

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik und Poliklinik für Neurologie
- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h.c. E.B. Ringelstein -

**Einfluss des BDNF Val66Met Polymorphismus auf
synaptische Plastizität und Gedächtnis**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des doctor rerum medicinalium

der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von Kürten, Julia
aus Hattingen (NRW)

2011

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Dekan: Univ-Prof. Dr. med. Wilhelm Schmitz

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. Dipl.-Psych. Jens Bölte

2. Berichterstatter: Uni.-Prof Dr. med. Agnes Flöel

Tag der mündlichen Prüfung: 30.05.2011

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik und Poliklinik für Neurologie
- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h.c. E.B. Ringelstein -
Referent: Priv.-Doz. Dr. Dipl.-Psych. Jens Bölte
Koreferent: Univ.-Prof. Dr. med. Agnes Flöel

ZUSAMMENFASSUNG

„Einfluss des BDNF Val66Met Polymorphismus auf neuronale Plastizität und Gedächtnis“
Julia Kürten

Das Neurotrophin „brain-derived neurotrophic factor“ (BDNF) fördert Prozesse der synaptischen Plastizität und neuronalen Organisation. Ein Polymorphismus des BDNF-Gens (Val66Met) beeinträchtigt die BDNF-Aktivität in Gedächtnis-relevanten Gehirnstrukturen. Träger des Polymorphismus (Met-Allel Träger) zeigten in einigen Studien gegenüber Nicht-Met-Allel Trägern eine verminderte Ausbildung von Langzeitpotenzierung (LTP)-ähnlicher synaptischer Plastizität durch Gehirnstimulation sowie schlechtere Gedächtnisleistungen. Dies konnten allerdings nicht in allen bisherigen Arbeiten repliziert werden.

In der vorliegenden Studie wurden 20 Träger des Met-Allels mit 20 Nicht-Met-Allel Trägern in Parametern LTP-ähnlicher synaptischer Plastizität, Gedächtnis- und kognitiven Leistungen verglichen. Die Gruppen waren in Alter, Geschlecht und Bildungsjahren vergleichbar.

Zur Induzierung von LTP-ähnlicher synaptischer Plastizität im motorischen Kortex wurde ein „paired associative stimulation“ (PAS₂₅)-Protokoll der transkraniellen Magnetstimulation (TMS) eingesetzt. Zusätzlich bearbeiteten die Probanden zwei nicht-deklarative Lernaufgaben sowie eine umfangreiche neuropsychologische Testbatterie.

Es zeigte sich kein Einfluss des BDNF Val66Met Polymorphismus auf LTP-ähnliche synaptische Plastizität, nicht-deklaratives Lernen oder neuropsychologische Leistungen.

In der Stichprobe junger Probanden mit hohen kognitiven Ressourcen konnte der Einfluss des Met-Allels offenbar kompensiert werden, so dass ein Unterschied zwischen den genetischen Gruppen nicht nachweisbar war. Möglicherweise können genetische Interaktionen (z.B. zwischen dem Val66Met und Polymorphismen anderer lernrelevanter Gene) oder Gen-Umwelt-Interaktionen (Lebensstil-Faktoren wie Sport oder Ernährung) die reduzierte BDNF-Ausschüttung positiv beeinflussen. Welche Faktoren die kognitiven und hirnplastischen Beeinträchtigungen durch das Met-Allel auch bei älteren Personen kompensieren können, muss in zukünftigen Untersuchungen geklärt werden.

Tag der mündlichen Prüfung: 30.05.2011

EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

Ich gebe hiermit die Erklärung ab, dass ich die Dissertation mit dem Titel:

„Einfluss des BDNF Val66 Met Polymorphismus auf neuronale Plastizität und Gedächtnis“

in der/im (Klinik, Institut, Krankenanstalt):

Klinik und Poliklinik für Neurologie, Universitätsklinikum
Münster

unter Anleitung von:

Univ. - Prof. Dr. med. Agnes Flöel

1. selbständig angefertigt,
2. nur unter Benutzung der im Literaturverzeichnis angegebenen Arbeit angefertigt und sonst kein anderes gedrucktes oder ungedrucktes Material verwendet,
3. keine unerlaubte fremde Hilfe in Anspruch genommen,
4. sie weder in der gegenwärtigen noch in einer anderen Fassung einer in- oder ausländischen Fakultät als Dissertation, Semesterarbeit, Prüfungsarbeit, oder zur Erlangung eines akademischen Grades, vorgelegt habe.

Ort, Datum Münster, 30.05.2011

3. Witten

Unterschrift

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Mechanismen neuronaler Plastizität	1
1.1.1 Erregungsübertragung an Synapsen	1
1.1.2. Die Entstehung von Langzeitpotenzierung (LTP)	5
1.1.3. Experimentelle Befunde zur LTP-Entstehung	6
1.2. Induzierung LTP-ähnlicher synaptischer Plastizität durch transkranielle Magnetstimulation (TMS) im Menschen	8
1.3. Lernen und Gedächtnis	12
1.3.1. Das deklarative/nicht-deklarative Gedächtnis-System	12
1.3.2. Das Mehrspeichermodell des Gedächtnisses	13
1.4. Rolle des brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in neuronaler Plastizität und Lernen	16
1.5. Genetische Einflüsse auf neuronale Plastizität und Lernen	17
1.5.1. Single nucleotide polymorphisms (SNPs)	17
1.5.2. Auswirkung des BDNF SNP Val66Met auf LTP-ähnliche synaptische Plastizität und Lernen	18
1.6. Hypothesen der Untersuchung	21
2. Methoden	23
2.1. Probanden und Materialien	23
2.1.1. Formale Bedingungen	23
2.1.2. Studiendesign	23
2.1.2.1. Voruntersuchung und Teilnahmebedingungen	24
2.1.2.2. BDNF-Genotypisierung	26
2.1.3. Stichprobenbeschreibung	26
2.1.4. Induzierung LTP-ähnlicher Plastizität: Paired associative stimulation (PAS ₂₅)	27
2.1.4.1. Bestimmung der TMS-Basis-Parameter	27
2.1.4.2. Ablauf des PAS ₂₅ -Protokolls	29
2.1.5. Erfassung nicht-deklarativen Lernens	30

2.1.5.1. Lernen einer künstlichen Grammatik	30
2.1.5.1.1. Konstruktion der Aufgabe	30
2.1.5.1.2. Ablauf der Testung	31
2.1.5.2. Fingersequenz-Aufgabe	31
2.1.5.2.1. Konstruktion der Aufgabe	32
2.1.5.2.2. Ablauf der Testung	33
2.1.6. Neuropsychologische Testbatterie	33
2.1.6.1. Testung des Kurzzeit- und Arbeitsgedächtnisses	34
2.1.6.2. Testung der verbalen Lern- und Merkfähigkeit	35
2.1.6.3. Testung von Visuo-Konstruktion und visueller Lernfähigkeit	35
2.1.6.4. Testung von Aufmerksamkeit und Exekutivfunktionen	36
2.1.6.5. Testung der Wortflüssigkeit	36
2.1.6.6. Testung allgemeiner Intelligenz	37
2.1.7. Erfassung der Stimmung	37
2.2. Statistische Auswertung	39
2.2.1. Analyse der LTP-Daten	39
2.2.2. Analyse nicht-deklarativer Lernleistung	39
2.2.3. Analyse neuropsychologischer Leistungen	40
2.2.4. Analyse von Stimmung und Blutdruck	41
2.2.5. Analyse korrelativer Zusammenhänge	42
3. Ergebnisse	44
3.1. Effekt des BDNF Genotyps auf LTP-ähnliche synaptische Plastizi-	
tät	44
3.2. Effekt des BDNF Genotyps auf nicht-deklaratives Lernen	45
3.2.1. Effekte auf das Erlernen einer künstlichen Grammatik	45
3.2.2. Effekte auf das prozedural motorische Lernen (Fingersequenz-	
Aufgabe)	46
3.3. Effekte auf neuropsychologische Leistungen	47
3.4. Effekte auf Stimmung und Blutdruck	48
3.5. Korrelative Zusammenhänge	50

4. Diskussion	53
4.1. Überprüfung der Hypothesen	53
4.2. Methodenkritische Anmerkungen	54
4.2.1. Kontrolle von Einflussfaktoren auf die LTP-Parameter	54
4.2.1.1. Kontrolle der Aufmerksamkeit	54
4.2.1.2. Individualisierung des Interstimulusintervalls (ISI)	55
4.2.1.3. Kontrolle des hormonellen Status bei Frauen	55
4.2.2. Kontrolle von testübergreifenden Geschlechts-Effekten	55
4.3. Diskussion der Ergebnisse	56
4.3.1. Fehlender Einfluss des Val66Met auf die LTP-ähnliche Plastizität	56
4.3.2. Fehlender Einfluss des Val66Met auf die Lernleistung	60
4.3.2. Fehlender Einfluss des Val66Met auf neuropsychologische Leistungen	61
4.3.4. Altersabhängigkeit genetischer Effekte	62
4.3.5. Gen-Gen-Interaktionen	63
4.4. Fazit	64
4.5. Ausblick	65
4.5.1. Gen-Gen-Interaktionen	65
4.5.2. Gen-Umwelt-Interaktionen	66
4.5.3. Tierexperimentelle Beiträge	67
5. Abbildungsverzeichnis	68
6. Tabellenverzeichnis	69
7. Literaturverzeichnis	70
8. Danksagung	82
9. Lebenslauf	83
10. Anhang	I
A: Probandenaufklärung	I
B: Dokumentationsbogen	IX
C: TMS-Fragebogen	XV
D: Votum der Ethik-Kommission Münster	XVIII

1. Einleitung

1.1. Mechanismen neuronaler Plastizität

Neuronale Plastizität beschreibt das Phänomen, dass sich Verbindungen zwischen einzelnen Neuronen oder auch neuronalen Netzwerken in Reaktion auf Lernerfahrungen oder Gewebeschädigungen verändern. Auf zellulärer Ebene einzelner Neurone wird auch von synaptischer Plastizität gesprochen, ist der Bezugsrahmen ein größeres funktionelles Netzwerk, spricht man von kortikaler Plastizität (Lövdén et al., 2010; Pearson-Fuhrhop et al., 2010). Dabei induzieren Lernerfahrungen kurz- und mittelfristige Veränderungen der synaptischen Kommunikation. Gedächtnis stellt in neuronaler Hinsicht die Manifestation dieser Veränderungen durch Neubildung oder Verstärkung synaptischer Verbindungen dar (Pinel, 2001).

Im Folgenden wird ein Überblick über grundlegende physiologische Voraussetzungen neuronaler Plastizität und ihre Wirkungsmechanismen gegeben, bevor in Abschnitt 1.2. die experimentelle Manipulation synaptischer Plastizität beschrieben wird.

1.1.1. Erregungsübertragung an Synapsen

Grundvoraussetzung für neuronale Plastizität ist die strukturelle Stärkung der Erregungsübertragung zwischen Neuronen infolge erhöhter synaptischer Aktivität. Dies erfordert zunächst die genauere Betrachtung der Schnittstelle neuronaler Kommunikation, der Synapsen, und ihrer Besonderheiten.

Die häufigsten Formen synaptischer Verbindungen treten zwischen Axonen und Zellkörpern (axosomatische Synapsen) oder zwischen Axonen und Dendriten (axodendritische Synapsen) auf (siehe *Abbildung 1*). Hier enden die Synapsen auf kleinen Erhöhungen der Dendriten-Oberfläche, den dendritischen Dornen (spikes). In der Beschreibung synaptischer Erregungsübertragung wird unterschieden zwischen dem „präsynaptischen“ Neuron und dem „postsynaptischen“ Neuron.

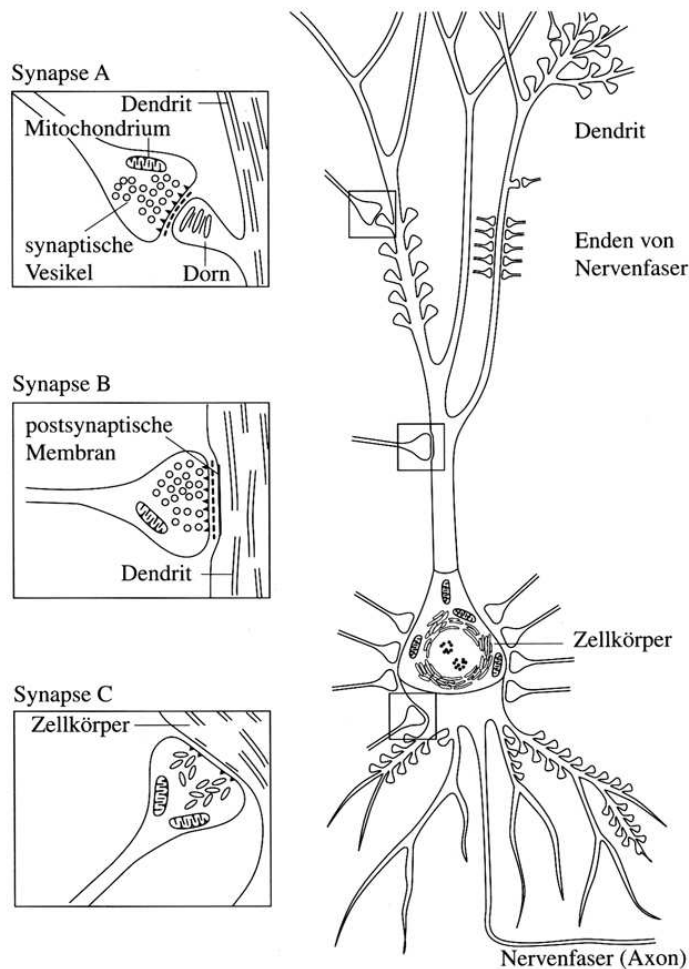


Abbildung 1: Verzweigtes Neuron mit Zellkörper (Soma), Axon und Dendriten. Synapsen können sich an verschiedenen Stellen des Neurons befinden; in Abschnitt A, B und C sind sie vergrößert dargestellt. (modifiziert nach Iverson, 1980, zitiert nach: Jaenicke, 1999).

Ein postsynaptisches Neuron kann an seinen Synapsen durch exzitatorische postsynaptische Potenziale (EPSP) depolarisiert oder durch inhibitorische postsynaptische Potenziale (IPSP) hyperpolarisiert werden (man spricht hier auch von „erregenden“ oder „hemmenden“ Synapsen). Da der Schwerpunkt der vorliegenden Untersuchung auf Prozessen liegen soll, die eine *Verstärkung* der synaptischen Erregungsleitung zur Ursache haben, wird im Folgenden mehr über exzitatorische als über inhibitorische Mechanismen berichtet werden. Beide Formen postsynaptischer Potenziale (PSP) treten in Abstufungen, d.h., proportional zur Stärke des auslösenden Signals auf. Erst die Summe vieler eingehender EPSPs macht die Auslösung eines Aktionspotenzials (AP) am Axonhügel wahrscheinlicher, viele IPSPs dagegen erschweren sie (Pinel, 2001). PSPs werden durch Neurotransmitterausschüttung des präsynaptischen Neurons hervorgerufen (siehe *Abbildung 2*). Botenstoffe wie z.B. Glutamat, Dopa-

min, Serotonin usw. werden dazu im Zellkörper des präsynaptischen Neurons oder direkt in der synaptischen Endigung synthetisiert und in Vesikeln verpackt dicht an der präsynaptischen Membran gelagert. Wird im präsynaptischen Neuron ein AP ausgelöst, öffnen sich spannungsabhängige Calciumkanäle im Endknopf seiner Synapse, wodurch Ca^{++} -Ionen einströmen. Dadurch verschmelzen die Vesikel mit der Membran und setzen Neurotransmitter in den synaptischen Spalt frei (Exozytose). Dort binden die Transmitter an Rezeptoren der postsynaptischen Membran (z.B. Glutamat an AMPA-Rezeptoren (α -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-Propionsäure) oder NMDA-Rezeptoren (N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptoren)). Dadurch werden PSPs ausgelöst, die direkt zum Axonhügel weitergeleitet werden. Der größte Teil der Transmitter bleibt jedoch ungebunden und wird wieder in die synaptische Endigung aufgenommen um dort erneut in Vesikeln verpackt zu werden. Größere Neuropeptide werden im synaptischen Spalt von Enzymen abgebaut (z.B. Acetylcholin durch Acetylcholinesterase) und ihre Reste in den synaptischen Endknopf zurücktransportiert. Ebenso lösen Enzyme gebundene Transmitter nach erfolgreicher Aktivierung wieder von ihren postsynaptischen Rezeptoren.

Die im postsynaptischen Neuron eintreffenden PSPs werden am Axonhügel verrechnet und können beim Erreichen der kritischen Schwelle ein AP auslösen, was das Neuron dazu veranlasst, seinerseits Neurotransmitter freizusetzen und so das Signal an folgende Zellen weiterzuleiten. Das Membranpotenzial eines Neurons entspricht dem elektrischen Spannungsunterschied zwischen Innen- und Außenseite der Zellmembran und beträgt im Ruhezustand -70 mV. Wird das Ruhemembranpotenzial eines Neurons durch EPSPs soweit depolarisiert, dass am Axonhügel die Erregungsschwelle von -40 mV erreicht wird, öffnen sich spannungsgesteuerte Natriumkanäle und lassen Na^+ -Ionen ins Zellinnere einströmen. Infolgedessen wird das Membranpotenzial fast augenblicklich auf +50 mV umgepolt und ein AP ausgelöst (Pinel, 2001). Durch die Änderung des Membranpotenzials öffnen sich spannungsgesteuerte Kaliumkanäle, so dass positiv geladene K^+ -Ionen aus der Zelle heraus diffundieren und somit das Membranpotenzial wieder repolarisieren. Die Ionenkanäle beginnen sich nach ca. einer Millisekunde zu schließen. Innerhalb der nächsten ein bis zwei

Millisekunden kann kein weiteres AP ausgelöst werden (absolute Refraktärzeit), danach liegt die Erregungsschwelle noch eine Weile höher als gewöhnlich (relative Refraktärzeit). Die Refraktärzeit bewirkt einerseits, dass APs nur in eine Richtung geleitet werden, andererseits ermöglicht sie, dass das Neuron proportional zu Reizstärke APs aussendet. Wird ein Neuron sehr stark gereizt, feuert es jeweils nach Ablauf der absoluten Refraktärzeit immer wieder, so dass bis zu 1000 APs pro Sekunde ausgelöst werden können. Wird das Neuron dagegen nur leicht gereizt, wird das nächste AP erst nach Ablauf der absoluten und relativen Refraktärzeit ausgelöst. Mittlere Reizintensitäten führen entsprechend zu mittleren Entladungsfrequenzen.

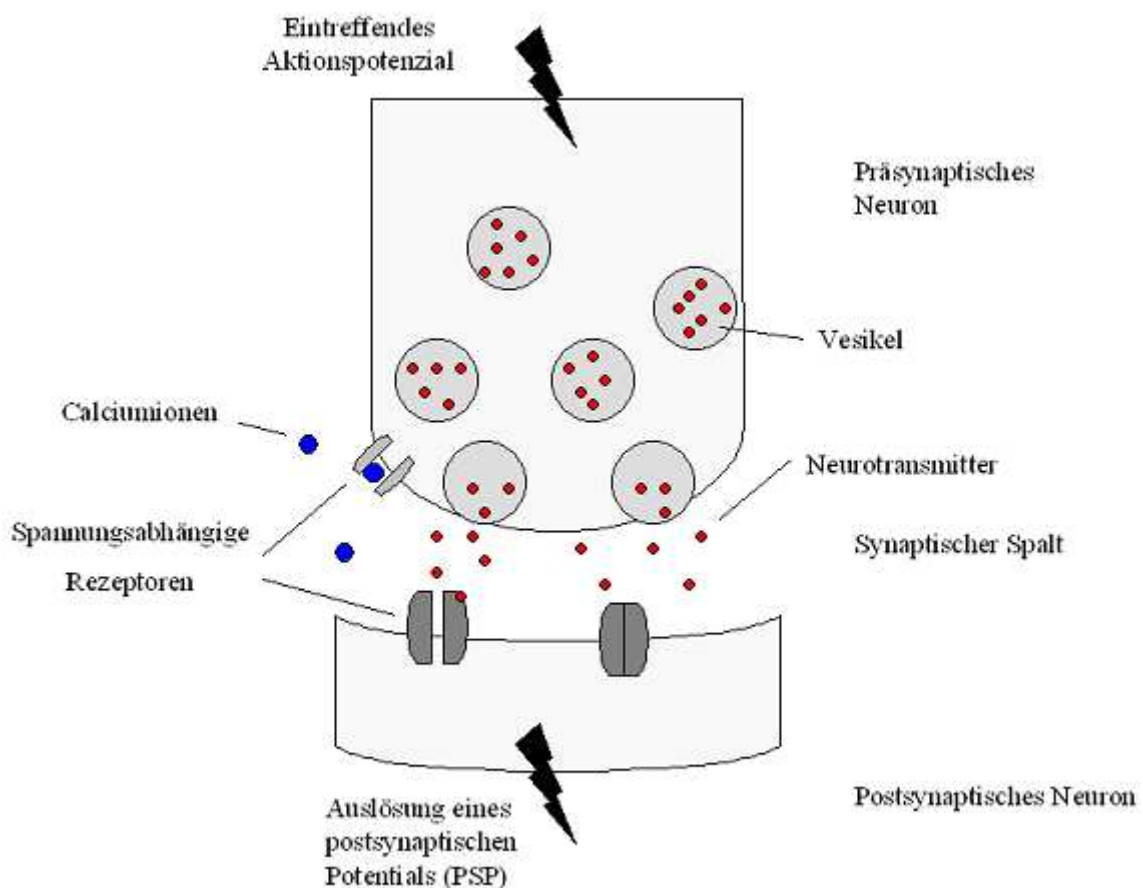


Abbildung 2: Freisetzung von Neurotransmittern in den synaptischen Spalt (vereinfachte Darstellung)

1.1.2. Die Entstehung von Langzeitpotenzierung (LTP)

Donald O. Hebb stellte schon 1949 die These auf, dass die aktivitätsabhängige Veränderung synaptischer Übertragung zwischen Neuronen die Grundlage menschlichen Lernens und Gedächtnisbildung sei (Hebb, 1949). Demzufolge erzeugt jede ins Nervensystem eingehende Lernerfahrung ein typisches Muster neuronaler Aktivität (z.B. eine bestimmte Frequenz von APs) in einer umgrenzten Anzahl von Zellen, die so ein geschlossenes Netzwerk, einen Schaltkreis formieren. Die Aktivität durchläuft wiederholt die synaptischen Verbindungen der beteiligten Neuronen (Reverberationskreise) und führt so zur Verbesserung der synaptischen Übertragung und langfristig zu morphologischen Veränderungen der Synapsen sowie deren Gesamtzahl (siehe Review von Cooke & Bliss, 2006).

Wird ein Neuron ausreichend stark gereizt, entlädt sich sein Signal an nachgeschaltete Neurone in Form eines APs. Einzelne EPSPs sind in der Regel zu schwach um von sich aus am Axonhügel ein AP auszulösen. Ist das postsynaptische Neuron durch (konvergierende) Stimulation benachbarter Neurone vor Eintreffen des EPSPs bereits teilweise depolarisiert, reicht auch die schwache Stimulation zur Auslösung eines APs aus. Man spricht bei dieser Verstärkung synaptischer Übertragung durch doppelte Stimulation von einer Potenzierung. Die Aufrechterhaltung verstärkter synaptischer Übertragung über einen längeren Zeitraum hinweg wird als Langzeitpotenzierung (long-term potentiation, LTP) bezeichnet (Pinel, 2001). Ein Kern-Mechanismus liegt dabei in den postsynaptischen N-Methyl-D-Aspartat(NMDA)-Rezeptoren. NMDA-Rezeptoren befinden sich in Form von Ionenkanälen in der postsynaptischen Membran. Durch Bindung von Glutamat aus dem präsynaptischen Neuron werden sie aktiviert und bewirken einen Einstrom von Ca^{++} -Ionen. Im Normalfall werden sie allerdings durch Magnesium-Ionen blockiert. Nur unter der Voraussetzung einer teilweisen Depolarisation des postsynaptischen Neurons löst sich der Magnesium-Block und ermöglicht die Öffnung der Calciumkanäle. Somit tritt eine NMDA-Aktivierung nur bei konvergierender Erregung des prä- und postsynaptischen Neurons oder bei hochfrequenter und wiederholter Depolarisation des

postsynaptischen Neurons auf (Kandel & Jessel, 1996). Dies macht ihre Beteiligung an der Entstehung von LTP wahrscheinlich.

Die eigentliche Verstärkung synaptischer Erregungsübertragung wird durch den Calciumeinstrom ins Zytoplasma des postsynaptischen Neurons induziert. Dort aktiviert Calcium bestimmte Proteinkinasen (Proteinkinase C und Ca/Calmodulin-abhängige Kinasen), wodurch einerseits vermehrt AMPA-Rezeptoren in die postsynaptische Membran eingebaut werden, andererseits auch ihre Sensitivität für Glutamat, bzw. ihre Leitfähigkeit, durch Phosphorylierung erhöht wird (Cooke & Bliss, 2006; Kandel & Jessel, 1996). Darüber hinaus kommt es längerfristig zu einem vermehrten Aussprossen dendritischer Dornen (Pinel, 2001; Engert & Bonhoeffer, 1999). Die Mechanismen der LTP-Entstehung sind allerdings noch nicht geklärt und unterliegen kontroverser Diskussion.

Wichtige Merkmale der LTP sind ihre Input-Spezifität und ihre Assoziativität. Input-spezifisch bedeutet, dass nur eine bestimmte synaptische Verbindung verstärkt wird, ohne die umliegenden, möglicherweise inaktiven Neurone zu beeinflussen. Das Merkmal der Assoziativität bezieht sich darauf, dass ein einzelner Stimulus nicht ausreicht um LTP zu induzieren, sondern eine zusätzliche (konvergierende) Erregung erfordert (Hebbsche Regel). Trifft das afferente Signal eines präsynaptischen Neurons ein, nachdem im postsynaptischen Neuron bereits ein PSP ausgelöst wurde, tritt der gegenteilige Effekt der Potenzierung, eine Depression, auf, die die synaptische Übertragung zwischen den Neuronen vermindert. Längerfristige Depression wird analog zur LTP als Langzeitdepression (long-term depression, LTD) bezeichnet.

1.1.3. Experimentelle Befunde zur LTP-Entstehung

LTP und LTD gehören mittlerweile zu den am intensivsten untersuchten neurophysiologischen Formen von Lernen und Gedächtnis im Säugetier (Cooke & Bliss, 2006), dennoch sind viele molekulare Mechanismen der LTP-Entstehung noch ungeklärt. Sie scheinen auch zwischen verschiedenen Neuronen-Arten zu variieren, insbesondere in Hinblick auf den genauen Entstehungsort der Potenzierung (prä- vs. postsynaptische Prozesse) und der beteiligten Rezeptoren

(nicht immer scheint eine NMDA-Aktivierung erforderlich, siehe Cooke & Bliss, 2006). In experimentellen Modellen wird LTP häufig über die Aktivierung von NMDA-Rezeptoren durch Glutamat am depolarisierten postsynaptischen Neuron ausgelöst, dessen Depolarisation durch längere, hochfrequente (tetanische) Stimulation herbeigeführt wurde. LTP-Effekte lassen sich dabei am leichtesten in Gewebe von Strukturen auslösen, für die eine wichtige Funktion in Gedächtnisprozessen belegt ist, insbesondere im Hippocampus - obwohl LTP auch in neokortikalen Zellen (Fox, 2002) und im Rückenmark auftritt (Ji et al., 2003). Häufig untersucht werden hippocampale Verbindungen zwischen Pyramidenzellen der CA1-Region im Hippocampus und den sogenannten Schaffer-Kollateralen (Cooke & Bliss, 2006). Whitlock und Kollegen (2006) verglichen die Entstehung von LTP bei Ratten durch Hippocampus-abhängiges Lernen einerseits, im Gegensatz zu LTP-Induktion durch tetanische Stimulation des Hippocampus, andererseits. Sie stellten fest, dass beide Prozesse über denselben Rezeptor vermittelt wurden. Dagegen verhindert eine Blockade des NMDA-Rezeptors im Hippocampus durch seinen Antagonisten DL-2-amino-5-phosphonopentanoic acid (AP5) die Entstehung von LTP und führt zu Beeinträchtigungen im Hippocampus-abhängigen räumlichen Lernen bei Ratten (Morris, 1989). Ebenso fanden Tsien und Kollegen (1996) reduzierte LTP und eine Beeinträchtigung im räumlichen Lernen und Gedächtnis bei transgenen Mäusen („bedingte NR1 knockout Mäuse“), deren NMDA-Rezeptoren selektiv der CA1-Region des Hippocampus blockiert waren. Diese und ähnliche Befunde belegen Hebb's frühe Annahme, die Entstehung von LTP sei für Gedächtnisprozesse fundamental.

