	24
2.3.1.1 Methode der Transkraniellen Magnetstimulation.....	25

2.3.1.2 Elektromyographie-Ableitung.....	25
2.3.2 Bestimmung der Spulenposition.....	26
2.3.3 Messung der Exzitabilität des Motorkortex	27
2.3.3.1 Einzelimpuls-TMS	27
2.3.3.1.1 Paradigma 1: Testreiz (TR) und Motorische Schwellen (MT).....	27
2.3.3.1.2 Paradigma 2: MEP-Rekrutierungskurven (MEP-REC)	28
2.3.3.1.3 Paradigma 3: Kortikal induzierte Silent Period (CSP).....	29
2.3.3.2 Doppelimpuls-TMS	29
2.3.3.2.1 Paradigma 4: Kurze Intrakortikale Inhibition (SICI), Fazilitation (ICF) und Späte Intrakortikale Inhibition (L-ICI).....	30
2.4 Zeitlicher Versuchsablauf und –design	31
2.5 Statistische Verfahren.....	32
3. ERGEBNISSE.....	33
3.1 Studienkollektiv.....	33
3.2 TMS-Parameter.....	34
3.2.1 Einzelimpuls-TMS.....	34
3.2.1.1 Motorische Schwellen (MT)	34
3.2.1.2 MEP-Rekrutierungskurven (MEP-REC).....	36
3.2.1.3 Kortikal induzierte Silent Period (CSP).....	37
3.2.2 Doppelimpuls-TMS	39
3.2.2.1 Kurze Intrakortikale Inhibition (SICI)	39
3.2.2.2 Intrakortikale Fazilitation (ICF)	40
3.2.2.3 Späte Intrakortikale Inhibition (L-ICI).....	42
3.2.2.4 Vergleich der Studienmedikation bei verschiedenen ISIs.....	43
3.2.2.5 Korrelation von ICF (ISI 15) und L-ICI (ISI 150).....	45
3.2.3 Placebo-Effekt	45
3.3 Amantadin-Serumspiegel	46
3.4 Korrelation von Amantadin-Serumspiegel und kortikaler Exzitabilität.....	46
3.5 Nebenwirkungen und Grooved Pegboard Test.....	47
4. DISKUSSION	50
4.1 Methodendiskussion	50

4.1.1 Messmethode	50
4.1.2 Variabilität der TMS-Parameter	50
4.1.3 Serumspiegelbestimmung.....	52
4.1.4 Testmedikation	52
4.1.5 Statistische Methode	53
4.2 Diskussion der TMS-Parameter	54
4.2.1 Einzelimpuls-TMS.....	55
4.2.1.1 Paradigma 1 und 2: Effekte von AMA auf die Membranerregbarkeit (Motorische Schwellen und MEP-Rekrutierungskurven)	55
4.2.2. Doppelimpuls-TMS	56
4.2.2.1 Paradigma 4: Effekte von AMA auf die Kurze Intrakortikale Inhibition (SICI) und Fazilitation (ICF).....	56
4.2.3 Einzel- und Doppelimpuls-TMS	59
4.2.3.1 Paradigma 3 und 4: Effekte von AMA auf die Späte Intrakortikale Inhibition (L-ICI) und kortikal induzierte Silent Period (CSP)	59
4.2.4 Nebenwirkungen.....	61
4.3 Perspektiven	62
5. ZUSAMMENFASSUNG	63
6. LITERATURVERZEICHNIS.....	65
7. ANHANG.....	83
7.1 Abkürzungsverzeichnis.....	83
7.2 Abbildungsverzeichnis.....	85
7.3 Tabellenverzeichnis.....	86
7.4 Verzeichnis der akademischen Lehrer.....	87
7.5 Danksagung.....	88
7.6 Publikationen.....	89

1. EINLEITUNG

1.1 Amantadin

1.1.1 Historische Entwicklung

Das trizyklische Amin Amantadin (1-amino-adamantane, AMA) ist ein Wirkstoff, der schon seit den 60er Jahren zur Prophylaxe und Behandlung der Influenza A eingesetzt wird (Centers for Disease Control and Prevention 1999; Togo et al. 1968). 1969 machten Schwab et al. die zufällige Entdeckung, dass sich bei einer Parkinsonpatientin, die i.R. einer Grippeprophylaxe mit Amantadinhydrochlorid behandelt wurde, die Parkinsonsymptomatik verbesserte (Schwab et al. 1969). Daraufhin wurden diverse Studien durchgeführt, welche eine positive Beeinflussung der Kardinalsymptome des Morbus Parkinson (Parkinson's disease, MP) zeigten (Parkes 1974; Schwab et al. 1972; Parkes et al. 1971; Parkes et al. 1970).

Im Laufe der Zeit erweiterte sich das Einsatzspektrum dieser Substanz kontinuierlich. So zeigten verschiedene Studien, dass AMA den medikamentös-induzierten Parkinsonismus, Neuroleptika-induzierte Dyskinesien (Kornhuber und Weller 1993), L-Dopa-induzierte Dyskinesien (Verhagen et al. 1998), Multiple Sklerose-assoziierte Fatigue (Krupp et al. 1995) sowie das Neuroleptische maligne Syndrom und die akinetische hypertherme Parkinsonkrise (Kornhuber und Weller 1993) verbessert.

Die genauen pathophysiologischen Wechselbeziehungen für die therapeutischen Effekte dieser Substanz bei Erkrankungen der Basalganglien, welche möglicherweise auf verschiedene Transmitterimbancen (Dyskinesie versus Akinetische Krise) zurückzuführen sind, wurden bisher noch nicht genau untersucht. Die breite therapeutische Anwendbarkeit weist auf eine multidirektionale modulatorische Wirkung hin.

1.1.2 Aktueller Wissensstand

Bisher konnten verschiedene pharmakologische Wirkmechanismen für AMA in vitro und in vivo bei Tieren identifiziert werden, welche für das breite Einsatzspektrum verantwortlich gemacht werden:

- Ein niedrig-affiner, non-kompetitiver Antagonismus des N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)-Rezeptors, einem Subtyp des Glutamat-Rezeptors (Parsons et al. 1996; Mizoguchi et al. 1994; Kornhuber et al. 1991). Dort bindet AMA an der Phencyclidin-Bindungsstelle, welche innerhalb des Kationen-Kanals lokalisiert ist (Parsons et al. 1996; Kornhuber et al. 1994; Kornhuber et al. 1991), und an der Sigma-1-Bindungsstelle, welche außerhalb des Rezeptors lokalisiert ist (Kornhuber et al. 1993). Der NMDA-Rezeptor-Antagonismus wird erst in therapeutisch relevanten Dosen erreicht (Kornhuber et al. 1991; Bormann 1989; Kornhuber et al. 1989). Der Antagonismus NMDA-induzierter neuronaler Ströme verschiedener Hirnregionen ist gebrauchts- und spannungsabhängig, was zu einer Aufrechterhaltung des geschlossenen Zustandes des Kanals führt (Blanpied et al. 2005). Dies bewirkt unter anderem eine Reduktion der Acetylcholin (ACh)-Freisetzung striataler Interneurone in vitro (Feuerstein 1994; Jackisch et al. 1992; Stoof et al. 1992) durch Blockierung nicotinerger ACh-Rezeptoren (Matsubayashi et al. 1997).
- Eine Wirkung auf das zentrale dopaminerge System. AMA führt zu einer direkten präsynaptischen DA-Reuptake-Hemmung in vitro (Heikkila und Cohen 1972; Fletcher und Redfern 1970) und in vivo (Mizoguchi et al. 1994), was zu einer gesteigerten DA Aktivität führt (Shannon et al. 1987). Eine indirekte Wirkung von AMA ist die DA-Freisetzung aus striatalen dopaminergen Nervenendigungen in vitro (Jackisch et al. 1992; Stoof et al. 1992; Heikkila und Cohen 1972; Stromberg et al. 1970) und in vivo (Takahashi et al. 1996).
- Eine Steigerung der noradrenergen Transmission (Moryl et al. 1993; Maj 1982; Farnebo et al. 1971), v.a. über eine gesteigerte Freisetzung von Noradrenalin (Farnebo et al. 1971).
- Eine Blockade von membrangebundenen Kalium-Kanälen, was zu einer Hemmung der Repolarisation und folglich zu einer Steigerung der Membranerregbarkeit führt (Northover 1994).
- Eine Hemmung der Influenza A Virus-Replikation durch Blockade des M2 Protein Ionenkanals, die zu einer Störung des Virus-Uncoatings sowie einer gestörten pH-Regulation führt (Takeda et al. 2002; Lin et al. 1997).

1.2 Transkranielle Magnetstimulation (TMS)

1.2.1 Historische Entwicklung

1.2.1.1 Elektrische Stimulation

Die elektrische kortikale Stimulation begann 1870 mit Stimulationsversuchen von Fritsch und Hitzig, die durch Reizung eines freipräparierten Hundekortex eine kontralateral lokalisierte Muskelkontraktion generierten (Fritsch und Hitzig 1870). 1874 erfolgte durch Bartholow dann die erste intraoperativ durchgeführte Elektrostimulation des menschlichen Kortex (Bartholow 1874). Erst 1980 gelang es Merton und Morton erstmals, durch Applikation von Elektrostimuli das Gehirn transkraniell zu reizen und dadurch eine kontralateral lokalisierte Muskelantwort zu induzieren (Merton und Morton 1980). Mit dieser neuen elektrophysiologischen Methode, der **Transkraniellen Elektrischen Stimulation (TES)**, war erstmals eine non-invasive Untersuchung der Funktion des kortikospinalen motorischen Systems am wachen Probanden ohne vorhergehende Trepanation der Kalotte möglich (Rothwell et al. 1987). Leider war dieses Verfahren jedoch sehr schmerzhaft, weil zur Überwindung des großen ohmschen Widerstandes von Schädelknochen und Kopfhaut starke elektrische Reize appliziert werden mussten, die die kutanen und meningealen Schmerzrezeptoren massiv stimulierten. Dies führte dazu, dass sich dieses Verfahren in der klinischen Diagnostik nicht etablieren konnte.

1.2.1.2 Magnetische Stimulation

Die Wirkungsweise eines magnetischen Kraftfeldes wurde schon im Jahre 1831 von Michael Faraday, der das Prinzip der magnetoelektrischen Induktion entdeckte, aufgeklärt (Faraday 1965). Gegen Ende des 19. Jahrhunderts wurden Experimente durchgeführt, um die Wirkung von Magnetfeldern auf das Gehirn zu untersuchen (Beer 1902; Dunlap 1897; d'Arsonval 1896).

1985 läutete Anthony Barker durch Entwicklung eines Magnetfeldgenerators das Zeitalter der **Transkraniellen Magnetstimulation (TMS)** ein (Barker et al. 1985). Diese neue ebenfalls non-invasive Untersuchungsmethode ermöglichte es erstmals, das

kortikospinale motorische System nahezu schmerzfrei zu untersuchen. Dieser Vorteil beruht auf dem generierten Magnetfeld, das ohne Schwächung der Feldstärke den Schädelknochen und die Kopfhaut durchdringt. Dies hat zur Folge, dass eine im Vergleich zur TES niedrigere Stromdichte im Bereich von Meningen und Kopfhaut wirkt. Dadurch unterbleibt eine nennenswerte Reizung meningealer und kutaner Schmerzrezeptoren (Rossini et al. 1994; Hess und Ludin 1988; Barker et al. 1985). Wegen der Schmerzfreiheit hat die TMS schnell einen festen Platz bei klinischen Routineuntersuchungen des motorischen kortikospinalen Systems eingenommen.

1.2.2 Physikalische Grundlagen

Die Methode der TMS beruht auf dem von Faraday 1831 gezeigten Faradayschen Prinzip der elektromagnetischen Induktion (Faraday 1965). Faraday zeigte durch seine Induktionsversuche, dass ein räumlich oder zeitlich veränderliches Magnetfeld in einer Spule oder Leiterschleife einen Stromfluss induzieren kann (Faraday 1965). Durch einen aufgeladenen Kondensator im Magnetstimulationsgerät entsteht ein kurz andauernder Stromfluss, der Primärstrom. Dieser fließt in eine mit dem Stimulationsgerät verbundene Reizspule, wodurch ein Magnetfeld um die Spule generiert wird (vgl. Abbildung 1).

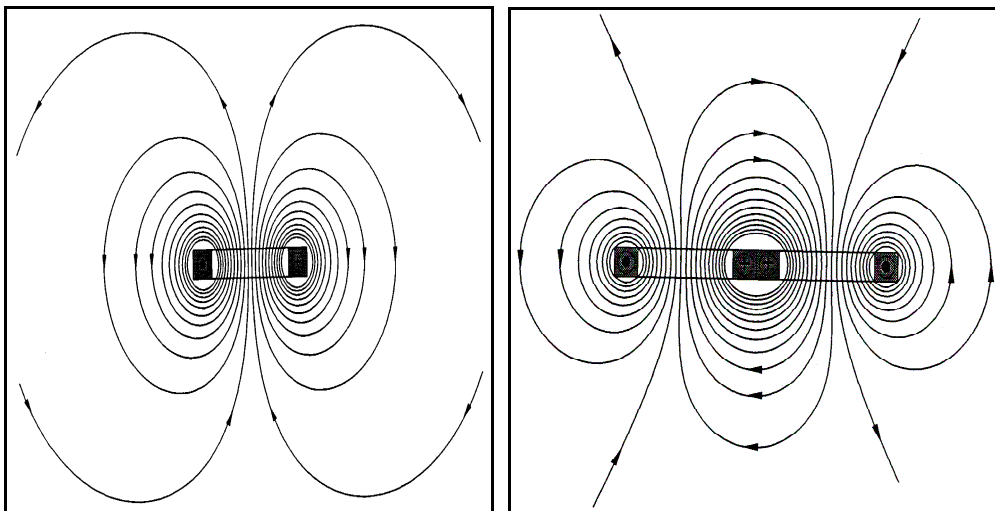


Abb. 1: Der magnetische Feldlinienverlauf einer Rundspule (links) und einer Schmetterlingsspule (rechts) (Weyh & Schreibvogel 1992).

Wenn die Magnetspule auf dem Schädel platziert wird, kann dieses Magnetfeld bei ausreichender Feldstärke im Gehirn eine Spannung induzieren, welche einen

Sekundärstrom (synonym: Induktionsstrom) generiert. Dieser verläuft in entgegengesetzter Richtung zu dem in der Magnetspule fließenden Primärstrom (Bohning 2000; Barker et al. 1991). Der Sekundärstrom entsteht dabei durch eine Veränderung des Membranpotentials kortikaler Neurone, wodurch eine Depolarisation und damit ein Aktionspotential derselben induziert wird. Wird der primär-motorische Kortex (Area 4 nach Brodmann) mit ausreichender Intensität stimuliert, kommt es zur Weiterleitung des Aktionspotentials über die Pyramidenbahn zu den spinalen Alpha-Motoneuronen und führt bei ausreichender Intensität zu einer motorischen Antwort im Zielmuskel in Form eines Summenaktionspotentials, dem **Motorisch Evozierten Potential** (motor evoked potential, **MEP**), welches wiederum über Oberflächen-Elektroden ableitbar ist (Rossini et al. 1994; Barker et al. 1985).

Bei der TMS werden zwei Arten von offenen Magnetspulen eingesetzt. Anfänglich verwendete man Rundspulen, bei denen unter der gesamten Zirkumferenz ein Sekundärstrom induziert wird. Das induzierte elektrische Feld unter der Spule ist dabei in der Peripherie am stärksten ausgeprägt, während es im Bereich des Spulenzentrums schwächer ist (Cohen et al. 1990). Durch die Rundspulen wird eine adäquate Fokussierung erschwert. Daher werden für gezielte Stimulationen Schmetterlingsspulen, sog. figure-of-eight-Spulen bevorzugt, weil mit diesen eine bessere Fokussierbarkeit des Magnetfeldes möglich ist (Amassian et al. 1991; Cohen et al. 1990). Bei den Schmetterlingsspulen liegen zwei runde Spulenhälften nebeneinander, wobei in den zwei Spulenhälften entgegengesetzte Primärströme fließen. Diese verlaufen jedoch im Zentrum der Schmetterlingsspule, also der Verbindungsstelle beider Spulenhälften, gleichsinnig. Dadurch wird unter dem Zentrum der Spule ein fokussierteres Magnetfeld generiert (vgl. Abbildung 2). Dies eröffnet die Möglichkeit, das Gehirn fokal zu stimulieren und damit einen fokalen Stromfluss bestimmter Hirnregionen zu induzieren (Amassian et al. 1991; Rothwell et al. 1999). Allerdings muss beachtet werden, dass eine Steigerung der Reizintensität zu einer Verstärkung des Magnetfeldes führt, was einerseits die Erreichbarkeit tiefer gelegener Hirnstrukturen verbessert, andererseits die gewünschte Fokalität der Magnetstimulation reduziert (Barker 1999).

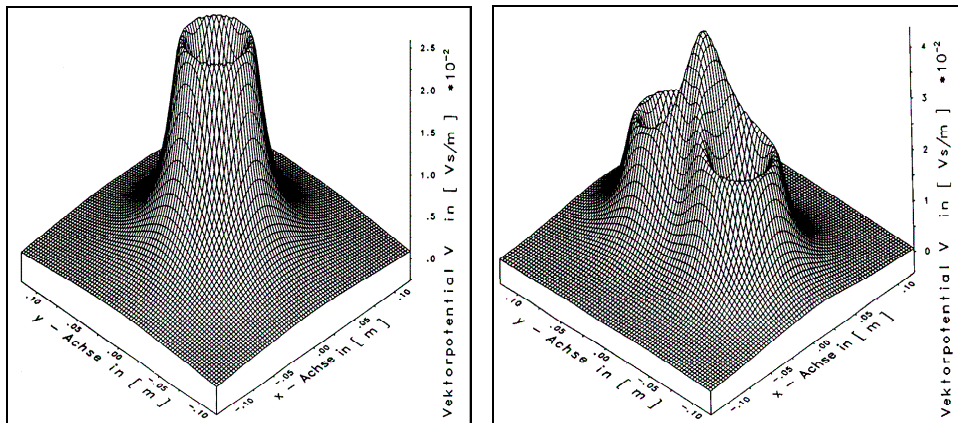


Abb. 2: Dreidimensionale Darstellung des Betrags des Vektorpotentials unter einer Rundspule (links) und einer Schmetterlingsspule (rechts).

Unter der Rundspule ist das maximale Vektorpotential im Bereich des mittleren Spulendurchmessers und das minimale im Bereich des Spulenzentrums. Unter der Schmetterlingsspule ist das maximale Vektorpotential im Bereich des Spulenzentrums (Weyh und Schreivogel 1992).

Die im leitfähigen organischen Gewebe induzierte Spannung ist um so größer, je höher die Änderungsgeschwindigkeit des Magnetfeldes ist und je größer die Windungszahl der Magnetspule ist (Bohning 2000). Die Magnetfeldstärke fällt mit zunehmender Entfernung von der Magnetspule exponentiell ab (Bohning 2000; Barker et al. 1987). Deswegen ist mit den aktuell eingesetzten Magnetspulen nur eine kortikale Eindringtiefe von 1,5 bis 3 cm (Bohning 2000; Rudiak und Marg 1994; Epstein et al. 1990) erreichbar. Derzeit ist die maximale räumliche Auflösung von Schmetterlingsspulen etwa 0,5 cm (Brasil-Neto et al. 1992b).

1.2.3 Neurophysiologisch-anatomische Grundlagen

Es ist bekannt, dass die Erregbarkeit des primär motorischen Kortex von der Orientierung des generierten elektromagnetischen Feldes abhängt. Mittels TES wurde aufgezeigt, dass die Axone der Pyramidenzellen im motorischen Kortex posteroanterior verlaufen (Claus 1989). Die Lenzsche Regel besagt, dass ein induzierter Strom mit seinem Magnetfeld so gerichtet ist, dass er der Induktionsursache entgegenwirkt, d.h. ein induzierter Sekundärstrom in entgegengesetzter Richtung zum in der Magnetspule fließenden Primärstrom läuft (Bohning 2000; Barker et al. 1991). Deswegen ist es sinnvoll, die Magnetspule orthogonal zum vermuteten Sulcus centralis über dem Motorkortex zu positionieren, wobei der Spulengriff nach dorsal zeigt. Durch die anteroposteriore

Ausrichtung des Primärstromflusses in den Spulenhälften ist somit eine optimale Erregung der o.g. Bahnen gewährleistet, denn der Sekundärstrom fließt nun in posteroanteriorer Richtung. Dieses Vorgehen ist als der effektivste Weg bekannt, das kortikospinale System transsynaptisch zu aktivieren (Brasil-Neto et al. 1992b). Dies wird durch die Beobachtungen unterstützt, dass die Erregbarkeitsschwelle niedriger ist, wenn der Sekundärstrom von posterior nach anterior fließt (Mills et al. 1992) und die Erregbarkeitsschwelle am geringsten ist, wenn der im Gehirn gebildete Sekundärstrom senkrecht zum Sulcus centralis verläuft (Brasil-Neto et al. 1992b). Wichtig ist dabei die Differenzierung von fazilitierenden und inhibitorischen Effekten. Denn erstere sind bei einem posteroanterioren Stromfluss am stärksten ausgeprägt (Nikouline et al. 1999), während die Richtung des Stromflusses unerheblich für die inhibitorischen Effekte zu sein scheint (Ziemann et al. 1996d).

Durch eine tangentielle Ausrichtung der Magnetspule auf der Kalotte verläuft das durch das Magnetfeld induzierte elektrische Feld parallel zur Oberfläche des Gehirns. Man geht davon aus, dass v.a. nervale Strukturen mit einer zur Oberfläche des Gehirns parallelen Ausrichtung gereizt werden (Ilmoniemi et al. 1999; Barker 1999). Somit ist die Ausrichtung der Pyramidenzellen zur Hirnoberfläche wichtig für die Erregbarkeit derselben (Meyer 1992). In den Gyri liegen die Pyramidenzellen senkrecht zur Hirnoberfläche, während sie in den Sulci horizontal ausgerichtet sind (Steinmetz 1995). Die Eindringtiefe des magnetischen Feldes ist abhängig von der verwendeten Reizstärke. Bei Einsatz einer geringen Reizstärke werden vorwiegend oberflächliche, gyrale, horizontal ausgerichtete Interneurone erregt (Rothwell et al. 1999; Meyer 1992; Brasil-Neto et al. 1992a) sowie horizontal gerichtete kortikale interneuronale Verbindungen (Meyer 1992). Die vertikal orientierten extrasulkal gelegenen Pyramidenzellen werden somit indirekt durch synaptische Einflüsse der kortikalen Interneurone erregt (Epstein et al. 1990). Diese Aktivierungsform wird auch als transsynaptische Reizung bezeichnet (Meyer 1992; Rothwell et al. 1991). Wird hingegen eine höhere Reizstärke eingesetzt, scheint es vorwiegend zur Erregung von tiefer gelegenen, intrasulkalen, horizontal ausgerichteten Pyramidenzellen zu kommen (Meyer 1992; Amassian et al. 1990), was einer direkten Erregung der Pyramidenbahn entspricht. Ein Vergleich der Latenzzeiten, also der Zeitspanne zwischen Stimulation und peripherer Reaktion bei Einsatz von

Magnet- und Elektrostimulation unterstützt die Annahme, dass bei der TMS eine indirekte Stimulation der Pyramidenzellen erfolgt (Cracco und Cracco 1999; Cracco et al. 1999; Schnitzler et al. 1996). Die Latenzzeiten bei der TES sind wesentlich kürzer als die bei der TMS. Deswegen wird vermutet, dass bei der TES die Pyramidenbahn direkt stimuliert wird, weil eine transsynaptische Reizung in dieser kurzen Zeit nicht möglich erscheint (Cracco und Cracco 1999; Cracco et al. 1999).

Mit der TMS existiert eine Methode, mit der man die Exzitabilität des primären sensomotorischen Kortex verifizieren kann (Hallett 2000). Bei diesem Verfahren können unterschiedliche TMS-Parameter evaluiert werden, welche den Grad der kortikalen Erregbarkeit widerspiegeln. Diese werden in Einzelimpuls- und Doppelimpulsparameter differenziert.

Zu den Einzelimpulsparametern zählen die Motorischen Schwellen (**motor thresholds, MTs**) des Motorisch Evozierten Potentials (MEP), die MEP-Rekrutierungskurven (**motor evoked potential recruitment curves, MEP-REC**) und die kortikal induzierte Silent Period (**cortical stimulation induced silent period, CSP**).

Die MTs werden in Motorische Ruheschwelle (**resting motor threshold, RMT**) und Aktive Motorische Schwelle (**active motor threshold, AMT**) unterteilt (Michelucci et al. 1996; Rossini et al. 1994). Welche Reizstärke bei der Doppelimpuls-TMS gewählt wird, hängt von der motorischen Schwelle ab. Deren Festlegung erfolgt nach der sog. „method of limits“ unter Elektromyogramm (EMG)-Kontrolle (Rossini et al. 1994). Dabei ist die MT definiert als die minimale TMS-Stimulus-Intensität, bei der mindestens 5 von 10 konsekutiven Stimuli eine MEP-Amplitude von mindestens $50 \mu V_{pp}$ im Zielmuskel, im Fall dieser Studie des Musculus abductor digiti minimi (ADM), auslösen. Die RMT ist definiert als die minimale Stimulusintensität, die nötig ist, um eine gerade eben nachweisbare motorische Antwort im ADM zu erzeugen (Werhahn et al. 1999; Ziemann et al. 1996b; Rossini et al. 1994). Bei der RMT ist dabei der Muskel entspannt, bei der AMT hingegen erfolgt die Messung mit einer willkürlichen tonischen Aktivierung (ca. 20% der maximalen Kraft) des Zielmuskels. Durch Kontraktion des Zielmuskels wird die durch TMS evozierte MEP-Amplitude erhöht. Es wird angenommen, dass es durch die

Vorinnervation zur Rekrutierung von Nervenzellen kommt, die im Ruhezustand nicht überschwellig aktiviert werden (Mathis et al. 1996; Rothwell et al. 1987). Dies führt dazu, dass die Reizschwelle sinkt (Hess et al. 1987a), weshalb die AMT unterhalb der RMT liegt. Die Steigerung der Fazilitation erfolgt sowohl auf kortikaler, als auch auf spinaler Ebene (Mathis et al. 1996). Bei den MTs besteht eine gewisse interindividuelle Variabilität (Variationskoeffizient RMT 15%, AMT 18%) (eigene Daten). Die intraindividuelle Variabilität ist jedoch gering, und damit ist eine verlässliche Reproduzierbarkeit gegeben (eigene Daten). Das Ausmaß der MT hängt sowohl vom Abstand der Magnetspule zum zerebralen Kortex (McConnell et al. 2001) als auch von der Dicke des knöchernen Schädels (Geschwind und Galaburda 1985) ab.

