

**Untersuchungen zur Optimierung  
der Transkraniellen Magnetstimulation  
beim Pferd**

**von Lara Walendy**

**Inaugural-Dissertation zur Erlangung  
der Doktorwürde der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

**Untersuchungen zur Optimierung  
der Transkraniellen Magnetstimulation  
beim Pferd**

von Lara Walendy  
aus Heidelberg

München 2022

**Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

**Lehrstuhl für Innere Medizin und Reproduktion  
des Pferdes**

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:  
Univ.-Prof. Dr. Lutz S. Goehring

Mitbetreuung durch:  
Univ.-Prof. Dr. Anna May

**Gedruckt mit Genehmigung  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Lutz S. Goehring

Korreferent/in: Univ.-Prof. Dr. Antonia R. Troillet

Tag der Promotion: 30.07.2022

*Meiner Familie*

# Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	2
2	Literatur.....	4
2.1	Motorische Reizleitung: Vom Gehirn zur Muskelkontraktion...4	
2.1.1	Gehirn.....	4
2.1.2	Motorische Rückenmarksbahnen.....	7
2.1.3	Periphere Nerven.....	9
2.1.4	Skelettmuskulatur.....	11
2.2	Transkranielle motorische Stimulation: TMS versus TES.....	13
2.2.1	Geschichte.....	13
2.2.2	Physikalische Grundlagen der TMS.....	14
2.2.3	Technische Daten und Wirkmechanismus.....	16
2.2.5	Anwendung in der Humanmedizin.....	18
2.2.6	Anwendung in der Pferdemedizin.....	20
2.3	Problematik der Differentialdiagnosen equiner Ataxien.....	21
3	Eigene Untersuchungen.....	25
3.1	Zielsetzung.....	25
3.2	Publikation.....	26

4	Erweiterte Diskussion.....	52
4.1	TMS – die funktionelle Lokalisationsdiagnostik beim ataktischen Pferd.....	52
4.2	TMS mit Standardequipment - eine robuste Untersuchungstechnik im Feld.....	54
4.3	CMT und die Neurobiologie der Motorik des Pferdes.....	55
4.4	Einfluss von Variationen der SI auf Eindringtiefe und Latenzzeit.....	57
4.5	Weitere Untersuchungsstrategien.....	59
5	Zusammenfassung.....	61
6	Summary.....	64
7	Literaturverzeichnis.....	67
8	Danksagung.....	76

## **Verzeichnis der Abkürzungen, Akronyme und Einheiten**

A	Ampere
ACh	Acetylcholin
ADP	Adenosindiphosphat
ALS	Amyotrophe Lateralsklerose
ATP	Adenosintriphosphat
Ca <sup>2+</sup>	Kalzium
cm	Zentimeter
CMT	Cortical motor threshold
CT	Computertomographie
EDM	Equine degenerative Myeloenzephalopathie
g	Gramm
LZ	Latenzzeit
M1	Primärmotorischer Kortex
MEP	Motorisch evoziertes Potenzial
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Multiple Sklerose
Na <sup>+</sup>	Natrium

NAD	Neuroaxonale Dystrophie
SI	Stimulationsintensität
SMA	Supplementär motorisches Areal
TES	Transkranielle Elektrostimulation
TMS	Transkranielle Magnetstimulation
PMA	Prämotorisches Areal
rTMS	Repetitive transkranielle Magnetstimulation
V	Volt
ZNS	Zentralnervensystem

# 1 Einleitung

Seit bereits über drei Jahrzehnten findet die transkranielle Magnetstimulation (TMS) Anwendung in der Humanmedizin. Als Alternative zur elektrischen Stimulation bietet sie eine nicht-invasive und schmerzlose Evaluierung der motorischen Bahnen basierend auf dem Prinzip der elektromagnetischen Induktion nach Faraday (1831) [1]. Die mittels Stimulationsspule erzeugten Magnetimpulse durchdringen den Schädelknochen sowie die oberflächlichen Schichten des Kortex und induzieren ein elektrisches Signal, das zu einer Muskelkontraktion führt, die mittels Elektroden im Zielorgan aufgezeichnet werden kann. Je nach Stimulationsintensität können somit unterschiedliche Areale im Gehirn oder unterschiedliche Muskeln für den diagnostischen oder therapeutischen Zweck stimuliert werden. Die TMS ist inzwischen wichtiger Bestandteil in der Diagnostik neurologischer Erkrankungen [2], der Überwachung bei neurochirurgischen Eingriffen [3], sowie der Therapie von z.B. psychischen Erkrankungen [4].