Eine direkte Untersuchung von LTP in menschlichem Gewebe ist nur in Ausnahmefällen möglich, z.B. wenn sich Patienten mit Temporallappen-Epilepsie einer operativen Entfernung des epileptischen Herdes unterziehen (Chen et al., 1996). LTP lässt sich dabei eher bei Patienten induzieren, deren Herd nicht unmittelbar im Hippocampus lag, sondern an einer anderen Stelle des Temporallappens. In Gewebe, das einer hippocampalen Herdregion entnommen wurde, ist die LTP-Auslösung vermutlich deshalb erschwert, weil die Synapsen durch die ständige epileptische Aktivität übersättigt sind (Cooke & Bliss, 2006).

1.2. Induzierung LTP-ähnlicher synaptischer Plastizität durch transkraniale Magnetstimulation (TMS) im Menschen

Stimulationstechniken wie die Transkranielle Magnetstimulation (TMS) erlauben die nicht-invasive Stimulation von Neuronen und eignen sich daher gut zur Untersuchung von LTP in Humanstudien.

Ein Magnetstimulator besteht im Wesentlichen aus einem Pulskondensator, verbunden mit einer Magnetspule, die einfach per Hand zu halten und zu führen ist. Durch den Pulskondensator wird innerhalb von 100-800 μ s ein Magnetfeld in der Spule auf- und wieder abgebaut. Durch die zeitliche Veränderung des Magnetfelds wird ein elektrisches Feld unterhalb der Spule erzeugt, das einen Stromfluss in leitfähigem Material oder menschlichem Gewebe verursacht. Dadurch lässt sich von außerhalb des Schädels ein umgrenztes Neuronen-Areal schmerzfrei und wiederholbar elektrisch stimulieren (Siebner & Ziemann, 2007). TMS kann nicht zur Stimulation des Hippocampus eingesetzt werden um dort die Entstehung von LTP zu untersuchen, da mit diesem Verfahren nur Strukturen erreicht werden, die maximal zwei Zentimeter unterhalb der Schädel-Oberfläche liegen. Außerdem existieren keine Verhaltensmaße, die so selektiv die Hippocampus-Aktivität erfassen würden, als dass eine Erfolgskontrolle oder Monitoring der Stimulation möglich wäre (Cooke & Bliss, 2006). Daher wird stattdessen das Repräsentationsfeld bestimmter Hand-Muskeln im primären motorischen Kortex stimuliert, so dass an der zum Stimulationsort kontralateralen Hand motorisch evozierte Potenziale (MEPs) als Kontrolle und Ergebnis-Parameter abgeleitet werden können (siehe Stefan et al., 2000, 2004; Ziemann et al., 2004). Die Ableitung der MEPs erfolgt über Oberflächenelektroden, die über dem Zielmuskel angebracht werden und die elektromyographische (EMG) Summenantwort aller motorischen Einheiten des Muskels erfassen.

Technische Veränderungen der Grundapparatur haben unterschiedliche Spulen-Arten und verschiedene Pulskondensatoren hervorgebracht, mit denen die Simulations-Methode variiert werden kann (z.B. Einzelreiz-Stimulation vs. repetitiver Stimulation, s.u.) und unterschiedliche Stimulations-„Protokolle“ eingesetzt werden können. Die am häufigsten eingesetzten Spulenformen sind die Rundspule, die die Stimulation eines größeren neuronalen Areals ermöglicht,

und die Achterspule (auch Doppelspule genannt), durch die eine relativ fokussierte Stimulation eines ausgesuchten Areals möglich ist. Die Achterspule verdankt ihren Namen ihrer Form, der einer liegenden „8“ ähnlich sieht. Bei den Kondensatoren muss in Abhängigkeit von der Pulsform, die der Impuls zwischen Kondensator und Spule annimmt, zwischen monophasischen und biphasischen Geräten unterschieden werden. Monophasische Pulse zeigen eine ausgeprägte Polarität mit schnellem Anstieg und gemäßigtem Abfall, dauern etwas länger als biphasische und erfordern mehr Energie. Sie werden auch als „standard-rate-stimulator“ bezeichnet und kommen bei der Einzelreiz-Stimulation zum Einsatz. Biphasische Geräte induzieren einen sinusförmigen Impuls mit Polaritätswechsel, bei dem ein Teil der zum Puls-kondensator zurückschlagenden Energie direkt für die Induzierung eines neuen Impulses verwendet werden kann. Daher sind schnelle, wiederholte Reizabfolgen (repetitive TMS, rTMS) von bis zu 100 Hz nur mit biphasischen Kondensatoren möglich. (In der vorliegenden Studie wurde ein monophasischer Kondensator für Einzelreiz-Stimulation zusammen mit einer Achterspule verwendet, siehe Abschnitt 2.1.4.).

Zur Induzierung von LTP oder LTD wird ein spezielles TMS-Protokoll verwendet, die gepaarte assoziative Stimulation (paired associative stimulation, PAS). Ursprünglich beschrieben wurde das Verfahren von Classen et al., bekannt vor allem in der modifizierten Version von Stefan und Mitarbeitern (Stefan et al., 2000). Dieses Stimulations-Protokoll kombiniert die wiederholte, niederfrequente Stimulation eines peripheren Handnervs (z.B. des N. medianus oder N. ulnaris) mit der transkraniellen Einzelreiz-Stimulation des Handareals auf dem kontralateralen primären motorischen Kortex (Stefan et al., 2000; *Abbildung 3*). Die im peripheren Nerv ausgelösten somatosensiblen afferenten Signale erreichen den motorischen Kortex entweder direkt über thalamomotorkortikale Projektionen oder indirekt über die Verschaltung mit dem primären somatosensiblen Kortex (Siebner & Ziemann, 2001). Die zur Ausbildung von LTP notwendige simultane Erregung von Neuronen lässt sich durch diese Methode gut modellieren.

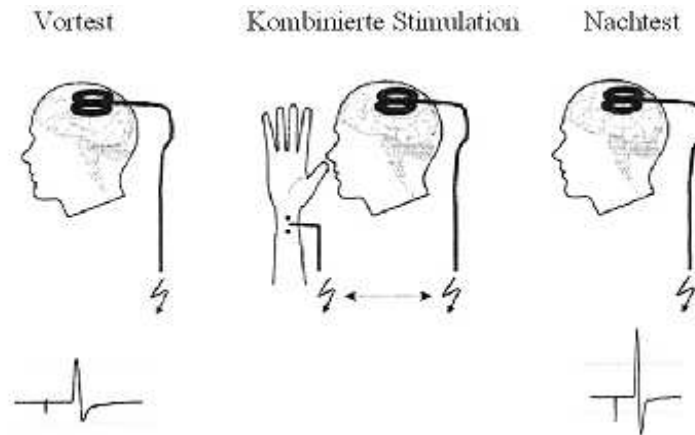


Abbildung 3: Paired associative stimulation (PAS)

Stimulationsprotokoll zur Induzierung LTP-ähnlicher Plastizität; kombinierte elektrische Stimulation eines peripheren Handnervs und transkranielle Einzelreiz-Stimulation des kontralateralen motorischen Kortex. Die Amplitude abgeleiteter motorisch evozierter Potenziale (MEPs) am Zielmuskel steigt infolge der PAS (modifiziert nach Stefan et al., 2000).

Treffen die afferenten Signale des Handbervs in Form erregender postsynaptische Potenziale (EPSP) kurz vor der Verabreichung des transkraniellen Einzelreizes auf die Neurone, führt dies zu einer LTP-ähnlichen synaptischen Plastizität. Das Interstimulusintervall (ISI) zwischen beiden Reizen entspricht im Optimalfall der N_{20} -Latenz eines somatosensorisch evozierten Potenzials (SEP) nach distaler Reizung des Handnervs (Siebner & Ziemann, 2001). Da die Bestimmung der individuellen N_{20} -Latenz für experimentelle Studien oft als zu aufwändig gesehen wird, wird das ISI häufig pauschal auf 25 ms festgelegt (Stefan et al., 2000; Tecchio et al., 2008). Wird das ISI deutlich reduziert, z.B. auf N_{20-5} , tritt eine LTD ein (Ziemann et al., 2004). Da die Induzierung LTP-ähnlicher Plastizität maßgeblich von der Einhaltung des optimalen ISI abhängt, wird sie auch als abhängige Plastizität (spike-timing dependent plasticity, STDP) bezeichnet. Als Maß der Induktion LTP-ähnlicher Plastizität werden die motorisch evozierten Potenziale (MEPs) am Zielmuskel des stimulierten Handareals (bei peripherer Stimulation des N. medianus ist das der M. abductor pollicis brevis) durch Oberflächenelektroden abgeleitet. Führt die wiederholte Kombination peripherer und transkranieller Reizung zu LTP-ähnlicher Plastizität, nehmen die MEP-Amplituden mit zunehmender Stimulationsdauer zu, typi-

scherweise gemessen als Vergleich von Prä-Test zu Post-Test. Sollte durch ein abweichendes ISI LTD-ähnliche Plastizität hervorgerufen werden, verringern sich die MEP-Amplituden.

Die PAS wurde mittlerweile in einer Vielzahl an Studien eingesetzt und hat sich mit MEP-Amplitudenveränderungen von 30-120 Minuten grundsätzlich als Verfahren zur Induzierung von LTP-ähnlicher Plastizität bewährt (Fratello et al., 2006; Ridding & Flavel, 2006; Stefan et al., 2000, 2004). Allerdings unterliegen die erzielten MEP-Anstiege erheblicher interindividueller und auch intraindividuellere Variabilität. Einige Studien berichten über relativ hohe Raten von „Non-Respondern“, Probanden, bei denen entweder keine LTP-ähnliche Plastizität oder sogar LTD induziert wurde (Quarterone et al., 2003; Sale et al., 2007). Müller-Dahlhaus und Kollegen mussten sogar in rund der Hälfte ihrer Probanden ausbleibende LTP-ähnliche Plastizität hinnehmen (Müller-Dahlhaus et al., 2008). Selbst zwischen Probanden, die einen LTP-Effekt zeigen, unterliegt der Anstieg der MEP-Amplituden einer großen interindividuellen Variabilität. In Stefan et al. (2000) lag die Spannbreite prozentualer MEP-Zunahme zwischen den Probanden bei 5 – 185 %.

Darüber hinaus beeinflussen auch Faktoren wie die Ausrichtung der Spule, Intensität und Dauer der Stimulation (Di Lazzaro et al., 2004), unwillkürliche Anspannung des Zielmuskels (Kuijrai et al., 2006), die Tageszeit der PAS-Testung (LTP ist nachmittags leichter induzierbar als vormittags, siehe Sale et al., 2007), der hormonelle Status bzw., Menstruationszyklus bei weiblichen Probanden (Smith et al., 1999) sowie die Aufmerksamkeits-Ausrichtung der Probanden (Stefan et al., 2004) die Höhe der MEP-Amplituden. Dies zeigt, wie wichtig eine standardisierte Vorgehensweise und der Ausschluss, bzw. die Kontrolle beeinflussender Faktoren sind. In der vorliegenden Studie wurde deshalb versucht, Tageszeit und Aufmerksamkeitsfokus der Probanden während der Testung so konstant wie möglich zu halten (siehe Abschnitt 2.2.4).

1.3. Lernen und Gedächtnis

In den Abschnitten 1.1.1 bis 1.1.2 wurden die physiologischen Prozesse beschrieben, die als grundlegend für Lernen und Gedächtnis angesehen werden. Im folgenden Abschnitt werden die langfristigen Folgen synaptischer Plastizität in Form von Lernen und Gedächtnisleistungen dargestellt, die über Verhaltensdaten erfasst werden. Da sich der Plastizitätsbegriff hier auf größere neuronale Netzwerke bezieht, handelt es sich hier also um kortikale Plastizität.

Unter dem Begriff Gedächtnis werden verschiedene Prozesse und funktionelle Systeme zusammengefasst, die gemeinsam das Entstehen, die Aufrechterhaltung und den Abruf von Wissen ermöglichen. Fokale Läsionen wie z.B. durch Schlaganfälle können zu relativ klar abgegrenzten Leistungsdefiziten führen, die Hinweise auf die strukturelle Organisation und zeitliche Aspekte von Gedächtnisprozessen liefern. Dabei wird klar, dass unter den Begriff Gedächtnis verschiedenen Gedächtnisfunktionen fallen, die entweder nach zeitlichen Kriterien oder nach Merkmalen der zu speichernden Informationen beschrieben werden können. Es wird davon ausgegangen, dass den Systemen jeweils eigene anatomische Korrelate und funktionelle Netzwerke zugrunde liegen, die miteinander kooperieren und konkurrieren können.

1.3.1. Das deklarative/nicht-deklarative Gedächtnis-System

Squire (1987) unterscheidet zwischen zwei Unterformen des Gedächtnisses - einem bewussten „deklarativen“ Gedächtnis, das semantisches Fakten-Wissen und autobiographische Erinnerungen beinhaltet, und einem unbewussten „nicht-deklarativen“ Gedächtnis für motorische und prozedurale Fertigkeiten (sogenannte Handlungsrountinen wie z.B. Fahrradfahren, das Anwenden einer überlernten mathematischen Formel oder der Grammatik der Muttersprache), klassischer Konditionierung und Priming (*Abbildung 4*). Anstelle von deklarativ und nicht-deklarativ werden häufig auch die Bezeichnungen explizit und implizit verwendet (Hartje & Poeck, 2002; Squire, 2009).

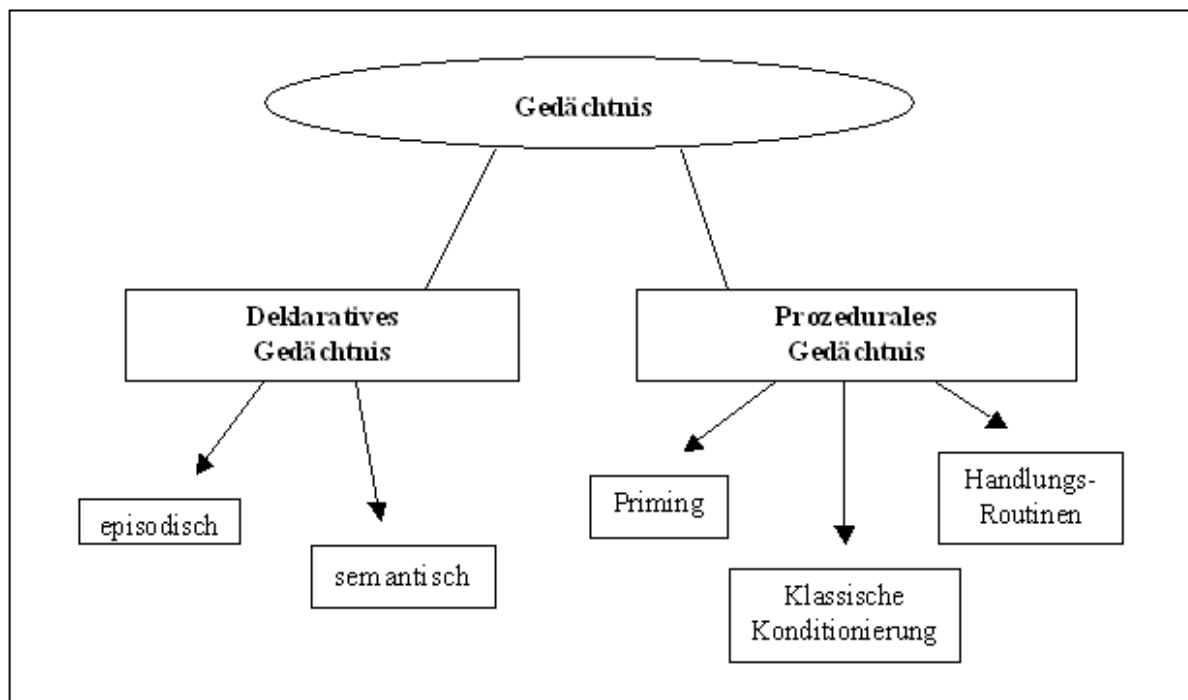


Abbildung 4: Gedächtnismodell nach Squire (1987)

Beide Gedächtnisbereiche arbeiten ineinandergreifend um letztlich die bestmögliche Verhaltensanpassung der Person an ihre Umwelt zu ermöglichen. Anatomisch betrachtet, unterliegen sie jedoch verschiedenen Strukturen und funktionellen Netzwerken. Deklaratives Lernen wird dem medialen Temporalappen (MTL), speziell dem Hippocampus und dem parahippocamparen Gyrus zugeschrieben (Squire, 2009). Bei nicht-deklarativem Lernen spielen die Basalganglien, insbesondere die Basalganglien und das Striatum eine tragende Rolle. (Knowlton & Squire, 1996; Rieckmann & Bäckman, 2009).

1.3.2. Das Mehrspeichermodell des Gedächtnisses

Das Mehrspeichermodell von Atkinson und Shiffrin (1968) unterscheidet verschiedene Gedächtnisfunktionen anhand eines zeitlichen Gradienten. Es werden drei verschiedene „Gedächtnis-Speicher“ angenommen, die sich anhand ihrer Kapazität, ihrer zeitlichen Ausdehnung und dem bewussten Zugriff auf ihre Inhalte voneinander unterscheiden. In zeitlich aufeinander folgender Reihe besteht das Gedächtnis aus dem sensorischen Register, dem Kurzzeitgedächtnis

und dem Langzeitgedächtnis (siehe *Abbildung 5*). Das sensorische Register (in anderen Modellen auch Ultrakurzzeitgedächtnis genannt) stellt eine Art Sammelbecken für alle eingehenden sensorischen Reize dar, die zahlreich und ungefiltert in Sekundenbruchteilen von allen Sinnesorganen aufgenommen werden. Informationen können hier nur für ca. 500 ms aufrecht erhalten werden, in denen sie Identifikations- und Filterprozesse durchlaufen. Nur vergleichsweise wenige Informationen werden in den nächsten Speicher, das Kurzzeitgedächtnis (KZG) weitergeleitet, der größere Teil wird gelöscht. Das KZG hat eine Kapazität von 7 ± 2 Informationseinheiten und eine zeitliche Ausdehnung von wenigen Sekunden. Baddeley unterscheidet beim KZG noch eine zusätzliche Funktion, das Arbeitsgedächtnis (AG, auch im Deutschen häufig unter seiner englischen Bezeichnung, „working memory“, zu finden; Baddeley, 1986; Baddeley & Hitch, 1974). Hierbei handelt es sich um eine aktive Komponente des KZG, durch die die Informationen nicht nur aufrechterhalten, sondern auch kognitiv bearbeitet werden können.

Gedächtnisinhalte, die aus dem KZG ins Langzeitgedächtnis (LZG) überführt werden sollen, erfordern zusätzliche Verarbeitungsressourcen, so dass nur ein Teil der KZG-Inhalte spontan ins LZG übergehen. Alle anderen Informationen müssen aktiv, d.h. durch gezielte Aufmerksamkeitszuwendung im Gedächtnis konsolidiert werden. Dies ist die gängigste Form des gezielten Merkens oder Auswendiglernens. Die Konsolidierung wird dabei meist intuitiv durch die Wiederholung des Lernmaterials oder durch bewusstes Verknüpfen mit bereits Gelerntem unterstützt. Das Fassungsvermögen des LZG scheint unbegrenzt zu sein, wie auch seine zeitliche Beständigkeit grundsätzlich keiner Begrenzung unterliegt (Hartje & Poeck, 2002). Sollen Erinnerungen aus dem LZG abgerufen werden, werden sie vorübergehend wieder ins KZG zurückgeholt und dort gegebenenfalls mit neuen Informationen verknüpft.

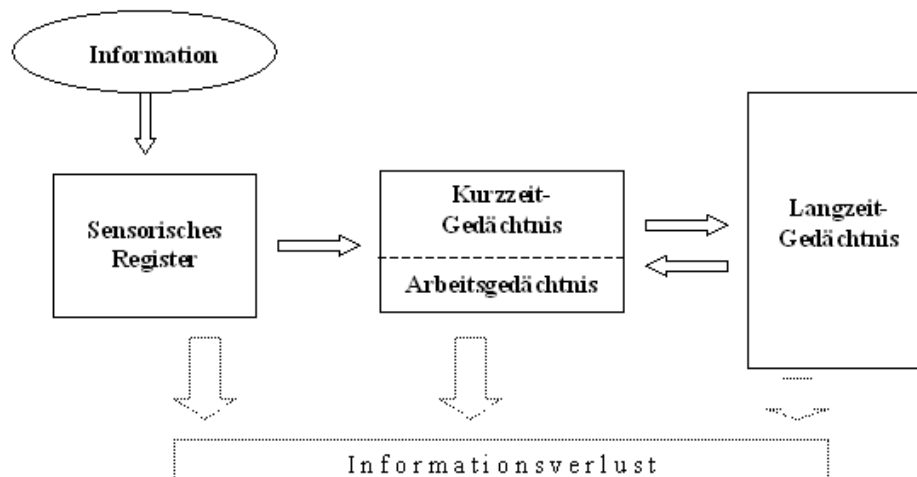


Abbildung 5: Das Mehrspeichermodell des Gedächtnisses nach Atkinson & Shiffrin (1968)

Die theoretischen Vorstellungen des Mehrspeichermodells und die Unterscheidung zwischen deklarativem und nicht-deklarativem Gedächtnis nach Squire sind gut miteinander vereinbaren.

Entsprechend der verschiedenen Gedächtnisinstanzen des Mehrspeichermodells versuchen neuropsychologische Gedächtnistests, die Lernfähigkeit innerhalb der einzelnen Einheiten zu erfassen um Störungen der Gedächtnisfunktionen möglichst klar zu umkreisen. Gedächtnistests, die die Kapazität des KZG erfassen, verlangen Probanden, sich eine Reihe Wörter, Zahlen oder Formen nach dem ersten Hören oder Sehen unmittelbar zu replizieren. Die Anzahl der Informationseinheiten wird dabei nach jeder erfolgreichen Replikation erhöht, bis der Proband sie nicht mehr korrekt wiedergeben kann und somit die Grenze seines KZG Speichers erreicht ist. Bei der Erfassung des Arbeitsgedächtnisses müssen mit den jeweiligen Informationen zusätzliche mentale Operationen durchgeführt werden. Zum Beispiel sollen die Wörter, Zahlen oder Formen in umgekehrter Reihenfolge wiedergegeben werden, als sie dem Probanden vorgelesen wurden, oder Zahlen nach vorgegebenen mathematischen Regeln miteinander verrechnet werden. Die Testung des LZG beinhaltet zunächst das Lernen bestimmter Informationen (Wortlisten, Geschichten, Anordnung von Objekten oder Gegenständen usw.) und ein Abruf aus dem Gedächtnis ca. 30-60

Minuten später. Je mehr Informationen in diesem Abrufdurchgang noch erinnert werden können, desto besser konnte das Lernmaterial im LZG gefestigt, sprich konsolidiert werden.

Das Gedächtnismodell nach Squire lenkt die Aufmerksamkeit zudem auch auf unbewusste Gedächtnisleistungen. Da allerdings weder Lernprozesse noch Abruf aus dem nicht-deklarativen Gedächtnis dem Bewusstsein zugänglich gemacht werden können, erfordern Lern-Paradigmen hier andere, indirekte Maße der Gedächtnisleistung. Dies geschieht zum Beispiel über die Messung von Reaktionszeiten, Entscheidungsverhalten unter hohem Zeitdruck oder Fehlerhäufigkeiten in motorischen Aufgaben.

1.4. Rolle des Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in neuronaler Plastizität und Lernen

Der „brain-derived neurotrophic factor“ (BDNF) ist ein Neurotrophin, das im gesamten menschlichen Gehirn exprimiert wird. Wie andere Neurotrophine auch kommt ihm eine wichtige Rolle in der Genese, der Ausdifferenzierung und dem Überleben von Neuronen im heranreifenden Gehirn zu. Auch im erwachsenen Gehirn ist BDNF unabdingbar, da es sowohl direkt als auch indirekt Prozesse neuronaler Plastizität beeinflusst. Direkt greift es in zelluläre Prozesse neuronaler Plastizität ein, indirekt wirkt es auf andere Prozesse ein, die wiederum ihrerseits Plastizität beeinflussen, wie z.B. bei affektiven Störungen wie Depression. Besonders zahlreich finden sich BDNF-Rezeptoren (Tyrosinkinase-Rezeptor, TrkB) in gedächtnis-relevanten Gehirnstrukturen wie dem präfrontalen Kortex (prefrontal cortex, PFC) und im Hippocampus (siehe Review von Cunha et al., 2010). Infolge neuronaler Aktivität steigt dort die Ausschüttung von BDNF (Egan et al., 2003). Durch Modifizierung synaptischer Verbindungen sowohl exzitatorischer als auch inhibitorischer Synapsen werden synaptische Plastizität und Lernprozesse unterstützt: Kurzfristig fördert BDNF die Potenzierung synaptischer Erregungsübertragung durch eine Depolarisation postsynaptischer Neurone und erleichtert die Induzierung präsynaptischer Neurotransmitter-Ausschüttung. Darüber hinaus ist es an langfristigen Veränderungen der Neurotransmitter- und Neuropeptid-Synthese beteiligt, bewirkt anhaltende Verände-

rungen der Erregbarkeit von Neuronen und der synaptischen Plastizität (siehe Review von Pearson-Fuhrhop et al., 2010). Dadurch wird BDNF zum wichtigen Mediator von LTP und aktivitätsabhängiger Plastizität. Umgekehrt führt ein Mangel an BDNF zu einer Vielzahl funktioneller Defizite. Studien an BDNF knockout Mäusen berichten über erhebliche Störungen bei der Entwicklung des Nervensystems und einer stark verkürzten Lebenserwartung dieser Tiere. Diejenigen, die das Erwachsenenalter überhaupt erreichen, weisen ein vermindertes räumliches Lernen und eingeschränkte LTP-Entstehung auf (Linnarsson et al., 1997; Minichello et al., 1999). Ebenso führt eine Blockade der BDNF-Aktivität im Hippocampus dazu, dass eine durch physisches Training induzierte Lernverbesserung nicht auftritt (Vaynman & Gomez-Pinilla, 2005). Viele der durch BDNF-Inhibition herbeigeführten kognitiven Defizite zeigen sich als teilweise oder weitestgehend reversibel, wenn im Anschluss exogenes BDNF zugeführt wird (Pearson-Fuhrhop et al., 2010).

1.5. Genetische Einflüsse auf neuronale Plastizität und Lernen

1.5.1. Single nucleotide polymorphisms (SNPs)

In den letzten Jahrzehnten wurde für eine Reihe einzelner Gene ein gezielter Einfluss auf Gedächtnisfunktionen nachgewiesen, so zum Beispiel für das Gen des BDNF (Hariri et al., 2003; Egan et al., 2003), Catechol-O-methyltransferase (COMT; de Frias et al., 2010), Apolipoprotein E (APO E4; Bertram et al., 2007) und das Kibra-Gen (Papassotiropoulos et al., 2006; Schaper et al., 2007). Im Tiermodell ist es möglich, bestimmte knockout-Varianten zu züchten, bei denen das Protein, das durch das interessierende Gen kodiert wird, nicht zum Tragen kommt. In Humanstudien können nur natürlich auftretende genetische Veränderungen untersucht werden. Sogenannte „single nucleotide polymorphisms“ (SNPs) treten auf, wenn durch Mutation an einer bestimmten Stelle des Gens ein Basenpaar durch ein anderes ersetzt ist, so dass eine abweichende Aminosäure kodiert wird. Das so exprimierte Protein weist veränderte chemische und strukturelle Eigenschaften auf, die es in seiner Funktionalität beeinflussen (z.B. ein schnellerer Zerfall des Moleküls durch geringere Thermostabilität im Falle des COMT Val158Met Polymorphismus). Ist das Protein in Gedächtnis-

relevante Prozesse involviert, kann ein SNP sich nachteilig auf die Lernfähigkeit seines Trägers auswirken (Egan et al., 2003; Erickson et al., 2008; Papassotiropoulos et al., 2006).

1.5.2. Auswirkung des BDNF Polymorphismus Val66Met auf Lernen und Gedächtnis

Im Fall des BDNF-Gens findet sich ein solcher Polymorphismus in Form eines Valin → Methionin Austauschs in der 5' Region an Codon 66 (Val66Met) des Chromosoms 11p13. Der SNP betrifft nicht das eigentliche BDNF-Protein selbst, sondern seinen Vorläufer pro-BDNF, aus dem das ausgereifte Protein (mature BDNF, mBDNF) gebildet wird (Seidah et al., 1996). Der Val66Met führt zu einem reduzierten intrazellulären BDNF-Spiegel und einer verringerten aktivitätsabhängigen BDNF-Sekretion (Egan et al., 2003). Der Sekretionsweg des BDNF wird wahrscheinlich durch das Fehlen eines Transport-Signals gestört, so dass zwar nicht weniger BDNF synthetisiert wird, allerdings nur in geringem Maße aus der Zelle freigesetzt werden kann (Chen et al., 2004). Eine beeinträchtigte Interaktion des BDNF-Moleküls mit einem wichtigen Transport-Protein, dem Sortilin, wurde von Chen und Kollegen (2005) belegt.