Die Größe der MEP-Rekrutierungskurven (MEP-REC) hängt von der Anzahl von hauptsächlich über kortikokortikale Verbindungen aktivierten, kortikospinalen Neuronen bei einer definierten Stimulusintensität ab (Ridding und Rothwell 1997). Die Amplitude der durch TMS induzierten MEPs wird durch eine gesteigerte Stimulusintensität erhöht (Hess et al. 1987a). Dies kommt durch Rekrutierung größerer Neuronenverbände zustande. Dadurch ergibt sich eine physiologischerseits ansteigende Kurve, wenn man die MEP-Amplitude pro Stimulusintensität aufträgt.

Appliziert man einen Magnetimpuls unter Vorinnervation des Zielmuskels, resultiert nach dem Motorisch Evozierten Potential (MEP) eine Suppression der Muskelaktivität, die als kortikal induzierte Silent Period (cortical induced Silent Period, **CSP**) bezeichnet wird (Cantello et al. 1992; Calancie et al. 1987). Diese kann man anhand einer EMG-Stille im Anschluss an ein willkürlich ausgelöstes MEP beobachten (vgl. Abbildung 3).

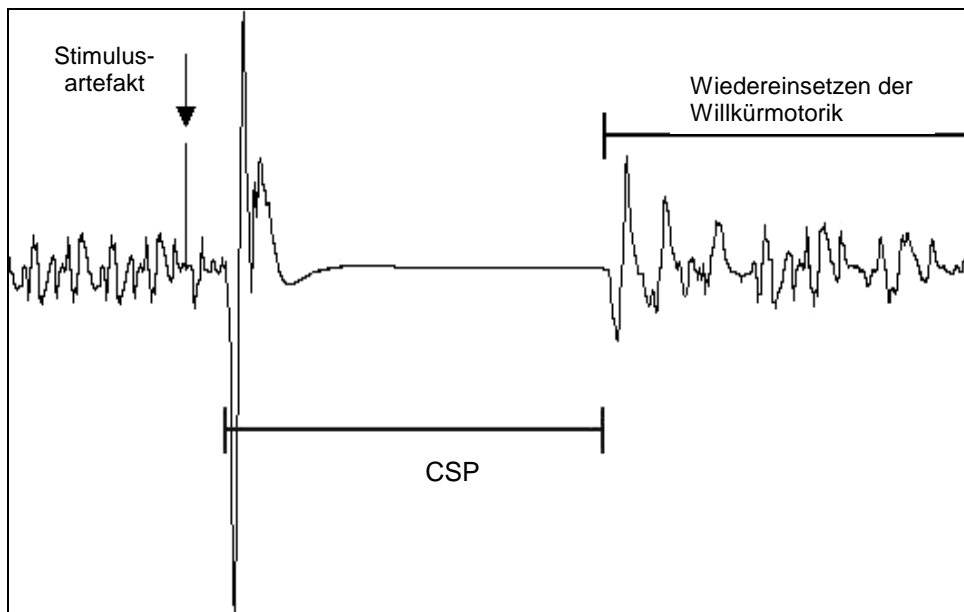


Abb. 3: Durch TMS induzierte postexzitatorische Innervationsstille (CSP) nach einem motorisch evozierten Potential (MEP) (Pfitze 2006).

Die CSP-Dauer erhöht sich linear mit steigender Stimulusimpulsintensität ist jedoch vom Ausmaß der Vorinnervation des Muskels unabhängig (Orth und Rothwell 2004; Roick et al. 1993; Inghilleri et al. 1993; Haug et al. 1992). Es besteht eine relativ hohe interindividuelle Variabilität (Priori et al. 1999; Fritz et al. 1997; Kukowski und Haug 1992; Werhahn et al. 1995). An der CSP sind sowohl kortikale, als auch spinale inhibitorische Mechanismen beteiligt (Roick et al. 1993; Inghilleri et al. 1993). Die frühe Phase der CSP hängt von einer Hemmung auf Rückenmarksebene ab (Brasil-Neto et al. 1995; Fuhr et al. 1991), wohingegen die späte Phase durch intrakortikale inhibitorische Nervenzellen bedingt ist (Classen et al. 1995; Roick et al. 1993; Fuhr et al. 1991).

Die Doppelimpulsparameter beinhalten Kurze Intrakortikale Inhibition (short latency intracortical inhibition, **SICI**), Intrakortikale Fazilitation (intracortical facilitation, **ICF**) und Späte Intrakortikale Inhibition (late intracortical inhibition, **L-ICI**) (Schwenkreis et al. 1999; Ziemann et al. 1995; Kujirai et al. 1993; Nakamura et al. 1997; Ziemann et al. 1996d). Die Messung der ICI und ICF erfolgt mit einer Doppelimpulstechnik, bei der ein erster, unterschwelliger konditionierender Magnetreiz (CR) kurz vor einem zweiten, überschwelligen Magnetimpuls appliziert wird, was eine Untersuchung von Nervenzellen im primär motorischen Kortex ermöglicht (Kujirai et al. 1993; Ziemann et al. 1996d).

Dabei wird die Stimulusintensität des CR unterhalb der RMT festgelegt, um Veränderungen der Exzitabilität auf Rückenmarksebene auszuschließen (Di Lazzaro et al. 1998a; Di Lazzaro et al. 1998b). Es besteht bis heute Konsens darüber, dass die modulatorischen Mechanismen des CR auf die MEP-Amplitude über fazilitatorische sowie inhibitorische interneuronale Schaltkreise auf kortikalem Niveau vermittelt werden (Di Lazzaro et al. 2004; Di Lazzaro et al. 1998b; Nakamura et al. 1997; Ziemann et al. 1996d; Kujirai et al. 1993). Vom **Interstimulus-Intervall (ISI)** - also dem Zeitraum zwischen beiden Reizen - hängt es ab, ob eine ICI oder eine ICF resultiert (vgl. Abbildung 4). Bei kurzen ISIs (1-5 ms) kommt es zu einer SICI, also einer amplitudenniedrigeren Reizantwort als die motorische Antwort auf einen Einzelreiz. Längere ISIs (7-20 ms) hingegen verursachen eine ICF, was einer höheren Reizantwort als nach einem Einzelreiz entspricht (Ziemann et al. 1996d; Kujirai et al. 1993). Lange ISIs (70-150 ms) resultieren in einer Späten Intrakortikalen Inhibition (L-ICI) (Nakamura et al. 1997).

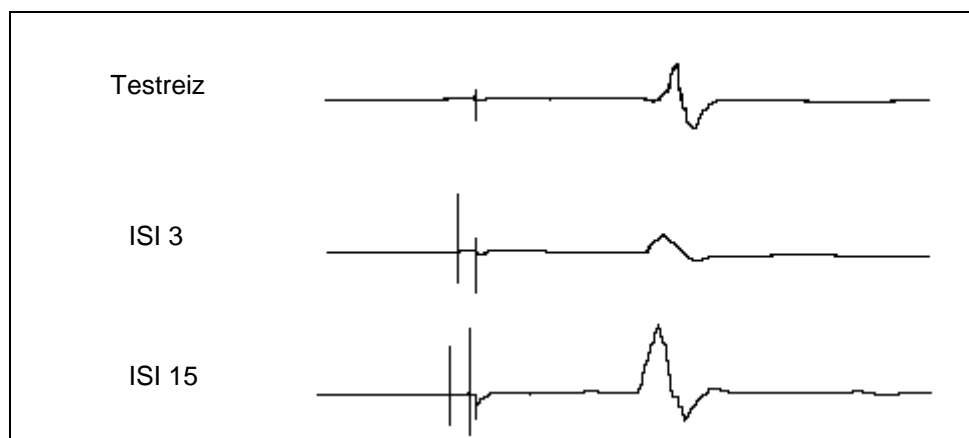


Abb. 4: Beispielhafte Darstellung eines Testreiz-induzierten MEPs (oben) und der durch kurze (1-5 ms) Interstimulusintervalle (ISIs) induzierten Kurzen Intrakortikalen Inhibition (SICI, Mitte) sowie der durch längere (7-20 ms) ISIs induzierten Intrakortikalen Fazilitation (ICF, unten) eines Probanden der vorliegenden Studie.

Die genauen neuronalen inhibitorischen und fazilitatorischen Mechanismen sind noch weitgehend unbekannt.

Mit Hilfe der TMS können kortikale Erregbarkeitsveränderungen detektiert werden, um pathophysiologische Mechanismen verschiedener Erkrankungen zu untersuchen (vgl.

1.2.4) und den Wirkmechanismus diverser Medikamente (vgl. 1.2.5) non-invasiv zu charakterisieren.

1.2.4 Klinische Anwendungen

Die Einzelimpuls-TMS wird als Routinemethode zur Untersuchung des kortikospinalen motorischen Systems verwendet, beispielsweise um bei einer Amyotrophischen Lateralsklerose, einer Enzephalomyelitis disseminata oder einer zervikalen Myelopathie Affektionen der kortikospinalen motorischen Bahnen zu detektieren und zu verifizieren (Rossini et al. 1995; Hageman et al. 1993). Außerdem konnten mit Doppelimpuls-TMS Exzitabilitätsveränderungen des motorischen Kortex bei diversen Erkrankungen wie der Amyotrophen Lateralsklerose (Yokota et al. 1996), der Enzephalomyelitis disseminata (Schmierer et al. 2000) und dem Morbus Parkinson (Berardelli et al. 1996; Ridding et al. 1995) nachgewiesen werden.

1.2.5 Charakterisierung von Wirkmechanismen verschiedener Medikamente

Mittels TMS ist es möglich, die Effekte diverser Medikamente auf die Exzitabilität des menschlichen Motorkortex zu untersuchen (Manganotti et al. 1999; Ziemann et al. 1996b). Dabei beeinflussen verschiedene Medikamentenklassen, je nach Wirkmechanismus, teilweise selektiv bestimmte o.g. Parameter der kortikalen Erregbarkeit:

- Die RMT wird durch Einzeldosen von Ionenkanal-Blockern wie Carbamazepin, Lamotrigin, Levetiracetam und Phenytoin signifikant erhöht (Reis et al. 2004; Manganotti et al. 1999; Chen et al. 1997b; Ziemann et al. 1996b; Mavroudakis et al. 1994). Medikamente mit antiglutamatergen bzw. GABAergen Wirkmechanismen beeinflussen die MT jedoch nicht (Ziemann et al. 1998; Liepert et al. 1997; Ziemann et al. 1996b). Deswegen nimmt man an, dass die RMT die neuronale Membranexzitabilität widerspiegelt (Chen 2000).
- Der Calciumkanal-Blocker Levetiracetam und Lamotrigin, ein Blocker spannungsabhängiger Ionenkanäle, führen zu einer Reduktion der MEP-REC und einer Steigerung der MTs (Reis et al. 2004; Sohn et al. 2002; Sohn et al. 2001; Boroojerdi et al. 1999). In anderen Studien mit antiepileptischen Medikamenten,

wie Lamotrigin, welche die Aktivität von Ionenkanälen modulieren, wurde beobachtet, dass diese Medikamente ebenfalls zu einer Steigerung der MTs bei gleichzeitiger Suppression der Rekrutierungskurven führen (Chen et al. 1997a; Ziemann et al. 1996b). Wenn man die beeinflussten Ionenkanäle (Natrium- und Calciumkanäle) betrachtet, scheinen diese Effekte vergleichbar, d.h. die MEP-Rekrutierungskurven werden durch Medikamente mit Ionenkanal-modulierender Wirkung beeinflusst.

- GABAerge Substanzen wie Lorazepam verursachen eine Verlängerung der CSP (Ziemann et al. 1996c). Die CSP wird auch durch GABA_Berge Substanzen wie Tiagabin und den selektiven GABA_B-Rezeptor-Agonisten Baclofen verlängert (Werhahn et al. 1999; Siebner et al. 1998a). Dies deutet u.a. darauf hin, dass die CSP v.a. GABA_Berge Mechanismen reflektiert.
- Die SICI scheint zumindest teilweise durch GABA_A beeinflussbar zu sein. GABAerge Medikamente, wie Gabapentin, Lorazepam, Tiagabin und Topiramid steigern diese (Reis et al. 2002; Werhahn et al. 1999; Ziemann et al. 1996b; Ziemann et al. 1996c). Jedoch wird die SICI auch durch antiglutamaterge Medikamente, wie z.B. die NMDA-Rezeptor-Antagonisten, Memantin und Dextromethorphan, erhöht (Schwenkreis et al. 1999; Ziemann et al. 1998). Auch dopaminerge Substanzen führen zu einer Erhöhung der SICI (Ziemann et al. 1997; Ziemann et al. 1996a), während antidopaminerge Mittel sie reduzieren (Ziemann et al. 1997). Spannungsabhängige Natrium-Kanal-Blocker scheinen hingegen keinen Einfluss auf die SICI zu haben (Ziemann et al. 1996b).
- Die ICF wird durch verschiedene Substanzklassen verändert. So führen Glutamat-Rezeptor-Antagonisten wie Riluzol (Schwenkreis et al. 2000; Liepert et al. 1997) die NMDA-Rezeptor-Antagonisten Memantin (Schwenkreis et al. 1999) und Dextromethorphan (Ziemann et al. 1998), sowie GABAerge Medikamente wie Lorazepam, Gabapentin, Baclofen und Topiramid (Reis et al. 2002; Ziemann et al. 1996b) zu einer Reduktion der ICF. Der Dopaminantagonist Haloperidol hingegen erhöht die ICF (Ziemann et al. 1997). Ionenkanal-Blocker wie Carbamazepin, Lamotrigin und Phenytoin führen auch hier zu keiner Veränderung (Chen et al. 1997b; Ziemann et al. 1996b).

- Die L-ICI hängt zumindest teilweise von GABA_Bergen Mechanismen auf kortikaler Ebene ab (Nakamura et al. 1997). Dopaminerge Medikamente führen bei Patienten mit Morbus Parkinson (MP) zu einer „Normalisierung“ einer pathologisch gesteigerten oder verminderten L-ICI (Chen et al. 2001). Eine akute oder chronische Verabreichung von L-Dopa reduziert eine vorher gesteigerte L-ICI (Valzania et al. 1997; Berardelli et al. 1996), während eine intravenöse Apomorphin-Applikation zu einer Steigerung einer reduzierten L-ICI führt (Pierantozzi et al. 2001).

1.2.6 Sicherheit, Nebenwirkungen und Kontraindikationen

Bei regelrechter Durchführung der TMS mit Einzel- und Doppelpulsen ist nach dem jetzigen Kenntnisstand unter Beachtung der Kontraindikationen keine ernsthafte Gesundheitsgefährdung bei Probanden und Patienten zu erwarten (Chokroverty et al. 1995; Bridgers 1991; Bridgers und Delaney 1989).

Auftretende biologische Effekte, wie beispielsweise eine Steigerung der regionalen Blutperfusion bzw. des Glukosemetabolismus im gereizten Hirnareal, entsprechen denen, die nach einer Willküraktivität auftreten (Siebner et al. 1998b; Meyer 1992).

Die Induktion epileptischer Anfälle ist die am meisten gefürchtete Komplikation. Bisher wurden unter der Einzel- und Doppelpuls-TMS bei Gesunden keine epileptischen Anfälle beobachtet (Lorberbaum und Wassermann 2000). Es wurden wenige Patienten mit Gehirnläsionen, wie beispielsweise Patienten mit zerebraler Ischämie beschrieben, bei denen unter Einzelimpuls-TMS Krampfereignisse aufgetreten sind (Fauth et al. 1992; Homborg und Netz 1989). In einigen Studien wurde zudem eine Aktivierung epileptischer Anfälle bei Durchführung oder direkt nach TMS beschrieben (Hufnagel et al. 1990; Tassinari et al. 1990). Dabei muss jedoch berücksichtigt werden, dass das Gros der Patienten an einer schweren pharmakoresistenten Epilepsie litt, d.h. entweder medikamentös nicht suffizient einstellbar war oder eine hohe Anfallsfrequenz aufwies. Im Vergleich dazu beobachtete man keine Veränderungen der Anfallsfrequenz bei medikamentös suffizient eingestellten Epilepsiepatienten (Tassinari et al. 1990). Die TMS kann unter bestimmten Umständen, welche die Anfallsschwelle senken, zu einem Gelegenheitsanfall führen bzw. ein auslösender Trigger für einen epileptischen Anfall bei

noch unbekannter Epilepsie sein. Die Induktion einer Epileptogenese, d.h. ein „Kindling“ durch TMS scheint jedoch sehr unwahrscheinlich (Wassermann und Lisanby 2001; Wassermann 1998; Bridgers 1991). So konnte in einer TMS-Studie während der Messungen sowie danach keine gesteigerte Erregbarkeit der mittels EEG-Elektroden abgeleiteten Hirnaktivität beobachtet werden (Bridgers und Delaney 1989).

Seit Einführung von Sicherheitsrichtlinien zur Durchführung der TMS (Lorberbaum und Wassermann 2000) wurden keine generalisierten epileptischen Anfälle mehr registriert. Zusammenfassend gilt die Einzel- und Doppelimpuls-TMS selbst bei Patienten mit einem bekannten Anfallsleiden als unbedenkliche Methode.

Es existieren keine Hinweise, dass die TMS auf das stimulierte Gehirn schädliche Langzeiteffekte hat (George et al. 1999; Wassermann 1998).

Kontraindikationen sind Gravidität, intrakranielle Metallteile (z.B. Gefäßclips und Osteosynthesen) sowie implantierte elektronische Geräte (beispielsweise Herzschrittmacher und Cochlea-Implantate) (Wassermann 1998; Brandt et al. 1997).

Zusammenfassend ist die TMS mit Einzel- und Doppelstimulation bei Beachtung der Sicherheitsaspekte (Lorberbaum und Wassermann 2000) und der Kontraindikationen eine sicheres etabliertes Routineverfahren.

1.3 Fragestellung und Studienziel

Studienziel war die Beantwortung der Fragen, ob eine Einzeldosis Amantadin zu einer akuten Veränderung der Exzitabilität des humanen Motorkortex führt, und welcher der in diversen in vivo und in vitro Studien beschriebenen Wirkmechanismen von AMA die Hauptrelevanz für diese Beeinflussung der Exzitabilität besitzt.

Folgende **Fragestellungen** wurden gestellt:

Hauptfragestellungen:

- 1) Führt eine orale Einzeldosis von 50 mg oder 100 mg Amantadin zu einer akuten Veränderung der Exzitabilität des menschlichen Motorkortex?

- 2) Welcher der in diversen in vivo und in vitro Studien beschriebenen Wirkmechanismen von AMA besitzt die Hauptrelevanz für diese Beeinflussung der Exzitabilität?

Nebenfragestellungen:

- 1) Besteht eine Korrelation zwischen dem Ausmaß der Exzitabilitätsänderung und den AMA-Serumspiegeln?
- 2) Welche Nebenwirkungen treten auf?
- 3) Treten Placeboeffekte auf?

Hypothesen:

AMA führt zu einer signifikanten Änderung der kortikalen Exzitabilität im Vergleich zu Placebo. Angelehnt an andere TMS-Studien mit Adamantinen, beispielsweise Memantin (Schwenkreis et al. 1999), kann gemutmaßt werden, dass der Hauptwirkmechanismus von AMA auf die Exzitabilität des menschlichen Motorkortex v.a. antiglutamaterge Mechanismen einschließt. Folglich wurden insbesondere Veränderungen der Doppelimpulsparameter (ICF und SICI) erwartet, welche durch antiglutamaterge Medikamente beeinflussbar sind (Liepert et al. 1997; Schwenkreis et al. 1999; Schwenkreis et al. 2000; Ziemann et al. 1998).

2. PROBANDEN, MATERIAL UND METHODEN

Die Studie wurde in Anlehnung an die Deklaration von Helsinki und mit dem Einverständnis der Ethikkommission der Philipps-Universität Marburg durchgeführt. Der Zeitraum der prospektiven Datenevaluation erstreckte sich von Oktober 2003 bis Juni 2004. Sämtliche Studieninhalte wurden vor Studienbeginn im Ethikantrag bzw. Studienprotokoll angegeben.

2.1 Selektion der Probanden

14 gesunde Probanden wurden in die Studie eingeschlossen. Nur junge Probanden wurden rekrutiert, weil bei älteren Patienten (62 bis 72 Jahre) trotz einer normalen renalen Clearance AMA eine verlängerte HWZ von 30 Stunden aufweist (Arzneimittelkompendium der Schweiz[®] 2005). Die Händigkeit, als Ausdruck der motorischen Hemisphärendominanz, hat einen Einfluss auf die zu erhebenden Messgrößen (Priori et al. 1999). Folglich wurde der Händigkeitsindex mit Hilfe des Edinburgh-Händigkeit-Inventars ermittelt (Oldfield 1971). Dies ist ein Fragebogen, der die bevorzugte Benutzung der rechten bzw. linken Hand bei zehn alltäglichen Tätigkeiten ermittelt. Es wurden ausschließlich Probanden rekrutiert, welche den unter 2.1.1 aufgeführten Einschlusskriterien entsprachen und keine der unter 2.1.2 aufgeführten Ausschlusskriterien aufwiesen. Vor Beginn der Messungen wurde ein 12-Kanal-Ruhe-EKG geschrieben, um etwaige kardiale Vorerkrankungen zu detektieren, weil AMA kardiale NW haben kann (vgl. 2.2.1.2). Vor Studienbeginn wurden alle Freiwilligen informiert, vier Tage vor Studienbeginn und während der jeweiligen Messdauer (maximal 28 Tage) keine neuro- und psychoaktiven Medikamente einschließlich Alkohol einzunehmen. Die Teilnahme an der Studie war freiwillig. Alle gaben nach ausführlicher mündlicher und schriftlicher Aufklärung über Ablauf, Zweck und Risiken der Studie ihre schriftliches Einverständnis zur Teilnahme an der Studie und der anonymisierten Datenauswertung.

2.1.1 Einschlusskriterien

Zur Aufnahme in die Studie mussten folgende Kriterien erfüllt sein (Reis 2003):

- Alter über 18 Jahre bis maximal 60 Jahre
- Normales 12-Kanal-EKG vor der ersten Messung
- Schriftliche Einwilligung zur Teilnahme an der Studie
- Fähigkeit, die Studienkriterien zu erfassen und einzuhalten, AMA bzw. Placebo einzunehmen und sich der TMS-Untersuchung zu unterziehen

2.1.2 Ausschlusskriterien

Ein Einschluss in die Studie wurde abgelehnt, wenn eine der folgenden Bedingungen zutraf (Reis 2003):

- Schwere (eine Krankenhauseinweisung erforderlich machende) psychiatrische Erkrankung in den letzten sechs Monaten oder Suizidversuch in der Anamnese, zugrundeliegende Psychose oder bekannte Verhaltensauffälligkeiten
- Schwere progressive neurologische Erkrankung (z. B. schnell fortschreitende Hirnpathologie)
- Symptome einer Reizung im oberen Verdauungstrakt (z. B. Refluxösophagitis, aktives Ulkus ventriculi et duodeni)
- Nierenerkrankung (z.B. Niereninsuffizienz)
- Schwere Lebererkrankung (z. B. Leberzirrhose, Hepatitis)
- Herz-Kreislauf-Erkrankung (Schwere nicht kompensierte Herzinsuffizienz Stadium NYHA IV, Kardiomyopathien, Myokarditiden, AV-Block II° und III°, bekannte Bradykardie < 55 Schläge/min, bekanntes langes QT-Intervall (QTc nach Bazett > 420ms) oder erkennbare U-Wellen oder angeborenes QT-Syndrom in der Familienanamnese, schwerwiegende ventrikuläre Arrhythmien einschließlich Torsade de pointes in der Anamnese, gleichzeitige Therapie mit QT-verlängernden Arzneimitteln)
- Benigne Prostatahyperplasie
- Engwinkelglaukom
- Schwere endokrinologische Erkrankung
- Krebsleiden

- Schwangerschaft oder Stillzeit
- Vorliegen einer Epilepsie
- Chronischer Alkohol- oder Drogenmissbrauch in den letzten zwei Jahren
- Bekannte Überempfindlichkeit gegen die Medikation (Amantadin) oder deren Trägerstoffe
- Zentralnervös wirksame Dauermedikation zum Zeitpunkt der Untersuchung
- Metallhaltige Implantate im Kopf-Hals-Thorax-Bereich (z.B. Metallsplitter, intrakranielle Clips, Herzschrittmacher)
- Andere klinisch signifikante Auffälligkeiten, belegt durch Laborwerte, medizinische Anamnese oder körperliche Untersuchung, die sich nach Ansicht des Untersuchers nachteilig auf die Studie oder den Probanden auswirken könnten
- Beteiligung an anderen klinischen bzw. neurophysiologischen Untersuchungen

2.1.3 Abbruchkriterien

Sämtlichen Probanden wurde mitgeteilt, dass zu jedem Zeitpunkt nach Beginn der Studie ein Zurücktreten ohne Angabe von Gründen möglich sei. Auch der Studienleiter hatte die Möglichkeit, einen Probanden, bei dem nach Einschluss in die Studie die unter 2.1.1 aufgeführten Einschlusskriterien nicht zutrafen oder die unter 2.1.2 beschriebenen Ausschlusskriterien festgestellt wurden, auszuschließen. Die Datenauswertung wäre dann nach dem Intention-to-treat-Prinzip erfolgt.

2.2 Medikamente

2.2.1 Amantadin (AMA, PK-Merz[®] Brausetabletten)

In dieser Studie wurden PK-Merz[®] Brausetabletten (Merz Pharmaceuticals GmbH, Frankfurt, Deutschland) mit dem Wirkstoff Amantadinsulfat verabreicht.

2.2.1.1 Pharmakodynamik, Pharmakokinetik und Dosierung

Es konnten schon einige pharmakologische Wirkmechanismen von AMA, die bereits in Abschnitt 1.1.2 behandelt wurden, identifiziert werden, welche zu dem vielfältigen Einsatzspektrum, v.a. beim Morbus Parkinson beitragen.