Bislang findet die TMS in der Pferdemedizin vorrangig ihren Einsatz in der Diagnostik von Erkrankungen und Schädigungen der motorischen Bahnen. Noch ist die Anwendung alles andere als Routine, konnte aber in den letzten Jahren deutlich vorangetrieben werden [5-7]. Vor allem in der Pferdemedizin wäre eine Optimierung der TMS in der Diagnostik von neurologischen Erkrankungen besonders wertvoll. Nur wenige Untersuchungsmethoden bieten ein nicht-invasives Prozedere, das zugleich die absteigenden Nervenbahnen zur Gänze abdeckt und vorhandene Schäden lokal eingrenzt [6]. Rückenmarkserkrankungen beim Sport- und Freizeitpferd stellen ein vielfältiges Problem für Züchter, Reiter und alle Beteiligten dar. Insbesondere die großrahmigen deutschen und europäischen Warmblutrassen, die im Spring-, Dressur-, und Fahrspport, sowie als Freizeitpferde eingesetzt werden, sind im Vergleich zu anderen Pferde- und Ponyrassen relativ häufig betroffen. Rückenmarkserkrankungen, auch Myelopathien genannt, können zur permanenten Unrittigkeit des Pferdes führen, da es durch verminderte Koordination und Ansteuerung der Gliedmaßen zu deutlichen Einschränkungen im Gangbild bis hin zum Festliegen des Pferdes kommen kann. Solche Einschränkungen der Koordination

sind nicht nur eine Gefahr für das Pferd selbst, sowie eine erhebliche Reduktion der Lebensqualität, sondern auch ein Risiko für den Menschen, insbesondere den Reiter.

Bei der Myelopathie sind besonders die ascendierenden Bahnen, die propriozeptive Informationen dem Gehirn zuleiten, sowie Motorbahnen des oberen Motoneurons betroffen.

Ein durch neurologische Problematik verursachtes verändertes Gangbild beim Pferd wird häufig, vor allem im Anfangsstadium, nur unzureichend erkannt und sollte schnell, klar und eindeutig von orthopädischen Lahmheiten differenziert werden. Ein neurologisch-abnormales Gangbild beim Pferd zeigt sich subjektiv durch unterschiedliche Grade von Ataxie oder Inkoordination, Dysmetrie und Schwäche. Das Pferd ist unsicher im Gangbild, es stolpert, knickt ein, ist unvorhersehbar unregelmäßig und wird dadurch zum Unfallrisiko für den Reiter und weitere Personen in der unmittelbaren Umgebung dieses Pferdes. Myelopathien können fokal oder multifokal im Rückenmark auftreten. Bei neurologischem Gang, sichtbar an allen vier Gliedmaßen muss jedoch das Rückenmark, fokal oder multifokal, in der Halswirbelsäule maßgeblich betroffen sein. Extrinsische oder intrinsische Erkrankungen können eine Myelopathie im Halsbereich verursachen. Alleine schon wegen der Größe eines Pferdes ist es sehr schwierig, mit bildgebender Technik zu einer Diagnose zu kommen.

Der Durchmesser der bisher verfügbaren Computertomographien (CT) oder Magnetresonanztomographien (MRT) lässt häufig nur Untersuchungen am Kopf und an den ersten drei Halswirbeln zu. Einzig und allein mit Röntgentechnik kann man den Halswirbelbereich und das zervikale Rückenmark darstellen, dieses allerdings nur in Kombination mit einer Kontrasttechnik unter Allgemeinanästhesie, einer Myelographie. So ist beim Pferd auf diese Weise nur die Darstellung in einer Ebene (latero-lateral) möglich. Extrinsische, kompressive Myelopathien lassen sich so nachweisen.