Darüber hinaus fanden sich bei Trägern des Met-Allels strukturelle Veränderungen in Form reduzierter Hippocampus- und PFC-Volumina (Chen et al., 2004; Pezawas et al., 2004) und eine verminderte Hippocampus-Aktivierung während der Enkodierung und dem Wiedererkennen von nicht-verbalem deklarativen Lernmaterial (Hariri et al., 2003).

Ebenso berichten verschiedene Studien von schwächeren deklarativen Lern- und Gedächtnisleistungen bei Trägern des Met-Allels im Vergleich zu Nicht-Met-Allel Trägern (Egan et al., 2003; Goldberg et al., 2008; Hariri et al., 2003). In zwei nicht-deklarativen, motorischen Lern-Paradigmen zeigten Met-Allel Träger eine verminderte Lernleistung (Fritsch et al., 2010) und wiesen eine höhere Fehleranfälligkeit sowie eine schlechtere Aufrechterhaltung des motorischen Lernerfolgs nach einem Zeitintervall von vier Tagen auf (McHughen et al., 2010). Im Unterschied dazu fanden allerdings Harris und Mitarbeiter (2006)

vergleichbare Leistungen für beide Genotypen in einer verbalen Lernaufgabe (logisches Gedächtnis) bei gesunden älteren Probanden.

Die wenigen Studien, die die Induzierung LTP/LTD- ähnlicher Plastizität in Abhängigkeit von BDNF Val66Met untersucht haben, berichten eine reduzierte synaptische Plastizität bei transkranieller Stimulation des motorischen Kortex (Cheeran et al., 2009; Kleim et al., 2006). Allerdings sei hier anzumerken, dass von den verschiedenen eingesetzten Stimulations-protokollen nicht alle einen Einfluss des Genotyps zeigten. So unterschieden sich die beiden BDNF Genotypen bei Cheeran und Kollegen nach einem PAS-Protokoll, in dem eine periphere elektrische Reizung des N. medianus und eine MEP-Ableitung am M. abductor pollicis brevis vorgenommen wurde, hinsichtlich ihrer MEP-Amplitude nur trendweise (Cheeran et al., 2008). Fritsch et al. berichteten, dass sowohl Met-Allel Träger als auch Nicht-Met-Allel Träger gleichermaßen von einer anodalen transkraniellen Gleichstromstimulation (transcranial direct stimulation, tDCS; die Reizung des Kortex durch Gleichstrom mittels an den Kopf angelegten Elektroden) profitierten, die während einer motorischen Lernaufgabe verabreicht wurde (Fritsch et al., 2010; abgesehen davon zeigte sich in derselben Aufgabe eine bessere Lernleistung der Nicht-Met-Allel Träger).

Eine mögliche Ursache der uneinheitlichen Befunde könnte in einer genetischen Interaktion des BDNF Polymorphismus mit anderen SNPs begründet sein (siehe Nagel et al., 2008). Auch findet sich der Effekt des Val66Met häufiger bei Personen kaukasischer Abstammung als in asiatischen Populationen (siehe Review von Bath & Lee, 2006), was möglicherweise auch mit der unterschiedlichen Auftretenshäufigkeit des Met-Allels in den verschiedenen untersuchten Ethnien zusammenhängt (rund 30% in kaukasischen Stichproben, dagegen 51% in einer japanischen Stichprobe, siehe Shimzu et al., 2004).

Eine weitere Ursache abweichender Befunde könnte das Probandenalter sein. Mit zunehmendem Alter treten Volumenreduktionen in Gehirnarealen wie dem PFC und MTL auf - Strukturen, denen eine wichtige Funktion in Gedächtnisprozessen zukommt (Hedden & Gabrieli, 2004). Zusätzlich verstärken chemische Veränderungen, wie z.B. die verminderte Ausschüttung von Dopamin im PFC, die altersbedingten Gedächtnisdefizite. Lindenberger und Kollegen formulierten

die Hypothese, dass gerade in diesem Zustand schwindender Ressourcen der Einfluss eines SNP, der per se schon zu verminderter kognitiver Leistungsfähigkeit beiträgt, besonders deutlich auftritt (Lindenberger et al., 2008). Dadurch können mehrere Untersuchungen desselben SNP an jungen oder älteren Probanden zu durchaus unterschiedlichen Ergebnissen führen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass BDNF Val66Met eine wichtige Rolle in der Entstehung von LTP und Lernprozessen zukommt, scheint eindeutig belegt zu sein. Dennoch werden die genauen Wirkungsmechanismen noch diskutiert, und auch mögliche Einflussfaktoren, die widersprüchliche Befunde erklären könnten, sind noch ungeklärt.

1.6. Hypothesen der Untersuchung

Aus den vorherigen Abschnitten ging hervor, dass BDNF eine wichtige Rolle in Prozessen der neuronalen Plastizität einnimmt, und dass genetisch bedingte Varianten eine Verminderung neuronaler Plastizität verursachen.

Die Befunde bisheriger Studien zeigen allerdings keinen zwingenden Einfluss des Met-Allels auf LTP-ähnliche synaptische Plastizität und Gedächtnisfunktionen. Mögliche Ursachen können an den zum Teil geringen Stichprobenumfängen liegen (Cheeran et al., 2008; Hariri et al., 2003; Kleim et al., 2006). Eine andere Schwäche vieler Studien besteht darin, dass die wenigen erhobenen Maße der Gedächtnisleistung nicht mit dem übrigen kognitiven Leistungsprofil in einen Gesamt-Zusammenhang gestellt wurden (Hariri et al., 2003; Li et al., 2009; van Wingen et al., 2010). Eine gleichzeitige Testung der Induzierbarkeit synaptischer Plastizität und umfassende Verhaltensdaten (nicht-deklaratives Lernen, neuropsychologische Leistungsfähigkeit) wurde bislang nicht durchgeführt.

In der vorliegenden Studie soll daher der Einfluss des BDNF Val66Met sowohl auf Maße LTP-ähnlicher synaptischer Plastizität erhoben werden, als auch die Leistungen in nicht-deklarativem Regellernen und prozedural motorischem Lernen erfasst werden. Darüber hinaus werden verbale und nicht-verbale deklarative Gedächtnisleistungen sowie zusätzliche kognitive Funktionen, die Lernprozesse unterstützten, überprüft. Dazu werden Aufmerksamkeit (Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit), Exekutivfunktionen, Wortflüssigkeit und allgemeine Intelligenz bestimmt.

Basierend auf den Befunden früherer Untersuchungen lauten die Hypothesen der Studie:

1. Träger des BDNF Val66Met Polymorphismus zeigen eine im Vergleich zu Nicht-Met-Allel Trägern verminderte Induzierbarkeit LTP-ähnlicher synaptischer Plastizität.

2. Träger des Val66Met Polymorphismus zeigen eine geringere Lernleistung in nicht-deklarativen und deklarativen Lern-Paradigmen.
3. Das Ausmaß der Beeinträchtigung in der Ausbildung synaptischer Plastizität bei Met-Allel Trägern steht im Zusammenhang mit Leistungsdefiziten in anderen kognitiven Funktionen. Insbesondere wird hier ein Zusammenhang zu den erhobenen Maßen der Lern- und Merkfähigkeit erwartet.

Eine detaillierte Beschreibung der zur Operationalisierung der Hypothesen verwendeten Methoden und Testinstrumente, wird im folgenden Abschnitt gegeben.

2. Methoden

2.1. Probanden und Materialien

2.1.1. Formale Bedingungen

Die Studie wurde gemäß der revidierten Deklaration von Helsinki (1996) in Übereinstimmung mit den ethischen Grundsätzen für medizinische Forschung am Menschen durchgeführt und von der lokalen Ethik-Kommission der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster genehmigt.

2.1.2. Studiendesign

Die Untersuchung bestand aus einem Voruntersuchungstermin und drei aufeinanderfolgenden experimentellen Sitzungen (siehe *Abbildung 6*). Die Voruntersuchung diente dem Zweck, letztlich nur diejenigen Probanden zur weiteren Testung einzuladen, für die sich keinerlei Ausschlusskriterien gezeigt hatten und die bestimmte genetische Voraussetzungen erfüllten (siehe 2.2.2.1. Voruntersuchung).

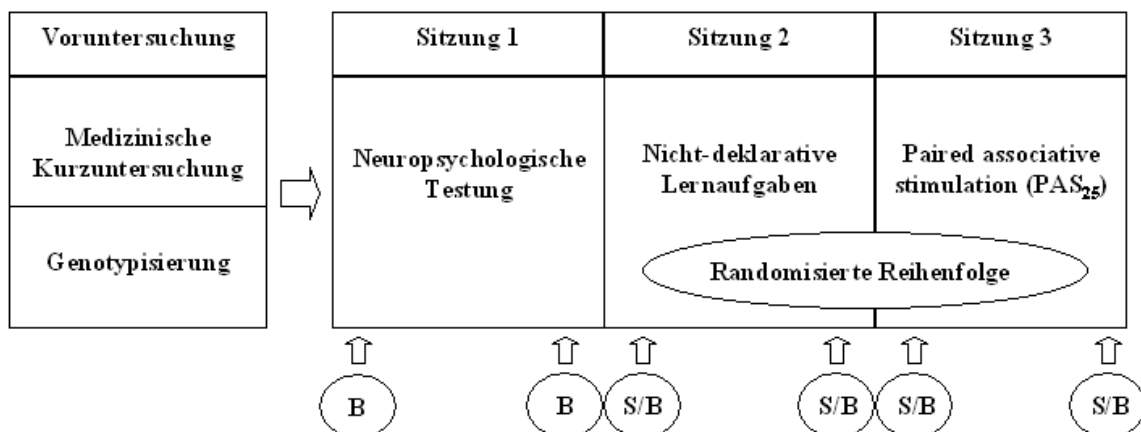


Abbildung 6: Zeitlicher Ablauf der Studie

Die Gesamtdauer der Untersuchung betrug ca. 7 Stunden, verteilt auf die Voruntersuchung (30 Min.), Sitzung 1 (120 Min.), Sitzung 2 (120 Min.) und Sitzung 3 (150 Min.). Die Reihenfolge von Sitzung 2 und Sitzung 3 erfolgte nach Zufallsprinzip um mögliche Transfer-Effekte auszuschließen. Zu Beginn und am Ende jeder Sitzung wurde der Blutdruck (B) erfasst, in Sitzung 2 und 3 auch die Stimmung (S, Positive and Negative Affect Scale, PANAS, deutsche Übersetzung von Krohne et al., 1996).

Die drei experimentellen Sitzungen wurden innerhalb eines Zeitraums von 7-10 Tagen durchgeführt und fanden in den Testungsräumen der Abteilung für Neurologie des Universitätsklinikums Münster statt. Studienteilnehmer erhielten eine Aufwandsentschädigung von 8,00 Euro pro Teststunde und eine Erstattung eventuell anfallender Anfahrtskosten.

2.1.2.1. Voruntersuchung und Teilnahmebedingungen

Insgesamt 76 Personen wurden über das Intranet der WWU Münster und Anzeigen in lokalen Zeitungen für die Voruntersuchung rekrutiert.

Die Probanden lasen zunächst eine Aufklärung über den Zweck der Studie, ihren Ablauf sowie die eingesetzten Testverfahren und gaben schriftlich ihr Einverständnis (siehe „Probanden-Aufklärung“, Anhang A). Während der Voruntersuchung erhielten die Probanden eine medizinische Kurzuntersuchung, bestehend aus einer anamnestischen Befragung nach Vorerkrankungen, einer allgemeinen körperlichen Untersuchung und einer Überprüfung der Hirnnerven. Weitere Ein- und Ausschlusskriterien wurden vom Probanden mittels Fragebogen erfasst (siehe „Dokumentationsbogen“ in Anhang B und „TMS-Fragebogen“ in Anhang C). Eine Übersicht aller Ein- und Ausschlusskriterien ist in *Tabelle 1* aufgeführt.

Nur bei Probanden, die die Teilnahmebedingungen erfüllten, folgte nach der medizinischen Kurzuntersuchung eine Blutabnahme (ca. 5 ml EDTA-Blut), auf deren Basis die BDNF Genotypisierung vorgenommen wurde. Bis zur weiteren Verwendung wurden die Blutproben anonymisiert beschriftet und gekühlt gelagert.

Tabelle 1: Ein- und Ausschlusskriterien zur Studienteilnahme

Einschlusskriterien
<ul style="list-style-type: none"> - Alter zwischen 18 und 50 Jahren - Rechtshändigkeit (LQ der Händigkeit ≥ 70) - Deutsch als Muttersprache - Normales oder korrigiertes Sehvermögen
Ausschlusskriterien
<ul style="list-style-type: none"> - Unbehandelte Arterielle Hypertonie (systolischer Blutdruck >140 mmHg) - unbehandelte Hyperthyreose - unbehandelte Stoffwechselerkrankung - unbehandelte chronische Erkrankungen (Nieren- oder Leberinsuffizienz) - unbehandelte Herz- oder Gefäßerkrankung (Verkalkung der Blutgefäße) - unbehandelte Atemwegserkrankung - unbehandeltes Engwinkelglaukom - unbehandelte Störungen des blutbildenden Systems - unbehandelte Magen- oder Duodenalgeschwür - Verdächtige, nicht diagnostizierte Hautkrankheiten oder Melanome - Verdacht auf Drogen- oder Alkoholabusus - Einnahme zentralnervös wirksamer Medikamente - Psychiatrische Vorerkrankung oder Anhalt für depressive Symptomatik (BDI) - Neurologische Vorerkrankung - Konsum von >50g Alkohol pro Tag - Konsum von >10 Zigaretten pro Tag - Konsum von >5 Tassen/Gläser koffeinhaltiger Getränke tgl. - Nikotinentzug - Herzschrittmacher oder elektrisch, magnetisch oder mechanisch aktivierte Implantate im Kopfbereich - Sonstiges Metall im Kopfbereich (Splitter, Schrauben oder Clips) - Epilepsie (selbst oder in der Familie) - Teilnahme an weiteren klinischen Studien - Bei Frauen: Anhalt für eine Schwangerschaft, Stillen

LQ: Lateralitätsquotient; Rechtshändigkeit der Probanden wurde mit Hilfe des Edinburgh Inventory (Oldfield, 1971) sichergestellt, bei dem ein LQ von ≥ 70 den Probanden als rechtshändig ausweist;

BDI: Beck's Depression Inventory (Hautzinger et al., 1995).

2.1.2.2. BDNF-Genotypisierung

Aus dem EDTA-Blut der Probanden wurde mit Hilfe eines „Blood Mini Kits“ der Firma Quiagen (Quiagen GmbH, Hilden, Deutschland) gemäß beiliegender Anweisung DNA isoliert. Eine Konzentrationsbestimmung via Photometer zeigte, dass aus jeweils 200 µl Blut die angestrebte Menge von 30-50 ng/µl DNA extrahiert wurde.

Zur Bestimmung des BDNF Val66Met Träger Status der Probanden wurde aus der Genbank (<http://genome.ucsc.edu>) zunächst der genaue Locus des Polymorphismus herausgesucht. Über eine Primer-Datenbank (<http://primer3.sourceforge.net>) wurden die benötigten Sequenzierungs-Primer für die anschließende Polymerase-Ketten-Reaktion (polymerase chain reaction, PCR) bestimmt.

In der PCR definiert jeweils ein Vorwärts- und ein Rückwärts-Primer den Start- und Endpunkt eines spezifischen Gen-Abschnitts, der aus der denaturierten DNA herausgeschnitten wird. Zur enzymatischen Vervielfältigung des Abschnitts wird die modifizierte DNA-Polymerase des Bakteriums *Thermus aquaticus* (Taq-Polymerase) verwendet, die wegen ihrer Hitzbeständigkeit für die bei hohen Temperatur-Zyklen ablaufende PCR gut geeignet ist.

Für die PCR wurden die Primer F-AGAGTGATGACCATCCTTTTCC (vorwärts) und R-GCCCGAACTTTCTGGTC CTC (rückwärts) unter Zuhilfenahme eines „Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit“ (Applied Biosystems, Darmstadt, Deutschland) verwendet. Der gesuchte Gen-Abschnitt hatte dabei eine Länge von 241 Basenpaaren (241 bp). Zur Aufreinigung wurde das PCR-Produkt gefiltert (Gelfiltrationsplatte, Sephadex, GE Healthcare) und abzentrifugiert. Der Val66Met Status wurde mit einem 3730 DNA-Analyser (Applied Biosystems) bestimmt.

2.1.3. Stichprobenbeschreibung

Die ersten 20 Träger des BDNF Polymorphismus (18 Val/Met und 2 Met/Met Träger) wurden zur den nachfolgenden experimentellen Sitzungen eingeladen. Aus dem Pool der übrigen genotypisierten Probanden wurden 20 Nicht-Met-Allel Träger ausgewählt, die hinsichtlich Alter, Geschlecht und Anzahl der Bil-

dungsjahre vergleichbar waren. Dadurch ergaben sich zwei Versuchsgruppen aus jeweils 16 Frauen und 4 Männern (siehe *Tabelle 2*). Da nur Probanden kaukasischer Abstammung an der Voruntersuchung teilnahmen, entfiel das An-
gleichen der Gruppen nach Ethnizität.

Tabelle 2: (Soziodemographische) Merkmale der beiden BDNF Genotyp-Gruppen

	Met-Allel	Nicht-Met-Allel	p
Frauen/ Männer	16/ 4	16/ 4	-
Alters-Spanne	20 - 49	19 - 49	-
Alter	27,6 ± 8,3	26,8 ± 7,6	,753
Anzahl Bildungsjahre	17,0 ± 2,2	16,5 ± 2,7	,564
Händigkeit	91,7 ± 9,2	95,0 ± 6,2	,212
Body mass index (BMI)	21,3 ± 3,8	22,7 ± 3,9	,313
Becks Depressions Inventar (BDI)	3,8 ± 3,6	3,8 ± 4,5	-

Händigkeit gemäß Lateralitätsquotient des Edinburgh Inventory (Oldfield, 1971); alle Werte sind dargestellt als Mittelwert ± Standardabweichung (m ± SD); p-Werte für unkorrigiertes Signifikanzniveau im t-Test für unabhängige Stichproben.

2.1.4. Induzierung LTP-ähnlicher Plastizität: Paired associative stimulation (PAS₂₅)

Für die transkranielle Magnetstimulation wurde ein Magstim 200 (Magstim Co, Whitland, Dyfed, UK) zusammen mit einer Achterspule verwendet. Der Flügel-
durchmesser der Spule pro Seite betrug 9,5 cm.

2.2.4.1. Bestimmung der TMS-Basis-Parameter

Für die Verabreichung von transkraniellen Einzelreizen auf dem motorischen Kortex wurde die Spule tangential zur Schädel-Oberfläche und im 45° Winkel zur Sagittal-Ebene gehalten, so dass ein Stromfluss von lateral-posterior in Richtung medial-anterior induziert wurde. Die optimale Spulenposition wurde bestimmt, indem auf dem Handareal des linken motorischen Kortex Einzelreize zur Auslösung motorisch evozierter Potenziale (MEPs) im Zielmuskel (rechter

M. abductor digiti minimi) vergeben wurden (siehe *Abbildung 7*). Der sogenannte „hot spot“ bezeichnet die Stelle, an der konsistent MEPs von durchschnittlich 1,0 mV Amplitudengröße induziert werden konnten. Zur Bestimmung der motorischen Ruheschwelle im entspannten Muskel (resting motor threshold, RMT) wurde die Stimulationsintensität gesucht, bei der in 5 aus 10 aufeinanderfolgenden Reizen MEP-Amplituden von 50 μ V ausgelöst werden konnten. Die Stimulationsintensität ist im Folgenden als % maximaler Stimulatorleistung angegeben.

Die Messung der MEP-Amplituden erfolgte über die Ableitung der elektromyographischen (EMG)-Aktivität auf der Hautoberfläche über dem Zielmuskel mit Hilfe von bipolaren Oberflächenelektroden (Standard Ag/AgCl-Elektroden). Die „differente“ Elektrode wurde über dem Muskelbauch, die „indifferente“ auf dem Muskelansatz angebracht (Muskelbauch-Muskelsehnen-Montage, belly tendon montage). Das MEP-Signal wurde für den Analog-zu-Digital(AD)-Umwandler verstärkt und durchlief eine Bandpassfilterung von 10 und 1000 Hz (Keypoint Portable, Dantec, Bristol, UK).

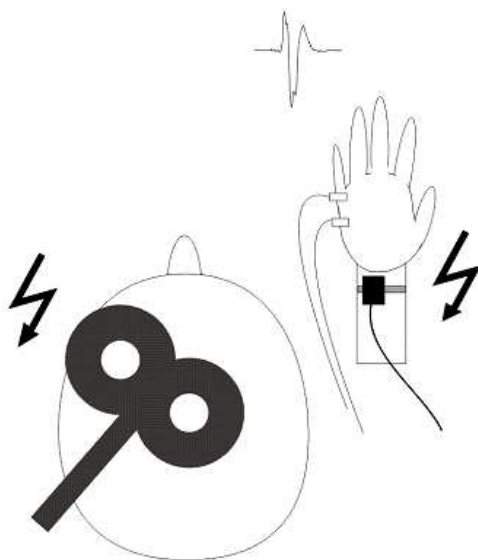
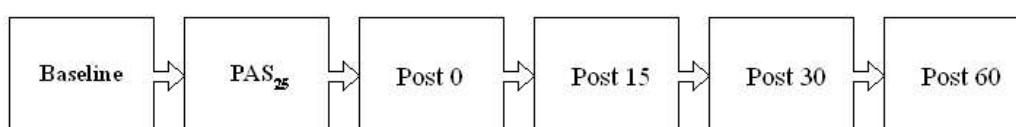


Abbildung 7: Ablauf des Paired associative stimulation (PAS₂₅)-Protokolls
Kombination aus der peripheren elektrischen Stimulation des rechten N. ulnaris und der parallelen transkraniellen Stimulation des kontralateralen motorischen Handareals.

Das PAS₂₅-Protokoll bestand aus 90 Reizpaaren mit einem Interstimulus-Intervall von 25 ms, die über einen Zeitraum von 30 Minuten verabreicht wurden.

Jeweils vor Beginn (Baseline) und 0, 15, 30 und 60 Minuten nach Ende der PAS₂₅ wurden 20 motorisch evozierte Potenziale (MEPs) im M. abductor digiti minimi aufgezeichnet.



Die Stimulationsintensität, die sowohl in Prä- und Post-Testung als auch während der PAS₂₅ verwendet wurde, entsprach der Intensität, die MEP-Amplituden zwischen 0,5 und 1,0 mV Größe auslösten. Gemessen an den individuellen RMTs aller Probanden bewegte sich die Test-Stimulationsintensität zwischen 110% bis 130% maximaler Stimulatorleistung.

2.2.4.2. Ablauf des PAS₂₅-Protokolls

Für die periphere elektrische Stimulation des N. ulnaris wurde ein standard Stimulations-block mit proximaler Kathoden-Ausrichtung am rechten Handgelenk befestigt. Zunächst wurde die sensible Reizschwelle des Probanden bestimmt, indem die Stimulationsintensität von 6 mA an sukzessive reduziert wurde bis er angab den Reiz nicht mehr zu spüren. Für die anschließende PAS₂₅-Vergabe wurde eine Reizintensität von 300% der sensiblen Reizschwelle verwendet. Die Dauer des elektrischen Stimulus betrug 0,2 ms.

Das PAS₂₅-Protokoll umfasste 90 Reiz-Paare aus jeweils einem peripheren elektrischen und einem transkraniellen Einzelreiz, die in Abständen von 20 Sekunden verabreicht wurden (Dauer 30 Minuten). Das Interstimulusinterval (ISI) zwischen peripherem und transkraniellen Impuls betrug 25 ms (PAS₂₅).

Die Probanden saßen während der Testung aufrecht in einem bequemen Infusionsstuhl. Um ihre Aufmerksamkeit so gut wie möglich standardisiert zu halten, wurden sie instruiert, die Anzahl der laufenden Einzelimpulse mitzuzählen und wurden nach 45 bzw. 80 Einzelreizen nach ihrem Zwischenergebnis gefragt.

Während des Prä-Tests (Baseline) und in vier Post-Tests (post 0, post 15, post 30 und post 60 Minuten nach Ende der PAS₂₅) wurden jeweils 20 aufeinanderfolgende TMS Einzelreize (ohne gleichzeitige periphere elektrische Stimulation) verabreicht. Die MEP-Amplituden wurden gemittelt und für die spätere Datenanalyse gespeichert.

2.2.5. Erfassung nicht-deklarativen Lernens

2.2.5.1. Lernen einer künstlichen Grammatik

Aufgaben zum Erlernen einer künstlichen Grammatik entsprechen meist dem Paradigma des „artificial grammar learning“, entwickelt von Arthur Reber in den 1960er Jahren (Reber, 1967). Dabei handelt es sich um eine zweiteilige Aufgabe, die das nicht-deklarative (implizite) Lernen eines komplexen Regelsystems erfasst, das auch als künstliche Grammatik bezeichnet wird. Im ersten Teil der Aufgabe werden den Probanden Buchstaben-Sequenzen präsentiert, die sie sich so gut wie möglich merken sollen (Lernphase). Dabei wissen sie nicht, dass die Sequenzen einer künstlichen Grammatik folgen. Im zweiten Aufgabenteil sollen die Probanden neue Buchstaben-Sequenzen intuitiv als grammatikalisch oder nicht-grammatikalisch klassifizieren (Testphase oder Klassifikationsphase). Der Anteil der korrekt klassifizierten Sequenzen reflektiert das nicht-deklarativen Wissen, das im ersten Aufgabenteil erworben wurde.

2.2.5.1.1. Konstruktion der Aufgabe

Für die verwendete Aufgabe wurden entsprechend der Reber Grammatik 200 Sequenzen aus 4 bis 12 Ziffern gebildet (*Abbildung 8*; vgl. auch de Vries et al., im Druck). Die Hälfte wurde in der Lernphase eingesetzt, die andere Hälfte wurde für die Testphase modifiziert. In 50 der 100 Sequenzen für die Testphase wurden zwei Buchstaben miteinander vertauscht, wobei sich diese Buchstaben nicht direkt am Anfang oder am Ende der Sequenz befinden durften. Dadurch ergaben sich je 50 grammatikalische (G) und 50 nicht-grammatikalische (NG) Sequenzen.

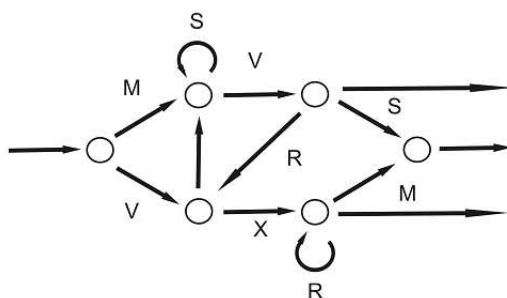


Abbildung 8: Künstliche Grammatik nach Reber (1967)
Grammatikalische Buchstabensequenzen wurden entsprechen dem Durchlaufen der Richtungspfeile gebildet

2.2.5.1.2. Ablauf der Testung

Lernphase: Alle 100 grammatikalischen Buchstaben-Sequenzen wurden nacheinander für jeweils fünf Sekunden auf einem Computerbildschirm präsentiert (Presentation software, siehe nbs.neuro-bs.com). Danach sollten die Probanden die jeweilige Sequenz durch Eingabe auf der Computer-Tastatur wiederholen. Tippfehler konnten korrigiert werden, allerdings erhielten sie keine Rückmeldung über die Richtigkeit ihrer Eingabe. Die Dauer der Lernphase betrug ca. 30 Minuten.

Testphase: Nach Ende der Lernphase wurden die Probanden darüber aufgeklärt, dass die Buchstaben-Sequenzen, die sie gerade gesehen hatten, einem grammatikalischen Regelsystem entsprachen hatten. Für den nun folgenden Aufgabenteil sollten sie die neu präsentierten Sequenzen hinsichtlich ihrer Grammatikalität beurteilen, d.h., ob eine jeweils dargestellte Sequenz der Grammatik entsprach oder gegen sie verstieß. Sie wurden instruiert, ihre Entscheidung so schnell wie möglich und ihrem Bauchgefühl folgend zu fällen, indem sie eine von zwei entsprechenden Tasten auf der Computertastatur drückten. Die Testphase dauerte ca. 10 Minuten.

2.2.5.2. Fingersequenz-Aufgabe

Ein häufig verwendetes Paradigma zur Erfassung prozedural motorischen Lernens ist die serielle Reaktionszeit-Aufgabe („serial reaction time task“, SRTT; Cleeremans & McClelland, 1991; Howard & Howard, 1997; Nissen & Bullemer, 1987). Dabei müssen die Probanden auf Abfolgen visueller Stimuli reagieren (i.d.R. durch Drücken bestimmter Tasten), die entweder nach einem vordefinierten probabilistischen Regelsystem (finite-state Grammatik) oder nach Zufallsprinzip erstellt werden. Die Probanden wissen nicht, nach welchem Prinzip die Tastenabfolgen erscheinen, erlernen aber im Laufe der Aufgabenbearbeitung unbewusst das Regelsystem. Dadurch verkürzen sich die Reaktionszeiten (RT) für Regel-konforme (sequenzielle) Abfolgen von Stimuli, wohingegen Reaktionszeiten für randomisierte Abfolgen relativ konstant bleiben. Die Differenz der mittleren Reaktionszeiten sequenzieller und randomisierter Abschnitte gibt das Ausmaß prozedural motorischen Lernens/Regellernens wieder. Das Regelsys-

tem ist so komplex, dass die Probanden kein bewusstes, deklaratives Wissen über die Tastenabfolgen erlangen können, so dass nicht-deklaratives Lernen auch bei längerer Aufgabenbearbeitung gewährleistet ist (Jimenez et al., 1996).