AMA weist günstige pharmakokinetische Eigenschaften auf. Es besitzt eine hohe orale Bioverfügbarkeit (55-90%) sowie eine schnelle gastrointestinale Resorption, wobei maximale Plasmaspiegel innerhalb von einer bis zwölf Stunden (Mittel ca. 8 Stunden) nach oraler Ingestion erreicht werden (Arzneimittelkompendium der Schweiz[®] 2005; Aoki und Sitar 1985; Aoki et al. 1979; Montanari et al. 1975; Bleidner et al. 1965). Der Ort der Resorption im Gastrointestinaltrakt ist unbekannt (Aoki und Sitar 1988). Die Eliminationshalbwertszeit (HWZ) liegt zwischen 10 und 30 Stunden (Mittel ca. 15 Stunden). Sie wird entscheidend vom Alter der Patienten beeinflusst, wobei ältere Patienten (62 bis 72 Jahre) eine längere HWZ (ca. 30 Stunden) zeigen (Arzneimittelkompendium der Schweiz[®] 2005). Nach Einnahme von 200 mg AMA-Sulfat wurden durchschnittliche Plasmalevel von 780 ng/ml gemessen (Muller et al. 1995). Der Plasmaspiegel von AMA weist jedoch deutliche interindividuelle Unterschiede auf (Aoki und Sitar 1988; Brenner et al. 1988; Pacifici et al. 1976; Parkes et al. 1971). Die Plasmaspitzenkonzentration (C_{max}) beträgt nach Gabe von 100 mg Amantadinsulfat 0,15 µg/ml (Arzneimittelkompendium der Schweiz[®] 2005). AMA wird unverändert und fast vollständig (90%) im Urin ausgeschieden, wohingegen nur geringe Mengen mit dem Stuhl eliminiert werden (Arzneimittelkompendium der Schweiz[®] 2005). Nur sehr kleine Mengen von Metaboliten konnten bisher im menschlichen Urin nachgewiesen werden (Koppel und Tenczer 1985). Der Grad der Blut-Hirn-Schranken-Passage des sehr lipophilen AMAs hängt vom Sättigungsgrad ab (Arzneimittelkompendium der Schweiz[®] 2005). Dies wird durch toxikologische Studien unterstützt, die auf einen Haupteffekt im Zentralen Nervensystem (ZNS) hindeuten (Vernier et al. 1969). Das Hirngewebe/Serum-Verhältnis der AMA-Konzentrationen beträgt 0,6 (Kornhuber et al. 1995).

2.2.1.2 Risiken und Nebenwirkungen

Generell zeichnet sich AMA durch eine gute Verträglichkeit mit nur geringen Nebenwirkungen (NW) (vgl. Tabelle 1) und einem niedrigen Risikoprofil aus.

Bryson et al. berichteten, dass bei einem Drittel von 34 Universitätsstudenten, die 200 mg/Tag eingenommen hatten, im Vergleich zu ca. 10% von 25 mit Placebo behandelten Probanden, NW wie Schwindel, Nervosität oder Schlaflosigkeit auftraten (Bryson et al. 1980). Der Zeitverlauf des Auftretens und Abklingens von NW entsprach der Pharmakokinetik der Substanz. AMA hat eine mittlere HWZ von 15 Std. (Arzneimittelkompendium der Schweiz[®] 2005). NW traten bei Dauermedikation erst innerhalb der ersten zwei bis vier Tage nach Beginn einer kontinuierlichen AMA-Einnahme auf (Hayden et al. 1981; Bryson et al. 1980; Monto et al. 1979). Ein Absetzen von Amantadin bei Personen mit NW resultierte im Verschwinden der Symptome innerhalb von 24 bis 48 Stunden (Dolin et al. 1982; Hayden et al. 1981; Bryson et al. 1980; Monto et al. 1979).

Tabelle 1: Nebenwirkungen von AMA (Rote Liste® 2005).

Haut	Livedo reticularis, zuweilen verbunden mit Ödemen im Unterschenkel- und Knöchelbereich (gelegentlich)
Nervensystem und Psyche	Schlafstörungen, motorische und psychische Unruhe (gelegentlich) Paranoid gefärbte, mit optischen Halluzinationen einhergehende exogene Psychosen (bei prädisponierten älteren Patienten, häufiger besonders bei Kombination mit anderen Antiparkinsonmitteln) Schwindel (selten bis gelegentlich) Epileptische Anfälle (Einzelfälle) Zusätzlich bei Virusgrippe-A-Prophylaxe: Schwindel, Nervosität, Gedächtnis-, Konzentrations-, Schlafstörungen (gelegentlich), Stimmungsveränderungen, Alpträume und Wahnwahrnehmungen leichteren Grades (selten) Hinweis: Cave: sofortiges Absetzen von Amantadin bei Patienten, die gleichzeitig mit Neuroleptika behandelt werden (Gefahr eines lebensbedrohlichen malignen neuroleptischen Syndroms)
Augen	Verschwommensehen (sehr selten bis selten) Vorübergehender Visusverlust, gesteigerte Lichtempfindlichkeit (Einzelfälle)
Gastrointestinaltrakt	Übelkeit, Mundtrockenheit (selten bis gelegentlich)
Herz, Kreislauf	Orthostatische Dysregulationen (selten bis gelegentlich) Herzrhythmusstörungen mit Tachykardie (Einzelfälle)
Urogenitaltrakt	Harnretention bei benigner Prostatahyperplasie (gelegentlich)

In Einzelfällen wurden kardiale Arrhythmien wie ventrikuläre Tachykardie, Kammerflimmern, Torsades de pointes und QT-Verlängerungen beschrieben. In den meisten Fällen lagen eine Überdosierung, bestimmte Komedikationen oder Risikofaktoren für kardiale Arrhythmien vor (Rote Liste® 2005).

Bei Behandlungsbeginn kann, v.a. bei gleichzeitigem Alkoholkonsum, eine Verminderung der Fahrtüchtigkeit und der Fähigkeit, Maschinen zu bedienen, resultieren (Rote Liste® 2005).

2.2.1.3 Gegenanzeigen und Anwendungsbeschränkungen

Amantadin darf nicht angewendet werden bei Patienten mit:

Überempfindlichkeit gegenüber Amantadinverbindungen, schwerer nicht kompensierter Herzinsuffizienz (Stadium NYHA IV), Kardiomyopathien und Myokarditiden, AV-Block II° und III°, vorbekannter Bradykardie < 55 Schläge/min, bekanntem langen QT-Intervall (QTc nach Bazett > 420ms) oder erkennbarer U-Wellen, angeborenem QT-Syndrom in der Familienanamnese, schwerwiegender ventrikulärer Arrhythmien einschließlich Torsade de pointes in der Anamnese, gleichzeitiger Therapie mit QT-verlängernden Arzneimitteln (Rote Liste® 2005).

Amantadin sollte nicht angewendet werden bei Patienten mit:

Benigner Prostatahyperplasie, Engwinkelglaukom, Niereninsuffizienz (verschiedene Schweregrade), Schwangerschaft (es liegen keine ausreichenden Erfahrungen über die Sicherheit einer Anwendung bei Schwangeren vor), Stillzeit (Amantadin geht in die Muttermilch über) (Rote Liste® 2005).

Es wurde eine Probandenversicherung bei der Allianz Versicherung - Aktiengesellschaft (Frankfurt, Deutschland) abgeschlossen.

2.2.1.4 Studienmedikation

Die Probanden erhielten an den einzelnen Messtagen jeweils eine orale Testmedikation in Form einer Einzeldosis bestehend aus Placebo (10 mg Calcium Sandoz® Brause, Novartis Consumer Health GmbH, Deutschland), 50 mg Amantadinsulfat (PK-Merz® Brausetabletten, Merz Pharmaceuticals GmbH, Frankfurt, Deutschland) bzw. 100 mg Amantadinsulfat (PK-Merz® Brausetabletten). Die Testmedikation wurde jeweils durch eine in Leitungswasser aufgelöste Brausetablette per os verabreicht. Die eingenommenen Flüssigkeiten waren gustatorisch äquivalent, weil auch den Flüssigkeiten, in denen AMA gelöst wurde, jeweils die gleiche Menge der Calcium-Brausetabletten (10 mg Calcium

Sandoz[®] Brause) zugesetzt wurden. Sie waren jeweils klar, geruchlos und hatten einen dezenten Zitronengeschmack.

Die Verabreichung des Getränks an die Probanden erfolgte durch eine nicht in die Studie involvierte Person, sodass die Verblindung der Studie gewährleistet blieb.

2.2.1.5 Nebenwirkungsscore und Grooved Pegboard Test

Zweieinhalb Stunden nach oraler Ingestion der jeweiligen Einzeldosen von Placebo, 50 mg oder 100 mg AMA wurde an jedem Versuchstag eine Befragung der Probanden bzgl. der evtl. aufgetretenen medikamentös bedingten Nebenwirkungen (NW) anhand eines semiquantitativen Fragebogens durchgeführt. Dieser Fragebogen enthielt diejenigen NW, die bei kontinuierlicher Amantadingabe aufgetreten waren (Rote Liste[®] 2005). Die Intensität dieser NW wurde mittels Punktevergabe anhand eines standardisierten Fragebogens evaluiert. Dabei bedeuteten 0 Punkte (P) keine NW, 1 P leichte NW, 2 P mittelstarke NW, 3 P starke NW. Aus 18 der unter 3.5 aufgeführten NW wurde ein kumulativer Nebenwirkungsscore (maximal 54 P) berechnet.

Um Veränderungen der Fein- und Grobmotorik sowie der visuell-motorischen Koordination zu kontrollieren, wurde der Grooved Pegboard Test (Lafayette Instruments[®]) durchgeführt, wobei dieser sowohl mit der dominanten als auch mit der nicht-dominanten Hand vor und zweieinhalb Stunden nach Medikamenteneinnahme durchgeführt wurde und die Ergebnisse nach Beendigung der Messungen verglichen wurden.

2.3 Transkranielle Magnetstimulation (TMS)

2.3.1 Aufbau und Durchführung

Die experimentelle Vorgehensweise orientierte sich an dem von Reis (Reis 2003) beschriebenen Versuchsaufbau.

2.3.1.1 Methode der Transkraniellen Magnetstimulation

Die Transkranielle Magnetstimulation (TMS) wurde mit einer Doppelspule in Form einer Acht (innerer Durchmesser von 7 cm, micromed Medizin-Elektronik, Gundelfingen, Deutschland) durchgeführt. Diese war über ein Bistim[®]-Modul mit zwei Magstim 200 Stimulatoren (Magstim, Whitland, UK) verbunden. Diese Anordnung ermöglicht die Entladung zweier Magnetstimulatoren über dieselbe Spule (Spitzenstärke des magnetischen Feldes 1,5 Tesla), was für die unter 2.3.3.2 beschriebene Doppelimpuls-TMS von Bedeutung ist, weil zwei Stimuli innerhalb kürzester Zeit appliziert werden können.

Angelehnt an Vorarbeiten der Arbeitsgruppe Epilepsie der Philipps-Universität Marburg (Reis 2003; Reis et al. 2004), wurden mit Hilfe des Datenverarbeitungsprogrammes Magnetix[®] verschiedene Paradigmen zur unter 2.3.3 erwähnten Messung motokortikaler Exzitabilität erstellt.

Die Probanden saßen in einem bequemen, nach hinten geneigten EEG-Stuhl. Den Versuchsteilnehmern wurde aufgetragen, die Augen während der ganzen Untersuchung geöffnet zu lassen. Außerdem wurden sie während der TMS-Messung von akustischen und visuellen Reizen abgeschirmt. Der Kopf wurde durch ein u-förmiges Kissen gestützt, um dieselbe Kopfposition über einen längeren Zeitraum zu gewährleisten.

2.3.1.2 Elektromyographie-Ableitung

Die durch Einsatz der TMS induzierten MEPs wurden mittels Oberflächen-Elektromyographie (EMG) registriert. Die Ableitung erfolgte mittels zweier etwa ein Cent großer Silber-Silberchlorid-Oberflächenelektroden vom kontralateral zur dominanten Hirnhemisphäre lokalisierten ADM. Dabei wurde die Referenz-Elektrode auf das erste Interphalangealgelenk des Digitus V, die aktive Elektrode auf den Muskelbauch des ADM aufgeklebt und ein Oberflächen-EMG abgeleitet. Das gemessene Rohsignal wurde verstärkt, gefiltert (20 Hz bis 10 kHz), digitalisiert (Analog/Digital-Rate 40 kHz) und dann auf einem Computer mit Hilfe eines Datenverarbeitungsprogrammes (Magnetix[®], Center for Sensorimotor Research, München, Deutschland) offline analysiert.

MEPs wurden für alle Probanden unter Ruhe- und Aktivbedingungen gemessen. Die Ruhe-Bedingung, die durch eine EMG-Stille charakterisiert ist, wurde durch visuelles Feedback auf dem EMG-Monitor überwacht. Dabei sollten die Probanden während der Messung der Ruhebedingungen möglichst die gesamte willkürliche Körpermuskulatur relaxieren. Messungen, bei denen dennoch unwillkürliche Muskelanspannungen als Hintergrund-EMG-Aktivität erkennbar waren, wurden nicht in die Analyse einbezogen. Während der Aktivbedingungen kontrahierten die Testpersonen den ADM mit ungefähr 20% der maximalen Kraft, indem sie den Kleinfinger abduzierten. Dies wurde ebenfalls mittels visuellem Feedback kontrolliert. Um ein Auftreten von Müdigkeit zu vermeiden, ruhten sich die Probanden zwischen den einzelnen unter 2.3.3 aufgeführten Messungen für einige Minuten aus.

2.3.2 Bestimmung der Spulenposition

Vor Beginn der unter 2.3.3 beschriebenen Messungen wurde über der dominanten Hemisphäre, die den kontralateralen ADM versorgt, die optimale Spulenposition bestimmt. Dies stellte die Position dar, die bei wiederholten Messungen mit überschwelligem Stimuli gleicher Intensität (etwa 50-60% des maximalen Stimulator-Outputs) das größte MEP erzeugte. Diese Stelle ist im Zentrum des kortikalen Repräsentationsareales des Kleinfingers im Gyrus präcentralis lokalisiert. Bei der groben Ermittlung der Position hilft das Wissen, dass der primäre motorische Kortex somatotop gegliedert ist, d.h. jedes Körperteil besitzt eine bestimmte Repräsentation im primär-motorischen Kortex, was graphisch als „motorischer Homunculus“ veranschaulicht wurde (Penfield und Boldrey 1937). Die Mitte der Schmetterlingsspule wurde tangential auf der Kopfhaut an der vermuteten motorischen Repräsentation des ADM platziert und unter sukzessivem Versetzen der Magnetspule - erst in ein cm-Schritten, später in 0,5 cm-Schritten - der Punkt der optimalen Stimulation des ADM aufgesucht, bis das größte MEP induziert wurde. Das Zentrum des kortikalen Repräsentationsareales des Kleinfingers ist ein relativ kleines Areal, das etwa zwei cm oberhalb der Ohrmuschel parietotemporal bzw. fünf bis sechs cm lateral vom Vertex zu finden ist. Der Griff der Spule zeigte in einem Winkel von ca. 45° zur Sagittalebene nach dorsolateral. Die Markierung der detektierten optimalen Spulenposition erfolgte mit einem Filzstift auf der

Kopfhaut, damit bei jeder Messung exakt dieselbe Position eingehalten werden konnte und ein Auffinden derselben bei artifiziellem Verrutschen der Spule gewährleistet blieb. Als letzter Schritt erfolgte ein Einspannen der Spule in eine Spulenhalterung, um eine konstante Lage der Spule zu gewährleisten.

2.3.3 Messung der Exzitabilität des Motorkortex

Nach Bestimmung der optimalen Spulenposition erfolgte die Messung der motokortikalen Exzitabilität (Reis 2003).

2.3.3.1 Einzelimpuls-TMS

Zur Erstellung der Einzelimpuls-Paradigmen war nur Stimulator 1 aktiv, der Einzelimpulse im Abstand von fünf (Paradigma 1 und 2) bis acht Sekunden (Paradigma 3) triggerte. Die Pre-Triggerzeit wurde auf 50 ms festgelegt.

2.3.3.1.1 Paradigma 1: Testreiz (TR) und Motorische Schwellen (MT)

Bei Paradigma 1 erfolgte eine Festlegung der Startintensität der Einzelreize abhängig von der individuellen Exzitabilität. Dabei wurde mit 50-60% der maximal möglichen Stimulator-Intensität begonnen. Insgesamt wurden maximal 200 Einzelimpulse appliziert.

Zuerst wurde die unkonditionierte Testreizintensität (**unconditioned test stimulus, uTR**) bestimmt. Diese wurde definiert als diejenige Stimulusintensität, welche eine **unkonditionierte MEP-Amplitude (uMEP)** von mindestens 1 mV_{pp} bis 1,5 mV_{pp} auslöst. Danach erfolgte die Messung der Schwellenintensitäten der motorischen Exzitabilität (Motorische Schwelle, **motor threshold, MT**), die Motorische Ruheschwelle (**resting motor threshold, RMT**) und Aktive Motorische Schwelle (**active motor threshold, AMT**):

Die RMT wurde definiert als die minimale Stimulusintensität, die nötig ist, um eine gerade eben nachweisbare motorische Antwort im ADM zu erzeugen. Sie ist diejenige Stimulusintensität, die in fünf von zehn konsekutiven Messungen eine MEP-Amplitude größer als 50 μ V_{pp} erzeugt (Werhahn et al. 1999; Ziemann et al. 1996b; Rossini et al. 1994).

Die AMT wurde definiert als die minimale Stimulusintensität, die nötig ist, um eine gerade eben nachweisbare motorische Antwort im Zielmuskel unter leichter willkürlicher tonischer Aktivierung (20% der maximalen Kraft) des ADM zu erzeugen. Sie ist die Stimulusintensität, die in fünf von zehn aufeinanderfolgenden Messungen eine MEP-Amplitude größer als $50 \mu V_{pp}$ hervorruft (Werhahn et al. 1999). Dazu wurde der Proband gebeten, den Muskel leicht (20% der maximalen Kraft) anzuspannen und während der Messung die Kontraktion unverändert beizubehalten.

Beide Schwellen wurden in Prozent des maximalen Stimulator-Outputs angegeben. Bei beiden Schwellenbestimmungen erfolgte eine sukzessive Intensitätsreduktion in 1%-Schritten (der maximalen Stimulatorintensität), bis die Kriterien der RMT bzw. AMT erfüllt waren.

2.3.3.1.2 Paradigma 2: MEP-Rekrutierungskurven (MEP-REC)

Die Größe der motorisch evozierten Potential (**motor evoked potential, MEP**)-Rekrutierungskurven (**recruitment curves, REC**) hängt von der Anzahl von hauptsächlich über kortikokortikale Verbindungen aktivierten, kortikospinalen Neuronen bei einer definierten Stimulusintensität ab (Ridding und Rothwell 1997). Mit steigender Intensität nimmt physiologischerweise das MEP durch Rekrutierung größerer Neuronenverbände zu (Hess et al. 1987a). Die Rekrutierungskurven der MEPs wurden im Einzelimpulsverfahren durch folgende Schritte bestimmt:

- 1) **MEP-Messung:** Bei verschiedenen Stimulusintensitäten (RMT, 110% RMT, 120% RMT, 130% RMT, 140% RMT) wurden jeweils 10 MEPs mittels TMS erzielt. Dabei wurden aus den pro Stimulusintensität gewonnenen zehn peak-to-peak MEPs jeweils ein Durchschnittswert errechnet.
- 2) **Messung der peripheren Exzitabilität (Erregbarkeit und Rekrutierbarkeit der α -Motoneuronen) durch motorische Neurographie des Nervus ulnaris:** Durch supramaximale elektrische Stimulation des Ulnarnerven am Handgelenk wurde die maximale muskuläre Summenaktionspotentialamplitude (**maximum compound muscle action potential, mCMAP**) des entspannten ADM mittels eines Nicolet Viking Quest (Hoechberg, Deutschland) ermittelt. Die Ableitung der mCMAP erfolgte über Oberflächenelektroden, welche kutan über dem

Muskelbauch und dem ersten Fingergrundgelenk aufgeklebt wurden. Die Erdung erfolgte distal der Stimulation. Bei jeder Messung erfolgte eine sukzessive Steigerung der elektrischen Stimuli, bis eine maximale, nicht mehr steigerungsfähige mCMAP resultierte. Nach drei Stimulationsdurchgängen wurde der Durchschnittswert der gewonnenen mCMAPs für jeden Probanden errechnet und als 100% festgesetzt (Facchini et al. 2002).

- 3) **MEP-Rekrutierungskurven:** Die (in Punkt 1) gewonnenen, durchschnittlichen MEP-Amplituden jeder Stimulusintensität wurden dann ins Verhältnis zur (in Punkt 2) errechneten, durchschnittlichen mCMAP gesetzt. Dabei wurden die MEPs in Prozent der mCMAP ausgedrückt (Reis et al. 2004).

2.3.3.1.3 Paradigma 3: Kortikal induzierte Silent Period (CSP)

Zur Bestimmung der postexzitatorischen Innervationsstille (kortikal induzierte Silent Period, **cortical induced silent period, CSP**) spannte der Proband den ADM mit ca. 20% der maximalen Kraft an. Dann wurden 20 Einzelreize mit einer Stimulusintensität von 110% der RMT appliziert. Im EMG resultierte nach jedem MEP eine Signalstille (CSP). Die CSP-Dauer wurde definiert als die Zeit vom Stimulusartefakt bis zum ersten Wiederauftreten von willkürlicher EMG-Aktivität (vgl. Abbildung 3). Um eine interpersonelle Variabilität auszuschließen, bestimmte nur ein Untersucher den zweiten, dem Endpunkt entsprechenden nicht vom Computer determinierten CSP-Messpunkt (Garvey et al. 2001; Nilsson et al. 1997). Aus den 20 gewonnenen Einzelwerten wurde ein Durchschnittswert gebildet (Ziemann et al. 1998).

2.3.3.2 Doppelimpuls-TMS

Die Grundlage der Doppelimpulsstimulation bildeten zwei durch dieselbe Spule applizierte Stimuli mit einem sehr kurzen Interstimulusintervall (**interstimulus interval, ISI**) im Bereich von ms. Zur Erstellung der Doppelimpuls-Paradigmen waren Stimulator 1 und Stimulator 2 aktiv. Die Intensität des konditionierenden Stimulus (**conditioning stimulus, CS**) auf Stimulator 1 wurde auf 75% der RMT festgesetzt, um Veränderungen der Exzitabilität des Rückenmarks auszuschließen (Di Lazzaro et al. 1998a; Di Lazzaro et al. 1998b). Diejenige von Stimulator 2 entsprach der in Paradigma 1 bestimmten

unkonditionierten Testreizintensität (unconditioned test stimulus, uTR). Die Stimulusintensitäten des CS und uTR wurden auf den Magnetstimulatoren entsprechend eingestellt. Die Pre-Triggerzeit wurde auf 50 ms festgelegt. Insgesamt wurden 90 Impulse in einer vom Computer erstellten randomisierten Reihenfolge appliziert, davon 75 Doppelimpulse (15 Impulse/ISI) und 15 Einzelimpulse (uTR). Doppel- und Einzelimpulse wurden in einem zeitlichen Abstand von fünf Sekunden appliziert, der ADM war dabei entspannt.

2.3.3.2.1 Paradigma 4: Kurze Intrakortikale Inhibition (SICI), Fazilitation (ICF) und Späte Intrakortikale Inhibition (L-ICI)

Die Doppelimpuls-TMS (paired pulse-TMS) ist in verschiedenen Vorarbeiten ausführlich beschrieben (Reis et al. 2004; Reis et al. 2002; Werhahn et al. 1999; Nakamura et al. 1997; Ziemann et al. 1996d; Kujirai et al. 1993).

Hierbei wird ein erster, konditionierender Stimulus (conditioning stimulus, CS) kurz vor einem zweiten konditionierten Testreiz (conditioned test stimulus, **cTR**) appliziert und die Größe der Amplitude (peak-to-peak) des resultierenden konditionierten MEPs (conditioned motor evoked potential, **cMEP**) gemessen. Der CS muss unterhalb der Ruhemotorschwelle liegen, damit dieser selbst keine kortikospinale Entladung durch Exzitabilitätsänderungen auf subkortikaler Ebene produziert (Di Lazzaro et al. 1998b; Kujirai et al. 1993). Somit war zu erwarten, dass jeglicher nachweisbare Effekt des CS auf die Größe des Antwortpotentials des TR kortikalen Ursprungs ist. Die Zeitspanne zwischen beiden Stimuli entspricht dem Interstimulusintervall (ISI). Es ist bekannt, dass ISIs von 1 bis 6 ms einen inhibitorischen Effekt auf MEPs haben, also eine SICI resultiert, ISIs von 7 bis 30 ms hingegen eine Fazilitation bewirken, also zu einer ICF führen (Ziemann et al. 1996d; Kujirai et al. 1993), und längere ISIs eine L-ICI induzieren (Nakamura et al. 1997). Demzufolge wurden die ISIs für die SICI mit 2 und 3 ms, für die ICF 10 und 15 ms und für die L-ICI mit 150 ms festgelegt.

Die mittlere Amplitude der jeweiligen 15 Messungen des cTR eines ISI wurde konditionierte Muskel-Antwort (conditioned response, **CR**) genannt und in Prozent der mittleren Amplitude der 15 Messungen des unkonditionierten Testreizes (uTR) angegeben. Dementsprechend war die CR definiert als Quotient aus durchschnittlicher

Amplitude (peak-to-peak) des konditionierten MEPs (cMEP) und durchschnittlicher Amplitude (peak-to-peak) des unkonditionierten MEPs (uMEP) (Reis 2003).

2.4 Zeitlicher Versuchsablauf und -design

Dieser erfolgte analog zu Vorarbeiten der Arbeitsgruppe Epilepsie der Philipps-Universität Marburg (Reis 2003).

Jeder Proband wurde an drei Tagen untersucht. Die Sitzungen wurden in einer pseudo-randomisierten Reihenfolge durchgeführt, welche vor Studienbeginn durch einen Untersucher (Brita Fritsch) durch Festlegung der Reihenfolge der Testmedikation jedes Probanden erfolgte. Bis zum Zeitpunkt der vollständigen Akquirierung und Auswertung der Rohdaten bestand eine Doppelverblindung für die Sitzungsreihenfolge und damit für die Medikamentenapplikation an den einzelnen Messtagen. Die Versuchstage lagen maximal 28 Tage auseinander, jedoch mindestens fünf Tage, um bei einer mittleren AMA-HWZ von 15 Stunden ein Rückgang auf normale Serumspiegel vor dem nachfolgenden Messtag zu erreichen. Um einen Einfluss des Biorhythmus auf die Messungen zu vermeiden, wurden die Messungen immer zur gleichen Tageszeit (abends) durchgeführt.

Vor Beginn der ersten TMS-Messung wurde am ersten Tag ein Routine-Elektrokardiogramm geschrieben, um evtl. vorhandene kardiale Erkrankungen auszuschließen. An jedem Versuchstag wurden zwei TMS-Messungen durchgeführt. Die erste war zur Bestimmung der Baseline-Werte (**baseline, BSL**) vorgesehen. Danach erfolgte die alternative Einnahme von Placebo, 50 mg AMA oder 100 mg AMA. Zweieinhalb Stunden nach Einnahme der Testmedikation wurde eine Blutentnahme (10 ml Serum) aus einer peripheren Armvene zur Bestimmung der AMA-Serumkonzentration durchgeführt. Danach erfolgte die zweite TMS-Messung zur Bestimmung der Effekt-Werte (MED). Nach Beendigung derselben wurde das Serumröhrchen für 10 min (1750g) zentrifugiert und danach der Überstand bei -85°C eingefroren. Nach Sammlung der Serumproben aller Probanden wurden diese gekühlt an ein externes Labor (Bioscientia GmbH Ingelheim, Deutschland) versandt, wo eine Serumkonzentrationsbestimmung (Arndt et al. 2005) von AMA erfolgte.