Zur Intravital-Diagnostik gehört der klinische Untersuchungsgang, der eine Myelopathie subjektiv, qualitativ bis semi-quantitativ kategorisieren kann, jedoch nicht unbedingt den Unterschied zwischen fokal und multifokal oder auch die Ursache zum Vorschein bringt. TMS ermöglicht es, die Weiterleitungsgeschwindigkeit eines Signals aus dem Motorkortex zu bestimmen, welches sich über Bahnen

des oberen motorischen Neurons im Rückenmark in Richtung der Gliedmaße fortpflanzt. Intrinsische oder extrinsische Myelopathien verzögern oder blockieren die Reizweiterleitung, und physiologische Reizfortpflanzungszeiten werden überschritten. Mit dieser Methode lässt sich auch eine Verbesserung oder Verschlechterung der Symptome objektiv darstellen.

Bisher gibt es nur wenig Vielfalt in der Stimulationstechnik. Bei einem relativ weiten Spektrum unterschiedlicher Spulen geben die Standard- bzw. Werkseinstellungen der Stimulatoren eine Stimulationsstärke von 100% der Geräteleistung vor, unabhängig von Größe oder Gewicht des Pferdes [8]. In der Humanmedizin wird die Stimulationsintensität in der Regel an die kortikale Reizschwelle des jeweiligen Individuums angepasst, um so präzise wie möglich messen zu können [9].

Ziel dieser Arbeit war es zum einen, sowohl Gerät, Spule und Elektroden unter verschiedenen Umwelteinflüssen zu testen und zu standardisieren. Zum anderen wurden zunehmende Stimulationsintensitäten (SI) angewandt, um das Verhalten der MEPs zu erforschen. Gleichzeitig wurde der Nutzen einer Anpassung an die individuelle kortikale motorische Reizschwelle (Cortical motor threshold (CMT)) überprüft.

## **2 Literatur**

### **2.1 Motorische Reizleitung: Vom Gehirn zur Muskelkontraktion**

Die Motorik ist als Teilgebiet der Physiologie zuständig für Bewegungsabläufe, die durch das Zusammenspiel komplexer nervaler und muskulärer Funktionspartner ermöglicht werden.

#### **2.1.1 Gehirn**

Das Gehirn (Encephalon) liegt von Liquor cerebrospinalis und Meningen umgeben in der Schädelhöhle und kann nach verschiedenen Kriterien unterteilt werden. Basierend auf der Entwicklung, der Morphologie und der Funktionalität, ergibt sich folgende Untergliederung: das Großhirn (Cerebrum), das Kleinhirn (Cerebellum), das Zwischenhirn (Diencephalon) und der Hirnstamm (Truncus cerebri), der sich aus dem Mittelhirn (Mesencephalon), der Brücke (Pons) und dem verlängerten Mark (Medulla oblongata) zusammensetzt [10, 11].

Für die Initiation willkürlicher Bewegungen ist das motorische Rindenfeld, auch Motorkortex genannt, zuständig. Dieser liegt für die meisten Spezies im Frontallappen des Großhirns [12, 13], welches 1909 von dem deutschen Neuroanatomen und Psychiater Korbinian Brodmann auf Grund ihrer unterschiedlichen Funktionen beim Menschen in 52 Areale unterteilt wurde [14]. Der humane Motorkortex setzt sich somit aus dem Areal 4, auch primärmotorischer Kortex oder M1 genannt und dem Areal 6, das unterteilt ist in das sich lateral befindende prämotorische Areal (PMA) und dem medial gelegenen supplementär motorischen Areal (SMA), zusammen. Das Areal 4 liegt vor der Zentralfurche (Gyrus praecentralis) und Areal 6 befindet sich direkt angrenzend vor Areal 4 [15] (Fig. 1). Areal 4 weist sehr große Pyramidenzellen auf, die Betz'sche Riesenpyramidenzellen. Diese sind darauf ausgelegt direkte und schnelle Bahnen zum Rückenmark

und Hirnstamm zu schicken ohne dass eine weitere synaptische Umschaltung stattfindet [16, 17].

Im SMA werden die Bewegungen hauptsächlich geplant, koordiniert und ein Bewegungsablauf entwickelt. Die aktivierten Zellen agieren während des kompletten Bewegungsablaufs, aber auch dann, wenn die Bewegung nur in Gedanken durchgeführt wird, wodurch Veränderungen in den synaptischen Verbindungen im Motorkortex entstehen. Das SMA übernimmt auch das Speichern von erlernten Bewegungen, sodass diese jederzeit auch ohne Eingreifen des SMA ablaufen können [18]. Das PMA übernimmt hauptsächlich die Funktion der räumlichen Orientierung und Koordination, sowie der Planung und Ausführung, z.B. wie einzelne Muskeln zusammenarbeiten müssen, um eine Bewegung erfolgreich ausführen zu können [19].