2.2.5.2.1. Konstruktion der Aufgabe

Die Fingersequenz-Aufgabe der vorliegenden Studie entspricht dem Paradigma der SRTT, allerdings wurde hier eine modifizierte Version verwendet, in der sich kürzere und längere sequenzielle Abschnitte mit randomisierten abwechselten (85% sequenzielle und 15% randomisierte Elemente pro Aufgaben-Block). Sequenzielle Abschnitte wurden gemäß des probabilistischen Regelsystems in *Abbildung 9* gebildet, in dem verschiedene Regeln festlegen, welche Tasten-Reihenfolgen zulässig sind und mit welcher Wahrscheinlichkeit die Tasten aufeinander folgen (siehe auch Jimenez et al., 1996).

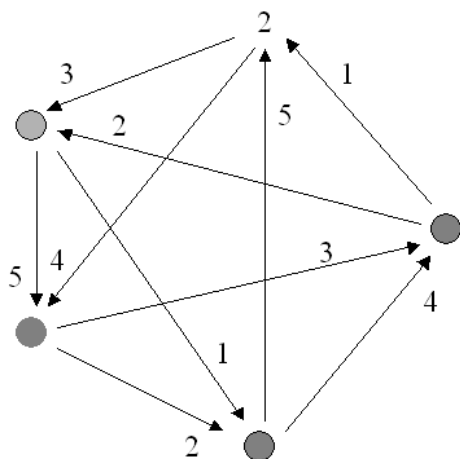


Abbildung 9: Regelsystem der Fingersequenz-Aufgabe
Zahlen geben die Positionen auf dem Computerbildschirm an, an der eine Taste gedrückt werden soll;
graue Kreise entsprechen Knotenpunkten, an denen ein Algorithmus bestimmt, an welcher Position das Sternchen als nächstes erscheinen wird (modifiziert nach Jimenez et al., 1996).

Die Aufgabe erforderte insgesamt 2025 Tasten-Klicks, aufgeteilt auf acht Blöcke (ein Block mit 254 Stimuli, die sieben folgenden zu je 253). Üblicherweise nimmt die RT innerhalb der ersten Blöcke für sequenzielle und randomisierte Tastenabfolgen ab, da die Probanden sicherer im Umgang mit dem zunächst ungewohnten Eingabesystem werden. Darüber hinaus erfordert das Lernen des Regelsystems auch das Bearbeiten einer größeren Anzahl an Tastenabfolgen,

so dass ein maximaler Lerneffekt daher für den letzten Block (Block 8) erwartet wird.

2.2.5.2.2. Ablauf der Testung

Die Probanden saßen vor einem Computerbildschirm, wobei sie ihre rechte Hand auf eine spezielle Maus mit fünf Tasten ablegten (siehe *Abbildung 10, A*). Jeder Finger der Hand wurde auf einer ihm zugewiesenen Taste platziert, so dass separate Klicks pro Finger aufgezeichnet werden konnten. Auf dem Computerbildschirm wurden alle fünf Tasten-Positionen durch jeweils einen Punkt dargestellt. An einer der Positionen erschien anstelle des Punktes ein Sternchen, gemäß der Vorgabe des Regelsystems (siehe *Abbildung 10, B*). Die Probanden sollten bei Erscheinen des Sternchens so schnell wie möglich die entsprechende Finger-Taste drücken. Nach jedem Tastendruck folgte 500 ms später das nächste Sternchen. Die Probanden erhielten keine Rückmeldung über die Richtigkeit oder Geschwindigkeit des Tastendrucks. Zwischen den acht Blöcken der Aufgabe gab es jeweils drei Minuten Pause.

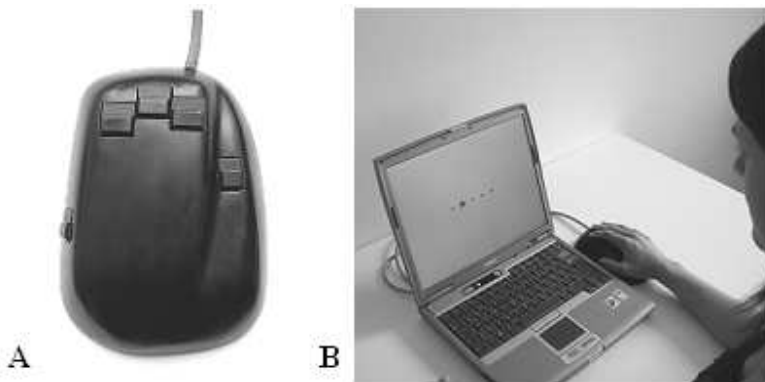


Abbildung 10: Fingersequenz-Aufgabe

A: Ergonomisch geformte Maus, bei der jeder Finger der rechten Hand auf je einer Taste platziert wurde (alle Probanden waren Rechtshänder).

B: Probanden waren instruiert schnellstmöglich die Taste der Maus zu drücken, an deren Position auf dem Bildschirm ein Sternchen erschien.

2.2.6. Neuropsychologische Testbatterie

In einer umfangreichen neuropsychologischen Testbatterie wurden Leistungen des verbalen und nicht-verbalen Kurzzeit- und Arbeitsgedächtnisses sowie der Lern- und Merkfähigkeit erhoben, visuo-konstruktive Leistungen und visuelle

Lern- und Merkfähigkeit, Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit, Exekutivfunktionen, Wortflüssigkeit sowie allgemeine Intelligenz. Alle verwendeten Inventare werden im Folgenden kurz erläutert. *Tabelle 3* auf Seite 38 gibt darüber hinaus einen Überblick über die eingesetzten Tests und ihre wichtigsten Maße.

2.2.6.1. Testung des Kurzzeit- und Arbeitsgedächtnis

Der Untertest Zahlennachsprechen aus der Wechsler Memory Scale – Revidierte deutsche Version (WMS-R, Härtling et al., 2000) erfasst die Kapazität des verbalen Kurzzeit- und Arbeitsgedächtnisses in zwei aufeinander folgenden Teilaufgaben. In der ersten Aufgabe werden dem Probanden Zahlenreihen vorgelesen, die dieser jeweils wiederholen soll, wobei sich die Anzahl der Ziffern pro Reihe im Laufe des Tests erhöht. Der Testabbruch erfolgt erst, wenn der Proband zwei Zahlenreihen gleicher Länge nicht mehr korrekt wiedergeben kann. In der zweiten Teilaufgabe soll der Proband neue Zahlenreihen jeweils in der umgekehrten Reihenfolge wiederholen, in der sie ihm vorgelesen wurden. Da die Informationen hier nicht nur im Gedächtnis aufrechterhalten bleiben müssen, sondern auch durch Umstellen der Reihenfolge manipuliert werden müssen, beansprucht dieser Aufgabenteil insbesondere das Arbeitsgedächtnis. Aus der Anzahl korrekt wiedergegebener Zahlenreihen aus der ersten und zweiten Teilaufgabe berechnet sich ein Rohwert für die kombinierte Kurzzeit- und Arbeitsgedächtnisleistung.

Mit dem Untertest Blockmerkspanne der WMS-R lässt sich auf analoge Weise die nicht-sprachliche Kurzzeit- und Arbeitsgedächtnisleistung erfassen. Es werden hier anstelle von Zahlen kleine quadratische Blöcke verwendet, die sich in unregelmäßiger Anordnung auf einer Platte befinden. Durch Antippen der Blöcke werden dem Probanden Reihenfolgen bestimmter Blöcke vorgegeben, die er korrekt nachtippen soll – im ersten Aufgabenteil vorwärts, im zweiten rückwärts. Entsprechend dem Testaufbau des Untertests Zahlennachsprechen errechnet sich ein gemeinsamer Rohwert aus dem ersten und zweiten Aufgabenteil der Blockmerkspanne.

2.2.6.2. Testung der verbalen Lern- und Merkfähigkeit

Der Verbale Lern- und Merkfähigkeitstest (VLMT, Helmstaedter, 2001) bietet Maße für verschiedene verbale Gedächtnisfunktionen an. Er besteht aus einer 15 Wörter umfassenden Liste, die der Proband in maximal fünf Vorlese- und Abfrage-Durchgängen lernen soll. Nach jedem Vorlesen wird die Anzahl erinnerter Wörter notiert. Nach dem fünften Durchgang wird einmalig eine Liste mit 15 neuen Wörtern vorgelesen (Interferenzliste), danach erfolgt ein erneuter Abruf der Wörter der ersten Liste (Durchgang 6). Nach einem Intervall von 30 Minuten, in dem andere Aufgaben bearbeitet werden, wird der Proband spontan aufgefordert, die Wörter der ersten Liste zu erinnern (Durchgang 7). Die Wiedererkennens-Leistung wird überprüft, indem eine Wortliste vorgelesen wird, die sowohl die Wörter der ersten Liste, als auch die der Interferenzliste und 20 neue Begriffe enthält (Wiedererkennens-Liste). Der Proband soll die Wörter der ersten Liste unter den anderen Wörtern identifizieren.

Somit erfasst der VLMT die Parameter Lernzuwachs (Summe aus Durchgang 1 bis 5), Resistenz des Abrufs gegenüber Interferenz (Durchgang 6), Behaltensleistung nach verzögertem Abruf (Durchgang 7) und Wiedererkennen (korrigierte Wiedererkennens-Liste).

Der WMS-R Untertest Verbales Paarassoziationslernen erfordert das Lernen einer Liste von paarweise vorgelesenen Wörtern über mehrere Darbietungs- und Abruf-Durchgänge. Beim Abruf wird jeweils das erste Wort eines Paares vorgegeben, der Proband soll das zweite ergänzen. Aus der Summe korrekter Erinnerungen der ersten drei Durchgänge ergibt sich ein Maß der verbalen Lernfähigkeit, aus der Anzahl erinnerter Wörter nach einem Zeitraum von 30 Minuten ein Maß der verbalen Merkfähigkeit.

2.2.6.3. Testung von Visuo-Konstruktion und visueller Lernfähigkeit

Im Rey-Osterrieth Complex Figure Test (RCFT; Meyers & Meyers, 1995) soll eine detaillierte Figur zunächst abgezeichnet und nach einem Intervall von 30 Minuten aus dem Gedächtnis frei gezeichnet werden. Mit diesem Test enthielt die Testbatterie ein Maß für Visuo-Konstruktion und die visuelle Merkfähigkeit.

Die visuelle Lern- und Merkfähigkeit wurde ebenfalls mit dem WMS-R Untertest Visuelles Paarassoziationslernen getestet. Hier werden Kombinationen von Farben und simplen, abstrakten Formen präsentiert, wobei der Proband in sechs Darbietungsdurchgängen lernen soll, welche Farbe und welche Form jeweils gemeinsam auftreten. Die Anzahl richtig zugeordneter Kombinationen unmittelbar nach jedem Darbietungsdurchgang ergibt die visuelle Lernleistung, die Anzahl richtiger Kombinationen nach einem Intervall von 30 Minuten die visuelle Merkfähigkeit.

2.2.6.4. Testung von Aufmerksamkeit und Exekutivfunktionen

Der Trail Making Test (TMT, Spreen & Strauss, 2002) besteht aus zwei Aufgabenteilen, Teil A und Teil B. Zur Erfassung der Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit durch Teil A sollen Zahlen in aufsteigender Reihenfolge so schnell wie möglich miteinander verbunden werden. In Teil B sollen abwechselnd Zahlen und Buchstaben miteinander verbunden werden, beide jeweils in aufsteigender Reihenfolge. Die Bearbeitungszeit ergibt hier ein Maß kognitiver Flexibilität und exekutiver Funktionen.

2.2.6.5. Testung der Wortflüssigkeit

Der Regensburger Wortflüssigkeitstest (RWT, Aschenbrenner et al., 2000) setzt sich aus vier Untertests zusammen, in denen der Proband auf Zeit möglichst viele Wörter aufzählen soll, die verschiedenen Vorgaben entsprechen. Im Untertest „Formallexikalische Wortflüssigkeit“ sollen möglichst viele Wörter genannt werden, die mit dem Anfangsbuchstaben „S“ beginnen. In der Bedingung „Formallexikalischer Kategorienwechsel“ sollen abwechselnd Wörter mit den Anfangsbuchstaben „G“ und „R“ genannt werden. In „Semantisch-kategorielle Flüssigkeit“ sollen möglichst viele Wörter genannt werden, die der Kategorie „Tiere“ entstammen. Im Untertest „Semantischer Kategorienwechsel“ sollen sie abwechselnd den Kategorien „Kleidungsstücke“ und „Blumen“ entstammen. Der Zeitraum für die Wortproduktion beträgt in allen Bedingungen zwei Minuten.

2.2.6.6. Testung allgemeiner Intelligenz

Die allgemeine Intelligenz wurde mit einer Kurzversion der originalen Testform des revidierten Hamburg-Wechsler Intelligenztest für Erwachsene (HAWIE-R, übersetzt und adaptiert durch den Hans Huber Verlag, 1991) erhoben. Sie besteht aus fünf der ursprünglich elf Skalen, die einen Handlungsteil und einen Verbalteil des Tests repräsentieren. Die Kurzversion besteht aus zwei Skalen des Handlungsteils: „Bilderergänzen“ (in Zeichnungen muss jeweils das fehlende Element gezeigt werden) und „Mosaiktest“ (Nachlegen bestimmter Muster aus kleinen Würfeln), sowie drei Skalen des Verbalteils: „Wortschatztest“ (Definition oder Erklärung vorgegebener Begriffe), „Gemeinsamkeiten finden“ (die Gemeinsamkeit zweier Begriffe benennen) und „Rechnerisches Denken“ (Lösen mathematischer Aufgaben). Der geschätzte IQ der Kurzform korreliert mit dem der Langform zu $r = ,97$ (Schwarzkopf-Streit, 2000).

2.2.7. Erfassung der Stimmung

Zur Kontrolle möglicher Einflüsse der aktuellen Stimmung bearbeiteten die Probanden sowohl vor als auch nach der experimentellen Sitzung 2 und 3 jeweils die „Positive and Negative Affect Scales“ (PANAS) von Watson et al. (1988), in der deutschen Übersetzung von Krohne et al. (1996). Das Selbstbeschreibungs-Inventar besteht aus insgesamt 20 Items, von denen zehn die Skala „Positiver Affekt“ und zehn die Skala „Negativer Affekt“ konstruieren. Bei den Items handelt es sich um Adjektive, die jeweils positive oder negative Gefühlszustände beschreiben (z.B. „angeregt“ oder „beschämt“), deren Intensität auf einer fünfstufigen Skala von 1 = „gar nicht“ bis 5 = „äußerst“ bewertet wird. Grundsätzlich kann der PANAS mit unterschiedlichen Instruktionen bezüglich des zeitlichen Bezugsrahmens der Einschätzung dargeboten werden (z.B. „in den letzten Tagen“ oder „im letzten Jahr“). In der hier beschriebenen Untersuchung bezog sich die Selbstbeschreibung der Teilnehmer auf die Intensität des Gefühls im aktuellen Moment.

Tabelle 3: Übersicht der neuropsychologischen Inventare

Leistungsbereich	Test/Untertest
Kurzzeit und Arbeitsgedächtnis	WMS-R: Zahlennachsprechen (gesamt) WMS-R: Zahlennachsprechen- vorwärts WMS-R: Zahlennachsprechen - rückwärts WMS-R: Blockmerkspanne (gesamt) WMS-R: Blockmerkspanne - vorwärts WMS-R: Blockmerkspanne - rückwärts
Verbale Lern- und Merkfähigkeit	VLMT: Abruf nach Durchgang 5 VLMT: Kumulierter Lernzuwachs (Summe Durchgang 1 bis 5) VLMT: Interferenzliste VLMT: Abruf nach Interferenzliste (Durchgang 6) VLMT: Verzögerter Abruf (Durchgang 7) VLMT: Wiedererkennen (fehlerkorrigierte Wiedererkennensliste) VLMT: Verbales Paarassoziationslernen, direkter Abruf VLMT: Verbales Paarassoziationslernen, verzögerter Abruf
Visuelle Lern- und Merkfähigkeit	WMS-R: Visuelles Paarassoziationslernen, direkter Abruf WMS-R: Visuelles Paarassoziationslernen, verzögerter Abruf Rey-Figur: verzögerter Abruf
Aufmerksamkeit	TMT: Teil A
Exekutivfunktionen	TMT: Teil B RWT: Formallexikalischer Kategoriewechsel (Buchstaben "G") RWT: Semantischer Kategoriewechsel (Kategorien „Kleidungs-
Wortflüssigkeit	RWT: Formallexikalische Wortflüssigkeit (Buchstabe "S") RWT: Semantisch-kategorielle Flüssigkeit (Kategorie "Tiere")
Allgemeine Intelligenz	HAWIE-R, Kurzform (Untertests: Bilderergänzen, Wortschatz-

WMS-R: Wechsler Memory scale – revidierte deutsche Fassung

VLMT: Verbaler Lern- und Merkfähigkeitstest

RCFT: Rey-Osterrieth Complex Figure Test

TMT: Trail Making Test

RWT: Regensburger Wortflüssigkeitstest

HAWIE-R: Hamburg-Wechsler Intelligenztest für Erwachsene – revidierte Version

2.3. Statistische Auswertung

2.3.1 Analyse der LTP-Daten

Für die Analyse der EMG-Daten aus Prä- und Post-Testung wurden die mittleren absoluten MEP-Amplituden zu folgendem Hauptmaß umgerechnet: Für jeden Probanden wurde sein individueller Anstieg der MEP-Amplitude infolge der PAS₂₅-Intervention berechnet, indem die absoluten Amplituden der vier Post-Tests auf seine Baseline-Amplitude hin adjustiert wurden (MEP-Post-Test/MEP-Baseline). Die adjustierten MEP-Amplituden entsprachen somit der relativen Veränderung im Vergleich zur Baseline-Amplitude.

Zusätzlich wurde in Anlehnung an die Studie von Müller-Dahlhaus et al. (2008) aus den adjustierten MEP-Amplituden des Post-Tests 0 und 15 Minuten nach Ende der PAS₂₅ ein Gesamtmittelwert berechnet. Ein Wert > 1 klassifizierte den Probanden als „Responder“, im Sinne einer erfolgreichen Induzierung von LTP durch das Stimulationsprotokoll, oder als „Non-Responder“ bei einem Wert < 1 . Die MEP-Amplitude aus Post-Test 60 wurde in den Gesamtmittelwert nicht eingeschlossen, da die MEP-Amplituden zu diesem Messzeitpunkt bei den meisten Probanden wieder auf ihr Ausgangsniveau zurückgekehrt waren. Die Ableitung zum Zeitpunkt Post 30 wurde wegen des hohen Standardmessfehlers von der weiteren Auswertung ausgeschlossen.

Für die adjustierten MEP-Amplituden wurde eine Varianzanalyse mit Messwiederholung (ANOVA_{RM}) mit dem vierstufigen Messwiederholungsfaktor „Zeit“ (Baseline, Post 0, Post 15, Post 60) und dem Zwischensubjektfaktor „Genotyp“ (Met-Allel vs. Nicht-Met-Allel) berechnet. Post hoc Gruppenvergleiche zu den einzelnen Messzeitpunkten sowie mögliche Unterschiede hinsichtlich des Gesamtmittelwerts aus Post 0 und Post 15 wurde jeweils mit dem t-Test für unabhängige Stichproben berechnet.

2.3.2. Analyse nicht-deklarativer Lernleistung

Aus der Testphase der Lernaufgabe zur künstlichen Grammatik wurde die Anzahl der Treffer und Fehler der grammatikalischen (G) Buchstabensequenzen sowie die korrekten Ablehnungen und Fehlalarme für die nicht-grammatikalischen (NG) Sequenzen ausgezählt. Aus Treffern und Fehlalarmen

wurde die „endorsement rate“ als der prozentuale Anteil der vom Probanden als grammatikalisch wahrgenommenen Sequenzen berechnet. Diese Variable wird in der Literatur verwendet um das Erkennen grammatikalischer Regelverstöße zu erfassen (de Vries et al., 2009; Forkstam et al., 2006; Kürten et al., submitted; Lieberman et al., 2004). Zusätzlich wurde ein Sensitivitätsmaß in Form des „d prime“ (d') berechnet. Der d' entstammt der Signalentdeckungstheorie und berücksichtigt einseitiges Antwortverhalten bei der Klassifikation der Buchstabensequenzen in der Testphase (Hochhaus, 1972).

Eine ANOVA_{RM} wurde berechnet, in der die „endorsement rate“ als abhängige Variable einging, mit den Faktoren „Grammatikalität“ (G vs. NG) als Innersubjektfaktor und „Genotyp“ (Met-Allel vs. Nicht-Met-Allel) als Zwischensubjektfaktor. Für Mittelwertsvergleiche zwischen den Genotyp-Gruppen wurde der t-Test für unabhängige Stichproben verwendet.

Für die Fingersequenz-Aufgabe wurde pro Aufgaben-Block die Reaktionszeit(RT-)Differenz zwischen sequenziellen und randomisierten Tastenabfolgen berechnet, die ein Maß nicht-deklarativen Lernerfolgs darstellt. Da die RT aus Block 5 aufgrund eines technischen Fehlers nicht korrekt gespeichert wurde, wurde dieser Block aus der weiteren Analyse ausgeschlossen. Anhand der RT-Differenzen der nun sieben Aufgabenblöcke wurde eine ANOVA_{RM} mit siebenstufigem Zeitfaktor und dem Zwischensubjektfaktor „Genotyp“ (Met-Allel vs. Nicht-Met-Allel) berechnet. Da die Lernleistung in diesem Paradigma erfahrungsgemäß nur allmählich zunimmt, wurde für den Gruppenvergleich nur die RT-Differenz aus Block 8 herangezogen, da in diesem Block der maximale Lernerfolg erwartet wurde.

2.3.3. Analyse neuropsychologischer Leistungen

Um die Vielzahl der verwendeten Tests auf die ihnen zugrunde liegenden kognitiven Domänen zu reduzieren, wurde eine Hauptkomponentenanalyse (HKA) berechnet. Der verzögerte Abruf im WMS-R Untertest Visuelles Paarlernen wurde aufgrund fehlender Varianz von der weiteren Auswertung ausgeschlossen und ging somit nicht in die HKA ein. Allgemeine Intelligenz wurde ebenfalls nicht in die HKA einbezogen, da es sich dabei bereits um einen aus unterschiedlichen Leistungsbereichen abstrahierten Wert handelt, der somit

schiedlichen Leistungsbereichen abstrahierten Wert handelt, der somit eine eigene Domäne bildet. Die Test-Rohwerte im TMT (Bearbeitungszeit in Sekunden) erhielten jeweils ein negatives Vorzeichen, damit für die HKA einheitlich jeweils höhere Rohwerte bessere Testleistungen wiedergaben.

Nach orthogonaler Rotation mit der Varimax-Methode wurden sechs kognitive Domänen extrahiert, die zusammen ca. 71% der Gesamtvarianz erklärten. Sie wurden interpretiert als „Arbeitsgedächtnis (AG)“, „Verbale Lernfähigkeit“, „Verbale Merkfähigkeit“, „Visuelle Lern- und Merkfähigkeit“, „Exekutivfunktionen“ und „Wortflüssigkeit“. Zuzüglich der Domäne „Allgemeine Intelligenz“ konnten die Leistungen in der neuropsychologischen Testbatterie anhand von sieben Domänen erfasst werden (siehe *Tabelle 4*, Seite 42). Als domänen-spezifischer Leistungsindex wurde für jede Domäne eine Summenskala gebildet, in die die Rohwerte der einzelnen Tests gingen.

Der Einfluss des BDNF Genotyps auf die Leistungsfähigkeit über alle Domänen hinweg wurde mit einer multivariaten ANOVA überprüft. Gruppenvergleiche hinsichtlich der einzelnen Domänen wurden mit Hilfe von t-Tests für unabhängige Stichproben berechnet. Im Falle eines signifikanten Gruppenunterschieds wurden die Tests, die der Domäne angehörten, noch einmal separat analysiert.

2.3.4. Analyse von Stimmung und Blutdruck

Für die zu Beginn und am Ende erhobenen PANAS-Skalen „Positiver Affekt“ und „Negativer Affekt“ wurde eine für Sitzung 2 und 3 jeweils eine ANOVA_{RM} mit den Wiederholungsfaktoren „Zeit“ (prä vs. post) und „Affekt“ (positiv vs. negativ) sowie dem Zwischensubjektfaktor „Genotyp“ (Met-Allel vs. Nicht-Met-Allel) berechnet.

Darüber hinaus wurde für alle drei experimentellen Sitzungen eine separate ANOVA_{RM} für die kardiovaskulären Parameter systolischer und diastolischer Blutdruck sowie Puls berechnet. Dabei wurde der Wiederholungsfaktor „Zeit“ (prä vs. post) und der Zwischensubjektfaktor „Genotyp“ (Met-Allel Träger vs. Nicht-Met-Allel) eingesetzt.

Tabelle 4: Kognitive Domänen, die durch die neuropsychologischen Tests erfasst wurden

Domäne	Tests
Arbeitsgedächtnis	<ul style="list-style-type: none"> • WMS-R: Zahlenmerkspanne
Verbale Merkfähigkeit	<ul style="list-style-type: none"> • RWT: Lexikalische Flüssigkeit und Lexikalischer Kategorienwechsel • VLMT: Summe Durchgang 1 bis 5; Interferenzliste
Verbale Lernfähigkeit	<ul style="list-style-type: none"> • WMS-R: Verbales Paarassoziationslernen, direkter und verzögerter Abruf
Visuelle Merk- und Lernfähigkeit	<ul style="list-style-type: none"> • VLMT: Verzögerter Abruf (Durchgang 7), fehlerkorrigierte Wiedererkennensliste • Rey-Figur: Verzögerter Abruf • WMS-R: Visuelles Paarassoziationslernen, direkter Abruf
Exekutivfunktionen	<ul style="list-style-type: none"> • TMT: Teil A und B
Wortflüssigkeit	<ul style="list-style-type: none"> • RWT: Semantische Flüssigkeit, Semantischer Kategorienwechsel
Allgemeine Intelligenz	<ul style="list-style-type: none"> • HAWIE-R, IQ

2.3.5. Analyse korrelativer Zusammenhänge

Um Zusammenhänge zwischen der Induzierbarkeit synaptischer Plastizität und der nicht-deklarativen Lernleistung sowie der Leistung in den sieben kognitiven Domänen festzustellen wurden Pearsons Korrelationskoeffizienten berechnet. Das Bonferroni-korrigierte Signifikanzniveau betrug $p = ,003$.

Alle aufgeführten statistischen Analysen wurden mit dem Programm „Statistical Package for Social Sciences“ (SPSS) Version 15.0 berechnet.

Die statistischen Voraussetzungen der eingesetzten Students t-Tests, Homogenität der Varianzen und Normalverteilung der Daten, wurde für jede Variable mithilfe des Levene-Tests und des Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstests überprüft. War nur eine der beiden Prämissen erfüllt, wurde die jeweilige Variable dennoch nicht vom t-Test ausgeschlossen, da nach Pospeschill (1996) das Verfahren in diesem Fall noch ausreichend robust ist. Für Variablen, in denen beide Voraussetzungen nicht erfüllt waren (VLMT, fehlerkorrigierte Wiedererkennensliste und WMS-R, Verbales Paarassoziationslernen, verzögerter Abruf)

wurde der nicht-parametrische Mann-Whitney U-Test eingesetzt (die Variablen sind an entsprechender Stelle gekennzeichnet).

Das Signifikanz-Niveau der insgesamt sechs berechneten ANOVAs wurde aufgrund der multiplen Vergleiche auf $p < ,008$ korrigiert. Das Signifikanzniveau für Gruppenvergleiche wurde auf $p < ,05$ festgesetzt (Abweichungen sind gesondert gekennzeichnet).

Bei berichteten Mittelwertsvergleichen zwischen den Genotyp-Gruppen sind jeweils der Mittelwert und die Standardabweichung als Dispersionsmaß angegeben.

3. Ergebnisse

3.1. Effekt des BDNF Genotyps auf LTP-ähnliche synaptische Plastizität

Zum Beginn der PAS₂₅ unterschieden sich die beiden BDNF Genotypen nicht signifikant in ihren RMT, der sensorischen Reizschwelle und der Stimulationsintensität, die während der PAS₂₅ sowie der Prä- und Post-Tests eingesetzt wurde. Die mittleren MEP-Amplituden zum Zeitpunkt der Baseline-Testung unterschieden sich ebenfalls nicht (siehe *Tabelle 5*).