2.5 Statistische Verfahren

Die statistische Auswertung der TMS-Messwerte erfolgte mittels SPSS[®] for Windows 10.0 (SPSS, Illinois, USA) und Microsoft Excel 2000 (Microsoft Corporation, USA).

Die Studienplanung und -auswertung erfolgte in Kooperation mit dem Institut für Biometrie und Epidemiologie der Philipps-Universität Marburg (Herrn PD Dr. H.H. Müller).

Die verschiedenen Messwerte motorischer kortikaler Exzitabilität (MT, MEP-REC, CSP, SICI, ICF, L-ICI) wurden getrennt analysiert und als Mittelwerte \pm Standardfehler (standard error of the mean, **SEM**) dargestellt. Die Effekte von AMA und Placebo auf die TMS-Parameter motorischer kortikaler Exzitabilität wurden mit einer zweifaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholungen (**ANOVA, analysis of variance**) mit den Innersubjektfaktoren Zeit (vor/nach Medikamenteneinnahme) und Dosis (Placebo, 50 mg AMA, 100 mg AMA) ausgewertet. Die Baseline-Messwerte der drei Messtage wurden individuell als Referenzwerte für die MED-Messwerte benutzt. Im Allgemeinen wurde ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ angenommen.

Für die post-hoc-Analyse (Placebo vs. 100 mg AMA, Baseline vs. MED) wurde der nonparametrische Wilcoxon-sign-rank-Test für verbundene Stichproben verwendet und dabei das Signifikanzmaß für multiple Vergleiche nach der Methode von Bonferroni-Holm korrigiert.

Das AMA Serumlevel-/Exzitabilitäts-Verhältnis aller Probanden wurde mit einer zweiseitigen Kendall-Tau-b Korrelation berechnet ($p < 0,05$). Für diesen Vergleich wurden nur die signifikanten TMS-Parameter der motorischen Exzitabilität (ISI 15, ISI 150) berücksichtigt. Um weiterhin zu untersuchen, ob die Veränderungen von ISI 15 und ISI 150 unabhängige Ziele von AMA sind, wurde ebenfalls eine zweiseitige Kendall-Tau-b Korrelation verwendet ($p < 0,05$).

3. ERGEBNISSE

3.1 Studienkollektiv

14 gesunde Probanden (sechs Frauen und acht Männer) im Alter zwischen 21 und 33 Jahren (Altersdurchschnitt $25 \pm 2,8$ Jahre) bildeten das Studienkollektiv (vgl. Tabelle 2). Es nahmen ausschließlich rechtshändige Probanden an der Studie teil. Alle eingeschlossenen Freiwilligen beendeten die Studie und es wurden keine der unter 2.1.2 aufgeführten Ausschlusskriterien im Verlauf der Studie bzw. danach festgestellt.

Tabelle 2: Studienkollektiv, Geschlecht, Alter und Messreihenfolge.

Proband	Geschlecht	Alter	Messreihenfolge
1	♂	25	50 AMA - 100 AMA - Placebo
2	♂	33	100 AMA - Placebo - 50 AMA
3	♂	24	100 AMA - Placebo - 50 AMA
4	♂	26	Placebo - 50 AMA - 100 AMA
5	♂	25	Placebo - 50 AMA - 100 AMA
6	♂	26	100 AMA - 50 AMA - Placebo
7	♀	22	50 AMA - 100 AMA - Placebo
8	♀	23	Placebo - 100 AMA - 50 AMA
9	♀	26	50 AMA - 100 AMA - Placebo
10	♀	25	Placebo - 50 AMA - 100 AMA
11	♂	26	Placebo - 100 AMA - 50 AMA
12	♀	21	Placebo - 50 AMA - 100 AMA
13	♀	23	50 AMA - Placebo - 100 AMA
14	♂	25	100 AMA - Placebo - 50 AMA

3.2 TMS-Parameter

3.2.1 Einzelimpuls-TMS

3.2.1.1 Motorische Schwellen (MT)

Die Motorische Ruheschwelle (RMT) und die Aktive Motorische Schwelle (AMT) wurden durch eine Einzeldosis von 50 mg bzw. 100 mg AMA im Vergleich zu Placebo nicht verändert. Die mittlere RMT lag bei den BSL-Messungen bei 39,2% des maximalen Stimulator-Outputs. Die durchschnittliche AMT betrug bei den BSL-Messungen 31,9%. Nach oraler Einnahme von Placebo, 50 mg AMA oder 100 mg AMA zeigten sowohl die RMT (vgl. Tabelle 3 und Abbildung 5) als auch die AMT (vgl. Tabelle 3 und Abbildung 6) keine relevanten Veränderungen im Vergleich zur BSL-Messung.

Tabelle 3: Motorische Ruheschwellen (RMT) und Aktive Motorische Schwellen (AMT) vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation.

	Placebo		50 mg AMA		100 mg AMA		p
	(mean ± SEM)		(mean ± SEM)		(mean ± SEM)		
	BSL	MED	BSL	MED	BSL	MED	
RMT [%]	38,7 ± 1,6	38,3 ± 1,5	39,9 ± 1,6	39,4 ± 1,4	39,1 ± 1,8	38,3 ± 1,6	0,913
AMT [%]	31,6 ± 1,5	31,1 ± 1,6	33,1 ± 1,7	32,1 ± 1,2	31,0 ± 1,5	31,4 ± 1,5	0,514

Errechnete p-Werte in der ANOVA (BSL-Werte versus MED-Werte). Motorische Schwellen als Mittelwerte (mean) ± Standardfehler (SEM) in % des maximalen Stimulator-Outputs.

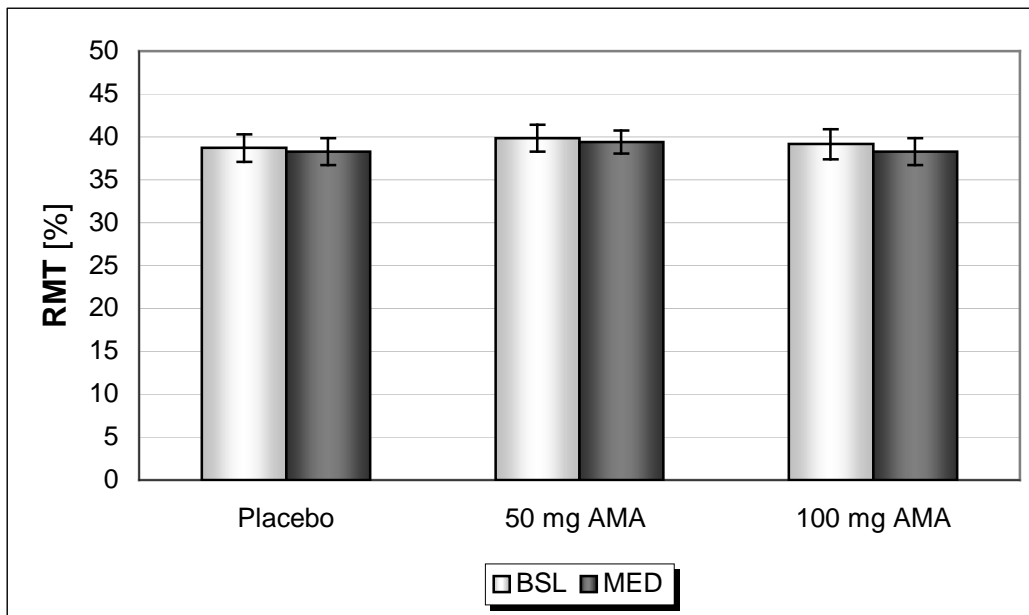


Abb. 5: Motorische Ruheschwellen (RMT) vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation.

RMT als Mittelwerte (mean) \pm Standardfehler (SEM) in % des maximalen Stimulator-Outputs. Nach zweieinhalb Stunden zeigten sich keine relevanten Veränderungen im Vergleich zur BSL-Messung und auch der Vergleich von Placebo mit 50 mg AMA und 100 mg AMA ergab keine Differenzen. Daten für das gesamte Studienkollektiv.

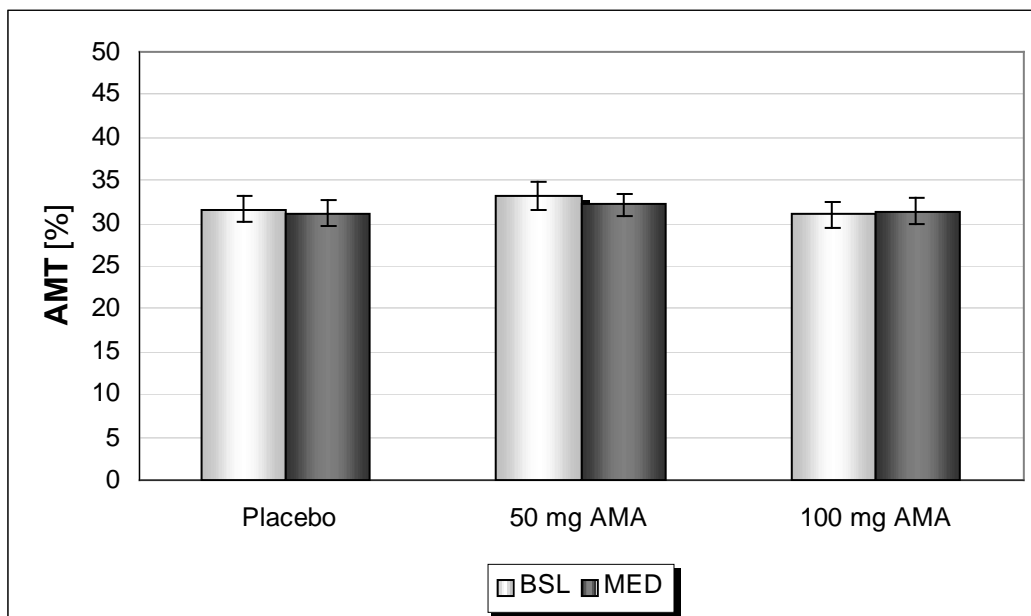


Abb. 6: Aktive Motorische Schwellen (AMT) vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation.

AMT als Mittelwerte (mean) \pm Standardfehler (SEM) in % des maximalen Stimulator-Outputs. Nach zweieinhalb Stunden zeigten sich keine relevanten Veränderungen im Vergleich zur BSL-Messung und auch der Vergleich von Placebo mit 50 mg AMA und 100 mg AMA ergab keine Differenzen. Daten für das gesamte Studienkollektiv.

3.2.1.2 MEP-Rekrutierungskurven (MEP-REC)

Die MEP-Amplituden der Rekrutierungskurven zeigten nach Einnahme von 50 mg und 100 mg AMA im Vergleich zu Placebo eine leichte Zunahme bei 130% RMT und 140% RMT. Diese Veränderungen erreichten jedoch keine statistische Signifikanz (vgl. Tabelle 4 und Abbildung 7).

Tabelle 4: MEP-Rekrutierungskurven (MEP-REC) bei verschiedenen Stimulusintensitäten (110% RMT, 120% RMT, 130% RMT, 140% RMT) vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation.

MEP- REC	Placebo (mean ± SEM)		50 mg AMA (mean ± SEM)		100 mg AMA (mean ± SEM)		p
	BSL	MED	BSL	MED	BSL	MED	
							0,226
110%	1,50 ± 0,3	1,84 ± 0,6	1,98 ± 0,4	1,89 ± 0,3	1,90 ± 0,6	1,66 ± 0,3	
120%	4,05 ± 0,6	3,84 ± 0,8	3,95 ± 0,5	4,52 ± 0,8	4,71 ± 0,9	5,38 ± 1,0	
130%	8,03 ± 1,1	7,27 ± 1,3	7,75 ± 1,1	7,48 ± 1,0	7,36 ± 1,2	9,90 ± 1,8	
140%	11,21 ± 1,5	9,85 ± 1,6	9,68 ± 1,0	11,75 ± 1,5	9,91 ± 1,2	13,04 ± 2,5	

Errechnete p-Werte in der ANOVA (BSL-Werte versus MED-Werte). MEP-Rekrutierungskurven als Mittelwerte (mean) ± Standardfehler (SEM).

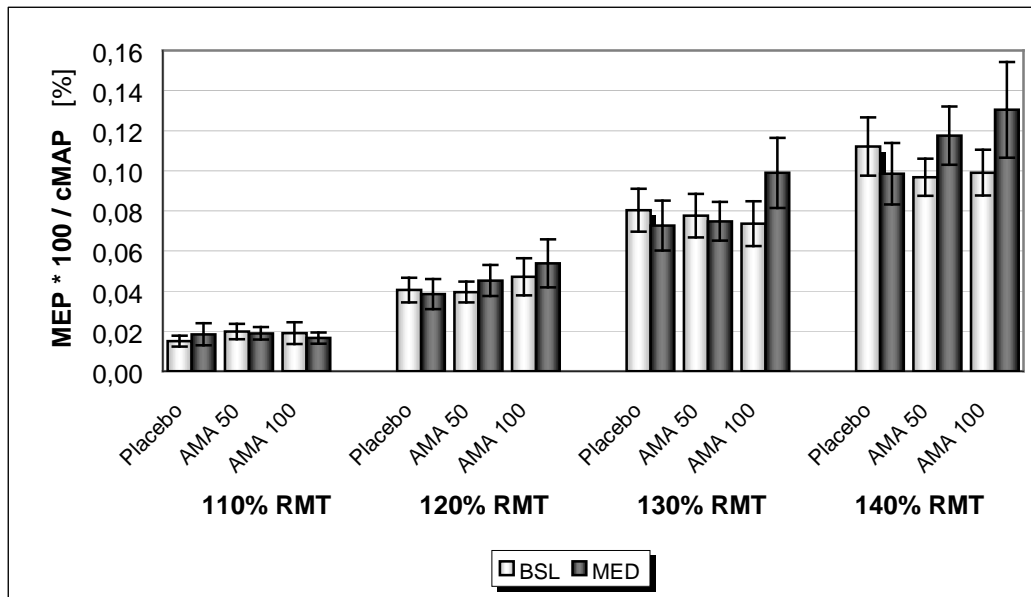


Abb. 7: MEP-Rekrutierungskurven (MEP-REC) bei verschiedenen Stimulusintensitäten (110% RMT, 120% RMT, 130% RMT, 140% RMT) vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation.

MEP-Rekrutierungskurven als Mittelwerte (mean) \pm Standardfehler (SEM) in % der mCMAP. Die Rekrutierungskurven zeigten nach Einnahme von 50 mg und 100 mg AMA im Vergleich zu Placebo eine leichte Zunahme bei 130% RMT und 140% RMT, erreichten jedoch keine statistische Signifikanz. Daten für das gesamte Studienkollektiv.

3.2.1.3 Kortikal induzierte Silent Period (CSP)

Die CSP-Dauer bei einer Intensität von 110% RMT blieb nach Einnahme von 50 mg AMA und 100 mg AMA im Vergleich zu Placebo unverändert. Auch im Vergleich zur BSL zeigten sich bei allen Testmedikationen (Placebo, 50 mg AMA, 100 mg AMA) keine Veränderungen (vgl. Tabelle 5 und Abbildung 8). Absolute Veränderungen waren für CSP 130 Placebo -4,5 ms, für 50 mg AMA 11,0 ms und für 100 mg AMA 0,4 ms.

3 ERGEBNISSE

Tabelle 5: Dauer der kortikal induzierten Silent Period (CSP) vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation.

Intensität	Placebo		50 mg AMA		100 mg AMA		p
	(mean ± SEM)		(mean ± SEM)		(mean ± SEM)		
	BSL	MED	BSL	MED	BSL	MED	
110% RMT	119,8 ± 9,1	115,3 ± 7,9	114,1 ± 9,3	125,1 ± 7,9	109,0 ± 8,1	109,4 ± 7,2	0,264

Errechnete p-Werte in der ANOVA (BSL-Werte versus MED-Werte). CSP als Mittelwerte (mean) ± Standardfehler (SEM) in ms.

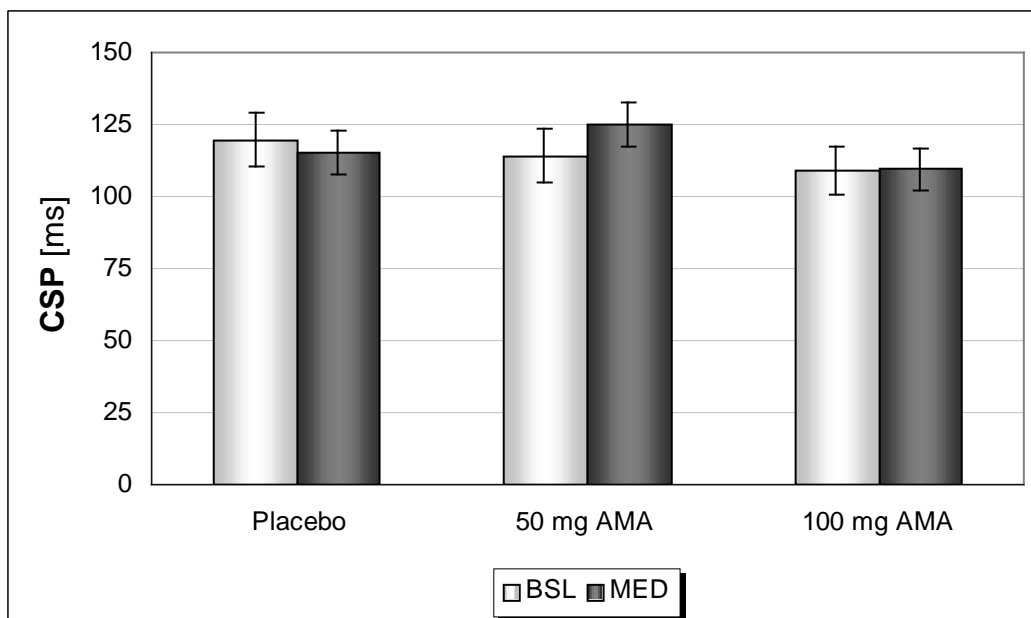


Abb. 8: Kortikal induzierte Silent Period (CSP) bei 110% RMT vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation. CSP als Mittelwerte (mean) ± Standardfehler (SEM) in ms.

Nach zweieinhalb Stunden zeigten sich keine relevanten Veränderungen im Vergleich zur BSL-Messung und auch der Vergleich von Placebo mit 50 mg AMA und 100 mg AMA ergab keine Differenzen. Daten für das gesamte Studienkollektiv.

3.2.2 Doppelimpuls-TMS

3.2.2.1 Kurze Intrakortikale Inhibition (SICI)

Bei kurzen ISIs von 2 ms und 3 ms wurde die SICI nach Einnahme von 50 mg und 100 mg AMA im Vergleich zu Placebo nicht signifikant verändert. Dennoch zeigte sich ein deutlicher dosisabhängiger Trend zu einer gesteigerten SICI (vgl. Tabelle 6 und Abbildung 9). Absolute Veränderungen (Differenz zwischen MED- und Baseline-Werten) [in Prozent des konditionierten MEPs] waren für ISI 2 Placebo -1,1%, für 50 mg AMA -5,28% und für 100 mg AMA -14,4%. Für ISI 3 ergab sich eine absolute Differenz von 3,72% für Placebo, -6,06% für 50 mg AMA und -13,09% für 100 mg AMA.

Tabelle 6: Amplituden (peak-to-peak) der cMEPs bei Interstimulusintervallen (ISIs) von 2 und 3 ms vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation.

	Placebo		50 mg AMA		100 mg AMA		P
	(mean ± SEM)		(mean ± SEM)		(mean ± SEM)		
	BSL	MED	BSL	MED	BSL	MED	
ISI 2	31,83 ± 4,2	30,73 ± 4,3	30,01 ± 4,9	24,73 ± 3,4	39,39 ± 7,3	24,99 ± 4,0	0,053
ISI 3	28,41 ± 6,0	32,13 ± 7,8	29,54 ± 4,5	23,48 ± 4,0	35,30 ± 6,1	22,21 ± 4,4	0,054

Errechnete p-Werte in der ANOVA (BSL-Werte versus MED-Werte). Amplituden als Mittelwerte (mean) ± Standardfehler (SEM) in % des uMEPs.

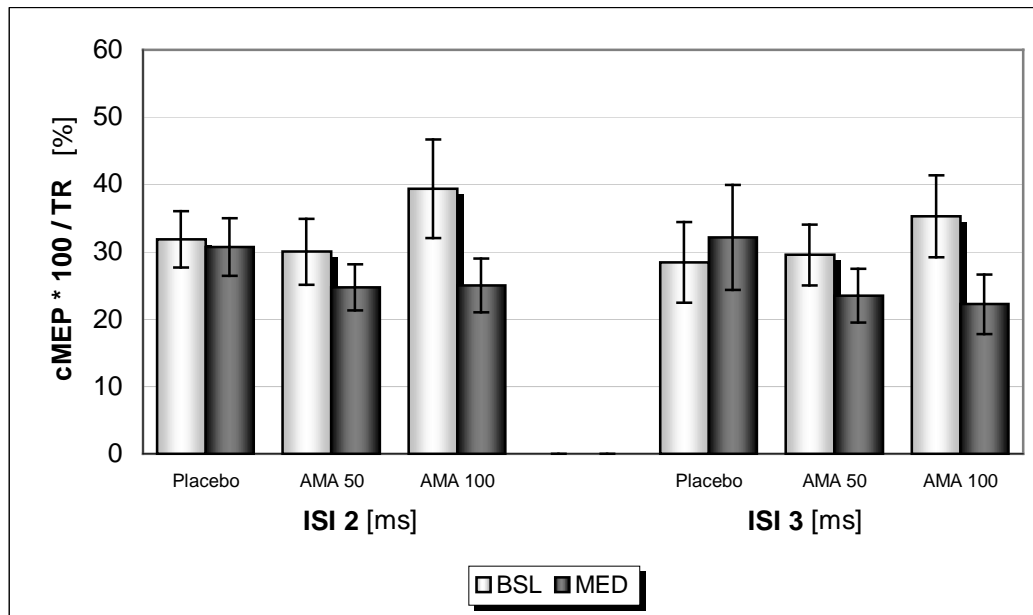


Abb. 9: Kurze Intrakortikale Inhibition (SICI) bei Interstimulusintervallen (ISIs) von 2 und 3 ms vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation. Amplituden der cMEPs als Mittelwerte (mean) \pm Standardfehler (SEM) in % des uMEPs. Es zeigte sich ein deutlicher dosisabhängiger Trend zu einer gesteigerten SICI. Daten für das gesamte Studienkollektiv.

3.2.2.2 Intrakortikale Fazilitation (ICF)

Nach einer Einzeldosis von 50 mg und 100 mg AMA wurde die ICF bei einem ISI von 15 ms dosisabhängig signifikant im Vergleich zu Placebo vermindert. Bei einem ISI von 10 ms zeigte sich ein deutlicher nicht signifikanter Trend zu einer reduzierten ICF (vgl. Tabelle 7 und Abbildung 10). Absolute Veränderungen (Differenz zwischen MED- und Baseline-Werten) [in Prozent des konditionierten MEPs] waren für ISI 15 Placebo 7,77%, für 50 mg AMA -12,75% und für 100 mg AMA -39,83%. Für ISI 10 ergab sich eine absolute Differenz von -0,38% für Placebo, -11,94% für 50 mg AMA und -17,2% für 100 mg AMA.

Tabelle 7: Amplituden (peak-to-peak) der cMEPs bei Interstimulusintervallen (ISIs) von 10 und 15 ms vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation.

	Placebo		50 mg AMA		100 mg AMA		p ANOVA	p Wilcoxon
	(mean ± SEM)		(mean ± SEM)		(mean ± SEM)			
	BSL	MED	BSL	MED	BSL	MED		
ISI 10	119,56 ± 12,2	119,18 ± 13,5	119,51 ± 14,8	111,57 ± 10,8	116,30 ± 17,0	99,10 ± 13,2	0,243	
ISI 15	124,75 ± 16,2	132,52 ± 13,1	122,81 ± 21,5	110,06 ± 12,8	125,10 ± 17,0	85,27 ± 10,8	0,026	0,001 (0,030)

Errechnete p-Werte in der ANOVA (BSL-Werte versus MED-Werte) und im Wilcoxon-sign-rank-Test (p-Wert ohne Klammern = 100 mg AMA, Baseline-Werte versus MED-Werte; p-Wert in Klammern = Placebo (MED-Werte – Baseline-Werte) versus 100 mg AMA (MED-Werte – Baseline-Werte)). Amplituden als Mittelwerte (mean) ± Standardfehler (SEM) in % des uMEPs.

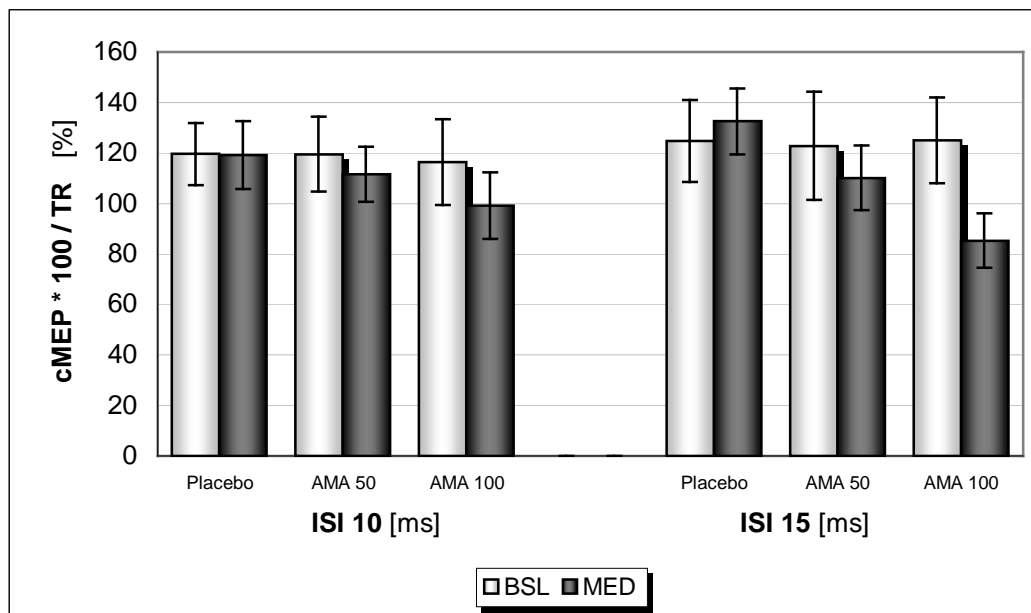


Abb. 10: Intrakortikale Fazilitation (ICF) bei Interstimulusintervallen (ISIs) von 10 und 15 ms vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation.

Amplituden der cMEPs als Mittelwerte (mean) ± Standardfehler (SEM) in % des uMEPs. Nach einer Einzeldosis von 50 mg und 100 mg AMA wurde die ICF bei einem ISI von 15 ms dosisabhängig signifikant im Vergleich zu Placebo vermindert, während sich bei einem ISI von 10 ms ein deutlicher nicht signifikanter Trend zu einer verminderten ICF zeigte. Daten für das gesamte Studienkollektiv.