An der Steuerung der Motorik und somit an einem Bewegungsablauf sind allerdings noch weitere Regionen des Zentralnervensystems (ZNS) beteiligt. Zunächst gibt es drei verschiedene Rindenfelder: primäre, sekundäre und tertiäre Rindenfelder. Die primären Rindenfelder sind streng somatotop und weisen motorische Efferenzen und sensorische Afferenzen auf. Sie sind zuständig für die erste kortikale Verarbeitung. Die Area motoria ist gleichsam über somatotope Bahnen über zwischengeschaltete untere Motoneurone mit der Skelettmuskulatur verbunden.

Die sekundären und tertiären Rindenfelder, auch Assoziationskortex genannt, sind dagegen für die Interpretation sensorischer Inputs zuständig. Die primären Rindenfelder geben die Informationen an die sekundären Rindenfelder weiter, die diese zunächst identifizieren und aufschlüsseln sollen. Die tertiären Rindenfelder sind anschließend bei diesem Kreislauf für die Zusammenführung der verschiedenen Informationen verantwortlich [20].

Die Aktivität des Motorkortex wird durch die Basalkerne (auch Basalganglien) beeinflusst. Diese sorgen multisynaptisch für die Ausführung komplexer Bewegungsmuster. Sie bilden einen subkortikalen Schaltkreis mit mehreren Stationen, wie zum Beispiel dem Striatum, dem Pallidum und dem motorischen Thalamus mit dem Ziel, eine Feinabstimmung der initiierten spontanen Bewegung zu koordinieren [21].

Auch das Kleinhirn nimmt Einfluss auf die Ausführung von

Bewegungen, die durch sensorische Eindrücke, wie zum Beispiel unter visueller oder akustischer Kontrolle, durchgeführt werden. Dafür interagiert es eng mit dem Neokortex, der den multisensorischen und motorischen Teil der Großhirnrinde darstellt [17, 22]. Die Zielmotorik (geplante Bewegungsabläufe) muss permanent mit der Stützmotorik (posturale Stabilität) zusammenarbeiten, um das Gleichgewicht aufrecht zu erhalten. Dafür benötigt das Kleinhirn Informationen von sämtlichen Rezeptoren und Organen, die für die Lage im Raum zuständig sind. Insbesondere das Gleichgewichtsorgan im Innenohr sendet Informationen zu allen Formen der Beschleunigung an das sogenannte Vestibulozerebellum. Propriozeption und Exterozeption geben ihre Wahrnehmungen wiederum an das Spinozerebellum weiter und das Zerebro(ponto)zerebellum erhält schließlich die Auskunft über die tatsächliche Ausführung der angestrebten Bewegung. Das Kleinhirn verarbeitet all diese Informationen und ist in permanentem Kontakt mit den übergeordneten motorischen Ebenen, um erforderliche Korrekturen vorzunehmen und ist somit zuständig für das Gleichgewicht, die Koordination und den Muskeltonus [20].

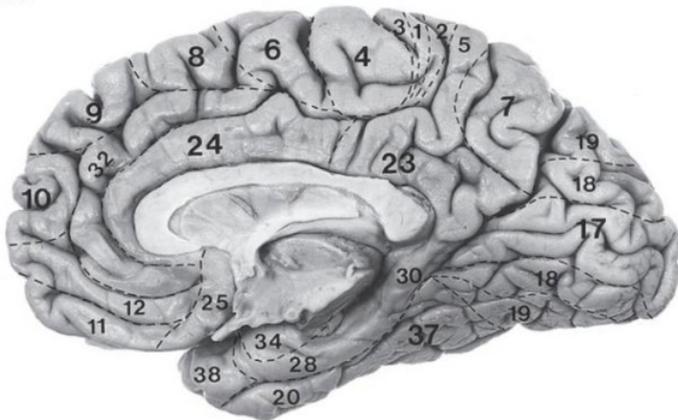


Fig. 1: Ursprung der Motorik - Brodmann Areale in medialer Ansicht.

Areal 4 repräsentiert den M1 und Areal 6 setzt sich aus dem PMA und dem SMA zusammen.