Tabelle 5: TMS-Basis-Parameter und Baseline MEP- Amplitude der BDNF Gruppen zu Beginn der PAS₂₅

	Met-Allel	Nicht-Met-Allel	<i>p</i>
RMT	39,6 ± 5,2	41,5 ± 8,0	,392
Sensorische Reizschwelle	2,8 ± 1,1	3,6 ± 1,3	,083
Stimulationsintensität	49,3 ± 7,1	52,4 ± 10,5	,290
Baseline MEP-Amplitude	828,3 ± 407,8	768,0 ± 268,8	,584

RMT (motorische Ruheschwelle) und Stimulationsintensität sind angegeben in % der maximalen Stimulatorleistung, die sensorische Reizschwelle in mA, Baseline MEP-Amplitude in μ V. Alle Werte sind dargestellt als $m \pm SD$; es wurde kein signifikanter Gruppenunterschied festgestellt (*p*-Werte unkorrigiert).

Die ANOVA_{RM} zeigte über alle Probanden hinweg einen signifikanten Haupteffekt für „Zeit“ ($F(3, 111) = 2,838, p = ,042$), der allerdings der Bonferroni-Korrektur des Signifikanzniveaus auf $p = ,008$ nicht standhielt. Kein Effekt für „Genotyp“ ($F(1,38) = 0,018, p = ,839$) oder eine Interaktion von „Zeit“ \times „Genotyp“ ($F(3,111) = 0,019, p = ,997$) wurde festgestellt. Ein Gruppenunterschied bezüglich der Sensitivität gegenüber der LTP-Induktion durch die PAS₂₅ in Form des Gesamtmittelwerts aus Post-Test 0 und 15 wurde nicht gefunden ($t(38) = -0,146, p = ,885$). Ebenso bestanden keine Gruppenunterschiede hinsichtlich der adjustierten MEP-Amplituden zu den einzelnen Messzeitpunkten (Post 0: $t(38) = -0,179, p = ,895$; Post-Test 15: $t(38) = -0,082, p = ,935$; Post-Test 60: $t(38) = -0,096, p = ,924$; siehe *Abbildung 11*).

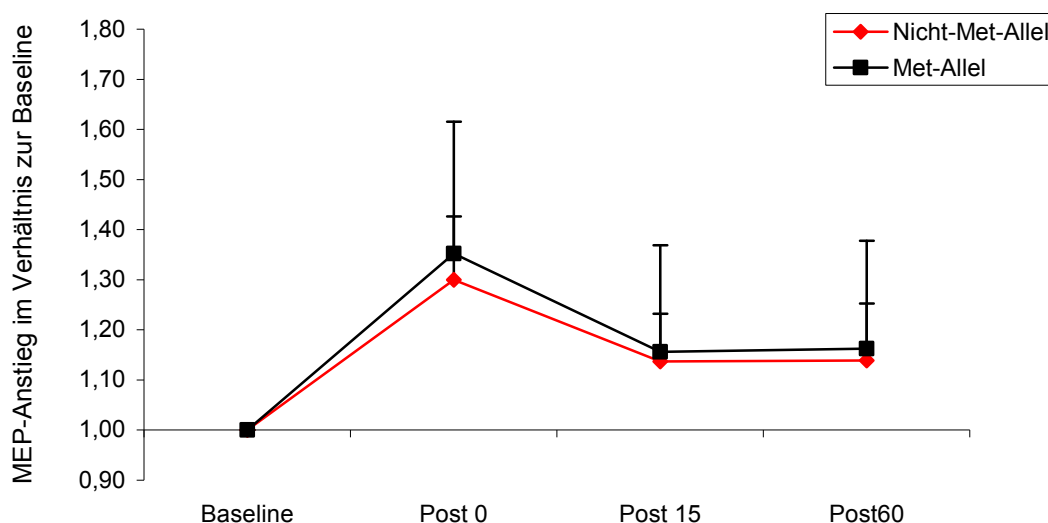


Abbildung 11: LTP-ähnliche synaptische Plastizität infolge der paired associative stimulation (PAS₂₅)

Zeitlicher Verlauf der MEP-Amplituden (adjustiert an die individuelle Baseline) infolge der PAS₂₅ bei Met-Allel und Nicht-Met-Allel Trägern; ein Effekt des BDNF Polymorphismus auf den Anstieg der MEP-Amplituden durch PAS₂₅ wurde nicht festgestellt. Fehlerbalken geben den SE an.

Insgesamt bestand eine große interindividuelle Variabilität in den MEP-Amplituden: Nur 21 der 40 Probanden zeigten einen Anstieg infolge des PAS₂₅-Protokolls, ersichtlich an Gesamtmittelwerten aus Post-Test 0 und Post-Test 15, deren Wert > 1,0 war. Unter diesen 21 Probanden gab es keine einseitige Verteilung des BDNF Genotyps (8 Met-Allel Träger, 13 Nicht-Met-Allel Träger). Der Unterschied des Gesamtmittelwerts war auch in dieser Subgruppe nicht signifikant ($t(19) = -1,18$, $p = ,274$).

3.1. Effekt des BDNF Genotyps auf nicht-deklaratives Lernen

3.2.1. Effekte auf das Erlernen einer künstlichen Grammatik

Beide BDNF Gruppen zeigten vergleichbar gute Leistungen in der Klassifikation grammatikalischer und nicht-grammatikalischer Sequenzen ($t(38) = 0,691$, $p = ,494$). Met-Allel Träger identifizierten 66% der präsentierten Buchstabensequenzen korrekt, Nicht-Met-Allel Träger ordneten 68% korrekt zu. Hinsichtlich der „endorsement rate“ unterschieden sich beide Gruppen nicht, d.h., es wur-

den in beiden Gruppen gleich hohe Anteile der zu klassifizierenden Sequenzen als grammatikalisch wahrgenommen ($t(38) = 0,402$, $p = ,690$; siehe *Abbildung 12*).

Die Genauigkeit der Klassifikation, berechnet als d' prime (d'), bestätigte das Ergebnis der endorsement rate (für Met-Allel Träger: $d' = 0,95$ und für Nicht-Met-Allel Träger: $d' = 1,1$; $t(38) = 0,790$, $p = ,435$).

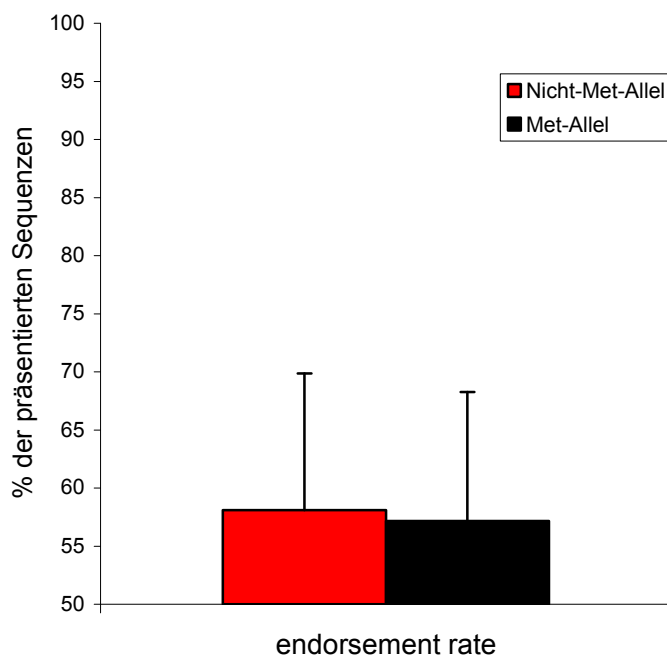


Abbildung 12: Anteil der als grammatikalisch wahrgenommenen Buchstabensequenzen (endorsement rate). Met-Allel Träger und Nicht-Met-Allel Träger klassifizierten in der Testphase beim Erlernen einer künstlichen Grammatik etwa gleich viele Sequenzen als grammatikalisch. Beide Gruppen lagen signifikant über der Rate-Wahrscheinlichkeit von 50%. Fehlerbalken geben den SE an.

3.2.2. Effekte auf das prozedural motorische Lernen (Fingersequenz-Aufgabe)

Sowohl Met-Allel Träger als auch Nicht-Met-Allel Träger verbesserten ihre Reaktionszeiten (RT) für sequenzielle und randomisierte Tastenabfolgen im Laufe der Aufgabe. Entsprechend dem Paradigma der Fingersequenz-Aufgabe sank die RT für sequenzielle Abfolgen stärker als für randomisierte, so dass beide Gruppen einen signifikanten Anstieg der RT-Differenz über die acht Aufgabenblöcke hinweg aufwiesen (ANOVA_{RM} Zeiteffekt: $F(6, 228) = 8,748$, $p < ,001$, siehe *Abbildung 13*). Es zeigte sich kein signifikanter Einfluss des BDNF Genotyps ($F(1, 38) = 0,51$, $p = ,822$) oder eine Interaktion aus „Zeit“ × „Genotyp“

($F(7,266) = 1,055, p = ,390$). Darüber hinaus zeigten beide Gruppen vergleichbare RT-Differenzen innerhalb der einzelnen Aufgabenblöcke (alle t -Werte $< 1,419$, alle p -Werte $> ,164$).

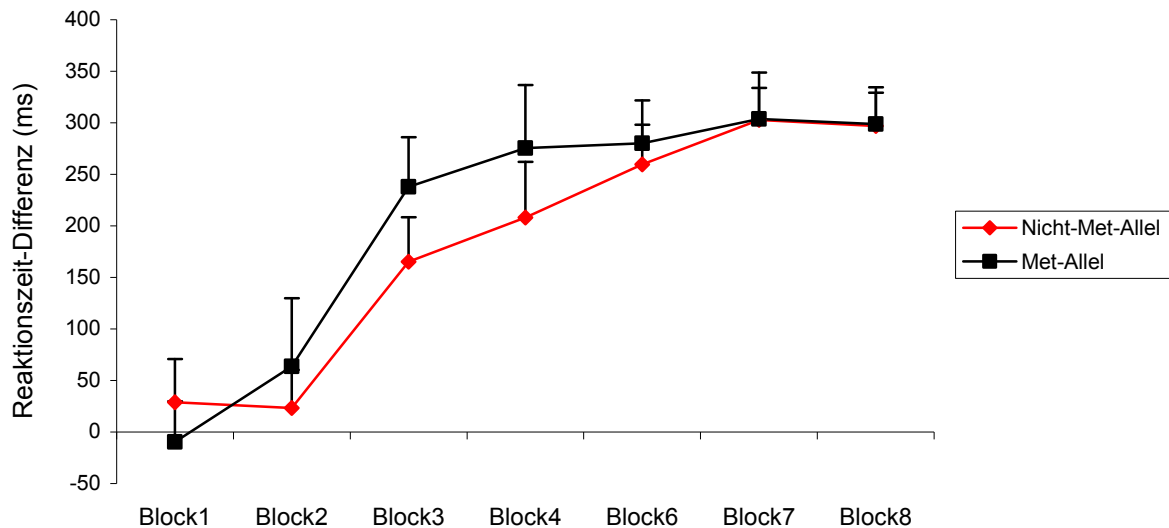


Abbildung 13: Anstieg der RT-Differenz zwischen sequenziellen und randomisierten Tastenabfolgen in der Fingersequenz-Aufgabe
Met-Allel Träger und Nicht-Met-Allel Träger erzielten vergleichbare Lernerfolge - ein Einfluss des Genotyps zeigte sich nicht. Der Unterschied der RT-Differenzen zwischen beiden Gruppen in Block 1 war nicht signifikant ($t(38) = 1,21, p = ,236$). Block 5 wurde aus technischen Gründen nicht in die Analyse mit einbezogen. Fehlerbalken geben den SE an.

3.3. Effekte auf neuropsychologische Leistungen

Die multivariate ANOVA ergab keinen übergeordneten Effekt des BDNF Genotyps auf die Leistungen in den sieben kognitiven Domänen (Arbeitsgedächtnis (AG), verbale Lernfähigkeit, verbale Merkfähigkeit, visuelle Merkfähigkeit, Exekutivfunktionen, Wortflüssigkeit und allgemeine Intelligenz ($F(7,31) = 2,011, p = ,086$).

Ebenso zeigten sich keine genetisch bedingten Leistungsdifferenzen in den einzelnen kognitiven Domänen (alle t -Werte $< 1,974$, alle p -Werte $> ,05$, siehe *Tabelle 6*).

Tendenzielle Gruppenunterschiede wurden für die Domänen verbale Merkfähigkeit und Wortflüssigkeit festgestellt, wobei Nicht-Met-Allel Träger in der Wortflüssigkeit bessere Leistungen zeigten ($t(38) = 0,182$, $p = ,077$), Met-Allel Träger dagegen in der verbalen Merkfähigkeit ($t(38) = -0,180$, $p = ,080$).

Tabelle 6: Summenwerte von Met-Allel Träger und Nicht-Met-Allel Träger in den sieben kognitiven Domänen

Domäne	Met-Allel	Nicht-Met-Allel	p
Arbeitsgedächtnis (AG)	67,5 ± 12,8	64,7 ± 14,6	,522
Verbale Merkfähigkeit	102,2 ± 8,4	103,9 ± 7,9	,503
Verbale Lernfähigkeit	28,7 ± 1,6	27,5 ± 3,0	,126
Visuelle Merk- und Lernfähigkeit	51,9 ± 2,2	52,0 ± 1,6	,872
Exekutivfunktionen	70,6 ± 23,4	67,7 ± 20,0	,676
Wortflüssigkeit	54,7 ± 9,5	61,6 ± 12,6	,056
Allgemeine Intelligenz	104 ± 14,6	108 ± 12,4	,408

Aufgeführt sind die sechs Domänen, die der neuropsychologischen Testbatterie zugrunde lagen (ermittelt durch Hauptkomponentenanalyse (HKA), sowie allgemeine Intelligenz (HAWIE-R); signifikante Gruppenunterschiede ergaben sich nicht (korrigiertes Signifikanzniveau: $p < ,008$).

3.4. Effekte auf Stimmung und Blutdruck

Met-Allel Träger und Nicht-Met-Allel Träger unterschieden sich während der experimentellen Sitzung 2 und 3 nicht in ihren Stimmungsmaßen (PANAS, siehe *Abbildung 14*). Die ANOVA_{RM} zeigte keine signifikante Interaktion des Genotyps mit dem Faktor „Zeit“ und/oder „Affekt“ (alle F-Werte $< 2,703$, alle p -Werte $> ,110$).

In beiden Sitzungen fand sich dagegen ein signifikanter Haupteffekt für „Zeit“ (Sitzung 2: $F(1,31) = 10,824$, $p = ,003$; Sitzung 3: $F(1,36) = 25,484$, $p < ,001$), der darauf beruhte, dass die Probanden am Ende einer experimentellen Sitzung eine geringere Intensität sowohl auf der Skala „Positiver Affekt“ als auch auf der Skala „Negativer Affekt“ angaben als zu Beginn der Testung. Stärker wirkte sich dieses Antwortverhalten jedoch auf die Skala „Positiver Affekt“ aus, da diese Skala auch Items umfasst, die sich auf ein gewisses Maß an Vorfreude auf die

bevorstehende Testung beziehen und am Ende der Testung als geringer eingeschätzt wurden (z.B. „interessiert“ und „freudig erregt“).

Darüber hinaus zeigte sich ein signifikanter Haupteffekt von „Affekt“ (Sitzung 2: $F(1,31) = 394,905$, $p < ,001$); Sitzung 3: $F(1,36) = 318,759$, $p < ,001$), der auf einen generell als intensiver eingeschätzten positiven Affekt im Vergleich zum negativen Affekt zurückzuführen war. In Sitzung 3 (PAS₂₅-Protokoll) zeigte sich dieser Trend besonders deutlich (signifikante Interaktion von „Zeit“ × „Affekt“: $F(1,36) = 13,233$, $p = ,001$).

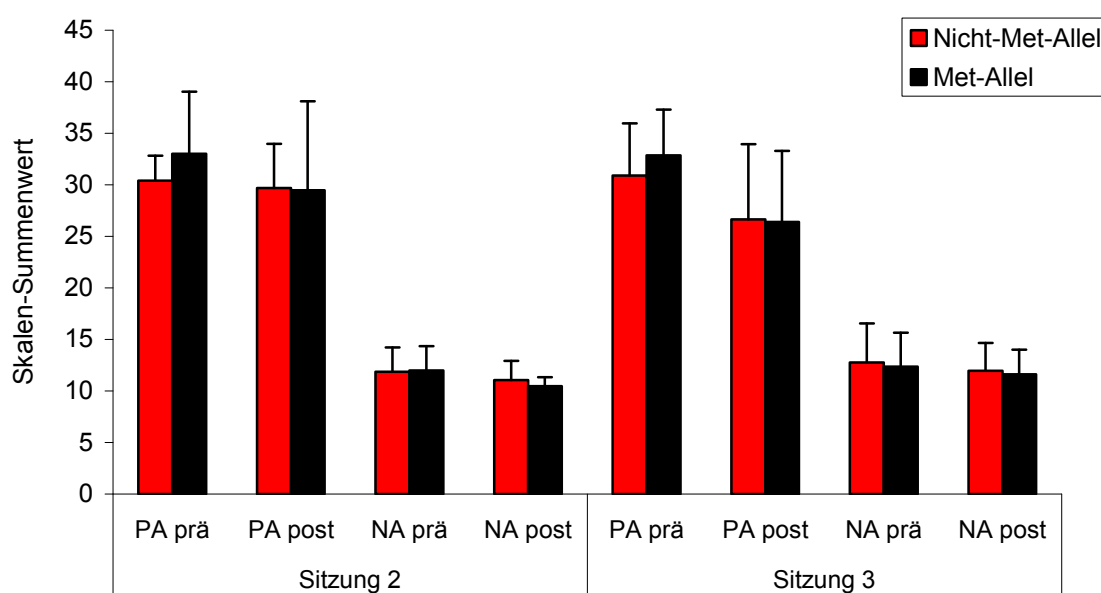


Abbildung 14: Stimmungsveränderungen der Genotyp-Gruppen anhand der PANAS-Skalen „Positiver Affekt“ und „Negativer Affekt“
Sitzung 2: Nicht-deklarative Lernaufgaben, Sitzung 3: PAS₂₅-Protokoll; beide Gruppen unterschieden sich zu keinem Erhebungszeitpunkt signifikant (alle t -Werte $< |-1,642|$, alle p -Werte $> ,110$); Balken geben die SD an.

Beide Genotyp-Gruppen unterschieden sich nicht in der Höhe ihrer kardiovaskulären Maße (Blutdruck, Plus). Die ANOVA_{RM} erbrachte keine signifikante Interaktion von „Zeit“ × „Genotyp“ und keinen signifikanten Haupteffekt für „Genotyp“ in einer der drei experimentellen Sitzungen (alle F -Werte $< 2,347$, alle p -Werte $> ,138$).

Für die experimentelle Sitzung 2 (nicht-deklarative Lernaufgaben) fand sich ein signifikanter Haupteffekt für „Zeit“ für den systolischen Blutdruck und den Puls (systolisch: $F(1,29) = 3,925$, $p = ,058$; Puls: $F(1,29) = 13,948$, $p = ,001$), wobei nur der Zeiteffekt der Plus-Veränderung auch auf korrigiertem Signifikanzniveau bestehen blieb. Gleiche Effekte zeigten sich auch in der experimentellen Sitzung 3 (PAS₂₅-Protokoll) für den systolischen Blutdruck und den Puls (systolisch: $F(1,29) = 4,779$; $p = ,037$; Puls: $F(1,29) = 38,851$, $p < ,001$). In beiden Sitzungen nahmen systolischer Blutdruck und Puls im Verlauf der Testung ab. Eine Übersicht über alle erhobenen kardiovaskulären Parameter ist in *Tabelle 7* aufgeführt.

Tabelle 7: Blutdruck und Puls der Genotyp-Gruppen zu Beginn und am Ende der experimentellen Sitzungen

Messung	Prä			Post		
	sys	dias	Puls	sys	dias	Puls
Sitzung 1 Met-Allel	126 ± 21	80 ± 13	78 ± 13	127 ± 13	80 ± 11	69 ± 9
	119 ± 21	76 ± 7	87 ± 19	127 ± 49	81 ± 30	69 ± 6
Sitzung 2 Met-Allel	120 ± 21	76 ± 14	77 ± 16	121 ± 23	77 ± 18	70 ± 9
	114 ± 20	75 ± 15	77 ± 15	108 ± 15	72 ± 8	70 ± 10
Sitzung 3 Met-Allel	124 ± 20	77 ± 12	81 ± 10	121 ± 23	79 ± 15	68 ± 8
	119 ± 15	76 ± 9	80 ± 14	116 ± 16	76 ± 9	68 ± 11

Sitzung 1: Neuropsychologische Testbatterie; Sitzung 2: Nicht-deklarative Lernaufgaben; Sitzung 3: PAS₂₅-Protokoll; sys: systolischer Blutdruck (mmHg), dias: diastolischer Blutdruck (mmHg), Puls: Herzschläge/Minute; Met-Allel Träger und Nicht-Met-Allel Träger unterschieden sich zu keinem Erhebungszeitpunkt signifikant (alle t -Werte $< 1,78$, alle p -Werte $> ,087$).

3.5. Korrelative Zusammenhänge

Einige unkorrigiert signifikante Korrelationen traten zwischen den Parametern der LTP-Induktion auf, die aber der Bonferroni-Korrektur auf $p < ,003$ nicht standhielten. Nach der Korrektur korrelierten die adjustierten MEP-Amplituden der Post-Tests signifikant untereinander sowie jeweils mit dem Gesamtmittelwert aus Post 0 und Post 15 (siehe Korrelationsmatrix in *Tabelle 8*).

Korrigiert-signifikante Korrelationen zwischen Parametern der LTP-Induktion und den nicht-deklarativen Lernmaßen oder den sieben kognitiven Domänen wurden nicht festgestellt (alle $r < |,406|$, alle p -Werte $> ,01$). Eine signifikante Korrelation zeigte sich dagegen zwischen der Domäne Verbale Merkfähigkeit und Verbaler Lernfähigkeit ($r = |,491|$, $p = ,001$).

	RMT	Baseline MEP	MEP Post 0	MEP Post 15	MEP Post 60	Gesamtmittel (Post 0, Post15)	Endorsement rate	d prime (d')	RT-Differenz Block 8	Arbeitsgedächtnis (AG)	Visuelle Merk- und Lernfähigkeit	Verbale Lernfähigkeit	Verbale Merkfähigkeit	Exekutivfunktionen	Wortflüssigkeit
Baseline MEP	-,337* ,036	1													
MEP Post 0	-,163 ,321	-,239 ,137	1												
MEP Post 15	,193 ,239	-,409** ,009	,719** ,000	1											
MEP Post 60	-,010 ,951	-,449** ,004	,754** ,000	,785** ,000	1										
Gesamtmittel (Post 0, Post15)	-,015 ,928	-,391* ,013	,916** ,000	,903** ,000	,921** ,000	1									
Endorsement rate	-,406* ,010	-,110 ,500	-,151 ,351	-,199 ,217	-,050 ,761	-,146 ,368	1								
d prime (d')	,084 ,612	-,062 ,705	-,114 ,483	-,039 ,809	-,118 ,467	-,102 ,532	-,003 ,988	1							
RT-Differenz Block 8	,109 ,510	,124 ,445	,173 ,285	,229 ,155	,239 ,137	,231 ,152	-,189 ,243	,418** ,007	1						
Arbeitsgedächtnis (AG)	-,036 ,828	,132 ,417	-,065 ,689	,015 ,926	-,140 ,388	-,070 ,666	,128 ,433	,239 ,137	,109 ,504	1					
Visuelle Merk- und Lernfähigkeit	,157 ,341	-,134 ,409	-,075 ,644	-,173 ,286	-,255 ,113	-,177 ,274	-,080 ,622	,223 ,167	,054 ,742	,122 ,451	1				
Verbale Lernfähigkeit	-,294 ,069	,168 ,300	-,220 ,173	-,177 ,275	-,243 ,131	-,234 ,146	,231 ,151	,054 ,739	-,016 ,921	,330* ,038	,172 ,287	1			
Verbale Merkfähigkeit	,049 ,766	-,040 ,805	-,304 ,057	-,111 ,496	-,261 ,103	-,254 ,114	,118 ,470	,337* ,033	-,055 ,738	,427** ,006	,158 ,331	,491** ,001	1		
Exekutivfunktionen	-,008 ,960	,361* ,022	,026 ,873	-,010 ,953	-,089 ,587	-,023 ,888	-,137 ,401	-,154 ,342	-,204 ,207	-,169 ,297	-,166 ,305	,041 ,802	-,113 ,486	1	
Wortflüssigkeit	-,011 ,945	-,057 ,728	,089 ,584	,049 ,766	,053 ,744	,072 ,660	,423** ,006	,119 ,463	,081 ,619	,304 ,057	,264 ,100	,282 ,078	,367* ,020	-,175 ,280	1
Allgemeine Intelligenz	,261 ,113	-,091 ,581	,062 ,707	,125 ,450	,170 ,301	,126 ,444	,003 ,986	,122 ,458	,166 ,312	,140 ,394	,065 ,693	-,204 ,213	,118 ,475	-,338* ,035	,403* ,011

Tabelle 8: Korrelationsmatrix zwischen Variablen der LTP-ähnlichen synaptischen Plastizität, nicht-deklarativem Lernen und den sieben kognitiven Domänen

RMT: Motorische Ruheschwelle; RT-Differenz: Reaktionszeitdifferenz

Pro Zelle sind jeweils Korrelationskoeffizient r (oberer Wert) und Signifikanzniveau p (unterer Wert) aufgeführt; * unkorrigierte Signifikanz bei $p < ,05$, ** unkorrigierte Signifikanz bei $p < ,01$; farbig hinterlegte p -Werte geben Signifikanz nach Bonferroni-Korrektur ($p < ,003$) an.

4. Diskussion

4.1. Überprüfung der Hypothesen

In der vorliegenden Studie wurde die Auswirkung des BDNF Val66Met Polymorphismus auf die Induzierung LTP-ähnlicher synaptischer Plastizität an jungen, gesunden Probanden untersucht. Darüber hinaus wurde die nicht-deklarative Lernfähigkeit sowie die kognitive Leitungsfähigkeit in weiteren neuropsychologischen Funktionsbereichen in Abhängigkeit des Val66Met überprüft. Die erste Hypothese lautete, dass Met-Allel Träger durch die PAS₂₅ in geringerem Ausmaß LTP-ähnliche synaptische Plastizität ausbilden würden als Nicht-Met-Allel Träger. Tatsächlich unterschieden sich die beiden Genotyp-Gruppen jedoch weder hinsichtlich des Anstiegs ihrer MEP-Amplituden, d.h., der Induzierung LTP-ähnlicher Plastizität, noch hinsichtlich der Basis-Parameter der TMS (RMT, Stimulationsintensität, sensible Reizschwelle). Ob ein Proband auf das verabreichte PAS₂₅-Protokoll überhaupt mit einem MEP-Anstieg reagierte oder nicht (Responder vs. Nicht-Responder), war nicht von seinem genetischen Status abhängig.

Die zweite Hypothese besagte, dass Met-Allel Träger im Vergleich zu Nicht-Met-Allel Trägern eine verminderte Lernleistung in nicht-deklarativen wie auch deklarativen Lern-Paradigmen zeigen würden. Die Befunde konnten auch diese Annahme nicht bestätigen. Beide Gruppen erzielten vergleichbare Leistungen, und es zeichnete sich auch keine systematische Tendenz zur Überlegenheit eines Genotyps jenseits statistischer Signifikanz ab. Das neuropsychologische Leistungsprofil zeigte keinen Einfluss des Genotyps.

Die dritte Hypothese verlangte, dass das Ausmaß der Verminderung induzierbarer LTP-ähnlicher Plastizität bei Met-Allel Trägern mit ihren Leistungsdefiziten in der Lern- und Merkfähigkeit, bzw. anderen kognitiven Funktionsbereichen, korrelieren würde. Da jedoch keine LTP-Minderung oder Defizite kognitiver Leistungsfähigkeit bei Met-Allel Trägern zu beobachten waren, konnten in dieser Hinsicht auch keine Zusammenhänge festgestellt werden. Der Grad des Anstiegs der MEP-Amplituden war mit Verhaltensmaßen der Lernfähigkeit unkorreliert. Eine zunächst signifikante Korrelation zwischen der Baseline MEP-

Amplitude und der kognitiven Domäne Exekutivfunktionen hielt einer Bonferro-ni-Korrektur nicht stand.

Somit wurde keine der Hypothesen durch die Ergebnisse der Studie belegt. Im Folgenden sollen nun mögliche Ursachen der abweichenden Befunde diskutiert werden.

4.2. Methodenkritische Anmerkungen

4.2.1. Kontrolle von Einflussfaktoren auf die LTP-Parameter

Die hohe interindividuelle Variabilität von EMG-Ableitungen ist ein bekanntes Phänomen in TMS-Studien (Müller-Dahlhaus et al., 2008) und wird durch eine Vielzahl unterschiedlicher Faktoren begünstigt, so zum Beispiel durch Variationen der Stimulations-Parameter (Di Lazzaro et al., 2004; Quarterone et al., 2006), durch die Tageszeit der Testung (Sale et al., 2007), durch den hormonellen Status der Probanden (Smith et al., 1999) oder deren Aufmerksamkeitsausrichtung (Stefan et al., 2004). Nicht alle dieser Einfluss-Faktoren unterlagen einer maximalen experimentellen Kontrolle in der vorliegenden Untersuchung.