3.2.2.3 Späte Intrakortikale Inhibition (L-ICI)

Zweieinhalb Stunden nach Ingestion von 50 mg und 100 mg AMA wurde die L-ICI dosisabhängig signifikant im Vergleich zu Placebo erhöht. Dies zeigte sich durch eine signifikante Abnahme der (peak-to-peak) Amplitude der konditionierten Muskel-Antwort (CR) beim Vergleich der 50 mg und 100 mg AMA-Dosierungen mit dem Placebo. Absolute Veränderungen (Differenz zwischen MED- und Baseline-Werten) [in Prozent des konditionierten MEPs] waren für Placebo 4,97%, für 50 mg AMA -5,92% und für 100 mg AMA -15,69% (vgl. Tabelle 8 und Abbildung 11).

Tabelle 8: Amplituden (peak-to-peak) der cMEPs bei Interstimulusintervallen (ISIs) von 150 ms vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation.

	Placebo		50 mg AMA		100 mg AMA		p	p
	(mean ± SEM)		(mean ± SEM)		(mean ± SEM)		ANOVA	Wilcoxon
	BSL	MED	BSL	MED	BSL	MED		
ISI 150	82,23 ± 8,3	87,20 ± 7,9	83,35 ± 8,2	77,43 ± 8,0	83,71 ± 10,8	68,02 ± 7,4	0,019	0.041 (0,013)

Errechnete p-Werte in der ANOVA (BSL-Werte versus MED-Werte) und im Wilcoxon-sign-rank-Test (p-Wert ohne Klammern = 100 mg AMA, Baseline-Werte versus MED-Werte; p-Wert in Klammern = Placebo (MED-Werte – Baseline-Werte) versus 100 mg AMA (MED-Werte – Baseline-Werte)). Amplituden als Mittelwerte (mean) ± Standardfehler (SEM) in % des uMEPs.

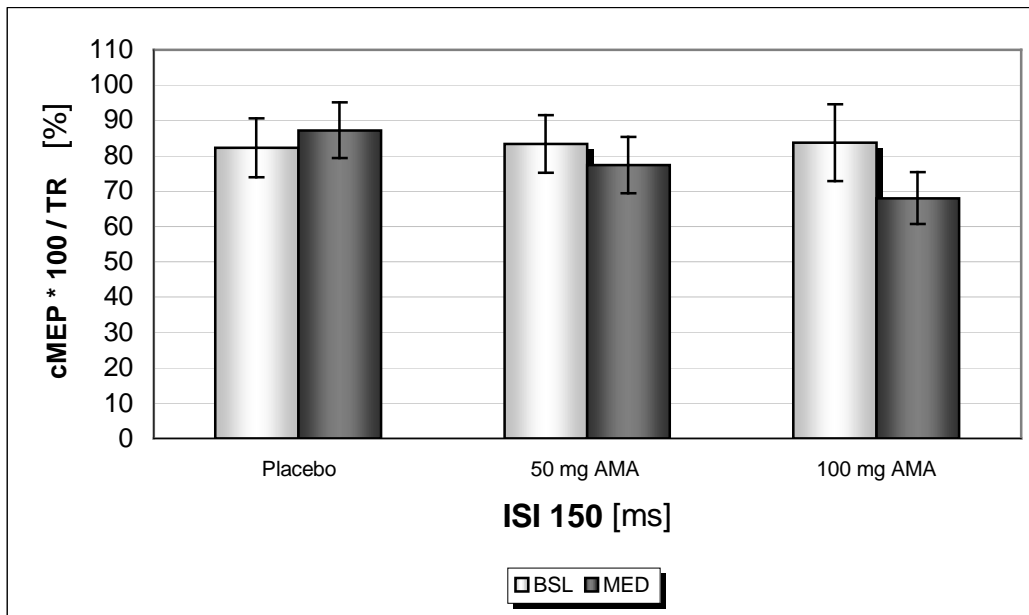
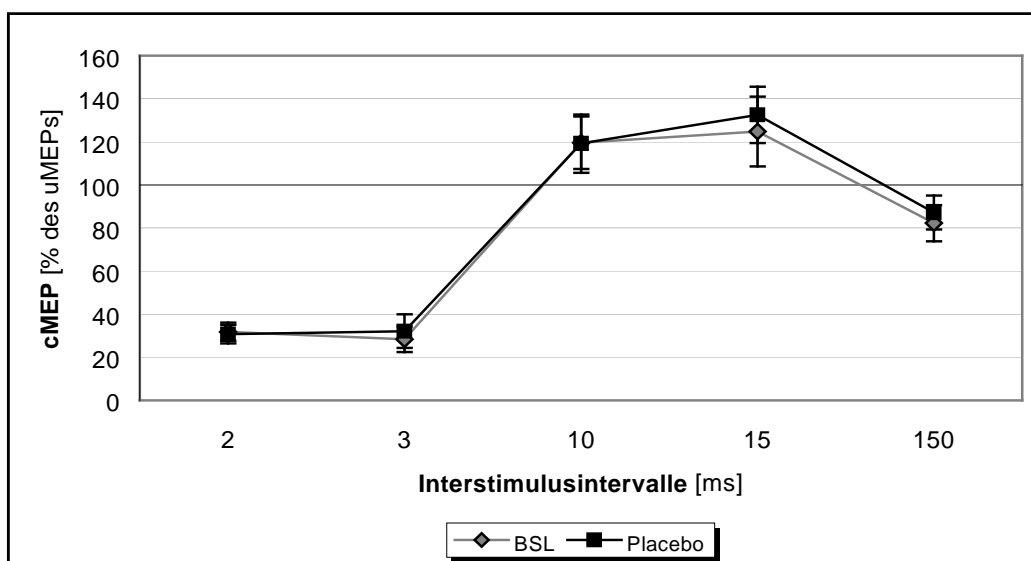


Abb. 11: Späte Intrakortikale Inhibition (L-ICI) bei einem Interstimulusintervall (ISI) von 150 ms vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation. Amplituden der cMEPs als Mittelwerte (mean) \pm Standardfehler (SEM) in % des uMEPs. Zweieinhalb Stunden nach Ingestion von 50 mg und 100 mg AMA wurde die L-ICI dosisabhängig und signifikant im Vergleich zu Placebo verändert. Daten für das gesamte Studienkollektiv.

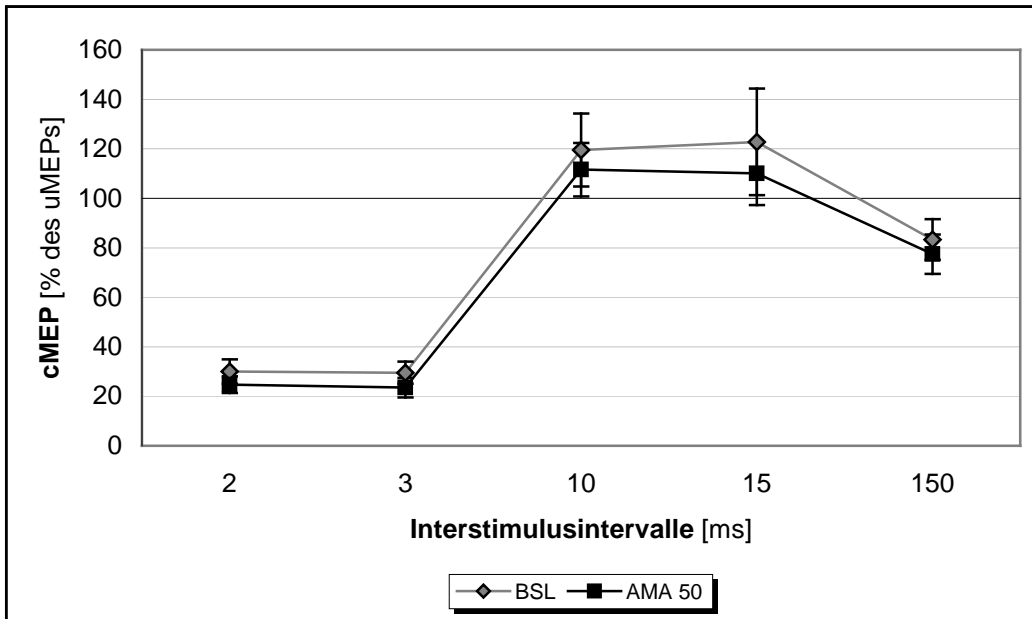
3.2.2.4 Vergleich der Studienmedikation bei verschiedenen ISIs

In Abbildung 12 sind alle Interstimulusintervalle (2, 3, 10, 15 und 150 ms) im Vergleich: Placebo (A), 50 mg AMA (B) und 100 mg AMA (C) dargestellt.

A



B



C

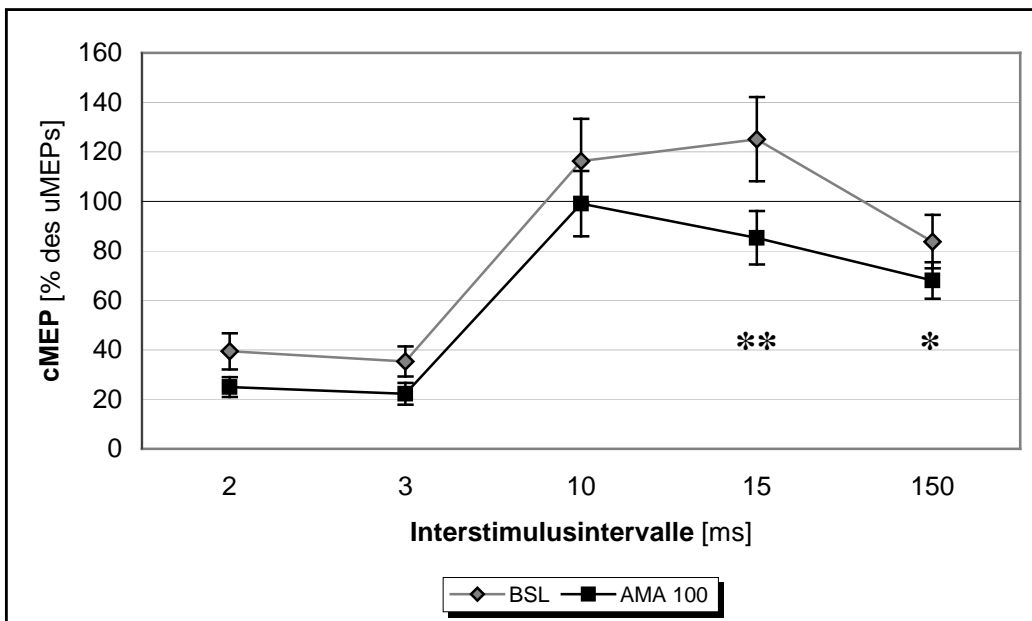


Abb. 12 A-C: Vergleichende Darstellung der bei verschiedenen Interstimulusintervallen (ISIs) von 2, 3, 10, 15 und 150 ms gewonnenen Amplituden vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation.

(A) Placebo, (B) 50 mg Amantadin (AMA 50), (C) 100 mg Amantadin (AMA 100). Amplituden der cMEPs als Mittelwerte (mean) \pm Standardfehler (SEM) in % des uMEPs. ISI 15 und 150 wurden nach Einnahme von 100 mg AMA signifikant und dosisabhängig verändert. (ANOVA, Wilcoxon-sign-rank-Test mit Bereinigung nach Bonferroni-Holm, Signifikanzlevel: * = $p < 0,05$, ** = $p < 0,005$). Daten für das gesamte Studienkollektiv.

3.2.2.5 Korrelation von ICF (ISI 15) und L-ICI (ISI 150)

Es zeigte sich eine signifikante positive Korrelation zwischen den beobachteten Veränderungen der TMS-induzierten MEP-Antworten bei den Interstimulusintervallen ISI 15 und ISI 150 ($R = 0.579$, $p < 0.0001$, vgl. Abbildung. 13).

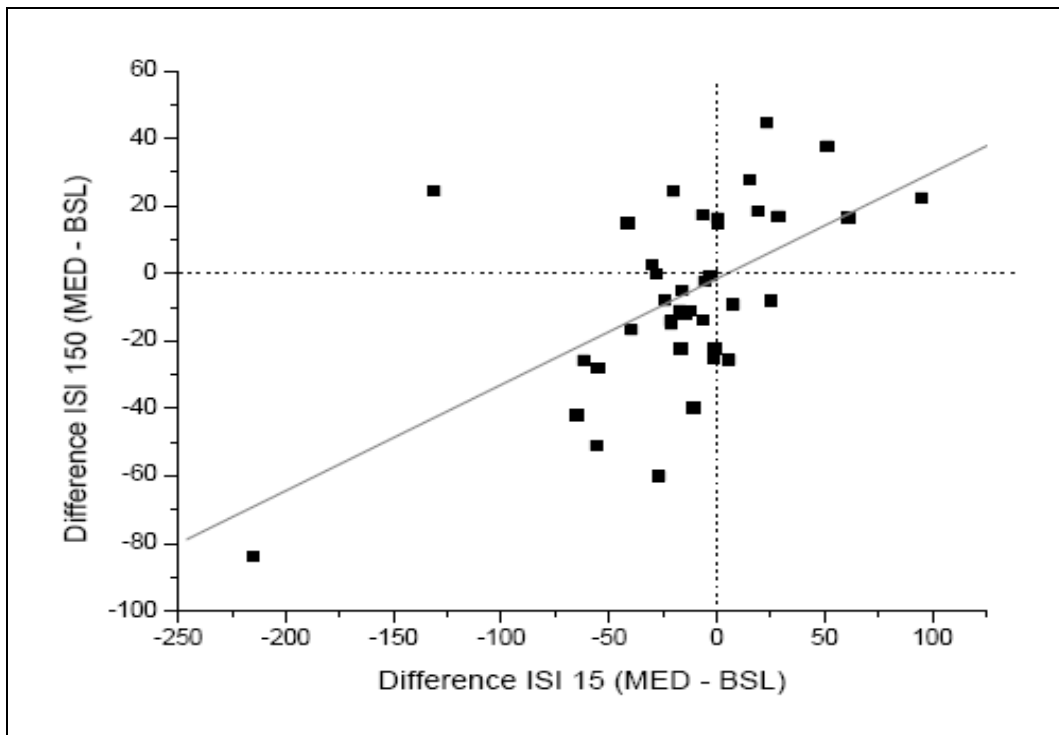


Abb. 13: Korrelation der Veränderungen der TMS-induzierten MEP-Antworten bei den Interstimulusintervallen ISI 15 und ISI 150.

Zweiseitige Kendall-Tau-b Korrelation: $R = 0.579$, $p < 0.0001$. Die Werte für ISI 150 und ISI 15 sind als Veränderung der konditionierten MEP-Antwort nach Gabe von 100 mg AMA dargestellt [prozentuale Antwort (MED) - prozentuale Antwort (BSL)]. Signifikanzlevel: $p < 0,05$. Daten für das gesamte Studienkollektiv (Reis et al. 2006).

3.2.3 Placebo-Effekt

In dieser Studie konnte kein Placebo-Effekt nachgewiesen werden, denn bezüglich der Placebo-Medikation wurden nur geringe Unterschiede der gemessenen Parameter beim Vergleich der MED-Werte mit den BSL-Werten festgestellt.

3.3 Amantadin-Serumspiegel

Die Bestimmung der Serumspiegel erfolgte aus den Serumproben, die zweieinhalb Stunden nach Einnahme der Testmedikation gewonnen wurden. Nach Einnahme von 50 mg bzw. 100 mg AMA zeigte sich eine dosisabhängige, fast lineare Steigerung der AMA-Serumspiegel. Bei einer Dosierung von 50 mg AMA wurden durchschnittliche Serumspiegel von $125,4 \pm 35,1 \mu\text{g/l}$ (87 bis $198 \mu\text{g/l}$) und bei 100 mg AMA von $241,3 \pm 69,4 \mu\text{g/l}$ (130 bis $383 \mu\text{g/l}$) gemessen. Wenn man einen therapeutischen Bereich von 200 bis $600 \mu\text{g/l}$ zugrunde legt, waren die Serumspiegel nach Gabe von 50 mg AMA unterhalb dieses Bereichs. Nach Einnahme von 100 mg hingegen wurden in den meisten Fällen (neun von 14 Probanden) therapeutische Serumspiegel erreicht. Nach Gabe von Placebo waren alle Serumspiegel unter der Nachweisgrenze für AMA ($< 10 \mu\text{g/l}$).

3.4 Korrelation von Amantadin-Serumspiegel und kortikaler Exzitabilität

Alle 42 Serumproben wurden in die Analyse einbezogen. Es konnte eine signifikante negative Korrelation zwischen den AMA-Serumspiegeln und den beobachteten Veränderungen der Parameter kortikaler Exzitabilität sowohl für die ICF (ausgedrückt durch ISI 15) als auch die L-ICI (ausgedrückt durch ISI 150) gefunden werden (vgl. Abbildung 14). Die zweiseitige Kendall-Tau-b Korrelation war für die ICF (ISI 15 ms) $R = -0,289$, $p = 0,009$ und für die L-ICI (ISI 150 ms) $R = -0,228$, $p = 0,041$.

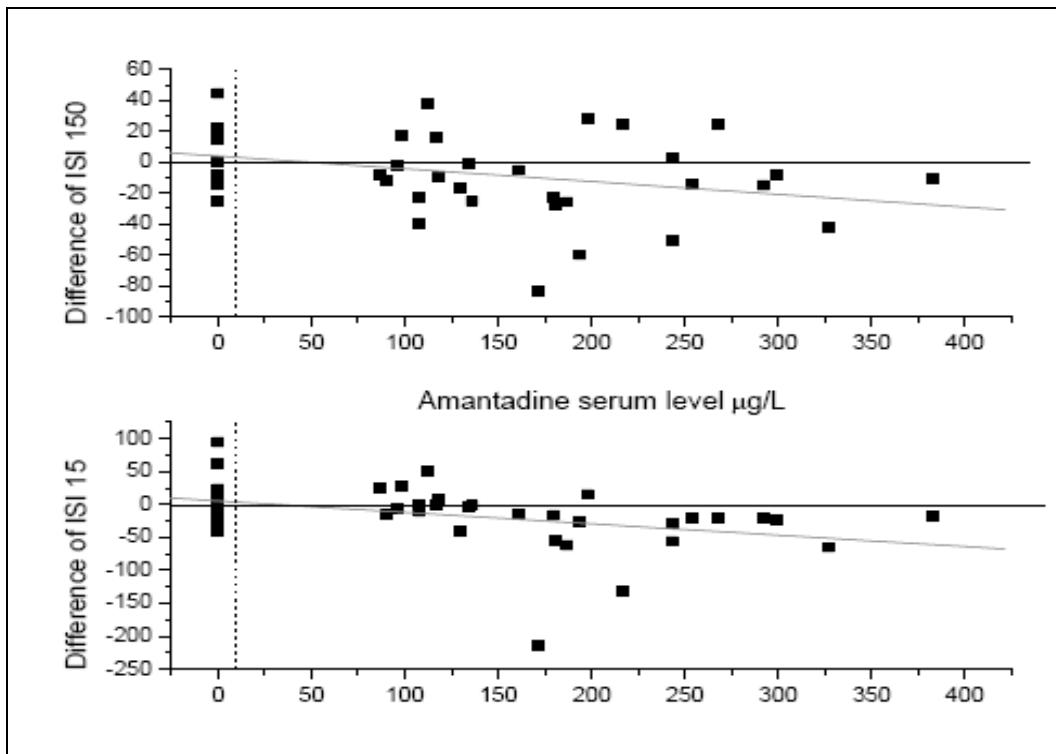


Abb. 14: Korrelation von AMA-Serumspiegel und Veränderung der durchschnittlichen Antwort auf die Doppelstimulation bei einem ISI von 150 ms (oberer Graph) und einem ISI von 15 ms (unterer Graph). Zweiseitige Kendall-Tau-b Korrelation: $R = -0,228$, $p = 0,041$ für ISI 150 und $R = -0,289$, $p = 0,009$ für ISI 15. Serumspiegel in $\mu\text{g/l}$. Die Werte für ISI 150 und ISI 15 sind als Veränderung der konditionierten MEP-Antwort nach Gabe von 100 mg AMA dargestellt [prozentuale Antwort (MED) - prozentuale Antwort (BSL)]. Signifikanzlevel: $p < 0,05$. Daten für das gesamte Studienkollektiv (Reis et al. 2006).

3.5 Nebenwirkungen und Grooved Pegboard Test

AMA wurde allgemein gut vertragen. Vier Versuchsteilnehmer (28,6%) berichteten nach Einnahme von 50 mg AMA über leichte bis mittelstarke v.a. ZNS-assoziierte NW (Kopfschmerzen, Nervosität, Unruhe, Konzentrationsstörungen, Sehstörungen, Durchfall und Mundtrockenheit), welche ca. 30 Minuten nach Medikamenteneinnahme begannen und bis zu vier Stunden anhielten. Nach Einnahme der höchsten Dosis (100 mg) AMA gab interessanterweise keiner der Probanden NW an. Die durchschnittlichen NW-Scores betragen für Placebo 0, für 50 mg AMA $0,01 \pm 0,006$ und für 100 mg AMA 0. Die Intensität und Auftretenshäufigkeit der beobachteten NW zeigte keine Dosisabhängigkeit und hinderte keinen der Versuchsteilnehmer daran, die Studie bis zum Abschluss weiter zu führen. Alle berichteten NW stimmten mit denen in der Packungsbeilage angegebenen und in Tabelle 9 aufgeführten NW überein.

3 ERGEBNISSE

Tabelle 9: Zusammenstellung der NW, die zweieinhalb Stunden nach Einnahme von Placebo, 50 mg bzw. 100 mg Amantadin (AMA) berichtet wurden.

Nebenwirkung	Placebo	50 mg AMA	100 mg AMA
Allergische Reaktion	0	0	0
Kopfschmerzen	0	2/1	0
Schwindel	0	0	0
Herzrhythmusstörungen	0	0	0
Herzrasen	0	0	0
Durchfall	0	11/2	0
Appetitlosigkeit	0	0	0
Nausea	0	0	0
Mundtrockenheit	0	1/1	0
Erbrechen	0	0	0
Sehstörungen	0	6/1	0
Nervosität	0	1/1	0
Gedächtnisstörungen	0	0	0
Konzentrationsstörungen	0	6/2	0
Stimmungsveränderungen	0	0	0
Unruhe (mot./psych.)	0	11/2	0
Epileptischer Anfall	0	0	0
Halluzinationen	0	0	0

Für jede NW sind zwei Ziffern angegeben, die erste steht für die Probandennummer, die zweite für die NW-Intensität.

Die Ergebnisse des Grooved Pegboard Tests (vgl. Tabelle 10), mit dem man die motorische Geschicklichkeit und visuell-motorische Koordination für die dominante und nicht-dominante Hand prüfen kann, zeigten keine signifikanten Differenzen der MED-Werte (nach allen drei Medikamentengaben) im Vergleich zu den jeweiligen BSL-Werten [dominante Hand: Placebo -1s, 50 mg AMA +2s, 100 mg AMA -4s, nicht-dominante Hand: Placebo -4s, 50 mg AMA +1s, 100 mg AMA -3s [Differenz zwischen MED- und BSL-Wert (Testzeit)].

Tabelle 10: Ergebnisse des Grooved Pegboard Tests.

Es zeigten sich keine signifikanten Differenzen der MED-Werte im Vergleich zu den jeweiligen BSL-Werten.

	Placebo		50 mg AMA		100 mg AMA	
	BSL	MED	BSL	MED	BSL	MED
Re. Hand [s]	0,66	0,65	0,62	0,64	0,67	0,63
Li. Hand [s]	0,83	0,79	0,76	0,78	0,75	0,72

Rechte (re.) Hand entsprach der dominanten Hand, linke (li.) Hand entsprach der nicht-dominanten Hand. Werte der absoluten Testdauer (Start bis Ende) in Sekunden [s].

4. DISKUSSION

4.1 Methodendiskussion

4.1.1 Messmethode

Bei Durchführung dieser Studie wurden die Messbedingungen jederzeit überprüfbar und weitgehend konstant gehalten und die Möglichkeit von Fehler- oder Störquellen gering gehalten.

4.1.2 Variabilität der TMS-Parameter

Es existieren viele Faktoren, welche die Exzitabilität des kortikospinalen Systems beeinflussen. So kommt es bei wiederholten TMS-Messungen mit identischen Stimulationsintensitäten zu differierenden MEP-Amplituden (van der Kamp et al. 1996; Kiers et al. 1993). Durch Aufzeichnung einer ganzen Serie von MEPs und Bildung des jeweiligen MEP-Mittelwertes (vgl. 2.3.3) wurde die MEP-Amplituden-Variabilität vermindert. Die MEP-Amplituden-Variabilität steigt mit zunehmendem Abstand des Magnetspulen-zentrums vom optimalen Stimulationsort und nimmt zu, je mehr die Magnetspule von der tangentialen Ausrichtung auf der Kalotte abweicht (Brasil-Neto et al. 1992b; Amassian et al. 1989). Deswegen wurde in dieser Studie vor jeder Messung der optimale Stimulationsort bestimmt und ein Wiederauffinden desselben durch eine Markierung mit einem Filzstift auf der Kopfhaut ermöglicht. Die tangentiale Ausrichtung auf der Kalotte blieb durch Befestigung der Magnetspule in einem speziell entwickelten Stativ (Abteilung Medizintechnik, Philipps-Universität Marburg) gewährleistet. Außerdem wurde der Kopf durch ein schalenförmiges Kissen gestützt, um dieselbe Kopfposition über einen längeren Zeitraum zu sichern.

Willkürkontraktionen diverser Skelettmuskeln wie Sprechen oder Kauen können zu einer Fazilitation der MEP-Amplituden führen (Muellbacher et al. 2000; Boroojerdi et al. 2000a; Hess et al. 1987a). Um eine größtmögliche Muskelentspannung zu erreichen, saßen die Probanden in einem bequemen, nach hinten geneigten EEG-Stuhl. Die Aktivität des ADM bei den unter Ruhebedingungen gemessenen Parametern (RMT, MEP-REC, ICI und ICF) wurde mittels visuellem Feedback auf dem EMG-Monitor

während der gesamten Messungen überprüft, um Muskelkontraktionen, welche die Messergebnisse verändern, aufzudecken. Wurde bei diesen Parametern eine Hintergrundaktivität des ADM festgestellt, erfolgte bei der Datenauswertung ein Ausschluss von der Datenanalyse. Es konnte gezeigt werden, dass schon eine Bewegungsimagination eine Fazilitation von MEP-Amplituden bedingen kann (Kasai et al. 1997). Folglich wurde den Probanden aufgetragen, sich während der ganzen Untersuchung zu entspannen und möglichst an nichts Motorisches zu denken. Auch wurden die Probanden während der Untersuchung von visuellen Reizen abgeschirmt; denn sensorische Stimuli sind in der Lage, die kortikospinale Erregbarkeit zu modulieren (Siebner et al. 1998b; Clouston et al. 1995; Inghilleri et al. 1995). Um ein Auftreten von Müdigkeit zu vermeiden, welche die Messwerte abhängig vom Schlafstadium im Sinne einer Erregung bzw. einer Inhibition verändern kann (Brasil-Neto et al. 1992b; Hess et al. 1987b), sollten die Versuchsteilnehmer während der gesamten Messung die Augen geöffnet lassen, und es wurde dafür gesorgt, dass sich die Probanden zwischen den einzelnen unter 2.3.3 aufgeführten Messungen für einige Minuten ausruhen konnten.

Bei diversen TMS-Parametern kortikaler Exzitabilität bestehen z.T. eine inter- und intraindividuelle Variabilität. So besteht bei den Motorschwellen eine gewisse interindividuelle Variabilität (Variationskoeffizient RMT 15%, AMT 18%) (eigene Daten), während die intraindividuelle Variabilität gering ausgeprägt ist und damit eine verlässliche Reproduzierbarkeit gegeben ist (eigene Daten). Auch die Länge der CSP zeigt eine relativ hohe interindividuelle Variabilität (Werhahn et al. 1995; Kukowski und Haug 1992; eigene Daten). Bei den mittels Doppelimpuls-TMS untersuchten ICI und ICF besteht sowohl eine hohe interindividuelle Variabilität als auch eine hohe intraindividuelle Variabilität (Borojerdi et al. 2000b). Um die interindividuelle Variabilität zu berücksichtigen, bekam jeder Proband Placebo, 50 mg AMA und 100 mg AMA und es wurde eine ganze Serie von Einzel- und Doppelimpulsen gemessen, von denen dann in der Analyse Durchschnittswerte gebildet wurden; denn durch eine Steigerung der Zahl gemessener MEPs kann die Ergebnisvariabilität reduziert werden (Borojerdi et al. 2000b). Um die intraindividuelle Variabilität zu erfassen, wurden bei jedem Probanden an jedem Messtag zwei Messungen durchgeführt; die erste, um die aktuellen Baseline-Werte zu bestimmen, und zweieinhalb Stunden nach Ingestion der

Studienmedikation die zweite Messung, um die Medikamenten-induzierte Änderung verschiedener Parameter motokortikaler Exzitabilität zu erfassen.

Um inter- und intraindividuelle Faktoren zu beachten und eine artifizielle, durch eine zu geringe Fallzahl bedingte Verfälschung der Parameter kortikaler Exzitabilität zu verhindern, erfolgte eine Rekrutierung eines relativ großen Kollektivs im Vergleich zu vorhergehenden TMS-Studien mit wesentlich kleineren Probandenzahlen (Sohn et al. 2001; Borojerdj et al. 2000b; Werhahn et al. 1999; Ziemann et al. 1996b).

Es existiert ferner eine untersucherabhängige Variabilität der ICI (Borojerdj et al. 2000b). Diese wurde durch ausschließliche Messungen durch einen einzigen Untersucher ausgeschlossen.

4.1.3 Serumspiegelbestimmung

Die Serumspiegelbestimmung von AMA wurde wegen einiger wichtiger Umstände durchgeführt. Der Plasmaspiegel von AMA weist deutliche interindividuelle Unterschiede auf (Aoki und Sitar 1988; Brenner et al. 1988; Pacifici et al. 1976; Parkes et al. 1971). Um diese interindividuelle Komponente zu berücksichtigen, musste sichergestellt werden, dass AMA - wenn schon nicht intrazerebral bestimmbar - zumindest bzgl. des Serumspiegels überprüft wurde, um mögliche messbare Effekte auf die Exzitabilität des menschlichen Motorkortex nach Einnahme des Wirkstoffs auch diesem zuschreiben zu können. Aoki und Sitar konnten keine Korrelation zwischen Verbesserung von Parkinsonsymptomen und Plasmakonzentrationen sowie zwischen NW und Plasmakonzentrationen feststellen (Aoki und Sitar 1988). Die Serumspiegelbestimmung wurde zusätzlich zur Beantwortung der Frage herangezogen, ob der gemessene Serumspiegel mit der Veränderung der Exzitabilität des menschlichen Motorkortex bei Gesunden korreliert.

4.1.4 Testmedikation

Da jeder Probe die gleiche Menge an Calcium-Brausetabletten (10 mg Calcium Sandoz[®] Brause) zugesetzt wurde, konnte dieser Zusatz als nicht relevant für eine Veränderung der Erregbarkeit des menschlichen Motorkortex angenommen werden, da durch den

Calciumzusatz bedingte evtl. auftretende Effekte bei allen Messungen aufgetreten wären und sich folglich im Vergleich der drei Testmedikationen aufgehoben hätten.

In dieser Probandenstudie wurden aus verschiedenen Gründen niedrige therapeutische Dosen von AMA eingesetzt. Einerseits erhöht diese Vorgehensweise die Wahrscheinlichkeit, medikamentenspezifische Wirkmechanismen zu beobachten und unspezifische Effekte auf Transmittersysteme des menschlichen Motorkortex, welche durch hohe Dosen ausgelöst werden könnten, zu verringern. Andererseits ist die Wahrscheinlichkeit medikamenteninduzierter NW bei niedrigen Dosen geringer.

4.1.5 Statistische Methode

Vor Beginn der Studie wurde nach Rücksprache mit dem Institut für Biometrie und Epidemiologie der Philipps-Universität Marburg (Herrn PD Dr. H.H. Müller) die Probandenzahl auf 14 festgelegt; die Rekrutierung dieses relativ großen Kollektivs im Vergleich zu vorhergehenden TMS-Studien mit wesentlich kleineren Probandenzahlen (Sohn et al. 2001; Boroojerdi et al. 2000b; Werhahn et al. 1999; Ziemann et al. 1996b) war nötig, um inter- und intraindividuelle Faktoren zu beachten und eine artifizielle, durch eine zu geringe Fallzahl bedingte Verfälschung der Parameter kortikaler Exzitabilität zu verhindern.

Zur Suche unspezifischer Signifikanzen wurde in der statistischen Auswertung wegen der großen Anzahl von Messparametern eine ANOVA eingesetzt ($p < 0,05$). Wegen der vorbeschriebenen diversen Wirkmechanismen von AMA war somit eine explanatorische Untersuchung sämtlicher TMS-Parameter gewährleistet.

Um der ausgeprägten interindividuellen Variabilität verschiedener TMS-Parameter, wie z.B. der MT (Boroojerdi et al. 2000b), der CSP (Priori et al. 1999; Fritz et al. 1997; Kukowski und Haug 1992; Werhahn et al. 1995) oder der ICI und ICF (Boroojerdi et al. 2000b) Rechnung zu tragen, erfolgte beim Auffinden von signifikanten Differenzen zwischen den Gruppen (Placebo, 50 mg AMA, 100 mg AMA) eine post-hoc-Analyse mit dem nonparametrischen Wilcoxon-sign-rank-Test. Dabei wurde das Signifikanzmaß für multiple Vergleiche nach der Methode von Bonferroni-Holm korrigiert. Diese Methode ist prädestiniert für das Auffinden

hochsignifikanter Veränderungen und reduziert das Risiko, artifizielle Signifikanzen aufgrund multipler Testungen aufzufinden.

Trotz Verwendung nichtparametrischer Tests in dieser Studie erfolgt die deskriptive Datendarstellung in Form von Mittelwerten mit Standardfehlern und nicht als Median, um eine Vergleichbarkeit der beobachteten Ergebnisse mit vorhergehenden Ergebnissen anderer TMS-Studien zu gewährleisten.

Wie schon in wenigen vorhergehenden Arbeiten (Reis 2003, Reis et al. 2004) praktiziert, wurde auch in dieser Studie eine Placebokontrolle durchgeführt, um evtl. auftretende Placeboeffekte durch die Studienmedikation zu detektieren. Dabei konnte auch in dieser Studie kein Placebo-Effekt beobachtet werden (vgl. 3.2.3). Eine Placebokontrolle bei TMS-Studien zum Auffinden medikamenteninduzierter Wirkmechanismen erscheint dennoch sinnvoll, um das Auffinden medikamentenspezifischer Wirkmechanismen zu gewährleisten.

4.2 Diskussion der TMS-Parameter

Die vorliegende Studie ist die erste, welche den Effekt von AMA auf die Exzitabilität des gesunden menschlichen Motorkortex untersucht hat.

Als Hauptergebnis bleibt festzuhalten, dass eine Einzeldosis von Amantadin bei gesunden Probanden zu einer Veränderung der Exzitabilität des Motorkortex durch eine signifikante Reduktion der ICF und eine signifikante Zunahme der L-ICI führt. Außerdem zeigte sich ein nicht-signifikanter Trend zu einer gesteigerten SICI. Andere Parameter kortikaler Exzitabilität (MTs, MEP-REC, CSP) blieben hingegen unverändert. Es zeigte sich eine Dissoziation von L-ICI und CSP. Dies legt die Vermutung nahe, dass beide Parameter unterschiedliche intrakortikale Prozesse widerspiegeln. So reflektiert die L-ICI möglicherweise das Ausmaß der Inhibition und die CSP die Dauer derselben. Zusammenfassend geben die o.g. Ergebnisse deutliche Hinweise für eine NMDA-vermittelte Exzitabilitätsveränderung, welche auch in polysynaptischen Veränderungen der GABAergen Transmission resultieren könnte.

4.2.1 Einzelimpuls-TMS

4.2.1.1 Paradigma 1 und 2: Effekte von AMA auf die Membranerregbarkeit (Motorische Schwellen und MEP-Rekrutierungskurven)

Die MTs wurden durch AMA nicht verändert, während die MEP-Rekrutierungskurven nach AMA-Ingestion eine leichte Zunahme (bei 130% RMT und 140% RMT) zeigten, welche jedoch keine statistische Signifikanz erreichte.

Homogene Daten über den Einfluss membranstabilisierender Medikamente auf die Motorischen Schwellen (MT) zeigen, dass die MT membranabhängige Mechanismen pyramidalen neuronaler Exzitabilität reflektiert, welche unter der Kontrolle von spannungsabhängigen Ionenkanälen stehen. Diese Ansicht wird durch diverse TMS-Studien mit Antiepileptika unterstützt, welche hauptsächlich Natrium- und Calcium-Kanäle blockieren und nur eine begrenzte bis fehlende Neurotransmitter-Interaktion aufweisen (Reis et al. 2004; Chen et al. 1997b; Ziemann et al. 1996b).

Carbamazepin, Lamotrigin und Levetiracetam steigern die MTs (RMT und AMT) und führen zu einer Suppression der MEP-Rekrutierungskurven (Reis et al. 2004; Sohn et al. 2002; Sohn et al. 2001; Ziemann et al. 1996b). Wenn man die beeinflussten Ionenkanäle (Natrium- und Calciumkanäle) betrachtet, sind diese Effekte vergleichbar (Reis et al. 2004; Ziemann et al. 1996b).

Es ist bekannt, dass die Inhibition von spannungsabhängigen Kalium-Kanälen zu einer Veränderung von Membranpotentialen und damit zur Erzeugung von Aktionspotentialen führen kann (Madeja et al. 2003). Es gibt Hinweise, dass AMA ein direkter Kalium-Kanal-Blocker an der Zellmembran ist (Northover 1994), was einen repolarisationshemmenden Effekt und einen daraus resultierenden Anstieg der Membranerregbarkeit bedingen könnte. Dies entspräche einer Reduktion der MT.

Das Faktum, dass in dieser Studie nach Gabe einer Einzeldosis von 50 mg und 100 mg AMA weder die MTs noch die MEP-Amplituden oder die MEP Rekrutierungskurven verändert wurden, deutet darauf hin, dass AMA weder die neuronale Membranerregbarkeit, die neuromuskuläre Übertragung noch die Zahl mittels TMS aktivierter kortikospinaler Neurone verändert.

Es ist bekannt, dass Schläfrigkeit bzw. Aufmerksamkeitsdefizite und motorische Verlangsamung zu einem Anstieg der MTs, verbunden mit einer Abnahme der kortikalen Exzitabilität führen können (Hess et al. 1987b) und umgekehrt (Hadj et al. 2004), was zu einer artifiziellen Maskierung einer evtl. durch AMA induzierten MT-Reduktion führen könnte. In dieser Studie wurde jedoch keine NW wie beispielsweise Schläfrigkeit der Probanden beobachtet, und die motorische Leistungsfähigkeit, die durch den Grooved Pegboard Test gemessen wurde, veränderte sich nach Medikamenteneinnahme nicht. Weil einerseits keine sedierenden Wirkungen noch Veränderungen der MTs – gemessen durch TMS – beobachtet wurden, kann gefolgert werden, dass AMA nicht zu einer generellen Abnahme der Exzitabilität des menschlichen Motorkortex führt, sondern dass dessen Wirkungsweise spezifischer ist.

4.2.2. Doppelimpuls-TMS

4.2.2.1 Paradigma 4: Effekte von AMA auf die Kurze Intrakortikale Inhibition (SICI) und Fazilitation (ICF)

Eine Einzeldosis AMA führte zu einer signifikanten Reduktion der ICF und einer tendenziellen Steigerung der SICI.

Intrakortikale Fazilitation (ICF) und Kurze Intrakortikale Inhibition (SICI) reflektieren den Aktivierungsgrad von erregenden und hemmenden kortikalen interneuronalen Schaltkreisen, welche den Motorkortex beeinflussen und unterschiedliche Antworten auf pharmakologische Beeinflussungen zeigen, was die Annahme unterstützt, dass diese Parameter unabhängig voneinander sind (Ziemann et al. 1996d; Kujirai et al. 1993).

Während die ICF zum Teil durch GABA über postsynaptische GABA_A-Rezeptoren reguliert wird - darauf weisen diverse Studien mit Tiagabin, Gabapentin und Lorazepam hin (Werhahn et al. 1999; Ziemann et al. 1996b; Ziemann et al. 1996c; Kujirai et al. 1993) - stellt die ICF wahrscheinlich das komplexere Phänomen dar, das durch mehr als einen Neurotransmitter (Glutamat, Dopamin, GABA) beeinflussbar ist (Nakamura et al. 1997; Ziemann et al. 1996b). Diverse N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)-Rezeptor-Antagonisten wie Dextromethorphan (Ziemann et al. 1998), Memantin (Schwenkreis et al. 1999) und weniger spezifisch der Glutamat-Antagonist Riluzol (Schwenkreis et al.

2000; Liepert et al. 1997) führen hauptsächlich zu einer Reduktion der ICF. Eine Verminderung der ICF wird – in geringerem Ausmaß – auch durch GABAerge Medikamente wie Baclofen, Gabapentin, Lorazepam und Vigabatrin (Ziemann et al. 1996b; Ziemann et al. 1996c) sowie durch dopaminerge Medikamente (Ziemann et al. 1997) erreicht.

AMA hemmt in klinisch gebräuchlichen Konzentrationen ($< 100 \mu\text{mol}$) NMDA-vermittelte Antworten. Der Wirkungsmechanismus von AMA an der glutamatergen Synapse unterscheidet sich insofern von dem anderer NMDA-Rezeptor-Antagonisten – den offenen Kanal-Blockern – als AMA den geschlossenen Status des Kanals aufrecht hält (Blanpied et al. 2005). Wenn man jedoch die Effekte auf die Exzitabilität des Motorkortex betrachtet, scheint zwischen AMA und anderen NMDA-Rezeptor-Antagonisten (Schwenkreis et al. 2000; Schwenkreis et al. 1999; Ziemann et al. 1998; Liepert et al. 1997) bezüglich des Einflusses auf die ICF und die SICI kein Unterschied zu bestehen. Die NMDA-Rezeptor-Antagonisten Dextromethorphan, Memantin und Riluzol führen hauptsächlich zu einer Reduktion der ICF und zeigen einen Trend zu einer Erhöhung der SICI (Schwenkreis et al. 2000; Schwenkreis et al. 1999; Liepert et al. 1997; Ziemann et al. 1998). In der vorliegenden Studie verminderte AMA ebenfalls signifikant die ICF und erhöhte die SICI.

In früheren Studien zeigte sich eine negative Korrelation des Effektes der ICF-Veränderung durch Riluzol und Memantin und den gemessenen Serumspiegeln (Schwenkreis et al. 2000; Schwenkreis et al. 1999). In Übereinstimmung mit diesen Resultaten zeigte sich in dieser Studie eine signifikante negative Korrelation zwischen der ICF-Veränderung und den AMA-Serumspiegeln, was den angenommenen dosisabhängigen antiglutamatergen Effekt von AMA unterstützt.

Neben den TMS-Studien gibt es durch Verhaltensstudien zum motorischen Lernen gesunder Probanden weitere Hinweise für einen AMA-vermittelten NMDA-Rezeptor-Antagonismus. Hadj Tahar et al. (2004) untersuchten den Effekt von 200mg AMA auf das motorische Lernen und fanden eine Verschlechterung der motorischen Leistungsfähigkeit in der mit AMA behandelten Gruppe im Vergleich zur Placebogruppe (Hadj et al. 2004). Vergleichbare Ergebnisse konnten für die Wirkung des NMDA-Rezeptor-Antagonisten Memantin auf motorische Lernprozesse, speziell nach

kontinuierlicher Medikamentenapplikation (über acht Tage) gezeigt werden (Schwenkreis et al. 2005). Es wird angenommen, dass sich die gebrauchtsabhängige Plastizität während des motorischen Lernens analog zur synaptischen Langzeitpotenzierung verhält. Dabei spielt der NMDA-Rezeptor eine entscheidende Rolle (Butefisch et al. 2002; Ziemann et al. 1998). Deshalb kann eine Langzeitpotenzierung durch die gleichzeitige Gabe von NMDA-Rezeptor-Antagonisten, wie beispielsweise Dextromethorphan (Ziemann et al. 1998) oder Memantin (Schwenkreis et al. 2005) verhindert werden. Die Ergebnisse von Hadj Tahar et al. unterstützen die Sichtweise, dass AMA hauptsächlich über den NMDA-Rezeptor-Antagonismus, möglicherweise auf der Ebene des Striatums, wirkt (Hadj et al. 2004).

In vitro und in vivo Studien zeigen, dass AMA zu einer gesteigerten striatalen Dopamin-Aktivität führt (Moresco et al. 2002; Deep et al. 1999; Gilman et al. 1990; Shannon et al. 1987). Bei hohen Serumkonzentrationen konnte eine DA-Reuptake-Inhibition und eine Steigerung der DA-Freisetzung beobachtet werden (Kornhuber et al. 1994; Jackisch et al. 1992; Lupp et al. 1992; Stoof et al. 1992; Weller et al. 1993). Dieser Wirkmechanismus scheint dosisabhängig zu sein, allerdings nur in höheren Dosierungen als den in dieser Studie verwendeten jedoch im klinischen Alltag gebrauchten eine Relevanz zu besitzen (Jackisch et al. 1992; Lupp et al. 1992). Da gezeigt werden konnte, dass antidopaminerge Medikamente wie Haloperidol in einem Anstieg der ICF und einer Abnahme der SICI resultieren, dopaminerge Substanzen hingegen zu umgekehrten Effekten führen (Ziemann et al. 1997), besteht zumindest theoretisch die Möglichkeit, dass ein dopaminerges Effekt von AMA die beobachtete Reduktion der ICF bewirkt hat. Da die in dieser Studie verwendeten AMA-Dosierungen deutlich niedriger waren, als die in den erwähnten Studien, erscheint die beobachtete Veränderung der Exzitabilität durch eine gesteigerte dopaminerge Transmission unwahrscheinlich. Dies wird durch die Beobachtung unterstützt, dass AMA die motorische Lernfähigkeit herabsetzte (Hadj et al. 2004), während dopaminerge Medikamente das motorische Lernen verbesserten (Butefisch et al. 2002; Ziemann et al. 2002).

Folglich ist die Schlussfolgerung zulässig, dass der für AMA in vitro und in vivo gezeigte NMDA-Rezeptor-Antagonismus (Blanpied et al. 2005; Kornhuber et al. 1993; Kornhuber et al. 1991) den stärksten Einfluss auf die Exzitabilität des menschlichen

Motorikortex besitzt. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass dieser NMDA-Rezeptor-Antagonismus möglicherweise durch einen bisher für AMA noch nicht beschriebenen additiven GABA_Aergen Wirkmechanismus unterstützt wird, weil - wie erwähnt - sowohl die ICF als auch die SICI durch GABAerge Medikamente ebenfalls moduliert werden können.

4.2.3 Einzel- und Doppelimpuls-TMS

4.2.3.1 Paradigma 3 und 4: Effekte von AMA auf die Späte Intrakortikale

Inhibition (L-ICI) und kortikal induzierte Silent Period (CSP)

In dieser Studie führte eine Einzeldosis von AMA zu einer signifikanten Zunahme der L-ICI, ohne jedoch die CSP zu beeinflussen.

Bei Gesunden zeigte das Ausmaß der L-ICI eine positive Korrelation mit der Dauer der CSP, was auf eine enge Beziehung zwischen diesen beiden Phänomenen hindeutet (Nakamura et al. 1997). GABA ist im humanen Kortex der wichtigste inhibitorische Neurotransmitter. Es wirkt über zwei verschiedene Rezeptoren, den GABA_A- und GABA_B-Rezeptor (Aroniadou und Keller 1993; McCormick 1992). Erstere sind ligandengesteuerte Ionenkanäle, welche kurze (< 30 ms Dauer) kortikale inhibitorische postsynaptische Potentiale (inhibitory postsynaptic potential, IPSP) vermitteln, während letztgenannte G-Protein-gekoppelte Rezeptoren darstellen, welche lange (> 50 ms Dauer) IPSPs auslösen (Aroniadou und Keller 1993; McCormick 1992). Weil die CSP den gleichen Zeitverlauf wie die späte GABA_B-Rezeptor-induzierte Komponente des IPSPs aufweist wird vermutet, dass die späte Phase des CSP die Aktivierung von postsynaptischen GABA_B-Rezeptoren reflektiert (Nakamura et al. 1997; Hallett 1995; Roick et al. 1993), vermutlich durch intrakortikale Interneurone (Tergau et al. 1999). Dies wird durch die Beobachtung unterstützt, dass der selektive GABA_B-Rezeptor-Agonist Baclofen zu einer signifikanten Verlängerung der CSP führt (Siebner et al. 1998a). Andere, weniger spezifische GABAerge Medikamente wie Lorazepam, Gabapentin und Valproat führen ebenfalls zu einer signifikanten Verlängerung der CSP (Ziemann et al. 1996b; Ziemann et al. 1996c).

Wie kürzlich gezeigt werden konnte, hängt die L-ICI bei ISIs von 70 bis 150 ms auf kortikaler Ebene zumindest teilweise von GABA_Bergen Mechanismen ab (Nakamura et al. 1997). Eine aktuelle Publikation zeigt, dass der selektive GABA_B-Rezeptor-Agonist Baclofen zu einer signifikanten Erhöhung der L-ICI führt, was diese Sichtweise unterstützt (McDonnell et al. 2006). McDonnell et al. (2006) konnten nach Applikation von Baclofen dennoch keine positive Korrelation zwischen dem Ausmaß der L-ICI und der Dauer der CSP nachweisen, denn es zeigte sich eine signifikante Steigerung der L-ICI bei unveränderter CSP (McDonnell et al. 2006). Die Ergebnisse legen somit unterschiedliche intrakortikale Prozesse nahe. So spiegelt die L-ICI möglicherweise das Ausmaß der Inhibition und die CSP die Dauer derselben wider.

AMA führte in dieser Studie nicht zu einer Veränderung der CSP. Dies war zu erwarten, weil vorangegangene Studien mit anderen antiglutamatergen Medikamenten wie Riluzol und Memantin übereinstimmend ebenfalls keinen Einfluss auf dieses inhibitorische Phänomen zeigten (Schwenkreis et al. 2000; Schwenkreis et al. 1999; Liepert et al. 1997). AMA führte hingegen zu einer unerwarteten signifikanten dosisabhängigen Steigerung der L-ICI. Weil dieser Parameter in Vorstudien mit anderen NMDA-Rezeptor-Antagonisten nicht untersucht wurde (Schwenkreis et al. 2000; Schwenkreis et al. 1999; Liepert et al. 1997), ist die Vergleichbarkeit dieses Ergebnisses mit vorangegangenen limitiert.

Es gibt verschiedene mögliche Erklärungen für dieses Phänomen:

Betrachtet man den Zeitverlauf beider TMS-Parameter - die CSP dauert etwa 115 ms und die L-ICI wird bei ISIs von 150 ms gemessen - scheint die plausibelste Erklärung für die signifikante Veränderung der L-ICI ein polysynaptischer Pfad zu sein, der möglicherweise zumindest teilweise NMDA-vermittelte späte Exzitatorische Postsynaptische Potentiale beinhaltet, welche zum gleichen Zeitpunkt auftreten und durch AMA gehemmt werden könnten, was in einer gesteigerten Inhibition resultieren könnte (Nakanishi et al. 1990). So legt die beobachtete signifikante positive Korrelation der durch AMA induzierten Veränderungen von ICF und L-ICI auch eine starke Beziehung zwischen beiden Parametern nahe.

Es besteht außerdem die Möglichkeit, dass der polysynaptische Pfad sekundär GABAerge Interneurone beeinflussen könnte. Durch die Studienergebnisse von

McDonnell et al. (2006) kann eine separate, durch AMA induzierte Beeinflussung des Ausmaßes der Inhibition zu einem bestimmten Zeitpunkt, nämlich 150 ms nach dem ersten Stimulus, ohne Beeinflussung der Dauer der Inhibition angenommen werden (McDonnell et al. 2006).

Es konnte gezeigt werden, dass dopaminerge Medikamente bei Patienten mit MP zu einer widersprüchlichen bidirektionalen Veränderung der L-ICI führen können (Lefaucheur 2005; Chen et al. 2001; Pierantozzi et al. 2001; Berardelli et al. 1996; Valzania et al. 1997). Demnach kann nicht mit letzter Sicherheit ausgeschlossen werden, dass AMA, welches in hohen Dosierungen dopaminerge Effekte zu haben scheint, über eine direkte Wirkung über das dopaminerge System zu einer Veränderung der L-ICI geführt hat. Diese scheint jedoch – angesichts der niedrigen gemessenen AMA-Serumspiegel – sehr unwahrscheinlich. Außerdem konnte gezeigt werden, dass dopaminerge Medikamente zu einer signifikanten Steigerung der Dauer der CSP sowohl bei Patienten als auch bei gesunden Probanden führt (Lefaucheur 2005; Ziemann et al. 1996a), was – wie schon erwähnt – hier nicht beobachtet werden konnte.

Zusammenfassend geben die o.g. Ergebnisse deutliche Hinweise für eine NMDA-vermittelte Exzitabilitätsveränderung, welche auch in polysynaptischen Veränderungen der GABAergen Transmission resultieren könnte.

4.2.4 Nebenwirkungen

Alle Nebenwirkungen, die nach Gabe von AMA beobachtet wurden, entsprachen denen, die bei Langzeitgabe beschrieben wurden. Kopfschmerzen sind eine häufig durch TMS verursachte NW (George et al. 1999). In dieser Studie traten Kopfschmerzen nur nach Ingestion der mittleren Dosierung (50 mg) von AMA auf. Folglich ist es schwer nachvollziehbar, ob sich die Medikation oder die TMS dafür verantwortlich zeigte.