4.2.1.1. Kontrolle der Aufmerksamkeit

Die Aufmerksamkeitsausrichtung der Probanden sollte durch das stumme Mitzählen der PAS₂₅-Reizpaare standardisiert werden. Es besteht aber die Möglichkeit, dass die Probanden – trotz stichprobenhafter Kontrolle - der Instruktion unterschiedlich gewissenhaft nachgekommen sind und die Standardisierung daher nicht voll gewährleistet werden konnte. Insbesondere beklagten sich einige Probanden über eine stark sedierende Wirkung des geforderten stummen Mitzählens („Das ist ja wie Schäfchen-Zählen.“). Hier hätte man die Motivation der Probanden im Vorfeld möglicherweise erhöhen sollen (z.B. durch einen expliziten Hinweis auf die Wichtigkeit des Mitzählens oder durch in Aussicht Stellen eines „Preises“ für fehlerfreies Mitzählen).

4.2.1.2. Individualisierung des Interstimulusintervals (ISI)

Die Verwendung eines pauschalen ISI von 25 ms im PAS₂₅ entspricht nicht der tatsächlichen N₂₀-Latenz der Probanden und trägt daher zur Varianz in den MEP-Ableitungen bei. Da dieser individuelle Wert nicht vorab bestimmt wurde, kann auch nicht ausgeschlossen werden, dass dadurch BDNF Genotyp-abhängige Unterschiede missachtet wurden.

4.2.1.3. Kontrolle des hormonellen Status bei Frauen

Informationen über den hormonelle Status der insgesamt 32 teilnehmenden Frauen wurden vorab nicht erfragt, so dass eine diesbezügliche Anpassung der beiden Genotyp-Gruppen nicht möglich war. Da allerdings der jeweilige Termin der PAS₂₅-Testung pro Probandin einem zufälligen Zeitpunkt innerhalb des Menstruationszyklus entsprach, war in dieser Hinsicht nicht mit systematischen Abweichungen in der Ausbildung von LTP-ähnlicher Plastizität zu rechnen.

4.2.2. Kontrolle von testübergreifenden Geschlechts-Effekten

Eine im Geschlechter-Verhältnis ausgeglichene Stichprobe konnte aufgrund der ohnehin geringen Anzahl der Met-Allel Träger nicht gebildet werden. Aus den ursprünglich 76 Personen, die sich einer BDNF-Genotypisierung unterzogen hatten, gingen nur 20 Met-Allel Träger hervor, die in die Studie einbezogen werden konnten. Darunter befanden sich nur vier Männer, aber sechzehn Frauen. Die Vergleichsgruppe der Nicht-Met-Allel Träger wurde diesem Geschlechter-Verhältnis angepasst, auch wenn daraus eine geschlechtsbedingte Verzerrung der Ergebnisse resultieren könnte. Erste Hinweise auf eine geschlechts-abhängige Interaktion zwischen dem Met-Allel und kardivaskulären Maßen fanden Raz und Mitarbeiter (2009). Sie stellten fest, dass Met-Allel Träger insbesondere dann eine verminderte Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit aufwiesen, wenn sie unter Bluthochdruck litten und weiblich waren. Die Probandinnen der aktuellen Untersuchung waren jung und hatten keinen erhöhten Blutdruck, insofern wäre die Wahrscheinlichkeit eines Effekts hier gering gewesen. Noch dazu unterschieden sich Met-Allel Trägerinnen ohnehin in keinem der erhobenen Parameter neuronaler Plastizität von Nicht-Met-Allel Trägerinnen.

Van Wingen et al. (2010) fanden in einer Bildgebungsstudie bei männlichen Met-Allel Trägern eine im Vergleich zu männlichen Nicht-Met-Allel Trägern stärkere Aktivierung der Amygdala während des Lernens von Gesichtern, sowie eine stärkere Aktivierung des PFC und posterioren Gyrus cinguli während des anschließenden Wiedererkennens bekannter Gesichter. Dieser Effekt trat bei weiblichen Probanden nicht auf, wenn auch beide Geschlechter (und auch beide BDNF-Genotypen) vergleichbare Lern- und Gedächtnisleistungen zeigten. Dennoch kann dieser Befund als ein geschlechtsspezifischer Unterschied in gedächtnisrelevanten Prozessen bei Met-Allel Trägern gedeutet werden, wenn auch Leistungsunterschiede nicht erfasst wurden. Hier ist allerdings zu beachten, dass das Lern-Paradigma nicht dem klassischen Hippocampus-abhängigen Lernen entsprach, da es sich um emotional gefärbtes Lernmaterial handelte (die zu erinnernden Gesichter zeigten einen positiven, negativen oder neutralen Ausdruck). Gesetzt dem Fall, dass der Unterschied zwischen männlichen und weiblichen Met-Allel Trägern sich in zukünftigen Studien bestätigen sollte, hätte der geringe Männer-Anteil ($n = 4$) in der vorliegenden Met-Allel Gruppe ein Auffinden dieses Effekts verhindert. Andere Bildgebungsstudien untersuchten nur einen übergreifenden Geschlechter-Effekt über beide BDNF Genotypen, stellten allerdings keinen Einfluss der Geschlechtszugehörigkeit auf die Gehirnaktivität fest (Hariri et al., 2003; Pezawas et al., 2004). Dieser Aspekt sollte jedoch in künftigen Studien berücksichtigt werden.

4.3. Diskussion der Ergebnisse

4.3.1. Fehlender Einfluss des Val66Met auf Maße LTP-ähnlicher Plastizität

Der Befund einer vergleichbaren Induzierbarkeit LTP-ähnlicher synaptischer Plastizität bei beiden Genotypen steht im Kontrast zu den bisherigen Befunden von Kleim et al. (2006) und Cheeran et al. (2008; siehe auch Cheeran et al., 2009).

In der Studie von Kleim und Mitarbeitern wurde die durch motorisches Training induzierte LTP-ähnliche synaptische Plastizität in Abhängigkeit des Val66Met untersucht (Kleim et al., 2006). Die Erregbarkeit des kortikalen Repräsentationsfelds des rechten dorsalen Zwischenknochenmuskels wurde vor und nach einer motorischen Trainingseinheit durch Einzelreiz-TMS

einer motorischen Trainingseinheit durch Einzelreiz-TMS überprüft. Bei Nicht-Met-Allel Trägern zeigte sich nach dem Training der erwartete Anstieg der MEP-Amplituden, Met-Allel Träger reagierten dagegen mit einem Abfall der MEP-Amplituden. Der Unterschied in der LTP-Ausbildung konnte dabei nicht auf einen möglicherweise unterschiedlichen Trainingserfolg in den motorischen Übungen zurückgeführt werden, da beide Gruppen vergleichbare Leistungen zeigten.

Cheeran und Kollegen stellten fest, dass Met-Allel Träger auch nach verschiedenen Gehirnstimulations-Protokollen eine verminderte synaptische Plastizität gegenüber Nicht-Met-Allel Trägern ausbildeten (Cheeran et al., 2008). Getestet wurden hier die (exzitatorische) intermittierende und (inhibitorische) kontinuierliche Theta Burst Stimulation (TBS), die Induzierung homöostatischer Plastizität durch aufeinander folgende kathodale Gleichstromstimulation (transcranial direct current stimulation, tDCS) und 1 Hz rTMS, sowie exzitatorische PAS.

Der Einfluss des Val66Met zeigte sich allerdings nicht bei allen Stimulations-Protokollen. Zum Beispiel wurde das PAS-Protokoll bei Cheeran et al. (2008) in Form zweier Bedingungen verabreicht: Einerseits über dem kortikalen Repräsentationsfeld des vom N. medianus innervierten M. abductor policis brevis (APB), und andererseits über dem des ADM, der auch als Zielmuskel der vorliegenden Untersuchung diente. Ein Effekt des BDNF Polymorphismus wurde nur in der ADM-Bedingung festgestellt, nicht jedoch in der APB-Bedingung, da hier beide Gruppen keinen signifikanten Anstieg der MEP-Amplituden zu verzeichnen hatten (Nicht-Met-Allel Träger trendweise; $p = ,07$).

Auch Fritsch und Mitarbeiter fanden keinen Unterschied zwischen den Genotypen in einem exzitatorisch wirkendem tDCS-Protokoll (Fritsch et al., 2010). Sie stellten zwar eine Überlegenheit der Nicht-Met-Allel Träger im Lernerfolg einer motorischen Aufgabe fest, allerdings profitierten beide Gruppen von einer anodalen tDCS, die während des Übens der Aufgabe verabreicht wurde. Die Ergebnisse der aktuellen Untersuchung decken sich zumindest hinsichtlich der vergleichbaren LTP-Ausbildung zwischen den Gruppen mit den Befunden von Fritsch et al (2010).

Es besteht daher keine einheitliche Befundlage über den Zusammenhang zwischen dem Val66Met und der Induzierung LTP-ähnlicher Plastizität, da ein genetischer Effekt nur bei einigen, aber nicht bei allen transkraniellen Stimulations-Techniken festgestellt wurde.

Grundsätzlich ist weiter zu bedenken, dass in den Pionier-Studien von Kleim et al. (2006) und Cheeran et al. (2008) nur kleine Stichproben untersucht wurden (insgesamt 16-18 Probanden pro Bedingung in der Cheeran-Studie und 26 Probanden in der Untersuchung von Kleim). Die Mittelwerte solch kleiner Stichproben unterliegen einer erhöhten statistischen Verzerrung, dem sogenannten „sample bias“, und können recht stark vom tatsächlichen Mittelwert der Gesamtpopulation abweichen. Insbesondere dann, wenn die ohnehin kleinen genetischen Gruppen nicht in Hinblick auf die Anzahl der Bildungsjahre (Cheeran et al., 2008; Kleim et al., 2006) angeglichen sind oder unterschiedlichen genetischen Grundpopulationen entstammen (Kleim et al., 2006). Daher sind ihre Befunde mit Vorsicht zu interpretieren. In die vorliegende Untersuchung wurden 40 hinsichtlich Alter, Geschlecht, Bildungsjahre und Ethnizität vergleichbare Probanden einbezogen, eine Stichprobe, bei der – unter der Voraussetzung eines tatsächlichen Effekts des Val66Mets – ein Gruppenunterschied zu erwarten gewesen wäre.

Es stellt sich daher die Frage: Existiert überhaupt ein Effekt des Val66Met auf der Ebene indirekt ermittelter LTP-Maße? Wenn ja, wodurch könnte er zustande kommen und welche Faktoren könnten seine Erfassung in bewährten und standardisierten Stimulationsprotokollen verhindern?

In einer Bildgebungsstudie von McHughen et al. (2010) zeigten Met-Allel Träger bei Bewegungen des rechten Zeigefingers eine geringere und stärker lateralisierte sensomotorische Aktivierung als Nicht-Met-Allel Träger. Diese Unterschiede zwischen den Genotypen könnten ein Hinweis auf eine grundsätzliche unterschiedliche Organisation des sensomotorischen Repräsentationsfeldes der kontralateralen Hand zwischen den Genotypen darstellen. Pazewas et al. (2004) beschrieben Veränderungen in den Volumina gedächtnisrelevanter Strukturen wie Hippocampus und PFC zwischen beiden Genotypen, die als Folge kumulierter Met-Allel Auswirkungen angesehen werden. Ebenso könnten

feinere strukturelle Unterschiede, deren Manifestation nicht unmittelbar als Volumenreduktionen erfassbar sind, im sensomotorischen System bestehen. Die Verminderung der durch TMS über dem Handareal erzeugbaren LTP-ähnlichen Plastizität bei Met-Allel Trägern (siehe Cheeran et al., 2009) könnte unter anderem durch solche Unterschiede vermittelt sein. Die in allen TMS-Studien angeführten gleichen TMS-Basisparameter zwischen den Genotyp-Gruppen, wie die RMT oder die Stimulationsintensität zur Evozierung eines 1 mV großen MEPs, sind wahrscheinlich zu grobe Maße um Unterschiede der kortikalen Organisation wiedergeben zu können. Zudem unterliegen sie zusätzlich weit stärkeren Einflussfaktoren, wie z.B. der interindividuell verschiedenen Distanz zwischen Schädeloberfläche und stimuliertem Kortex-Areal.

Darüber hinaus bestehen möglicherweise Genotyp-bedingte Unterschiede in Prozessen der kurzfristigen Erhöhung synaptischer Erregungsübertragung. Über die neuronalen Mechanismen der experimentellen LTP-Induzierung ist bisher bekannt, dass sie überwiegend NMDA-vermittelt sind und mit verstärkter BDNF-Freisetzung und TrkB-Aktivierung einhergehen (siehe z.B. die in vitro Experimente an Gewebeschnitten von Mäusen in Fritsch et al., 2010). Die genauen Wirkungsmechanismen des BDNF sind dabei allerdings noch umstritten, so dass es schwierig ist, auf abweichende Prozesse durch reduzierte BDNF-Ausschüttung in Folge des Val66Met zu schließen. Bis nicht die konkreten Wirkungsmechanismen von BDNF auf molekular-synaptischer Ebene identifiziert worden sind, bleibt der Zusammenhang zwischen Met-Allel und dem Ausmaß experimentell erzeugbarer LTP-ähnlicher Plastizität unklar.

Cheeran et al. (2008) stellten darüber hinaus die Vermutung an, dass die LTP-Induzierung durch TMS oder tDCS verschiedene neuronale Schaltkreise beansprucht, die möglicherweise unterschiedlich sensitiv auf die Auswirkungen des Val66Met Polymorphismus reagieren. Dies würde zwar die unterschiedlichen Befunde zwischen den TMS-Protokollen der Cheeran-Studie und der anodalen tDCS von Fritsch et al. (2010) erklären, gibt allerdings keinen Hinweis darauf, weshalb innerhalb einer bestimmten Stimulations-Technik wie der TMS divergierende Resultate auftreten können.

Auch die Befunde der vorliegenden Studie tragen nur wenig zur Klärung der inkonsistenten Befunde bei, da sich in dieser Stichprobe kein Zusammenhang zwischen dem Vorliegen des Polymorphismus und der experimentell hervorgerufenen LTP oder weiteren Maßen neuronaler Plastizität zeigte. Eine mögliche Ursache für das Ausbleiben eines BDNF Gruppenunterschieds könnte darin liegen, dass die Mehrheit der Probanden junge Studenten waren. Sowohl körperliche Aktivität (Gold et al., 2003) als auch kognitive Aktivität (Egan et al., 2003) führen zu einer erhöhten Freisetzung von BDNF. Möglicherweise wird bei studentischen Met-Allel Trägern der bestehende BDNF-Mangel durch ihren Lebensstil zumindest teilweise behoben, so dass basale BDNF-Spiegel weniger stark von dem der Nicht-Met-Allel Träger abweichen. Unterschiede in der durch die PAS₂₅ angeregten aktivitäts-abhängigen Ausschüttung von BDNF würden sich dadurch auch weniger deutlich in unterschiedlicher LTP-Ausbildung manifestieren können. Wie stark sich in der aktuell untersuchten Stichprobe die tatsächlichen BDNF-Spiegel unterscheiden haben, wurde experimentell nicht kontrolliert.

4.3.2. Fehlender Einfluss des Val66Met auf die Lernleistung

Bisherige Studien berichten überwiegend über verminderte Leistungen von Met-Allel Trägern gegenüber Nicht-Met-Allel Trägern hinsichtlich verschiedener nicht-deklarativer und deklarativer Lern- und Gedächtnisfunktionen.

Met-Allel Träger zeigten z.B. eine schwächere motorische Lernleistung in einer Studie von Fritsch et al. (2010), wie auch eine erhöhte Fehleranfälligkeit und eine schlechtere Aufrechterhaltung des Lernerfolgs in einer prozedural motorischen Lernaufgabe bei McHughen et al. (2010). Die Befunde der vorliegenden Untersuchung bieten dagegen keinen Anhaltspunkt für schlechteres nicht-deklaratives Regel-Lernen oder schlechteres prozedural motorisches Lernen bei Met-Allel Trägern.

Ebenso wurden die Befunde einer verminderten deklarativen Lern- und Gedächtnisleistung bei Trägern des Val66Met Polymorphismus (Egan et al., 2003; Goldenberg et al., 2008; Hariri et al., 2003) durch die aktuellen Ergebnisse nicht bestätigt. Wie auch in der vorliegenden Studie zeigte sich kein Einfluss des

Val66Met bei Egan und Mitarbeitern (2003) in der kumulierten Lernleistung und dem verzögerten Abruf des California Verbal Learning Tests (CVLT, Delis et al., 1987), einer englischen Version des VLMT. Ebenso fanden Harris und Mitarbeiter (2006) vergleichbare Leistungen für beide Genotypen in einer verbalen Lernaufgabe (logisches Gedächtnis) bei gesunden älteren Probanden. Nacmias und Kollegen ließen BDNF-genotypisierte Probanden mit Alzheimer eine Testbatterie unterschiedlicher deklarativer Lern- und Gedächtnistests bearbeiten, wiesen aber bei keinem Gedächtnis-Parameter einen Einfluss des Met-Allels nach (Nacmias et al., 2004). Auch Strauss und Mitarbeiter konnten keinen Einfluss des BDNF Val66Met auf die verbale Gedächtnisleistung an jungen Patienten mit affektiver Störung zeigen (Strauss et al., 2004).

4.3.3. Fehlender Einfluss des Val66Met auf andere neuropsychologische Leistungen

Für eine leistungsmindernde Auswirkung des BDNF Met-Allels auf andere kognitive Funktionen als Gedächtnisleistungen gibt es wenig Anhaltspunkte. Nacmias et al. (2004) ließen ältere Probanden mit Alzheimer eine neuropsychologische Testbatterie bearbeiten und fanden keinen Einfluss des Met-Allels auf die Wortflüssigkeit (ebenso Harris et al., 2006), Visuo-Konstruktion, Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit oder Exekutivfunktionen. Diese Befunde entsprechen auch den Ergebnissen der aktuellen Untersuchung. In einer Studie von Echeverria et al. (2005) wurden die Leistungsfähigkeit derselben kognitiven Funktionen erfasst, allerdings bei gesunden Probanden mittleren Alters. Hier unterschieden sich beide Genotyp-Gruppen hinsichtlich eines einzelnen Maßes der Exekutivleistung, dem TMT, Teil B. Unterschiede zwischen den Genotypen wurden auch in anderen Arbeiten am ehesten bei Testungen der Exekutivfunktionen und des Arbeitsgedächtnisses gefunden. Rybakowski et al. (2003) stellten beispielsweise schlechtere Leistungen im WCST (Wisconsin Card Sorting Test, WCST; Heaton, 1981) bei Met-Allel Trägern mit bipolarer Störung fest. Im Unterschied dazu erbrachten aber dieselben Probanden der Egan-Studie, bei denen sich in einigen Gedächtnistests schwächere Leistungen der Met-Allel Träger gezeigt hatten, vergleichbare Leistungen im WCST (Egan et al., 2003).

In einer Studie von Tramontina und Kollegen (2009) traten außer einer erhöhten Fehleranfälligkeit bei Met-Allel Trägern keine Leistungsunterschiede zwischen den Genotypen auf. Diese Studie wurde ebenso wie die oben berichtete Studie von Rybakowski et al. (2003) an einer Stichprobe von Personen mit bipolarer Störung und dem selben Testinventar durchgeführt.

Insgesamt spielt der Val66Met in Lern- und Gedächtnisprozessen eine stärkere Rolle als in anderen kognitiven Leistungsbereichen, so dass durchaus von einem domänen-spezifischen Einfluss gesprochen werden kann. Eine Abhängigkeit vom Met-Allel Träger Status scheint sich, wenn überhaupt, in Testungen zu offenbaren, die eine Beteiligung von PFC-Funktionen erfordern, insbesondere des Arbeitsgedächtnisses. In diesem Fall könnten BDNF-Effekte auch durch ein Zusammenwirken mit anderen genetischen Dispositionen vermittelt werden, die an dopaminergem Innervation beteiligt sind (siehe Nagel et al., 2008, siehe unten).

4.3.4. Altersabhängigkeit genetischer Effekte

Eine Ursache der inkonsistenten Befunde könnte auch im unterschiedlichen Alter der untersuchten Probanden begründet sein. Wirkt sich ein Polymorphismus unvorteilhaft auf Gedächtnisprozesse aus, tritt dies besonders dann zutage, wenn wenig kognitive Ressourcen vorhanden sind (Lindenberger et al., 2008). Solche Bedingungen finden sich bei neurodegenerativen Erkrankungen wie auch im Laufe des natürlichen Alterungsprozesses. Alters-assoziierte Veränderungen betreffen dabei sowohl die Morphologie des Gehirns, insbesondere Volumenreduktionen der für Gedächtnisprozesse relevanten Areale wie MTL und PFC, als auch typische Veränderungen im Neurotransmitter-Gleichgewicht (Hedden & Gabrieli, 2004). Daher können Ergebnisse, die an älteren im Unterschied zu jüngeren Personen erhoben wurden, zu unterschiedlichen Aussagen über den Einfluss eines Polymorphismus führen. Gemäß dieser Hypothese von Lindenberger et al. (2008) war die Stichprobe der vorliegenden Studie möglicherweise zu leistungsstark um das Aufdecken eines Val66Met-Einflusses auf kognitive Leistungen zu begünstigen. Einerseits war das Durchschnittsalter mit rund 27 Jahren relativ niedrig, andererseits bestand der größte Teil der Stich-

probe, wie oben bereits angesprochen, aus Studenten. Das bedeutet, es handelte sich auch um eine kognitiv leistungsstarke Personengruppe, bei der die Auswirkung des Val66Met auf die Lernfähigkeit möglicherweise kompensiert werden konnte (z.B. durch Lebensstil-Faktoren oder weitere genetische Polymorphismen, siehe unten).

Darüber hinaus fanden Erickson und Mitarbeiter (2008) in einer Längsschnitt-Untersuchung einen möglichen Einfluss des Val66Met auf den altersbedingten Leistungsabfall in Exekutivfunktionen. Zeigten Träger des Met-Allels im mittleren Erwachsenenalter noch verminderte Exekutiv-Leistungen gegenüber Nicht-Met-Allel Trägern, so drehten sich die Verhältnisse zum Zeitpunkt der follow-up Testung 10 Jahre später um. Dies ging nicht auf eine relative Leistungsverbesserung der älteren Met-Allel Träger zurück, sondern auf einen geringeren Leistungsabfall im Vergleich zu Nicht-Met-Allel Trägern. Dieser Befund weist zwar in eine entgegengesetzte Richtung als die Annahme Lindenbergers und bedarf noch einer unabhängigen Replikation, belegt allerdings erneut, dass das Probandenalter als Einfluss-Faktor auf genetische Untersuchungen berücksichtigt werden muss.

4.3.5. Gen-Gen-Interaktionen

Eine weitere Erklärung für das Ausbleiben eines Val66Met-Effekts in der vorliegenden Studie könnte sein, dass kompensatorische Mechanismen die negative Auswirkung des Met-Allels ausgleichen oder abschwächen konnten, so dass sie testpsychologisch nicht mehr nachweisbar war. Weltweit sind 30-50% der Bevölkerung Träger mindestens eines Met-Allels, wobei asiatische Populationen die höchste Auftretenshäufigkeit aufweisen (Shimizu et al., 2004). Dennoch lässt sich der Effekt des Val66Met eher in Personen kaukasischer Abstammung nachweisen als in anderen Ethnien (Bath & Lee, 2006). Vor diesem Hintergrund scheinen genetisch-bedingte, kompensatorische Mechanismen wahrscheinlich zu sein, wenn auch bislang wenig darüber bekannt ist. Denkbar sind hier vor allem Interaktionen zwischen dem Val66Met und den Polymorphismen anderer lern-relevanter Gene (z.B. Kibra, APO E4 oder COMT) oder aber Interaktionen

zwischen dem Val66Met und Transport-Proteinen (z.B. Sortilin), die eine wichtige Rolle in der Regulierung der BDNF-Freisetzung spielen (Chen et al., 2005). Wenige Arbeiten haben bislang die Interaktion zwischen dem BDNF Val66Met und anderen Polymorphismen in Hinblick auf kognitive Leistungen untersucht. In einer Studie von Nagel und Kollegen (2008) wurde eine Interaktion zwischen dem Val66Met und dem COMT Polymorphismus Val158Met in einer Stichprobe älterer Personen festgestellt. Probanden, die gleichzeitig Träger beider SNPs waren, zeigten schwächere Leistungen in Exekutivfunktionen und der AG-Leistung. Raz et al. (2009) konnten diese Interaktion dagegen nicht replizieren. In ihrer Untersuchung wurden Probanden, im Alter über die gesamte Lebensspanne verteilt, in Exekutivfunktionen, deklarativem Gedächtnis, Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit sowie in ihrer fluiden Intelligenz getestet. Es zeigten sind zwar schwächere Gedächtnisleistungen und eine geringere Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit bei Trägern des BDNF Met-Allels, aber keine signifikanten Interaktionen zwischen dem Val66Met, dem COMT Val158Met und APO E4. Die Autoren selbst weisen darauf hin, dass dies an dem im Vergleich zur Nagel-Studie breiteren Altersspektrum (und dadurch auch Einschluss vieler jüngerer Probanden) in der untersuchten Stichprobe liegen könnte. Diese Annahme wird durch eine Studie von Strauss und Mitarbeitern gestützt, die an einer Stichprobe junger Probanden mit affektiver Störung ebenfalls keine Interaktion zwischen dem BDNF Val66Met und dem COMT Val158Met feststellten (Strauss et al., 2004).

Die Möglichkeit genetischer Interaktionen wurde in der aktuellen Studie nicht durch zusätzliche Genotypisierungen kontrolliert und kann daher nicht ausgeschlossen werden.

4.4. Fazit

Die Annahme, dass der Val66Met Polymorphismus zu einer Verminderung synaptischer und kortikaler Plastizität führt, wurde durch die Befunde der vorliegenden Studie nicht bestätigt. Beide Genotypen unterschieden sich weder in Maßen LTP-ähnlicher synaptischer Plastizität noch in ihrer nicht-deklarativen Lernleistung. Auch andere kognitive Domänen wie Informationsverarbeitungs-

geschwindigkeit, Exekutivfunktionen, Wortflüssigkeit oder allgemeine Intelligenz wurden vom Met-Allel Träger Status nicht beeinflusst.

Das Ausbleiben des erwarteten Val66Met-Effekts legt nahe, dass in der untersuchten Stichprobe Kompensationsprozesse die negativen Auswirkungen des Met-Allels ausgeglichen haben. Diese könnten durch das niedrige Alter der Probanden vermittelt sein und auf größere kognitive Ressourcen, Lebensstil-Faktoren oder Gen-Gen-Interaktionen zurückzuführen sein. Diese Faktoren wurden experimentell nicht kontrolliert, ihr Einfluss auf die erhobenen Maße kann daher nicht mit Sicherheit angenommen werden.

4.5. Ausblick

Das Wissen über potenzielle Modifikatoren der Val66Met-Wirkung könnte zur Entwicklung von Empfehlungen beitragen, durch welche Verhaltensweisen dessen Auswirkungen abgeschwächt werden könnten. Eine mögliche Prävention der lebenslang reduzierten BDNF-Ausschüttung könnte die strukturellen Veränderungen in Gedächtnis-relevanten Gehirnstrukturen bei älteren Met-Allel Trägern verhindern und somit Gedächtnisdefizite im Alter verringern. Andererseits könnte dadurch auch die allgemeine neuronale Plastizität älterer Met-Allel Träger verbessert werden, was Rehabilitationsmaßnahmen nach Schlaganfall unterstützen würde.

Die Aufgabe zukünftiger Studien wird daher sein, die Effektstärke potenzieller Einflussfaktoren und die Bedingungen ihrer Wirksamkeit näher zu beschreiben. Aspekte, die bei der Entwicklung neuer Fragestellungen berücksichtigt werden sollten, werden im Folgenden kurz zusammengefasst.

4.5.1. Gen-Gen-Interaktionen

Es besteht einerseits die Notwendigkeit in zukünftigen Untersuchungen die tatsächliche Stärke einzelner genetischer Einflüsse konkreter zu bemessen sowie andererseits mögliche Interaktions-Effekte zwischen Gedächtnis-relevanten SNPs zu klären. Hinweise auf bedeutsame genetische Interaktionen zwischen dem BDNF Val66Met und dem COMT Val158Met wurden bereits erbracht (siehe Lindenberger et al., 2008; Erickson et al., 2008; Nagel et al., 2008), aller-

dings existieren bisher wenige Bestätigungen dieser Befunde. Darüber hinaus wurden bisher kaum Studien durchgeführt, die gezielt das Zusammenwirken des Val66Mets mit anderen Polymorphismen (z.B. APO E4 oder Kibra rs17070145) auf kognitive Leistungen untersucht haben. Die wenigen vorhandenen Studien beziehen sich zudem teilweise auf klinische Populationen (z.B. Nacmias et al., 2004; Strauss et al., 2004).