Durch den Umstand, dass nur geringe bis mittelstarke NW nach der geringeren Dosierung (50 mg) von AMA, jedoch nicht nach Gabe der maximalen AMA-Dosierung beobachtet wurden, ist es unwahrscheinlich, dass die verschiedenen TMS-Parameter durch die NW verfälscht wurden oder dass eine Entblindung von Untersucher und/oder Probanden stattfand.

4.3 Perspektiven

Zusammenfassend führt eine Einzeldosis von 50 bis 100 mg AMA zu einer relevanten Modulation der Exzitabilität des menschlichen Motorkortex hauptsächlich über eine Reduktion der NMDA-Rezeptor-vermittelten Exzitabilität und einer komplexen polysynaptischen Interaktion, welche möglicherweise eine GABAerge Transmission einschließt. Weitere Studien mit einer längeren Behandlungsdauer und höheren Dosen von AMA sind wünschenswert, um diesen Verdacht weiter zu verifizieren.

Um die in dieser Studie beobachtete Dissoziation der L-ICI und CSP zu erklären und zu untersuchen, ob die L-ICI hilfreich für die Aufdeckung von glutamatergen Pfaden ist, wäre es ratsam, TMS-Studien mit einer vergleichenden Medikation von NMDA-Rezeptor-Antagonisten mit GABA-Agonisten bei gesunden Probanden durchzuführen. Weil die L-ICI durch AMA verändert werden kann, wäre dieser Parameter evtl. interessant für Studien, die sich mit motorischen Lernprozessen und gebrauchtsabhängiger Plastizität beschäftigen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Studie wurde erstmalig der Einfluss des Antiparkinsonmedikamentes Amantadin auf die Exzitabilität des menschlichen Motorkortex mittels Transkranieller Magnetstimulation untersucht.

Amantadinsulfat (AMA) ist ein Wirkstoff, der seit Jahrzehnten bei diversen Krankheiten wie Influenza A, Morbus Parkinson und medikamentös-induzierten Dyskinesien eingesetzt wird. Diverse in vivo und in vitro Studien konnten bisher ein breites Wirkungsspektrum nachweisen. So wird der N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)-Rezeptor-Antagonismus bisher als Hauptwirkmechanismus propagiert. Außerdem wurden eine Kalium-Kanal-Blockade, ein Dopamin-Rezeptor-Agonismus, eine Steigerung der Noradrenalinfreisetzung und eine anticholinerge Wirkung beschrieben.

Mit der Transkraniellen Magnetstimulation (TMS) existiert eine etablierte non-invasive Methode, mit der neben dem Einsatz in der neurophysiologischen Diagnostik zentralnervöser Erkrankungen verschiedene pharmakologische Wirkmechanismen diverser Medikamente in vivo am menschlichen Motorkortex non-invasiv untersucht werden können.

Das Ziel dieser Studie war die Beantwortung der Frage, welcher der beschriebenen Wirkmechanismen von AMA die Hauptrelevanz für die Beeinflussung der kortikalen Exzitabilität des humanen Motorkortex besitzt und ob eine Korrelation zwischen den beobachteten Effekten und den gemessenen AMA-Serumkonzentrationen besteht.

Dazu wurde eine doppelblinde, placebokontrollierte Crossover-Studie durchgeführt. Unter Einsatz von Einzelimpuls- und Doppelimpuls-TMS wurde bei 14 gesunden, rechtshändigen Probanden die akute Wirkung einer Einzeldosis von 50 mg, respektive 100 mg AMA auf verschiedene Parameter kortikaler Exzitabilität, wie Motorische Schwellen (RMT und AMT), MEP-Rekrutierungskurven (MEP-REC), kortikal induzierte Silent Period (CSP), Kurze Intrakortikale Inhibition (SICI), Intrakortikale Fazilitation (ICF) sowie Späte Intrakortikale Inhibition (L-ICI) untersucht.

Zweieinhalb Stunden nach Einnahme von AMA zeigte sich im Vergleich zu Placebo eine signifikante, dosisabhängige Abnahme der ICF sowie eine signifikante Zunahme der L-ICI im Vergleich zum Placebo. Dabei zeigte sich eine signifikante negative Korrelation

der Effekte auf die ICF und der L-ICI mit den AMA-Serumkonzentrationen. Außerdem wurde eine tendenzielle Steigerung der SICI beobachtet. AMA zeigte keine Wirkungen auf Motorschwellen, MEP-Rekrutierungskurven oder CSP.

Es bleibt festzuhalten, dass eine Einzeldosis von AMA bei gesunden Probanden zu einer Veränderung der Exzitabilität des Motorkortex durch eine signifikante Reduktion der ICF und eine signifikante Zunahme der L-ICI führt, wobei diese Veränderungen signifikant korrelieren. Die Reduktion der ICF und Steigerung der L-ICI kann möglicherweise eine glutamaterge Modulation reflektieren oder auf eine polysynaptische Interaktion von glutamatergen und GABAergen neuronalen Schaltkreisen zurückzuführen sein. Obwohl für AMA verschiedene Wirkmechanismen beschrieben sind, scheint der NMDA-Rezeptor-Antagonismus die Hauptrelevanz für die Effekte auf die kortikale Exzitabilität zu besitzen. Die Dissoziation von L-ICI und CSP legt die Vermutung nahe, dass beide Parameter unterschiedliche intrakortikale Prozesse widerspiegeln. So reflektiert die L-ICI möglicherweise das Ausmaß der kortikalen Inhibition und die CSP die Dauer derselben. Zusammenfassend geben die o.g. Ergebnisse deutliche Hinweise für eine NMDA-vermittelte Exzitabilitätsveränderung, welche auch in polysynaptischen Veränderungen der GABAergen Transmission resultieren könnte. Weil die L-ICI durch AMA verändert werden kann, wäre dieser Parameter evtl. interessant für Studien, die sich mit motorischen Lernprozessen und gebrauchtsabhängiger Plastizität beschäftigen.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. Amassian VE, Cracco RQ, Maccabee PJ. Focal stimulation of human cerebral cortex with the magnetic coil: a comparison with electrical stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1989; 74: 401-416.
2. Amassian VE, Cracco RQ, Maccabee PJ, Bigland-Ritchie B, Cracco JB. Matching focal and non-focal magnetic coil stimulation to properties of human nervous system: mapping motor unit fields in motor cortex contrasted with altering sequential digit movements by premotor-SMA stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol Suppl* 1991; 43: 3-28.
3. Amassian VE, Quirk GJ, Stewart M. A comparison of corticospinal activation by magnetic coil and electrical stimulation of monkey motor cortex. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1990; 77: 390-401.
4. Aoki FY, Sitar DS. Amantadine kinetics in healthy elderly men: implications for influenza prevention. *Clin Pharmacol Ther* 1985; 37: 137-144.
5. Aoki FY, Sitar DS. Clinical pharmacokinetics of amantadine hydrochloride. *Clin Pharmacokinet* 1988; 14: 35-51.
6. Aoki FY, Sitar DS, Ogilvie RI. Amantadine kinetics in healthy young subjects after long-term dosing. *Clin Pharmacol Ther* 1979; 26: 729-736.
7. Arndt T, Guessregen B, Hohl A, Reis J. Determination of serum amantadine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clin Chim Acta* 2005; 359: 125-131.
8. Aroniadou VA, Keller A. The patterns and synaptic properties of horizontal intracortical connections in the rat motor cortex. *J Neurophysiol* 1993; 70: 1553-1569.
9. *Arzneimittelkompendium der Schweiz*[®]. Fachinformation PK-Merz 2005.
10. Barker AT. The history and basic principles of magnetic nerve stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol Suppl* 1999; 51: 3-21.
11. Barker AT, Freeston IL, Jalinous R, Jarratt JA. Magnetic stimulation of the human brain and peripheral nervous system: an introduction and the results of an initial clinical evaluation. *Neurosurgery* 1987; 20: 100-109.

12. Barker AT, Garnham CW, Freeston IL. Magnetic nerve stimulation: the effect of waveform on efficiency, determination of neural membrane time constants and the measurement of stimulator output. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol Suppl* 1991; 43: 227-237.
13. Barker AT, Jalinous R, Freeston IL. Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. *Lancet* 1985; 1: 1106-1107.
14. Bartholow R. Experimental investigations into the functions of the human brain. *Am J Med Sci* 1874; 67: 305-313.
15. Beer M. Über das Auftreten einer objektiven Lichtempfindung im magnetischen Felde. *Klinische Wochenschrift* 1902; 15: 108-109.
16. Berardelli A, Rona S, Inghilleri M, Manfredi M. Cortical inhibition in Parkinson's disease. A study with paired magnetic stimulation. *Brain* 1996; 119: 71-77.
17. Blanpied TA, Clarke RJ, Johnson JW. Amantadine inhibits NMDA receptors by accelerating channel closure during channel block. *J Neurosci* 2005; 25: 3312-3322.
18. Bleidner WE, Harmon JB, Hewes WE, Lynes TE, Hermann EC. Absorption, distribution and excretion of amantadine hydrochloride. *J Pharmacol Exp Ther* 1965; 150: 484-490.
19. Bohning D. Introduction and overview of TMS physics. In: George M, Belmaker R, editors. *Transcranial Magnetic Stimulation in Neuropsychiatry*. Washington DC: American Psychiatric Press 2000: 13-44.
20. Bormann J. Memantine is a potent blocker of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor channels. *Eur J Pharmacol* 1989; 166: 591-592.
21. Boroojerdi B, Battaglia F, Muellbacher W, Cohen LG. Voluntary teeth clenching facilitates human motor system excitability. *Clin Neurophysiol* 2000a; 111: 988-993.
22. Boroojerdi B, Kopylev L, Battaglia F, Facchini S, Ziemann U, Muellbacher W, Cohen LG. Reproducibility of intracortical inhibition and facilitation using the paired-pulse paradigm. *Muscle Nerve* 2000b; 23: 1594-1597.

23. Boroojerdi B, Battaglia F, Muellenbacher W, Cohen LG. Evaluation of the effects of CNS-active drugs on cortical excitability in intact humans. *Neurology* 1999; 52: 457.
24. Brandt SA, Ploner CJ, Meyer BU. Repetitive transcranial magnetic stimulation. Possibilities, limits and safety aspects. *Nervenarzt* 1997; 68: 778-784.
25. Brasil-Neto JP, Cammarota A, Valls-Sole J, Pascual-Leone A, Hallett M, Cohen LG. Role of intracortical mechanisms in the late part of the silent period to transcranial stimulation of the human motor cortex. *Acta Neurol Scand* 1995; 92: 383-386.
26. Brasil-Neto JP, Cohen LG, Panizza M, Nilsson J, Roth BJ, Hallett M. 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* 1992a; 9: 132-136.
27. Brasil-Neto JP, McShane LM, Fuhr P, Hallett M, Cohen LG. Topographic mapping of the human motor cortex with magnetic stimulation: factors affecting accuracy and reproducibility. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1992b; 85: 9-16.
28. Brenner M, Haass A, Jacobi P, Schimrigk K. Intravenous and oral treatment with amantadine sulfate in Parkinson disease. *Nervenarzt* 1988; 59: 180-184.
29. Bridgers SL. The safety of transcranial magnetic stimulation reconsidered: evidence regarding cognitive and other cerebral effects. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol Suppl* 1991; 43: 170-179.
30. Bridgers SL, Delaney RC. Transcranial magnetic stimulation: an assessment of cognitive and other cerebral effects. *Neurology* 1989; 39: 417-419.
31. Bryson YJ, Monahan C, Pollack M, Shields WD. A prospective double-blind study of side effects associated with the administration of amantadine for influenza A virus prophylaxis. *J Infect Dis* 1980; 141: 543-547.
32. Butefisch CM, Davis BC, Sawaki L, Waldvogel D, Classen J, Kopylev L, Cohen LG. Modulation of use-dependent plasticity by d-amphetamine. *Ann Neurol* 2002; 51: 59-68.

33. Calancie B, Nordin M, Wallin U, Hagbarth KE. Motor-unit responses in human wrist flexor and extensor muscles to transcranial cortical stimuli. *J Neurophysiol* 1987; 58: 1168-1185.
34. Cantello R, Gianelli M, Civardi C, Mutani R. Magnetic brain stimulation: the silent period after the motor evoked potential. *Neurology* 1992; 42: 1951-1959.
35. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention and control of influenza. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR* 1999; 48: 1-28.
36. Chen R. Studies of human motor physiology with transcranial magnetic stimulation. *Muscle Nerve Suppl* 2000; 9: 26-32.
37. Chen R, Gerloff C, Classen J, Wassermann EM, Hallett M, Cohen LG. Safety of different inter-train intervals for repetitive transcranial magnetic stimulation and recommendations for safe ranges of stimulation parameters. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1997a; 105: 415-421.
38. Chen R, Kumar S, Garg RR, Lang AE. Impairment of motor cortex activation and deactivation in Parkinson's disease. *Clin Neurophysiol* 2001; 112: 600-607.
39. Chen R, Samii A, Canos M, Wassermann EM, Hallett M. Effects of phenytoin on cortical excitability in humans. *Neurology* 1997b; 49: 881-883.
40. Chokroverty S, Hening W, Wright D, Walczak T, Goldberg J, Burger R, Belsh J, Patel B, Flynn D, Shah S. Magnetic brain stimulation: safety studies. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1995; 97: 36-42.
41. Classen J, Witte OW, Schlaug G, Seitz RJ, Holthausen H, Benecke R. Epileptic seizures triggered directly by focal transcranial magnetic stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1995; 94: 19-25.
42. Claus D. Die transkranielle motorische Stimulation. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag 1989.
43. Clouston PD, Kiers L, Menkes D, Sander H, Chiappa K, Cros D. Modulation of motor activity by cutaneous input: inhibition of the magnetic motor evoked potential by digital electrical stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1995; 97: 114-125.

44. Cohen LG, Roth BJ, Nilsson J, Dang N, Panizza M, Bandinelli S, Friauf W, Hallett M. Effects of coil design on delivery of focal magnetic stimulation. Technical considerations. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1990; 75: 350-357.
45. Cracco JB, Cracco RQ. The physiological basis of transcranial magnetic stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol Suppl* 1999; 49: 217-221.
46. Cracco RQ, Cracco JB, Maccabee PJ, Amassian VE. Cerebral function revealed by transcranial magnetic stimulation. *J Neurosci Methods* 1999; 86: 209-219.
47. d'Arsonval A. Dispositifs pour la mesure des courants alternatifs de toutes frequences. *CR Societe Biologique. Paris* 1896: 450-451.
48. Deep P, Dagher A, Sadikot A, Gjedde A, Cumming P. Stimulation of dopa decarboxylase activity in striatum of healthy. *Synapse* 1999; 34: 313-318.
49. Di Lazzaro V, Oliviero A, Pilato F, Saturno E, Dileone M, Meglio M, Cioni B, Papacci F, Tonali PA, Rothwell JC. Comparison of descending volleys evoked by transcranial and epidural motor cortex stimulation in a conscious patient with bulbar pain. *Clin Neurophysiol* 2004; 115: 834-838.
50. Di Lazzaro V, Oliviero A, Profice P, Saturno E, Pilato F, Insola A, Mazzone P, Tonali P, Rothwell JC. Comparison of descending volleys evoked by transcranial magnetic and electric stimulation in conscious humans. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1998a; 109: 397-401.
51. Di Lazzaro V, Restuccia D, Oliviero A, Profice P, Ferrara L, Insola A, Mazzone P, Tonali P, Rothwell JC. Magnetic transcranial stimulation at intensities below active motor threshold activates intracortical inhibitory circuits. *Exp Brain Res* 1998b; 119: 265-268.
52. Dolin R, Reichman RC, Madore HP, Maynard R, Linton PN, Webber-Jones J. A controlled trial of amantadine and rimantadine in the prophylaxis of influenza A infection. *N Engl J Med* 1982; 307: 580-584.
53. Dunlap K. Visual sensations from the alternating magnetic field. *Science* 1897; 33: 68-71.
54. Epstein CM, Schwartzberg DG, Davey KR, Sudderth DB. Localizing the site of magnetic brain stimulation in humans. *Neurology* 1990; 40: 666-670.

55. Facchini S, Muellbacher W, Battaglia F, Boroojerdi B, Hallett M. Focal enhancement of motor cortex excitability during motor imagery: a transcranial magnetic stimulation study. *Acta Neurol Scand* 2002; 105: 146-151.
56. Faraday M. *Effects on the production of electricity from magnetism* (1831). New York 1965.
57. Farnebo LO, Fuxe K, Goldstein M, Hamberger B, Ungerstedt U. Dopamine and noradrenaline releasing action of amantadine in the central and peripheral nervous system: a possible mode of action in Parkinson's disease. *Eur J Pharmacol* 1971; 16: 27-38.
58. Fauth C, Meyer BU, Prosiegel M, Zihl J, Conrad B. Seizure induction and magnetic brain stimulation after stroke. *Lancet* 1992; 339: 362.
59. Feuerstein TJ. Ketamine inhibits n-methyl-d-aspartate (NMDA) receptor mediated acetylcholine release from rabbit caudate nucleus slices. *Anaesthesist* 1994; 43 Suppl 2: 48-51.
60. Fletcher EA, Redfern PH. The effect of amantadine on the uptake of dopamine and noradrenaline by rat brain homogenates. *J Pharm Pharmacol* 1970; 22: 957-959.
61. Fritsch G, Hitzig E. Ueber die elektrische Erregbarkeit des Großhirns. *Archiv für Anatomie, Physiologie und wissenschaftliche Medizin* 1870.
62. Fritz C, Braune HJ, Pylatiuk C, Pohl M. Silent period following transcranial magnetic stimulation: a study of intra- and inter-examiner reliability. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1997; 105: 235-240.
63. Fuhr P, Agostino R, Hallett M. Spinal motor neuron excitability during the silent period after cortical stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1991; 81: 257-262.
64. Garvey MA, Ziemann U, Becker DA, Barker CA, Bartko JJ. New graphical method to measure silent periods evoked by transcranial magnetic stimulation. *Clin Neurophysiol* 2001; 112: 1451-1460.
65. George MS, Lisanby SH, Sackeim HA. Transcranial magnetic stimulation: applications in neuropsychiatry. *Arch Gen Psychiatry* 1999; 56: 300-311.

66. Geschwind N, Galaburda AM. Cerebral lateralization. Biological mechanisms, associations, and pathology: III. A hypothesis and a program for research. *Arch Neurol* 1985; 42: 634-654.
67. Gilman AG, Rall TW, Nies AS, Taylor P. Goodman and Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. New York 1990.
68. Hadj TA, Blanchet PJ, Doyon J. Motor-learning impairment by amantadine in healthy volunteers. *Neuropsychopharmacology* 2004; 29: 187-194.
69. Hageman G, Eertman-Meyer CJ, Tel-Hampsink J. The clinical diagnostic value of studies using magnetic stimulation. *Ned Tijdschr Geneesk* 1993; 137: 2323-2328.
70. Hallett M. Transcranial magnetic stimulation. Negative effects. *Adv Neurol* 1995; 67: 107-113.
71. Hallett M. Transcranial magnetic stimulation and the human brain. *Nature* 2000; 406: 147-150.
72. Haug BA, Schonle PW, Knobloch C, Kohne M. Silent period measurement revives as a valuable diagnostic tool with transcranial magnetic stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1992; 85: 158-160.
73. Hayden FG, Gwaltney JM, Jr., Van de Castle RL, Adams KF, Giordani B. Comparative toxicity of amantadine hydrochloride and rimantadine hydrochloride in healthy adults. *Antimicrob Agents Chemother* 1981; 19: 226-233.
74. Heikkila RE, Cohen G. Evaluation of amantadine as a releasing agent or uptake blocker for H³-dopamine in rat brain slices. *Eur J Pharmacol* 1972; 20: 156-160.
75. Hess CW, Ludin HP. Transcranial cortex stimulation with magnetic field pulses: methodologic and physiologic principles. *EEG EMG Z Elektroenzephalogr Elektromyogr Verwandte Geb* 1988; 19: 209-215.
76. Hess CW, Mills KR, Murray NM. Responses in small hand muscles from magnetic stimulation of the human brain. *J Physiol* 1987a; 388: 397-419.
77. Hess CW, Mills KR, Murray NM, Schrieffer TN. Excitability of the human motor cortex is enhanced during REM sleep. *Neurosci Lett* 1987b; 82: 47-52.
78. Homberg V, Netz J. Generalised seizures induced by transcranial magnetic stimulation of motor cortex. *Lancet* 1989; 2: 1223.

79. Hufnagel A, Elger CE, Klingmuller D, Zierz S, Kramer R. Activation of epileptic foci by transcranial magnetic stimulation: effects on secretion of prolactin and luteinizing hormone. *J Neurol* 1990; 237: 242-246.
80. Ilmoniemi RJ, Ruohonen J, Karhu J. Transcranial magnetic stimulation--a new tool for functional imaging of the brain. *Crit Rev Biomed Eng* 1999; 27: 241-284.
81. Inghilleri M, Berardelli A, Cruccu G, Manfredi M. Silent period evoked by transcranial stimulation of the human cortex and cervicomedullary junction. *J Physiol* 1993; 466: 521-534.
82. Inghilleri M, Berardelli A, Cruccu G, Manfredi M, Priori A, Rothwell JC. Inhibition of hand muscle motoneurons by peripheral nerve stimulation in the relaxed human subject. Antidromic versus orthodromic input. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1995; 97: 63-68.
83. Jackisch R, Link T, Neufang B, Koch R. Studies on the mechanism of action of the antiparkinsonian drugs memantine and amantadine: no evidence for direct dopaminomimetic or antimuscarinic properties. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1992; 320: 21-42.
84. Kasai T, Kawai S, Kawanishi M, Yahagi S. Evidence for facilitation of motor evoked potentials (MEPs) induced by motor imagery. *Brain Res* 1997; 744: 147-150.
85. Kiers L, Cros D, Chiappa KH, Fang J. Variability of motor potentials evoked by transcranial magnetic stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1993; 89: 415-423.
86. Koppel C, Tenczer J. A revision of the metabolic disposition of amantadine. *Biomed Mass Spectrom* 1985; 12: 499-501.
87. Kornhuber J, Bormann J, Hubers M, Rusche K, Riederer P. Effects of the 1-amino-adamantanes at the MK-801-binding site of the NMDA-receptor-gated ion channel: a human postmortem brain study. *Eur J Pharmacol* 1991; 206: 297-300.
88. Kornhuber J, Bormann J, Retz W, Hubers M, Riederer P. Memantine displaces [3H]MK-801 at therapeutic concentrations in postmortem human frontal cortex. *Eur J Pharmacol* 1989; 166: 589-590.

89. Kornhuber J, Quack G, Danysz W, Jellinger K, Danielczyk W, Gsell W, Riederer P. Therapeutic brain concentration of the NMDA receptor antagonist amantadine. *Neuropharmacology* 1995; 34: 713-721.
90. Kornhuber J, Schoppmeyer K, Riederer P. Affinity of 1-aminoadamantanes for the sigma binding site in post-mortem human frontal cortex. *Neurosci Lett* 1993; 163: 129-131.
91. Kornhuber J, Weller M. Amantadine and the glutamate hypothesis of schizophrenia. Experiences in the treatment of neuroleptic malignant syndrome. *J Neural Transm Gen Sect* 1993; 92: 57-65.
92. Kornhuber J, Weller M, Schoppmeyer K, Riederer P. Amantadine and memantine are NMDA receptor antagonists with neuroprotective properties. *J Neural Transm Suppl* 1994; 43: 91-104.
93. Krupp LB, Coyle PK, Doscher C, Miller A, Cross AH, Jandorf L, Halper J, Johnson B, Morgante L, Grimson R. Fatigue therapy in multiple sclerosis: results of a double-blind, randomized, parallel trial of amantadine, pemoline, and placebo. *Neurology* 1995; 45: 1956-1961.
94. Kujirai T, Caramia MD, Rothwell JC, Day BL, Thompson PD, Ferbert A, Wroe S, Asselman P, Marsden CD. Corticocortical inhibition in human motor cortex. *J Physiol* 1993; 471: 501-519.
95. Kukowski B, Haug B. 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* 1992; 32: 373-378.
96. Lefaucheur JP. Motor cortex dysfunction revealed by cortical excitability studies in Parkinson's disease: influence of antiparkinsonian treatment and cortical stimulation. *Clin Neurophysiol* 2005; 116: 244-253.
97. Liepert J, Schwenkreis P, Tegenthoff M, Malin JP. The glutamate antagonist riluzole suppresses intracortical facilitation. *J Neural Transm* 1997; 104: 1207-1214.

98. Lin TI, Heider H, Schroeder C. Different modes of inhibition by adamantane amine derivatives and natural polyamines of the functionally reconstituted influenza virus M2 proton channel protein. *J Gen Virol* 1997; 78: 767-774.
99. Lorberbaum JP, Wassermann EM. Safety concerns of transcranial magnetic stimulation. In: George MS BR, editor. *Transcranial magnetic stimulation in neuropsychiatry*. Washington DC: American Psychiatric Press 2000: 141-162.
100. Lupp A, Lucking CH, Koch R, Jackisch R, Feuerstein TJ. Inhibitory effects of the antiparkinsonian drugs memantine and amantadine on N-methyl-D-aspartate-evoked acetylcholine release in the rabbit caudate nucleus in vitro. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 263: 717-724.
101. Madeja M, Margineanu DG, Gorji A, Siep E, Boerrigter P, Klitgaard H, Speckmann EJ. Reduction of voltage-operated potassium currents by levetiracetam: a novel antiepileptic mechanism of action? *Neuropharmacology* 2003; 45: 661-671.
102. Maj J. Effect of memantine on central neurotransmitter systems. Review of the results. *Arzneimittelforschung* 1982; 32: 1256-1259.
103. Manganotti P, Bongiovanni LG, Zanette G, Turazzini M, Fiaschi A. Cortical excitability in patients after loading doses of lamotrigine: a study with magnetic brain stimulation. *Epilepsia* 1999; 40: 316-321.
104. Mathis J, Gurfinkel VS, Struppler A. Facilitation of motor evoked potentials by postcontraction response (Kohnstamm phenomenon). *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1996; 101: 289-297.
105. Matsubayashi H, Swanson KL, Albuquerque EX. Amantadine inhibits nicotinic acetylcholine receptor function in hippocampal neurons. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 281: 834-844.
106. Mavroudakis N, Caroyer JM, Brunko E, Zegers dB. Effects of diphenylhydantoin on motor potentials evoked with magnetic stimulation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1994; 93: 428-433.
107. McConnell KA, Nahas Z, Shastri A, Lorberbaum JP, Kozel FA, Bohning DE, George MS. The transcranial magnetic stimulation motor threshold depends on the

- distance from coil to underlying cortex: a replication in healthy adults comparing two methods of assessing the distance to cortex. *Biol Psychiatry* 2001; 49: 454-459.
108. McCormick DA. Neurotransmitter actions in the thalamus and cerebral cortex. *J Clin Neurophysiol* 1992; 9: 212-223.
109. McDonnell MN, Orekhov Y, Ziemann U. The role of GABA(B) receptors in intracortical inhibition in the human motor cortex. *Exp Brain Res* 2006; 173: 86-93.
110. Merton PA, Morton HB. Stimulation of the cerebral cortex in the intact human subject. *Nature* 1980; 285: 227.
111. Meyer BU. *Die Magnetstimulation des Nervensystems*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag 1992.
112. Michelucci R, Passarelli D, Riguzzi P, Buzzi AM, Gardella E, Tassinari CA. Transcranial magnetic stimulation in partial epilepsy: drug-induced changes of motor excitability. *Acta Neurol Scand* 1996; 94: 24-30.
113. Mills KR, Boniface SJ, Schubert M. Magnetic brain stimulation with a double coil: the importance of coil orientation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1992; 85: 17-21.
114. Mizoguchi K, Yokoo H, Yoshida M, Tanaka T, Tanaka M. Amantadine increases the extracellular dopamine levels in the striatum by re-uptake inhibition and by N-methyl-D-aspartate antagonism. *Brain Res* 1994; 662: 255-258.
115. Montanari C, Ferrari P, Bavazzano A. Urinary excretion of amantadine by the elderly. *Eur J Clin Pharmacol* 1975; 8: 349-351.
116. Monto AS, Gunn RA, Bandyk MG, King CL. Prevention of Russian influenza by amantadine. *JAMA* 1979; 241: 1003-1007.
117. Moresco RM, Volonte MA, Messa C, Gobbo C, Galli L, Carpinelli A, Rizzo G, Panzacchi A, Franceschi M, Fazio F. New perspectives on neurochemical effects of amantadine in the brain. *J Neural Transm* 2002; 109: 1265-1274.
118. Moryl E, Danysz W, Quack G. Potential antidepressive properties of amantadine, memantine and bifemelane. *Pharmacol Toxicol* 1993; 72: 394-397.
119. Muellbacher W, Facchini S, Boroojerdi B, Hallett M. Changes in motor cortex excitability during ipsilateral hand muscle activation in humans. *Clin Neurophysiol* 2000; 111: 344-349.

120. Muller T, Kuhn W, Quack G, Przuntek H. Intravenous application of amantadine and antiparkinsonian efficacy in Parkinsonian patients. *J Neural Transm Suppl* 1995; 46: 407-413.
121. Nakamura H, Kitagawa H, Kawaguchi Y, Tsuji H. Intracortical facilitation and inhibition after transcranial magnetic stimulation in conscious humans. *J Physiol* 1997; 498: 817-823.
122. Nakanishi H, Ukai K, Nakagawa T, Watanabe S, Kamata O, Yamamoto K. Enhancement of NMDA receptor-mediated synaptic potential evoked in rat medial-amygdala neuron following olfactory bulbectomy. *Brain Res* 1990; 532: 69-75.
123. Nikouline V, Ruohonen J, Ilmoniemi RJ. The role of the coil click in TMS assessed with simultaneous EEG. *Clin Neurophysiol* 1999; 110: 1325-1328.
124. Nilsson J, Panizza M, Arieti P. Computer-aided determination of the silent period. *J Clin Neurophysiol* 1997; 14: 136-143.
125. Northover BJ. Effect of pre-treating rat atria with potassium channel blocking drugs on the electrical and mechanical responses to phenylephrine. *Biochem Pharmacol* 1994; 47: 2163-2169.
126. Oldfield RC. The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. *Neuropsychologia* 1971; 9: 97-113.
127. Orth M, Rothwell JC. The cortical silent period: intrinsic variability and relation to the waveform of the transcranial magnetic stimulation pulse. *Clin Neurophysiol* 2004; 115: 1076-1082.
128. Pacifici GM, Nardini M, Ferrari P, Latini R, Fieschi C, Morselli PL. Effect of amantadine on drug-induced parkinsonism: relationship between plasma levels and effect. *Br J Clin Pharmacol* 1976; 3: 883-889.
129. Parkes D. Amantadine. *Adv Drug Res* 1974; 8: 11-81.
130. Parkes JD, Baxter RC, Curzon G, Knill-Jones RP, Knott PJ, Marsden CD, Tattersall R, Vollum D. Treatment of Parkinson's disease with amantadine and levodopa. A one-year study. *Lancet* 1971; 1: 1083-1086.
131. Parkes JD, Calver DM, Zilkha KJ, Knill-Jones RP. Controlled trial of amantadine hydrochloride in Parkinson's disease. *Lancet* 1970; 1: 259-262.

132. Parsons CG, Panchenko VA, Pinchenko VO, Tsyndrenko AY, Krishtal OA. Comparative patch-clamp studies with freshly dissociated rat hippocampal and striatal neurons on the NMDA receptor antagonistic effects of amantadine and memantine. *Eur J Neurosci* 1996; 8: 446-454.
133. Penfield W, Boldrey E. Somatic motor and sensory representation in the cerebral cortex of man as studied by electrical stimulation. *Brain* 1937; 60: 389-443.
134. Pfützte M. Untersuchung der zirkadianen Rhythmik der Exzitabilität des menschlichen Motorkortex bei Patienten mit juveniler myoklonischer Epilepsie mittels Transkranieller Magnetstimulation. Universität Marburg. Eingereichte Dissertation 2006.
135. Pierantozzi M, Palmieri MG, Marciani MG, Bernardi G, Giacomini P, Stanzione P. Effect of apomorphine on cortical inhibition in Parkinson's disease patients: a transcranial magnetic stimulation study. *Exp Brain Res* 2001; 141: 52-62.
136. Priori A, Oliviero A, Donati E, Callea L, Bertolasi L, Rothwell JC. Human handedness and asymmetry of the motor cortical silent period. *Exp Brain Res* 1999; 128: 390-396.
137. Reis J. Einfluss des Antiepileptikums Topiramate auf die mit Transkranieller Magnetstimulation gemessene Exzitabilität des menschlichen Motorkortex. Universität Marburg. Dissertation 2003.
138. Reis J, John D, Heimeroth A, Mueller HH, Oertel WH, Arndt T, Rosenow F. Modulation of Human Motor Cortex Excitability by Single Doses of Amantadine. *Neuropsychopharmacology* 2006; 31(12): 2758-2766.
139. Reis J, Tergau F, Hamer HM, Muller HH, Knake S, Fritsch B, Oertel WH, Rosenow F. Topiramate selectively decreases intracortical excitability in human motor cortex. *Epilepsia* 2002; 43: 1149-1156.
140. Reis J, Wentrup A, Hamer HM, Mueller HH, Knake S, Tergau F, Oertel WH, Rosenow F. Levetiracetam influences human motor cortex excitability mainly by modulation of ion channel function -a TMS study. *Epilepsy Res* 2004; 62: 41-51.
141. Ridding MC, Inzelberg R, Rothwell JC. Changes in excitability of motor cortical circuitry in patients with Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1995; 37: 181-188.

142. Ridding MC, Rothwell JC. Stimulus/response curves as a method of measuring motor cortical excitability in man. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1997; 105: 340-344.
143. Roick H, von Giesen HJ, Benecke R. On the origin of the postexcitatory inhibition seen after transcranial magnetic brain stimulation in awake human subjects. *Exp Brain Res* 1993; 94: 489-498.
144. Rossini PM, Barker AT, Berardelli A, Caramia MD, Caruso G, Cracco RQ, Dimitrijevic MR, Hallett M, Katayama Y, Lucking CH. Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord and roots: basic principles and procedures for routine clinical application. Report of an IFCN committee. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1994; 91: 79-92.
145. Rossini PM, Caramia MD, Iani C, Desiato MT, Sciarretta G, Bernardi G. Magnetic transcranial stimulation in healthy humans: influence on the behavior of upper limb motor units. *Brain Res* 1995; 676: 314-324.
146. Rote Liste[®]. PK-Merz Brausetabletten 2005.
147. Rothwell JC, Hallett M, Berardelli A, Eisen A, Rossini P, Paulus W. Magnetic stimulation: motor evoked potentials. *The International Federation of Clinical Neurophysiology. Electroencephalogr Clin Neurophysiol Suppl* 1999; 52: 97-103.
148. Rothwell JC, Thompson PD, Day BL, Boyd S, Marsden CD. Stimulation of the human motor cortex through the scalp. *Exp Physiol* 1991; 76: 159-200.
149. Rothwell JC, Thompson PD, Day BL, Dick JP, Kachi T, Cowan JM, Marsden CD. Motor cortex stimulation in intact man. 1. General characteristics of EMG responses in different muscles. *Brain* 1987; 110: 1173-1190.
150. Rudiak D, Marg E. Finding the depth of magnetic brain stimulation: a re-evaluation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1994; 93: 358-371.
151. Schmierer K, Niehaus L, Roricht S, Meyer BU. Conduction deficits of callosal fibres in early multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2000; 68: 633-638.
152. Schnitzler A, Kessler KR, Benecke R. Transcallosally mediated inhibition of interneurons within human primary motor cortex. *Exp Brain Res* 1996; 112: 381-391.

153. Schwab RS, England AC, Jr., Poskanzer DC, Young RR. Amantadine in the treatment of Parkinson's disease. *JAMA* 1969; 208: 1168-1170.
154. Schwab RS, Poskanzer DC, England AC, Jr., Young RR. Amantadine in Parkinson's disease. Review of more than two years' experience. *JAMA* 1972; 222: 792-795.
155. Schwenkreis P, Liepert J, Witscher K, Fischer W, Weiller C, Malin JP, Tegenthoff M. Riluzole suppresses motor cortex facilitation in correlation to its plasma level. A study using transcranial magnetic stimulation. *Exp Brain Res* 2000; 135: 293-299.
156. Schwenkreis P, Witscher K, Janssen F, Addo A, Dertwinkel R, Zenz M, Malin JP, Tegenthoff M. Influence of the N-methyl-D-aspartate antagonist memantine on human motor cortex excitability. *Neurosci Lett* 1999; 270: 137-140.
157. Schwenkreis P, Witscher K, Pleger B, Malin JP, Tegenthoff M. The NMDA antagonist memantine affects training induced motor cortex plasticity--a study using transcranial magnetic stimulation. *BMC Neurosci* 2005; 6: 35.
158. Shannon KM, Goetz CG, Carroll VS, Tanner CM, Klawans HL. Amantadine and motor fluctuations in chronic Parkinson's disease. *Clin Neuropharmacol* 1987; 10: 522-526.
159. Siebner HR, Dressnandt J, Auer C, Conrad B. Continuous intrathecal baclofen infusions induced a marked increase of the transcranially evoked silent period in a patient with generalized dystonia. *Muscle Nerve* 1998a; 21: 1209-1212.
160. Siebner HR, Willoch F, Peller M, Auer C, Boecker H, Conrad B, Bartenstein P. Imaging brain activation induced by long trains of repetitive transcranial magnetic stimulation. *Neuroreport* 1998b; 9: 943-948.
161. Sohn YH, Jung HY, Kaelin-Lang A, Hallett M. Effect of levetiracetam on rapid motor learning in humans. *Arch Neurol* 2002; 59: 1909-1912.
162. Sohn YH, Kaelin-Lang A, Jung HY, Hallett M. Effect of levetiracetam on human corticospinal excitability. *Neurology* 2001; 57: 858-863.
163. Steinmetz H. Anatomie des kortikomotorischen Systems. In: Meyer BU, editor. *Die Magnetstimulation des Nervensystems*. Heidelberg: Springer-Verlag 1995: 91-127.

164. Stoof JC, Booij J, Drukarch B, Wolters EC. The anti-parkinsonian drug amantadine inhibits the N-methyl-D-aspartic acid-evoked release of acetylcholine from rat neostriatum in a non-competitive way. *Eur J Pharmacol* 1992; 213: 439-443.
165. Stromberg U, Svensson TH, Waldeck B. On the mode of action of amantadine. *J Pharm Pharmacol* 1970; 22: 959-962.
166. Takahashi T, Yamashita H, Zhang YX, Nakamura S. Inhibitory effect of MK-801 on amantadine-induced dopamine release in the rat striatum. *Brain Res Bull* 1996; 41: 363-367.
167. Takeda M, Pekosz A, Shuck K, Pinto LH, Lamb RA. Influenza A virus M2 ion channel activity is essential for efficient replication in tissue culture. *J Virol* 2002; 76: 1391-1399.
168. Tassinari CA, Michelucci R, Forti A, Plasmati R, Troni W, Salvi F, Blanco M, Rubboli G. Transcranial magnetic stimulation in epileptic patients: usefulness and safety. *Neurology* 1990; 40: 1132-1133.
169. Tergau F, Wanschura V, Canelo M, Wischer S, Wassermann EM, Ziemann U, Paulus W. Complete suppression of voluntary motor drive during the silent period after transcranial magnetic stimulation. *Exp Brain Res* 1999; 124: 447-454.
170. Togo Y, Hornick RB, Dawkins AT, Jr. Studies on induced influenza in man. I. Double-blind studies designed to assess prophylactic efficacy of amantadine hydrochloride against A/Rockville/1/65 strain. *JAMA* 1968; 203: 1089-1094.
171. Valzania F, Strafella AP, Quatrone R, Santangelo M, Tropeani A, Lucchi D, Tassinari CA, De Grandis D. Motor evoked responses to paired cortical magnetic stimulation in Parkinson's disease. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1997; 105: 37-43.
172. van der Kamp W, Zwinderman AH, Ferrari MD, van Dijk JG. Cortical excitability and response variability of transcranial magnetic stimulation. *J Clin Neurophysiol* 1996; 13: 164-171.
173. Verhagen ML, Del Dotto P, van den MP, Fang J, Mouradian MM, Chase TN. Amantadine as treatment for dyskinesias and motor fluctuations in Parkinson's disease. *Neurology* 1998; 50: 1323-1326.

174. Vernier VG, Harmon JB, Stump JM, Lynes TE, Marvel JP, Smith DH. The toxicologic and pharmacologic properties of amantadine hydrochloride. *Toxicol Appl Pharmacol* 1969; 15: 642-665.
175. Wassermann EM. Risk and safety of repetitive transcranial magnetic stimulation: report and suggested guidelines from the International Workshop on the Safety of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation, June 5-7, 1996. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1998; 108: 1-16.
176. Wassermann EM, Lisanby SH. Therapeutic application of repetitive transcranial magnetic stimulation: a review. *Clin Neurophysiol* 2001; 112: 1367-1377.
177. Weller M, Finiels-Marlier F, Paul SM. NMDA receptor-mediated glutamate toxicity of cultured cerebellar, cortical and mesencephalic neurons: neuroprotective properties of amantadine and memantine. *Brain Res* 1993; 613: 143-148.
178. Werhahn KJ, Classen J, Benecke R. The silent period induced by transcranial magnetic stimulation in muscles supplied by cranial nerves: normal data and changes in patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1995; 59: 586-596.
179. Werhahn KJ, Kunesch E, Noachtar S, Benecke R, Classen J. Differential effects on motorcortical inhibition induced by blockade of GABA uptake in humans. *J Physiol* 1999; 517 (Pt 2): 591-597.
180. Weyh T, Schreivogel K. *Die Magnetstimulation des Nervensystems*. Springer-Verlag 1992.
181. Yokota T, Yoshino A, Inaba A, Saito Y. Double cortical stimulation in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1996; 61: 596-600.
182. Ziemann U, Bruns D, Paulus W. Enhancement of human motor cortex inhibition by the dopamine receptor agonist pergolide: evidence from transcranial magnetic stimulation. *Neurosci Lett* 1996a; 208: 187-190.
183. Ziemann U, Chen R, Cohen LG, Hallett M. Dextromethorphan decreases the excitability of the human motor cortex. *Neurology* 1998; 51: 1320-1324.
184. Ziemann U, Lonnecker S, Paulus W. Inhibition of human motor cortex by ethanol. A transcranial magnetic stimulation study. *Brain* 1995; 118: 1437-1446.

185. Ziemann U, Lonnecker S, Steinhoff BJ, Paulus W. Effects of antiepileptic drugs on motor cortex excitability in humans: a transcranial magnetic stimulation study. *Ann Neurol* 1996b; 40: 367-378.
186. Ziemann U, Lonnecker S, Steinhoff BJ, Paulus W. The effect of lorazepam on the motor cortical excitability in man. *Exp Brain Res* 1996c; 109: 127-135.
187. Ziemann U, Rothwell JC, Ridding MC. Interaction between intracortical inhibition and facilitation in human motor cortex. *J Physiol* 1996d; 496: 873-881.
188. Ziemann U, Tam A, Butefisch C, Cohen LG. Dual modulating effects of amphetamine on neuronal excitability and stimulation-induced plasticity in human motor cortex. *Clin Neurophysiol* 2002; 113: 1308-1315.
189. Ziemann U, Tergau F, Bruns D, Baudewig J, Paulus W. Changes in human motor cortex excitability induced by dopaminergic and anti-dopaminergic drugs. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1997; 105: 430-437.

7. ANHANG

7.1 Abkürzungsverzeichnis

ACh	Acetylcholin
ADM	Musculus abductor digiti minimi
AMA	Amantadin
AMT	Aktive Motorschwelle (active motor threshold)
ANOVA	Analysis of variance
AP	Aktionspotential
BSL	Baseline-Werte (vor Einnahme der Studienmedikation gemessene Werte)
cMEP	konditionierte MEP
CS	konditionierender Stimulus (conditioning stimulus)
CSP	kortikal induzierte Silent Period (cortical induced silent period)
CR	konditionierte Muskel-Antwort (conditioned response)
cTR	konditionierte Testreizintensität (conditioned test stimulus)
DA	Dopamin
EEG	Elektroenzephalogramm
EMG	Elektromyographie
GABA	γ -Amino-Buttersäure (γ -aminobutyric acid)
ICF	Intrakortikale Fazilitation (intracortical facilitation)
ICI	Intrakortikale Inhibition (intracortical inhibition)
IPSP	Inhibitorisches Postsynaptisches Potential
ISI	Interstimulusintervall (interstimulus interval)
L-ICI	Späte Intrakortikale Inhibition (late intracortical inhibition)
mCMAP	maximale muskuläre Summenaktionspotentialamplitude (maximum compound muscle action potential)
MED	MED-Werte (Medikation, zweieinhalb Stunden nach Einnahme der Studienmedikation gemessene Werte)
MEP	Motorisch (magnetisch) evoziertes Potential (motor evoked potential)
MP	Morbus Parkinson (Parkinson's disease)

MT	Motorische Schwelle (motor threshold)
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NW	Nebenwirkungen
PP	peak-to-peak
REC	Rekrutierungskurven (recruitment curves)
RMT	Ruhemotorschwelle (resting motor threshold)
SICI	Kurze Intrakortikale Inhibition (short latency intracortical inhibition)
SEM	Standardfehler des Mittelwertes (standard error of the mean)
TMS	Transkranielle Magnetstimulation (transcranial magnetic stimulation)
TR	Testreizintensität
uMEP	unkonditionierte MEP-Amplitude
uTR	unkonditionierte Testreizintensität (unconditioned test stimulus)
ZNS	Zentralnervensystem

7.2 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Der magnetische Feldlinienverlauf verschiedener Magnetspulen.....	4
Abb. 2:	Dreidimensionale Darstellung des Betrags des Vektorpotentials unter verschiedenen Magnetspulen.....	6
Abb. 3:	Durch TMS induzierte postexzitorische Innervationsstille (CSP) nach einem motorisch evozierten Potential (MEP).....	10
Abb. 4:	Darstellung eines Testreiz-induzierten MEPs, der Kurzen Intrakortikalen Inhibition (SICI) und Intrakortikalen Fazilitation (ICF)	11
Abb. 5:	Motorische Ruheschwellen (RMT) vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation	35
Abb. 6:	Aktive Motorische Schwellen (AMT) vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation	35
Abb. 7:	MEP-Rekrutierungskurven (MEP-REC) bei verschiedenen Stimulusintensitäten vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation.....	37
Abb. 8:	Kortikal induzierte Silent Period (CSP) vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation	38
Abb. 9:	Kurze Intrakortikale Inhibition (SICI) vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation	40
Abb. 10:	Intrakortikale Fazilitation (ICF) vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation	41
Abb. 11:	Späte Intrakortikale Inhibition (L-ICI) vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation	43
Abb. 12	A-C: Vergleichende Darstellung der bei verschiedenen ISIs gewonnenen Amplituden vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation.....	44
Abb. 13:	Korrelation der Veränderungen der MEP-Antworten bei den Interstimulusintervallen ISI 15 und ISI 150.....	45
Abb. 14:	Korrelation zwischen den AMA-Serumspiegeln und den Veränderungen von ICF und L-ICI	47

7.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Nebenwirkungen von AMA	22
Tabelle 2:	Studienkollektiv, Geschlecht, Alter und Messreihenfolge.....	33
Tabelle 3:	Motorische Ruheschwellen (RMT) und Aktive Motorische Schwellen (AMT) vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation.....	34
Tabelle 4:	MEP-Rekrutierungskurven (MEP-REC) bei verschiedenen Stimulusintensitäten vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation.....	36
Tabelle 5:	Dauer der kortikal induzierten Silent Period (CSP) vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation	38
Tabelle 6:	Amplituden der cMEPs bei Interstimulusintervallen von 2 und 3 ms vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation	39
Tabelle 7:	Amplituden der cMEPs bei Interstimulusintervallen von 10 und 15 ms vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation	41
Tabelle 8:	Amplituden der cMEPs bei Interstimulusintervallen von 150 ms vor (BSL) und zweieinhalb Stunden (MED) nach Einnahme der Studienmedikation	42
Tabelle 9:	Zusammenstellung der berichteten NW.....	48
Tabelle 10:	Ergebnisse des Grooved Pegboard Tests	49

7.4 Verzeichnis der akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrer waren die Damen und Herren

in Marburg:

Alter, Arnold, Aumüller, Bach, Baisch, Bals, Barth, Basler, Bauer, Baum, Becker, Bertalanffy, Bien, Christiansen, Czubayko, Daut, del Rey, Eggert, Eilers, Feuser, Funck, Garrel v., Gemsa, Gerdes, Geus, Gotzen, Grimm, Griss, Gudermann, Hamer, Happle, Hellinger, Hellwig, Hemmer, Hemmeter, Herzum, Hesse, Hocke, Hofmann, Jerrentrup, Jungclas, Kern, Klenk, Köhler, Koolman, Krieg, Kroll, Lang, Lammel, Lichtenberg, Liss, Lohoff, Löw v., Maisch, Maisner, Mann, Moll, Möller, Mueller, Mühlberger, Müller, Mutters, Neubauer, Nies, Oertel, Pagenstecher, Plant, Reis, Remschmidt, Renz, Richter, Röper, Rosenow, Rothmund, Schäfer, Schepelmann, Schmied, Schmidt, Schnabel, Schneider, Schwarz, Seitz, Sommer, Stiletto, Strauch, Suske, Vogelmeier, Vohland, Voigt, Weihe, Werner, Westermann, Wulf.

in Bern:

Frey, Mohaupt, Uehlinger, Farese, Trost.

7.5 Danksagung

Mein außerordentlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. F. Rosenow für die Annahme dieser interessanten Thematik, die jederzeit wohlwollende und geduldige wissenschaftliche Betreuung mit konstruktiven Kritiken und einer Vielzahl von wertvollen Anregungen.

Ein besonderer Dank gilt Frau Dr. Janine Reis für die Einführung in die Methode der TMS, die konstante sehr gute Beratung mit vielen wertvollen Hinweisen während der Durchführung der Versuche, stets enthusiastische Begleitung meiner Arbeit und die Freundschaft, die sich daraus entwickelt hat.

Vielen Dank an alle Probanden, die mit dazu beigetragen haben, dass Forschung überhaupt praktiziert werden kann.

Danke für die engagierte technische Unterstützung durch unsere Medizinisch Technischen Assistenten.

Für die positiven Erfahrungen der gemeinsamen Arbeit in einer Arbeitsgruppe danke ich der ganzen Arbeitsgruppe Epilepsie, v.a. Herrn Martin Pfütze, Frau Antje Heimeroth, Frau Dr. Brita Fritsch und Frau Anja Haag.

Für die Unterstützung der Studienplanung und -auswertung danke ich Herrn PD Dr. H.H. Müller (Institut für Biometrie und Epidemiologie der Philipps-Universität Marburg).

Meinen Eltern, denen ich diese Arbeit widme, möchte ich dafür danken, dass sie bis zum heutigen Tag immer an mich geglaubt haben und durch ihre selbstlose beständige Unterstützung einen großen Beitrag zur Verwirklichung meiner Ziele geleistet haben.

7.6 Publikationen

Im Zusammenhang mit dieser Arbeit sind entstanden:

Originalartikel:

Reis J, John D, Heimeroth A, Müller HH, Oertel WH, Arndt T, Rosenow F. *Modulation of human motor cortex excitability by single doses of amantadine*. *Neuropsychopharmacology* 31(12): 2758-2766, 2006.

Reis J, Haag A, John D, Heimeroth A, Albery K, Pfütz M, Oertel WH, Rosenow F. *Age and gender matched values of transcranial magnetic stimulation in healthy subjects*. (in Vorbereitung).

Arndt T, Guessregen B, Hohl A, Reis J. *Determination of serum amantadine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry*. *Clin Chim Acta* 359: 125-131, 2005.

Poster:

John D, Reis J, Heimeroth A, Hamer HM, Müller HH, Knake S, Oertel WH und Rosenow F. *Akute Effekte des Antiparkinsonmedikaments Amantadin auf die Erregbarkeit des menschlichen Motorkortex. Eine Untersuchung mittels Transkranieller Magnetstimulation*. 49. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Klinische Neurophysiologie und Funktionelle Bildgebung, Jena, 2004.

Veröffentlichungen ohne Zusammenhang zur vorliegenden Arbeit:

Poster:

Reis J, Heimeroth A, Mueller HH, John D, Oertel WH, Hamer HM, and Rosenow F. *Effects of clomethiazole on human motor cortex excitability - a transcranial magnetic stimulation study*. 58th Annual Meeting American Epilepsy Society, New Orleans, Usa, 2004. *Epilepsia* 45 (Suppl. 7): 64, 2004.

Reis J, Heimeroth A, Mueller HH, John D, Oertel WH, Hamer HM, and Rosenow F. *Effekte des Sedativums Clomethiazol auf die Erregbarkeit des menschlichen Motorkortex - eine Studie mittels Transkranieller Magnetstimulation*. 77. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Neurologie, Düsseldorf, 2004.

Pfütze M, Reis J, John D, Oertel W, Rosenow F, Hamer H. Zirkadiane Rhythmik der Exzitabilität des Motorkortex bei Patienten mit juveniler myoklonischer Epilepsie – eine TMS-Studie. ILAE Kongress, Strassburg, Frankreich, 2006.