4.5.2. Gen-Umwelt-Interaktionen

Sport fördert im Rahmen der Rehabilitation nach Schlaganfall den Rehabilitationserfolg und die Gedächtnisleistungen der Betroffenen (siehe Review von Lovjovich, 2010). Im Tiermodell wurden wiederum erhöhte BDNF-Spiegel in hippocampalen Neuronen nach wiederholtem Lauf-Training nachgewiesen (Seifert et al., 2009; Stranahan et al., 2009). Dies legt nahe, dass die Verbesserungen der neuronalen Plastizität und Gedächtnisleistung durch Sport-Interventionen zumindest teilweise durch Veränderungen der BDNF-Ausschüttung vermittelt werden. Es stellt sich demnach die Frage, ob der dauerhaft verringerte BDNF-Spiegel bei Met-Allel Trägern durch ein regelmäßiges Sportprogramm langfristig erhöht werden kann, und ob sich Unterschiede zwischen den Genotypen in LTP-ähnlicher synaptischer Plastizität oder Lernleistung durch ein entsprechendes Interventionsprogramm angleichen lassen.

Darüber hinaus beeinflusst das Zusammenwirken verschiedener Lebensstil-Faktoren wie Ernährung, Bewegung, Körpergewicht und Konsum von Nikotin, Alkohol oder Drogen Gedächtnisleistung älterer Probanden (Flöel et al., 2008). Hier sollte überprüft werden, ob zwischen Met-Allel Trägern und Nicht-Met-Allel Trägern systematische Abweichungen in gesundheitsbezogenen Verhaltensweisen auftreten. Lang et al. (2007) fanden zum Beispiel unter regelmäßigen und gelegentlichen Rauchern eine signifikant höhere Auftretenshäufigkeit von Met-Allel Trägern als unter Personen, die angaben, niemals zu rauchen. So könnten die in älteren Met-Allel Trägern ermittelten Gedächtnisdefizite zumindest teilweise auch auf einem über viele Jahre kumulierten Effekt unterschiedlicher Lebensführung und gesundheitsbezogenen Verhaltensweisen basieren.

4.5.3. Tierexperimentelle Beiträge

Der BDNF Val66Met Polymorphismus tritt natürlicherweise in keiner anderen Spezies als dem Menschen auf (Bath & Lee, 2006). Tierexperimentelle Studien behelfen sich daher mit Modellen reduzierter BDNF-Aktivität durch die chemische Blockierung hippocampaler TrkB-Rezeptoren oder durch transgene Mäuse-Stämme, deren TrkB-Rezeptoren lokal nicht exprimiert werden (z.B. Tsien et al., 1996). Ein Tiermodell für einen tatsächlichen Valin → Methionin Austausch existiert bislang jedoch nicht (Bath & Lee, 2006). Die Entwicklung einer transgenen Val66Met-Maus würde die Analyse molekularer und zellulärer Grundlagen der beeinträchtigten BDNF-Funktionalität durch das Met-Allel ermöglichen.

5. Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1:* Verzweigtes Neuron mit Zellkörper (Soma), Axon und Dendriten (modifiziert nach Iverson, 1980), Seite 2
- Abbildung 2:* Freisetzung von Neurotransmittern in den synaptischen Spalt (vereinfachte Darstellung), Seite 4
- Abbildung 3:* Paired associative stimulation (PAS) (modifiziert nach Stefan et al., 2000), Seite 8
- Abbildung 4:* Gedächtnismodell nach Squire (1987), Seite 11
- Abbildung 5:* Mehrspeichermodell des Gedächtnisses (Atkinson & Shiffrin, 1968), Seite 12
- Abbildung 6:* Zeitlicher Ablauf der Studie, Seite 20
- Abbildung 7:* Ablauf des Paired associative stimulation (PAS₂₅)-Protokolls, Seite 25
- Abbildung 8:* Künstliche Grammatik nach Reber (1967), Seite 27
- Abbildung 9:* Regelsystem der Fingersequenz-Aufgabe (modifiziert nach Jimenez et al., 1996), Seite 28
- Abbildung 10:* Fingersequenz-Aufgabe, Seite 29
- Abbildung 11:* LTP-ähnliche synaptische Plastizität infolge der paired associative stimulation (PAS₂₅), Seite 39
- Abbildung 12:* Anteil der als grammatikalisch wahrgenommenen Buchstabensequenzen (endorsement rate), Seite 40
- Abbildung 13:* Anstieg der RT-Differenz zwischen sequenziellen und randomisierten Tastenabfolgen in der Fingersequenz-Aufgabe, Seite 41
- Abbildung 14:* Stimmungsveränderungen der Genotyp-Gruppen anhand der PANAS-Skalen „Positiver Affekt“ und „Negativer Affekt“, Seite 43

6. Tabellenverzeichnis

- Tabelle 1:* Ein- und Ausschlusskriterien zur Studienteilnahme, Seite 22
- Tabelle 2:* (Soziodemographische) Merkmale der beiden BDNF Genotyp-Gruppen, Seite 24
- Tabelle 3:* Übersicht der neuropsychologischen Inventare, Seite 33
- Tabelle 4:* Kognitive Domänen, die durch die neuropsychologischen Tests erfasst wurden, Seite 36
- Tabelle 5:* TMS-Basis-Parameter und Baseline MEP- Amplitude der BDNF Gruppen zu Beginn der PAS₂₅, Seite 38
- Tabelle 6:* Summenwerte von Met-Allel Träger und Nicht-Met-Allel Träger in den sieben kognitiven Domänen, Seite 42
- Tabelle 7:* Blutdruck und Puls der Genotyp-Gruppen zu Beginn und am Ende der experimentellen Sitzungen, Seite 44
- Tabelle 8:* Korrelationsmatrix zwischen Variablen der LTP-ähnlichen synaptischen Plastizität, nicht-deklarativem Lernen und den sieben kognitiven Domänen, Seite 45

7. Literaturverzeichnis

1. Aschenbrenner S, Tucha O, Lange K (2000) Regensburger Wortflüssigkeits-Test (RWT). Hogrefe, Göttingen
2. Atkinson RC, Shiffrin RM (1968) Human memory : A proposed system and its control processes. In: Spence KW, Spence JT (Hrsg) The psychology of learning and motivation: Advances in research and theory. Academic Press, New York
3. Baddeley A (1986) Working memory. Oxford University Press, New York
4. Baddeley A, Hitch, GJ (1974) Working memory. In Bower GA (Hrsg) The psychology of learning and motivation. Academic Press, New York
5. Bath KG, Lee FS (2006) Variant BDNF (Val66Met) impact on brain structure and function. CABN 6: 79-85
6. Bertram L, McQueen MB, Mullin K, Blacker D, Tanzi, RE (2007) Systematic meta-analyses of Alzheimer disease genetic association studies: The AlzGene database. Nat Genet 39: 17-23
7. Cheeran B, Talelli P, Mori F, Koch G, Suppa A, Edwards M, Houlden H, Bhatia K, Greenwood R, Rothwell, JC (2008) A common polymorphism in the brain derived neurotrophic factor gene (BDNF) modulates human cortical plasticity and the response to rTMS. J Physiol 586: 5717-5725
8. Cheeran BJ, Ritter C, Rothwell JC, Siebner HR (2009) Mapping genetic influences on the corticospinal motor system in humans. Neuroscience 164: 156-163

9. Chen WR, Lee S, Kato K, Spencer DD, Shepherd GM, Williamson A (1996) Long-term modifications of synaptic efficacy in the human inferior and middle temporal cortex. *PNAS* 93: 8011-8015
10. Chen ZY, Patel PD, Sant G, Meng CX, Teng KK, Hempstead BL, Lee FS (2004) Variant brain-derived neurotrophic factor (BDNF) (Met66) alters the intracellular trafficking and activity-dependent secretion of wild-type BDNF in neurosecretory cells and cortical neurons. *J Neurosci* 24: 4401-4411
11. Cleeremans A, McClelland JL (1991) Learning the structure of event sequences. *J Exp Psychol Gen* 120: 235-253
12. Chen Z-Y, Ieraci A, Teng H, Dall H, Meng C-X, Herrera DG, Nykjaer A, Hempstead BL, Lee FS (2005) Sortilin controls intracellular sorting of brain-derived neurotrophic factor to the regulated secretory pathway. *J Neurosci* 25: 6156-6166
13. Cooke SF, Bliss TVP (2006) Plasticity in the human central nervous system. *Brain* 129: 1659-1673
14. Cunha C, Brambilla R, Thomas KL (2010) A simple role for BDNF in learning and memory? *Front Mol Neurosci* 3: 1-14
15. De Frias CM, Marklund P, Eriksson E, Larsson A, Öman L, Annerbrink K, Bäckman L, Nilsson L-G, Nyberg L (2010) Influence of COMT gene polymorphism on fMRI-assessed sustained and transient activity during a working memory task. *J Cognitive Neurosci* 22: 1614-1622
16. Delis DC, Kramer JH, Kaplan E, Ober BA (1987) California Verbal Learning Test: Adult version Manual San Antonio, TX: Psychological Corporation

17. De Vries MH, Barth ACR, Maiworm S, Knecht S, Zwitserlood P, Flöel A (im Druck) Electrical stimulation of Broca's area enhances implicit learning of an artificial grammar. *J Cognitive Neurosci*
18. Di Lazzaro V, Oliviero A, Pilato F, Saturno E, Dileone M, Mazzone P, Insola A, Tonali PA, Rothwell JC (2004) The physiological basis of transcranial motor cortex stimulation in conscious humans. *Clin Neurophysiol* 115: 255-266
19. Echeverria D, Woods JS, Heyer NJ, Rohlman DS, Farin FM, Bitner AC, Li T, Garabedian C (2005) Chronic low-level mercury exposure, BDNF polymorphism, and associations with cognitive and motor function. *Neurotoxicol Teratol* 27: 781-796
20. Egan MF, Kojima M, Callicott JH, Goldberg TE, Kolachana BS, Bertolino A, Zaitsev E, Gold B, Goldman D, Dean M, Lu B, Weinberger DR (2003) The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell* 112: 257-269
21. Engert F, Bonhoeffer T (1999) Dendritic spine changes associated with hippocampal long-term synaptic plasticity. *Nature* 399: 19-21
22. Erickson KI, Kim JS, Suever BL, Voss MW, Francis BM, Kramer AF (2008) Genetic contributions to age-related decline in executive function: a 10-year longitudinal study of COMT and BDNF polymorphisms. *FNHUM* 2: 11 doi:103389/neuro090112008
23. Flöel A, Witte V, Lohmann H, Wersching H, Ringelstein EB, Berger K, Knecht S (2008) Lifestyle and memory in the elderly. *Neuroepidemiology* 31, 39-47

24. Foltynie T, Lewis SG, Goldberg TE, Blackwell AD, Kolachana BS, Weinberger DR, Robbins TW, Barker RA (2005) The BDNF Val66Met polymorphism has a gender specific influence on planning ability in Parkinson's disease. *J Neurol* 252: 833-838
25. Fox K (2002) Anatomical pathways and molecular mechanisms for plasticity in the barrel cortex. *Neuroscience* 111: 799-814
26. Fratello F, Veniero D, Curcio G, Ferrara M, Marzano C, Moroni F, Pellicciari MC, Bertini M, Rossini PM, De Gennaro L (2006) Modulation of corticospinal excitability by paired associative stimulation: reproducibility of effects and intraindividual reliability. *Clin Neurophysiol* 117: 2667-2674
27. Fritsch B, Reis J, Martinowich K, Schambra HM, Ji Y, Cohen LG, Lu B (2010) Direct current stimulation promotes BDNF-Dependent synaptic plasticity: Potential implications for motor learning. *Neuron* 66: 198-204
28. Gold SM, Schultz KH, Hartmann S, Mladek M, Lang UE, Hellweg R, Reer R, Braumann KM, Heesen C (2003) Basal serum levels and reactivity of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor to standardized acute exercise in multiple sclerosis and controls. *J Neuroimmunol* 138: 99-105
29. Goldenberg TE, Iudicello J, Russo C, Elevåg B, Straub R, Egan MF, Weinberger DR (2008) BDNF Val66Met polymorphism significantly affects d' in verbal recognition memory at short and long delays. *Biol Psychol* 77: 20-24
30. Gottschalk G, Pozzo-Miller LD, Figurov A, Lu B (1998) Presynaptic modulation of synaptic transmission and plasticity by brain-derived neurotrophic factor in the developing hippocampus. *J Neurosci* 18: 6830-6839

31. Härtling C, Markowitsch HJ, Neufeld H, Calabrese P, Deisinger K, Kessler J (2000) Wechsler Gedächtnistest - Revidierte Fassung (WMS-R). Verlag Hans Huber, Bern
32. Hariri AR, Goldberg TE, Mattay VS, Kolachana BS, Callicott JH, Egan MF, Weinberger DR (2003) Brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism affects human memory-related hippocampal activity and predicts memory performance. *J Neurosci* 23: 6690-6694
33. Hartje W, Poeck K (2002) Klinische Neuropsychologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart
34. Hautzinger M, Bailer M, Worall H, Keller F (1995) Beck-Depressions-Inventar (BDI). Verlag Hans Huber, Bern
35. Heaton RK (1981) A manual for the Wisconsin Card Sorting Test Odessa, Psychological Assessment Resources, Florida
36. Hebb DO (1949) The organization of behaviour New York: John Wiley Sons, Inc
37. Hedden T, Gabrieli JD (2004) Insights into the ageing mind: A view from cognitive neuroscience. *Nat Rev Neurosci* 5: 87-96
38. Helmstaedter C, Lendt M, Lux S (2001) Verbaler Lern- und Merkfähigkeitstest (VLMT), Beltz Test, Göttingen
39. Howard JH, Howard DV (1997) Age differences in implicit learning of higher order dependencies in serial patterns. *Psychol Aging* 12: 634-656

40. Iverson LL (1980) Die Chemie der Signalübertragung. Spektrum, Gehirn und Nervensystem. Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft, Heidelberg
41. Jaenicke J (1999) Materialien-Handbuch Kursunterricht Biologie, Band 7, Reizphysiology, Aulis Verlag Deubner & Co KG, Köln
42. Ji RR, Kohno T, Moore KA, Woolf CJ (2003) Central sensitization and LTP: Do pain and memory share similar mechanisms? Trends Neurosci 26: 696-705
43. Jimenez L, Mendez C, Cleeremans A (1996) Comparing direct and indirect measures of sequence learning. J Exp Psychol Learn 22: 948-969
44. Kandel ER, Schwartz JH, Jessel TM (1996) Neurowissenschaften - Eine Einführung. Spektrum Akademischer Verlag: Berlin Heidelberg
45. Kleim JA, Chan S, Pringle E, Schallert K, Procaccio V, Jimenez R, Cramer SC (2006) BDNF val66met polymorphism is associated with modified experience-dependent plasticity in human motor cortex. Nat Neurosci 9: 735-737
46. Knowlton BJ, Squire LR (1996) Artificial grammar learning depends on implicit acquisition of both abstract and exemplar-specific information. J Exp Psychol Learn 22: 169-181
47. Krohne HW, Egloff B, Kohlmann C-W, Tausch A (1996) Untersuchungen mit einer deutschen Version der „Positive and negative Affect Schedule“ (PANAS). Diagnostica 42: 139-156

48. Kujirai K, Kujirai T, Sinkjaer T, Rothwell JC (2006) Associative plasticity in human motor cortex during voluntary muscle contraction. *J Neurophysiol* 96: 1337-1346
49. Li S-C, Chicherio C, Nyberg L, von Oertzen T, Nagel IE, Sander T, Heekeren HR, Lindenberger U, Bäckman L (2010) Ebbinghaus revisited: Influences of the BDNF val66met polymorphism on backward serial recall are modulated by human aging. *J Cognitive Neurosci* 22: 2164-2173
50. Lindenberger U, Nagel IE, Chicherio C, Li S-C, Heekeren HR, Bäckman L (2008) Age-related decline in brain resources modulates genetic effects on cognitive functioning. *FNHUM* 2: 234-244
51. Linnarsson S, Bjorklund A, Ernfors P (1997) Learning deficit in BDNF mutant mice. *Eur J Neurosci* 9: 2581-2587
52. Lövdén M, Bäckman L, Lindenberger U, Schaefer S, Schmiedek F (2010) A theoretical framework for the study of adult cognitive plasticity. *Psychol Bull* 136: 659-679
53. Lojovich JM (2010) The relationship between aerobic exercise and cognition: Is movement medicinal? *J Head Trauma Rehab* 25: 184-192
54. McClearn GE, Johansson B, Berg S, Pedersen NL, Ahern F, Pettrill SA, Plomin R (1997) Substantial genetic influence on cognitive abilities in twins 80 or more years old. *Science* 276: 1560-1563
55. McHughen SA, Rodriguez PF, Kleim JA, Kleim ED, Marchal Crespo L, Procaccio V, Cramer SC (2010) BDNF val66met polymorphism influences motor system function in the human brain. *Cereb Cortex* 20: 1254-1262

56. Meyers J, Meyers K (1995) Rey Complex Figure Test and Recognition Trial (RCFT). Psychological Assessment Resources, Florida
57. Minichiello L, Korte M, Wolfner D, Kuhn R, Unsicker K, Cestari V, Rossi-Arnaud C, Lipp HP, Bonhoeffer T, Klein R (1999) Essential role for TrkB receptors in hippocampus-mediated learning. *Neuron* 24: 401-414
58. Morris RG (1989) Synaptic plasticity and learning: selective impairment of learning rats and blockade of long-term potentiation in vivo by the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist AP5. *J Neurosci* 9: 3040-3057
59. Müller-Dahlhaus JFM, Orekhov, Y, Liu Y, Ziemann U (2008) Interindividual variability and age-dependency of motor cortical plasticity induced by paired associative stimulation. *Exp Brain Res* 187: 467-75
60. Nacmias B, Piccini C, Bagnoli S, Tedde A, Cellini E, Bracco L, Sorbi S (2004) Brain-derived neurotrophic factor, apolipoprotein E genetic variants and cognitive performance in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 367: 379-83
61. Nagel IE, Chicherio C, Li S-C, Nyberg L, von Oertzen T, Sander T, Villingner A, Heekeren HR, Bäckman L, Lindenberger U (2008) Human aging magnifies genetic effects on executive functioning and working memory. *FNHUM* 2: 1-8
62. Nissen MJ (1987) Attentional requirements of learning: Evidence from performance measures. *Cognitive Psychol* 19: 1-32
63. Oldfield RC (1971) The assessment and analysis of handedness: The Edinburgh inventory. *Neuropsychologia* 9: 97-113

64. Papassotiropoulos A, Stephan DA, Huentelman MJ, Hoerndli FJ, Craig DW, Pearson JV, Huynh KD, Brunner F, Corneveaux J, Osborne D, Wollmer MA, Aerni A, Coluccia D, Hanngi J, Mondadori CR, Buchmann A, Reiman EM, Caselli RJ, Henke K, de Quervain DJ (2006) Common KIBRA alleles are associated with human memory performance. *Science* 314: 475-478
65. Pearson-Fuhrhop KM, Kleim JA, Cramer SC (2009) Brain plasticity and genetic factors. *Top Stroke Rehabil* 16: 282-299
66. Pezawas L, Verchinski BA, Mattay VS, Callicott JH, Kolachana BS, Straub RE, Egan MF, Meyer-Lindenberg A, Weinberger DR (2004) The brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism and variation in human cortical morphology. *J Neurosci* 24: 10099-10102
67. Pinel JPJ (2001) *Biopsychologie*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg Berlin
68. Pospeschill M (1996) *Praktische Statistik Psychologie*. Verlags Union Weinheim
69. Quartarone A, Rizzo V, Bagnato S, Morgante F, Sant'Angelo A, Girlanda P, Siebner HR (2006) Rapid-rate paired associative stimulation of the median nerve and motor cortex can produce long-lasting changes in motor cortical excitability in humans. *J Physiol* 575: 657-670
70. Raz N, Rodrigue KM, Kennedy KM, Land S (2009) Genetic and vascular modifiers of age-sensitive cognitive skills: effects of COMT, BDNF, ApoE, and hypertension. *Neuropsychology* 23: 105-16
71. Reber AS (1967) Implicit learning of artificial grammars. *J Verb Learn Verb Beh* 6: 855-863

72. Ridding MC, Flavel SC (2006) Induction of plasticity in the dominant and non-dominant motor cortices in humans. *Exp Brain Res* 171: 551-557
73. Rieckmann A, Bäckman L (2009) Implicit learning in aging: Extant patterns and new directions. *Neuropsychol Rev* 19: 490-503
74. Sale MV, Ridding MC, Nordstrom MA (2007) Factors influencing the magnitude and reproducibility of corticomotor excitability changes induced by paired associative stimulation. *Exp Brain Res* 181: 615-626
75. Schaper K, Kolsch H, Popp J, Wagner M, Jessen F (2008) KIBRA gene variants are associated with episodic memory in healthy elderly. *Neurobiol Aging* 29: 1123-1125
76. Schwarzkopf-Streit C (2000) Die Schätzung der Gesamtintelligenz aus Testkurzformen im Intelligenzkonzept nach Wechsler. Dissertation, Medizinische Hochschule, Hannover
77. Seidah NG, Benjannet S, Pareek S, Chretien M, Murphy RA (1996) Cellular processing of the neurotrophin precursors of NT3 and BDNF by the mammalian proprotein convertases. *FEBS Lett* 379: 247-250
78. Shimizu E, Hashimoto K, Iyo M (2004) Ethnic differences of the BDNF 196G/A (val66met) polymorphism frequencies: The possibility to explain ethnic mental traits. *Am J Med Genet* 126: 122-123
79. Siebner HR, Ziemann U (2007) Das TMS-Handbuch Transkranielle Magnetstimulation. Springer Medizin Verlag, Heidelberg

80. Smith MJ, Keel JC, Greenberg BD, Adams LF, Schmidt PJ, Rubinow DA, Wassermann EM (1999) Menstrual cycle effects on cortical excitability. *Neurology* 53: 2069-2072
81. Spreen O, Strauss E (2002) *A Compendium of Neuropsychological Tests*. Oxford University Press, New York
82. Squire LR (1987) *Memory and brain*. Oxford University Press, New York
83. Squire LR (2009) Memory and Brain Systems: 1969 –2009. *J Neurosci* 29: 12711-12716
84. Stefan K, Kunesch E, Cohen LG, Benecke R, Classen J (2000) Induction of plasticity in the human motor cortex by paired associative stimulation. *Brain* 123: 572-584
85. Stefan K, Wycislo M, Classen J (2004) Modulation of associative human motor cortical plasticity by attention. *J Neurophysiol* 92: 66-72
86. Strauss J, Barr CL, George CJ, Ryan CM, King N, Shaikh S, Kennedy JL (2004) BDNF and COMT polymorphisms: relation to memory phenotypes in young adults with childhood-onset mood disorder. *Neuromol Med* 5: 181-192
87. Tecchio F, Zappasodi F, Pasqualetti P, De Gennaro L, Pellicciari MC, Ercolani M, Squitti R, Rossini PM (2008) Age dependence of primary motor cortex plasticity induced by paired associative stimulation. *Clin Neurophysiol* 119: 675-682
88. Tramontina JF, Yates D, Vieira da Silva Magalhães P, Trentini C, Kauer Sant'Anna M, Fries GR, Bock H, Saraiva-Pereira ML, Kapczinski F (2009) Brain-derived neurotrophic factor gene val66met polymorphism

- and executive functioning in patients with bipolar disorder. *Rev Bras Psiquiatr* 31: 136-140
89. Tsai SJ, Hong CJ, Yu YW, Chen TJ (2004) Association study of a brain-derived neurotrophic factor (BDNF) Val66Met polymorphism and personality trait and intelligence in healthy young females. *Neuropsychobiology* 49: 13-16
90. Tsien JZ, Huerta PT, Tonegawa S (1996) The essential role of hippocampal CA1 NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in spatial memory. *Cell* 87: 1327-1338
91. Van Wingen G, Rijpkema M, Franke B, van Eijndhoven P, Tendolkar I, Verkes RJ, Buitelaar J, Fernández G (2010) The brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism affects memory formation and retrieval of biologically salient stimuli. *NeuroImage* 50: 1212-1218
92. Vaynman S, Gomez-Pinilla F (2005) License to run: Exercise impacts functional plasticity in the intact and injured central nervous system by using neurotrophins. *Neurorehab Neural Re* 19: 283-295
93. Watson D, Clark LA, Tellegen A (1988) Development and Validation of Brief Measures of Positive and Negative Affect - the Panas Scales. *J Pers Soc Psychol* 54: 1063-1070
94. Whitlock JR, Heynen AJ, Shuler MG, Bear MF (2006) Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. *Science* 313: 1093-1097
95. Ziemann U, Ilić TV, Pauli C, Meintzschel F, Ruge D (2004) Learning modifies subsequent induction of long-term potentiation-like and long-term depression-like plasticity in human motor cortex. *J Neurosci* 24: 1666-1672

8. Danksagung

Sowohl die Datenerhebung der vorliegenden Dissertation als auch die Dissertationsschrift selbst wurden zwischen Juni 2008 und August 2010 durchgeführt bzw. verfasst.

Ich möchte mich herzlich bei allen Personen bedanken, die am erfolgreichen Zustandekommen meiner Dissertation beteiligt waren!

Mein besonderer Dank gilt dabei Frau Prof. Dr. Agnes Flöel, die diese Dissertation überhaupt erst ermöglicht hat. Ihrer Betreuung, Übersicht und kompetenten Rat, aber auch ihrer Bestimmtheit ist es zu verdanken, dass die Untersuchung in so kurzer Zeit erfolgreich abgeschlossen werden konnte. Darüber hinaus war sie mir auch beim Verfassen wissenschaftlicher Artikel durch viele Anregungen und (nicht nur sprachliche) Hilfestellungen eine große Unterstützung.

Insbesondere möchte ich mich auch bei Herrn PD Dr. Jens Bölte bedanken, der sich so kurzfristig bereit erklärt hat, die Dissertation zu begutachten!

Vielen Dank gilt auch Fr. Dr. Veronika Witte für die Beantwortung meiner unzähligen Fragen und die sehr konstruktive Kritik.

Ich weiß gar nicht, wie ich meinen Kollegen und „Mitbürolern“ Steffi und Kai danken soll. Ihr beiden habt die vergangenen zwei Jahre in Münster maßgeblich geprägt, seid alle Höhen und Tiefen mitgegangen und ward mir immer verlässliche Freunde. Ich danke euch für alles!

Auch meinen anderen Kollegen möchte ich danken für all den guten Zuspruch und die Anregungen, die ihr mir für mich hattet. Den Hilfskräften und medizinischen Doktoranden für ihren flexiblen, fleißigen Einsatz und die gute Stimmung, die ihr verbreitet habt.

Herzlicher Dank gebührt auch meinen Eltern, besonders meiner Mutter, die mir zuverlässig Korrektur gelesen hat, obwohl ihre Flexibilität manchmal doch recht stark strapaziert wurde.

Ich möchte mich auch bei Frank und meinen Freunden bedanken. Dafür, dass sie mich wenig zu Gesicht bekommen haben, und wenn doch, dann häufig schlecht gelaunt. Danke für eure Geduld und euer Vertrauen!

10. Anhang

A: Probandenaufklärung

Klinik und Poliklinik für Neurologie

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. E. B. Ringelstein



Aufklärungsbogen zur Teilnahme an der Studie

„Einfluss genetischer Polymorphismen auf zerebrale Plastizität und Lernfähigkeit“

Lieber Proband,

Es handelt sich bei der Studie um ein Forschungsprojekt. Die Teilnahme an der Untersuchung ist freiwillig. Die Zusage kann jederzeit ohne Angabe von Gründen und ohne nachteilige Folgen zurückgezogen werden.

Dank moderner neurologischer Therapien überleben immer mehr Patienten einen Schlaganfall. Ungefähr zwei Drittel aller überlebenden Schlaganfallopfer erholen sich nur unvollständig und müssen daher mit dauerhaften (chronischen) Behinderungen leben. Motorische Defizite verringern die Unabhängigkeit und die Lebensqualität des einzelnen Patienten, da sie alltägliche Verrichtungen wie z.B. Anziehen, Waschen, oder Schreiben einschränken. Die verbleibenden chronischen motorischen Behinderungen nach der anfänglichen spontanen Erholungsphase lassen sich nur durch “Training” verbessern, das alleine aber in der chronischen Phase nur noch geringe Erfolge aufweist. Daher werden zur Zeit intensiv neue Behandlungsmöglichkeiten geprüft.

Das Ansprechen der Patienten auf Rehabilitationsmaßnahmen wie z.B. physiotherapeutische Verfahren variiert zwischen einzelnen Personen stark. Eine Ursache könnte darin liegen, dass die Fähigkeit zu Lernen und Gedächtnisbildung abhängig ist vom speziellen für jede Person etwas unterschiedlichen (individuellen) genetischen Profil. Ein erster

wichtiger Schritt in der Entwicklung individualisierter Therapien ist also, zu verstehen, inwieweit in Abhängigkeit bestimmter genetischer Anlagen das Lernen, sowohl auf der Zellebene im Gehirn, als auch im sprachlichen und motorischen Bereich variiert. Auf der Basis dieses Wissens kann dann systematisch das Ansprechen auf unterstützende Verfahren (medikamentös oder elektrisch) geprüft werden. Langfristiges Ziel ist es, für jeden Patienten eine „maßgeschneiderte“ Therapie zu entwickeln.

In der vorliegenden Studie soll nun die Frage geklärt werden, inwieweit sich das individuelle genetische Profil in bestimmten Genen auf die Veränderbarkeit von Verbindungen zwischen Nervenzellen im Gehirn sowie auf motorisches und verbales Lernen auswirkt. Dazu setzen wir eine vielfach verwendete Untersuchungsmethode, die sogenannte Transkranielle Magnetstimulation (TMS) ein.

Einschlusskriterien

Die Versuchsteilnehmer sollten im Alter zwischen 18 und 80 Jahren sein, nicht an unbehandeltem Bluthochdruck, schwerer Arteriosklerose (Verkalkung der Blutgefäße), schlecht eingestelltem Diabetes (Zuckerkrankheit), schwerem Asthma oder einem Glaukom (erhöhter Augen-Innendruck) leiden, keine Geistes- oder Nervenkrankheiten aufweisen oder Drogen oder Aufputzmitteln konsumieren. Probanden mit Nieren- oder Leberinsuffizienz oder Schilddrüsenüberfunktion werden ebenfalls von der Untersuchung ausgeschlossen. Bei allen weiblichen Probanden ist die Sicherstellung einer ausreichenden Kontrazeption während der Studienteilnahme Voraussetzung. Frauen, die stillen, dürfen nicht teilnehmen. Insgesamt 40 gesunde Probanden werden an dieser Untersuchung teilnehmen.

Wie wird die Studie ablaufen?

Aufklärungsgespräch

Jeder Studienteilnehmer nimmt an einem Aufklärungsgespräch teil (heutige Sitzung). Hier werden Sie schriftlich und mündlich genau über die geplanten Untersuchungen in Phase 1 und 2 informiert (Ablauf, Risiken) und haben Gelegenheit, Fragen mit dem Versuchsleiter zu klären. Danach bekommen Sie ausreichend Bedenkzeit (mindestens 24 Stunden) eingeräumt. Wenn sie an der Studie teilnehmen wollen, unterzeichnen sie die Einverständniserklärung.

Phase 1: Voruntersuchung auf lernrelevante Gene

Jeder Studienteilnehmer nimmt an einer Voruntersuchung teil. In dieser Voruntersuchung wird ein Interview zur Krankengeschichte durchgeführt und standardisierte Fragebögen erhoben bezüglich frühkindlicher Gehirnschäden, Händigkeit und zur Abklärung einer möglicherweise bestehenden Demenz. Mithilfe einer neuropsychologischen Testbatterie werden die Lern- und Merkfähigkeit, Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit und allgemeine Intelligenz erhoben. Anschließend folgt eine allgemeine neurologische Untersuchung, die sicherstellen soll, dass keine neurologischen Schäden vorliegen. Außerdem wird jedem Studienteilnehmer Blut abgenommen, um verschiedene Gene zu untersuchen, die für Lernvorgänge eine wichtige Rolle spielen könnten.

Falls sich bei der Blutuntersuchung herausstellt, dass Sie aufgrund Ihres genetischen Profils für die Studienteilnahme in Frage kommen, werden Sie informiert, um weitere Termine für Phase 2 zu vereinbaren.

Phase 2: Testung der Lernfähigkeit

Jeder Teilnehmer nimmt an einer Übungssitzung und 2 experimentellen Sitzungen teil (Gesamtaufwand 3 Tage zu jeweils ca. 2 – 2,5 Stunden). In einer der Sitzungen wird eine Aufgaben mit der Transkraniellen Magnetstimulation (TMS) durchgeführt, in einer zweiten experimentellen Sitzung wird die Fähigkeit zum motorischen und verbalen Lernen überprüft. Ob ein Teilnehmer nach der Übungssitzung zunächst die experimentelle Sitzung Nr.1 oder Nr. 2 durchläuft, wird per Zufallsgenerator bestimmt.

1. Experimentelle Sitzung

TMS-Experiment zur gepaarten assoziativen Stimulation:

Zunächst werden einzelne TMS-Pulse verabreicht, um eine Basismessung für das durch die TMS auslösbare motorische Potential im kleinen Finger der rechten Hand zu erhalten. Anschließend erfolgt eine Serie von elektrischen Reizen über einem Nerv am Handgelenk, die jeweils mit einem TMS-Reiz gekoppelt sind (d.h. beide Reize erfolgen in einem bestimmten zeitlichen Abstand zueinander). Danach wird in einer Nacherhebung erneut das durch TMS auslösbare motorische Potential ermittelt.

2. Experimentelle Sitzung

A) Motorisches Lernen (Fingersequenz-Aufgabe)

Der Teilnehmer sitzt vor einem Computermonitor, auf dem in einer Reihe 5 Positionen mit Punkten markiert sind, die rechte Hand liegt auf einer Tastatur. Während des Experimentes erscheint dann an jeweils einer der Positionen statt des Punktes ein Sternchen. Die Aufgabe besteht darin, so schnell wie möglich die zu diesem Sternchen entsprechende Taste auf der Tastatur zu drücken, woraufhin nach einem kurzen Intervall von einer halben Sekunde das nächste Sternchen in einer anderen Position erscheint.

B) Verbales Lernen

Bei dieser Aufgabe werden dem Teilnehmer über einen Computermonitor verschieden lange Buchstabensequenzen dargeboten. Aus jeder Sequenz sollen jeweils möglichst viele Buchstaben gemerkt und anschließend per Tastatur angegeben werden.

Was ist „Transkraniellen Magnetstimulation“, kurz TMS?

Bei der TMS handelt es sich um eine Technik, die es ermöglicht, nichtinvasiv und weitgehend schmerzlos im Gehirn einen Stromfluss zu erzeugen. Über den Kopf des Probanden wird eine aus Kupferdraht bestehende und in Plastik eingefasste Spule gehalten. Diese sieht aus wie eine liegende Acht und wird vom Untersucher über eine bestimmte Stelle des Kopfes gehalten.

Durch diese Spule wird ein Strom geschickt. Dadurch wird ein magnetisches Feld erzeugt, das die Kopfhaut und den knöchernen Schädel durchdringen kann und dann seinerseits einen elektrischen Strom im Gehirn des Probanden erzeugt. Wenn der Strom durch die Spule fließt, entsteht ein klickendes Geräusch, aber weder das magnetische Feld noch der induzierte Strom sind schmerzhaft. Allerdings kann ein unangenehmes Gefühl an der Kopfhaut entstehen, wenn sich durch die Magnetstimulation die Kopfmuskeln an der betreffenden Stelle kurz zusammenziehen.

Was für Nebenwirkungen sind durch die TMS zu befürchten?

Die nicht-repetitive TMS, bei der jeweils einzelne, mehrere Sekunden voneinander getrennte Pulse gegeben werden, wird seit über 10 Jahren routinemäßig in der klinischen Praxis angewandt. Das Verfahren wird als sicher und ohne Nebenwirkungen eingeschätzt. In unserer Untersuchung wollen wir solche einzelnen Pulse verwenden. Um dennoch nicht auszuschließende Risiken zu minimieren, wird jeder Versuchsteilnehmer während der gesamten Untersuchungszeit von einem in der Behandlung epileptischer Anfälle erfahrenen Arzt überwacht. Die Untersuchungen finden in einem Labor statt, in dem ein sofortiger Zugang zu Notfallmaßnahmen gegeben ist.

Bei den von uns verwendeten Reizstärken ist es bei einzelnen Probanden zu geringen Schmerzen im Bereich der Kopfhaut, über der stimuliert wurde, gekommen. Auch Kopfschmerzen nach Art des Spannungskopfschmerzes wurden beschrieben. Diese verschwanden nach Einnahme eines milden Schmerzmittels wie Aspirin oder Paracetamol in jedem Fall.

Untersuchungen von Gedächtnisleistungen und Reaktionszeiten jeweils vor und nach der TMS zeigten keine nachteiligen Veränderungen.

Was muss vor der TMS-Untersuchung beachtet werden?

Bei bestimmten Probanden allerdings besteht theoretisch ein erhöhtes Risiko, durch die TMS unerwünschte Effekte auszulösen: Dies betrifft Personen mit vorausgegangenen Kopfverletzungen, Krampfanfällen in der Eigen- oder Familienanamnese oder metallischen oder magnetischen Gegenständen im Kopfbereich. Auch bei bestimmten Herzerkrankungen und bei einem Herzschrittmacher sollte eine Teilnahme nicht erfolgen. Um Personen mit möglichem Risiko von der Untersuchung auszuschließen, möchten wir Sie bitten, den beiliegenden Fragebogen sorgfältig auszufüllen.

Vor der Untersuchung sollten Uhr, Brille, Ohringe, Gürtelschnallen und andere Metallteile an der Kleidung bzw. in Hosentaschen (Geldmünzen, Schlüssel, Kugelschreiber, Haarspangen) abgelegt werden. Scheckkarten mit Magnetstreifen können bei der Untersuchung gelöscht werden!

Wie läuft die genetische Untersuchung ab?

Ihnen wird bei ihrem heutigen Besuch einmalig venöses Blut entnommen (20 ml EDTA-Blut). Ihr Blut wird auf verschiedene Gene untersucht, die für Lernvorgänge eine wichtige Rolle spielen könnten. Das aus dem Blut gewonnene genetische Material (DNA) wird nicht für andere genetische Charakterisierungen als die unmittelbar dem Studienziel dienenden oder gar für die Erstellung sogenannter „genetischer Fingerabdrücke“ verwandt.

Welche Risiken und Gefährdungen bestehen bei der Blutentnahme?

Es wird eine Blutentnahme aus der Armvene bei Ihnen durchgeführt werden. Eine mögliche Komplikation kann ein kleines Hämatom an der Einstichstelle sein. Durch das Hämatom kann es zu vorübergehenden Schmerzen im Einstichbereich der Kanüle kommen. Bei jeder Blutentnahme besteht zudem ein gewisses Infektionsrisiko sowie die Gefahr einer versehentlichen Verletzung von benachbarten Strukturen wie Nerven. In der Folge sind Missempfindungen (Taubheitsgefühl, Schmerzen usw.) möglich, die u.U. auch dauerhaft sein können. Infektionen können eine weitere Behandlung (z.B. Antibiotika) notwendig machen. Sie sind aber extrem selten, da bei jeder Behandlung die Haut vor dem Einstich desinfiziert wird und nur sterile Kanülen verwendet werden.

Welche Rechte und Pflichten haben Sie?

Es kann sein, dass Ihnen persönlich aus der Untersuchung kein unmittelbarer zeitnahe Nutzen entsteht, jedoch besteht die berechtigte Hoffnung, dass in Zukunft aufgrund dieser und ähnlicher Untersuchungen neue Erkenntnisse über Rehabilitationsmöglichkeiten nach Schlaganfall gewonnen werden.

Für die Teilnahme wird eine Aufwandsentschädigung von Euro 8/Stunde gezahlt sowie eventuell Anfahrtskosten übernommen.

Für eventuell durch die Teilnahme an der Studie verursachte gesundheitliche Schäden ist für Sie eine Probandenversicherung bei der Gerling Versicherung (Rudolf Knapp, Gerling Industrie Service, Theodor-Heuss-Allee 108, 60486 Frankfurt/Main; Tel.: 069-7567-466, Fax: 069-7567-309) im Rahmen eines Jahresvertrags des UKM unter der Versicherungsnummer 70-006633970-9 abgeschlossen worden. Die Versicherungsbedingungen wurden Ihnen zusammen mit dem Aufklärungsbogen ausgehändigt. Bitte

lesen Sie die Versicherungsbedingungen sorgfältig durch und bestätigen Sie Ihr Einverständnis durch Ihre Unterschrift. Falls Sie Fragen haben, wenden Sie sich bitte vor Beginn der Untersuchung an die Versuchsleiterin, Frau Dipl.-Psych. Julia Kürten. Für eventuell später auftretende Fragen oder Probleme bezüglich der Studie kontaktieren Sie bitte Frau Kürten unter der Telefon-Nr. 0251-8345680.

Vielen Dank für Ihre freundliche Mitarbeit!

Einverständniserklärung

Ich,

_____ , geb. am _____

bin von Frau/Herrn Dr. _____ über Wesen, Bedeutung und Tragweite der oben beschriebenen Untersuchung im Rahmen der Studie zum Thema "*Einfluss genetischer Polymorphismen auf zerebrale Plastizität und Lernfähigkeit*" aufgeklärt worden.

Ich habe ein Exemplar des Aufklärungsformulars zum Mitnehmen erhalten.

Die Versicherungsbedingungen der Probandenversicherung sind mir ausgehändigt worden. Ich werde sie sorgfältig durchlesen und die darin enthaltenen Obliegenheiten beachten.

Die Teilnahme an der Studie ist freiwillig. Ich kann diese Einwilligung jederzeit ohne Angabe von Gründen und ohne nachteilige Folgen widerrufen.

Ich bin damit einverstanden, dass meine Daten im Zusammenhang mit den Untersuchungen gespeichert, verarbeitet und in anonymisierter Form weitergegeben werden. Die ärztliche Schweigepflicht bleibt gewahrt, die Datenschutzbedingungen werden eingehalten. Die Blutproben sowie die klinischen Daten werden kodiert (pseudonymisiert) in der Klinik für Neurologie, Universitätsklinikum Münster, für die Dauer von mindestens 10 Jahren bzw. bis zum Widerruf meines Einverständnisses aufbewahrt und von Mitarbeitern der Klinik für Neurologie verarbeitet. Ausgewählte klinische Daten und kleine Mengen der Blutproben für spezielle Untersuchungen werden wissenschaftlichen Kooperationspartnern nur in pseudonymisierter Form weitergegeben. Für die genetischen Untersuchungen werden die Blutproben pseudonymisiert, so dass weder Personen, die die Genotypisierung durchführen, noch Personen welche sie auswerten, die Identität der Personen kennen.

Ich erkläre mich mit der Teilnahme an der Studie zum Thema "*Einfluss genetischer Polymorphismen auf zerebrale Plastizität und Lernfähigkeit*" einverstanden.

Ort/ Datum

Unterschrift

B: Dokumentationsbogen

Dokumentationsbogen für die Studie „Einfluss genetischer Polymorphismen auf zerebrale Plastizität und Lernfähigkeit“

Probandencode: _____

Einschlußbefähigung

Generelle Daten

Händigkeit (entsprechend Edinburgh handedness inventory > 70):

	rechtshändig	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
Alter:	18-80 Jahre	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>

Anamnese

Schwere unbehandelte Formen von bekannter/m/n

Arterieller Hypertonie (syst RR >140 mmHg)	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
Hyperthyreose	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
Epilepsie oder intrakranieller Tumor	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
Akute Erkrankung	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
Stoffwechselerkrankung	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
chronische Erkrankungen (Nieren- oder Leberinsuffizienz)	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
Herz- oder Gefäßerkrankung (Verkalkung der Blutgefäße)	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
Atemwegserkrankung	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
Engwinkelglaukom	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
Schwere Störungen des blutbildenden Systems	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
Magen- oder Duodenalgeschwür	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
Verdächtige, nicht diagnostizierte Hautkrankheiten oder Melanom	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
Verdacht auf Drogen- oder Alkoholabusus	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
Einnahme zentralnervös wirksamer Medikamente	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
Psychiatrische Vorerkrankung	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
Neurologische Vorerkrankung	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
Konsum von >50g Alkohol pro Tag	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
Konsum von >10 Zigaretten pro Tag	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
Konsum von >5 Tassen/Gläser koffeinhaltiger Getränke tgl.	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
Nikotinentzug	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
Herzschrittmacher oder elektrisch, magnetisch oder mechanisch aktivierte Implantate im Kopfbereich (transkranielle Gleichstromstimulation)	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
Teilnahme an weiteren klinischen Studien	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>
Bei Frauen: Anhalt für eine Schwangerschaft, Stillen	ja	<input type="radio"/>	nein	<input type="radio"/>

Probandencode: _____

Demographische Daten des Probanden:

Name: _____ Vorname: _____

Anschrift: _____

Geburtsdatum: _____

Telefonnr.: _____

Geschlecht: m o w o

Körpergröße: _____ Gewicht: _____

Raucher: ja o nein o

Wenn ja: _____ Zigaretten/Tag, seit _____

Koffein: ja o nein o

Wenn ja: _____ Tassen o. Gläser/Tag, seit _____

Alkohol: ja o nein o

Wenn ja,
wann zuletzt: _____, wie viel _____, was _____

wie viel pro Woche: _____

Regelmäßig eingenommene Medikamente: ja o nein o

Wenn ja,
welche: _____

höchster Schulabschluss:

ohne Abschluss	<input type="checkbox"/>	Realschule	<input type="checkbox"/>
Hauptschule	<input type="checkbox"/>	Abitur	<input type="checkbox"/>
Volksschule	<input type="checkbox"/>	Uni/FH	<input type="checkbox"/>

Beruf: _____

Ausbildungsdauer (Schule + Ausbildung/Uni): _____

Bemerkungen:

Probandencode: _____

Medizinische Untersuchung

Anfang: RR ____ / ____ PULS ____

Prüftest der Hirnnerven:

Auffälligkeiten: ja nein

Olf.:	ja	<input type="checkbox"/>	nein	<input type="checkbox"/>	Opt	ja	<input type="checkbox"/>	nein	<input type="checkbox"/>
Ocm:	ja	<input type="checkbox"/>	nein	<input type="checkbox"/>	Tro:	ja	<input type="checkbox"/>	nein	<input type="checkbox"/>
Tri:	ja	<input type="checkbox"/>	nein	<input type="checkbox"/>	Abd:	ja	<input type="checkbox"/>	nein	<input type="checkbox"/>
Fac:	ja	<input type="checkbox"/>	nein	<input type="checkbox"/>	Vec:	ja	<input type="checkbox"/>	nein	<input type="checkbox"/>
Glo:	ja	<input type="checkbox"/>	nein	<input type="checkbox"/>	Vag:	ja	<input type="checkbox"/>	nein	<input type="checkbox"/>
Acc:	ja	<input type="checkbox"/>	nein	<input type="checkbox"/>	Hyg:	ja	<input type="checkbox"/>	nein	<input type="checkbox"/>

Pupillenreaktion:	isokor	ja	<input type="checkbox"/>	nein	<input type="checkbox"/>
	Seitengleich	ja	<input type="checkbox"/>	nein	<input type="checkbox"/>

Auffälligkeiten periphere Nerven:

Auffälligkeiten: ja nein

Gangataxie:

ja nein

Schmerzsymptomatik:

ja nein

Anhalt für entzündliche Prozesse:

ja nein

(Lymphknoten, Fieber, etc)

Herz

Auffälligkeiten ja nein

Lunge

Auffälligkeiten ja nein

Abdomen

Auffälligkeiten ja nein

Sprache:

klar verwaschen Dysphasie

Deutsche Muttersprache:

ja
nein

Psychologische / Psychiatrische Inspektion:

Psyche:	geordnet	<input type="checkbox"/>	retardiert	<input type="checkbox"/>
	depressiv	<input type="checkbox"/>	manisch	<input type="checkbox"/>
	alkoholisiert	<input type="checkbox"/>	desorientiert	<input type="checkbox"/>
	Aggressiv	<input type="checkbox"/>	_____	

(Ende: RR ____ / ____ PULS ____)

Probandencode: _____

Fragebogen zur Handpräferenz nach Oldfield

Bitte kreuzen Sie bei den folgenden Tätigkeiten an, mit welcher Hand Sie diese bevorzugt ausüben. Die Tätigkeiten, bei denen Ihre Handpräferenz so stark ist, daß Sie sie normalerweise nie mit der anderen Hand ausführen würden, markieren sie bitte mit zwei Kreuzen.

Bei den Tätigkeiten, bei denen Sie keine Hand bevorzugen, kreuzen sie bitte sowohl die rechte als auch die linke Hand an.

		Handbevorzugung	
		links	rechts
1	Schreiben		
2	Zeichnen		
3	Werfen		
4	Schneiden		
5	Zähneputzen		
6	Halten eines Messers (ohne Gabel)		
7	Halten eines Löffel		
8	Benutzen eines Besens (obere Hand)		
9	Anzünden eines Streichholz		
10	Öffnen einer Schachtel		
		L.Q.	

Probandencode: _____

Experimentelle Sitzung 1: PAS₂₅-Paradigma

Psychophysiologie, Prä-Testung:

Zeitpunkt	RR syst/diast	Puls	PANAS Pos./Neg.
prä			

Beginn des Trainings: _____ Uhr

Motorische Ruheschwelle (RMT): _____ (in % der max. Stimulationsleistung)

Stimulationsintensität während PAS: _____ (in % der max. Stimulationsleistung)

Sensorische Schwelle: _____ mA

Verstärkung der MEPs von Basis- zu Postmessung: _____ (in %)

Psychophysiologie, Post-Testung:

Zeitpunkt	RR syst/diast	Puls	PANAS Pos./Neg.
post			

Bemerkungen:

Probandencode: _____

Experimentelle Sitzung 2: Nicht-deklaratives Lernen

Psychophysiologie, Prä-Testung:

Zeitpunkt	RR syst/diast	Puls	PANAS Pos./Neg.
prä			

Beginn des Trainings: _____ Uhr

Zielparameter bei der Fingersequenzaufgabe:

Reaktionszeitdifferenz zwischen sequentiellen und zufälligen Abfolgen in Block 8: _____
(in ms)

Zielparameter beim Erlernen einer künstlichen Grammatik:

Endorsement rate: _____ (%)

D': _____

Psychophysiologie, Post-Testung:

Zeitpunkt	RR syst/diast	Puls	PANAS Pos./Neg.
post			

Bemerkungen:

C: TMS-Fragebogen

Klinik und Poliklinik für Neurologie

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. E. B. Ringelstein



Studie zum
*„Einfluss genetischer Polymorphismen auf zerebrale Plastizität
und Lernfähigkeit“*

Fragebogen zur Transkraniellen Magnetstimulation

Bitte lesen Sie folgende Fragen sorgfältig durch. Wenn Sie bei einer Frage weitere Erklärungen benötigen oder Ihnen etwas unklar erscheint, sprechen Sie bitte den Versuchsleiter an.

1) Haben Sie Metall irgendwo im Kopfbereich (außer im Mund)?

Dies beinhaltet z.B. Splitter, Schrauben oder Clips nach chirurgischen Eingriffen sowie künstliche Hörschnecken oder Hörgeräte.

Ja Nein

2) Haben Sie einen Herzschrittmacher?

Ja Nein

3) Haben Sie eine implantierte Medikamentenpumpe?

Ja Nein

4) Ist bei Ihnen eine Herzerkrankung bekannt?

Ja Nein

5) Haben Sie je einen Schlaganfall (Durchblutungsstörung im Gehirn) erlitten?

Ja Nein

6) Haben Sie je eine Kopfverletzung erlitten?

Ja Nein

Wenn ja, welcher Art?

7) Ist bei Ihnen jemals ein Tumor im Kopf bekannt geworden?

Ja Nein

8) Haben Sie jemals Anfälle gehabt oder ist bei Ihnen eine Fallsucht (Epilepsie) bekannt

?

Ja Nein

9) Ist Ihnen bekannt, dass in Ihrer Familie jemand eine Fallsucht (Epilepsie) hat oder hatte?

Ja Nein

10) Nehmen Sie zur Zeit Medikamente ein?

Ja Nein

Wenn ja, welche?

11) Besteht eine Drogen- und/oder Medikamenten- und/oder Alkoholabhängigkeit?

Ja Nein

12) Ist bei Ihnen eine gravierende internistische (Erkrankung der inneren Organe) oder psychiatrische (seelische) Vorerkrankung diagnostiziert worden, insbesondere Schizophrenie (seelische Erkrankung mit Wahn, Trugwahrnehmung und Störung des Denkens) oder Manie (Erkrankung des Gemüts mit gehobener Stimmungslage)?

Ja Nein

13) Sind Sie im Alter unter 18 oder über 80 Jahren?

Ja Nein

14) Bei Frauen: Sind sie zur Zeit schwanger, besteht die Möglichkeit einer Schwangerschaft oder stillen Sie momentan?

Ja Nein

Ich habe den Fragebogen sorgfältig gelesen und versichere die Richtigkeit meiner Angaben.

Name: _____ Vorname: _____ geb. am: _____

Münster, den _____
Datum

Unterschrift des Studienteilnehmers

Unterschrift des Untersuchers

D: Votum der Ethik-Kommission Münster



Ethik-Kommission Münster • Von-Esmarch-Straße 62 • 48149 Münster

Frau Dr. med. Agnes Flöel
Klinik und Poliklinik für Neurologie
Universitätsklinikum Münster
Albert-Schweitzer-Str. 33
48149 Münster

ETHIK-KOMMISSION
der Ärztekammer Westfalen-Lippe
und der Medizinischen Fakultät der
Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Von-Esmarch-Str. 62
D-48149 Münster

Bearbeiter: pa

Telefon: +49 (0)251 83 - 5 52 90
Telefax: +49 (0)251 83 - 5 70 97
E-Mail: ethikkom@uni-muenster.de
Website: <http://www.ukmuenster.de/ethikkommission>

gedruckt: 25. März 2008

Unser Aktenzeichen: 2007-571-f-S (bitte immer angeben!)

Titel des Forschungsvorhabens:

„Einfluss genetischer Polymorphismen auf zerebrale Plastizität und Lernfähigkeit“

Sehr geehrte Frau Dr. Flöel,

für das oben genannte Forschungsvorhaben haben Sie die Beratung durch die Ethik-Kommission der Ärztekammer Westfalen-Lippe und der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster („Ethik-Kommission“) beantragt.

Die Ethik-Kommission hat in ihrer Sitzung am 01.02.2008 über Ihren Antrag beraten, ergänzend vorgelegte Unterlagen in einem Ausschuss nach § 5 Abs. 1 Satz 3 ihrer Satzung geprüft, und beschlossen:

Die Ethik-Kommission hat keine grundsätzlichen Bedenken ethischer oder rechtlicher Art gegen die Durchführung des Forschungsvorhabens.

Die vorliegende Einschätzung gilt für das Forschungsvorhaben, wie es sich auf Grundlage der in Anhang 1 genannten Unterlagen darstellt.

Für die Entscheidung der Ethik-Kommission erhebt die Ärztekammer Westfalen-Lippe Gebühren nach Maßgabe ihrer Verwaltungsgebührenordnung. Für Ihren Antrag gewährt die Ethik-Kommission eine Ermäßigung der Verwaltungsgebühr auf 50 Prozent des regulären Gebührensatzes. Über die Gebühren haben Sie von der Ärztekammer einen gesonderten Bescheid erhalten.

Ethik-Kommission der Ärztekammer Westfalen-Lippe und der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster
unser Az.: 2007-571-f-S
Abschließendes Votum vom 25. März 2008

Allgemeine Hinweise:

Mit der vorliegenden Stellungnahme berät Sie die Ethik-Kommission zu den mit Ihrem Forschungsvorhaben verbundenen berufsethischen und berufsrechtlichen Fragen gemäß § 15 Abs. 1 Satz 1 Berufsordnung Ärztekammer Westfalen-Lippe.

Die Einschätzung der Kommission ist als ergebnisoffene Beratung für den Antragsteller nicht bindend. Die Ethik-Kommission weist darauf hin, dass unabhängig von der vorliegenden Stellungnahme die medizinische, ethische und rechtliche Verantwortung für die Durchführung des Forschungsvorhabens bei dessen Leiter und bei allen an dem Vorhaben teilnehmenden Ärzten bzw. Forschern verbleibt.

An der Beratung und Beschlussfassung haben die in Anhang 2 aufgeführten Mitglieder der Ethik-Kommission teilgenommen. Es haben keine Kommissionsmitglieder teilgenommen, die selbst an dem Forschungsvorhaben mitwirken oder deren Interessen davon berührt werden.

Die Ethik-Kommission empfiehlt nachdrücklich die Registrierung klinischer Studien in einem öffentlich zugänglichen Register, das die von der Weltgesundheitsorganisation (WHO) geforderten Voraussetzungen erfüllt, insbesondere deren Mindestangaben enthält. In Betracht kommende Register sowie ausführliche weiterführende Informationen stehen im Internetangebot der WHO zur Verfügung:

<http://www.who.int/ictrp/en/>

Zu den von zahlreichen Fachzeitschriften aufgestellten Anforderungen wird hingewiesen auf:

http://www.icmje.org/clin_trialup.htm

Die Ethik-Kommission der Ärztekammer Westfalen-Lippe und der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster ist organisiert und arbeitet gemäß den nationalen gesetzlichen Bestimmungen und den GCP-Richtlinien der ICH.

Die Kommission wünscht Ihrem Forschungsvorhaben gutes Gelingen und geht davon aus, dass Sie nach Abschluss des Vorhabens über die Ergebnisse berichten werden.

Mit freundlichen Grüßen



Univ.-Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Otmar Schober
Vorsitzender der Ethik-Kommission