(Nach Bruni und Munteurro [23])

Im Gegensatz zu Mensch und subhumanen Primaten ist der Primäre Motorkortex der Vierbeiner weniger exakt kartierbar. Dennoch konzentrieren sich die oberen kortikalen Motoneurone beim Pferd, wie bei anderen Ungulaten im Frontallappen um den Sulcus cruciatus in den prä- und postkruzialen Gyri [24]. Wie unten angeführt inserieren nur wenige kortikale Motoneurone direkt an den segmentalen spinalen Motoneuronen zur Versorgung der Stammes- und Gliedmaßenmuskulatur, was an der im Vergleich zum Menschen eingeschränkten Feinmotorik dieser Bereiche liegt.

### **2.1.2 Motorische Rückenmarksbahnen**

Das Rückenmark ist wie das Gehirn Teil des zentralen Nervensystems und vom Liquor cerebrospinalis und von den Rückenmarkshäuten umgeben. Es liegt durch diese und das extradurale Fettgewebe geschützt im Wirbelkanal. Es entlässt an jedem Foramen intervertebrale

die paarigen Spinalnerven, die die Verbindung zu den peripheren Nerven herstellen. Beim Menschen reicht das Rückenmark bis zum ersten Lumbalwirbel und besteht aus 8 Zervikal-, 12 Thorakal-, 5 Lumbal- und 5 Sakralsegmenten [25]. Das Rückenmark des Pferdes ist ungefähr viermal länger (ca. 180-200 cm) und achtmal schwerer (ca. 250-300 g), als das des Menschen, das im Schnitt 42-45 cm lang und 30-38 g schwer ist. Beim Pferd reicht es bis ins Kreuzbein und wird in 8 Zervikal-, 18 Thorakal-, 6 Lumbal-, 5 Sakral- und 5-6 Kaudalsegmente eingeteilt [26].

Die direkte Verbindung zwischen Großhirnrinde und Rückenmark stellt der Tractus corticospinalis dar, der aufgrund seiner Form auch Pyramidenbahn genannt wird. Beim Menschen spielt er eine essentielle Rolle in der Weiterleitung von willkürlichen Erregungsimpulsen, entspringt in der motorischen Großhirnrinde und zieht bis ins Sakralmark. Beim Pferd ist der Ursprung der Pyramidenbahn ebenfalls im Motorkortex, spielt allerdings nur eine untergeordnete Rolle, da sie deutlich geringer ausgebildet ist. Laut einschlägiger Fachliteratur reicht sie lediglich bis ins Zervikalmark [26], demgegenüber konnten Breazile et al. 1967 in anästhesierten Pferden mittels Stimulationsexperimenten die Ausbildung bis zum N. tibialis cranialis nachweisen [27].

Man vermutet, dass beim Pferd vor allem die extrapyramidalen Bahnen eine Rolle im Zusammenhang mit der Motorik spielen [28]. Sie entspringen aus verschiedenen Zentren im Hirnstamm. Hauptzentren sind der Nucleus ruber, die Nuclei vestibulares und die Formatio reticularis. Aus diesen Zentren wiederum entspringen verschiedene Bahnen: Tractus rubrospinalis, Tractus vestibulospinalis und Tractus reticulospinalis. Der Tractus rubrospinalis ähnelt der Pyramidenbahn. Er entspringt am Nucleus ruber, der eine essentielle Rolle im extrapyramidalen System einnimmt, im Tegmentum des Mittelhirns, zieht nach seinem Ursprung an der Forelschen Kreuzung auf die kontralaterale Seite und verläuft ventral vom Tractus corticospinalis lateralis. Der Nucleus ruber erhält seine wichtigsten Afferenzen aus der kontralateralen Kleinhirnhemisphäre und der Großhirnrinde. Die distalen Muskeln der Extremitäten werden vor allem vom Tractus rubrospinalis beeinflusst, wohingegen die anderen Tractus hauptsächlich für die Motoneurone der Rumpfmuskulatur und der

Muskulatur der proximalen Gliedmaße zuständig sind [25, 29]. Die Fasern des kontralateralen Tractus rubrospinalis enden im dorsalen und lateralen Teil der Zona intermedia in den Laminae V-VII (die Laminae stellen je nach Funktionalität, ähnlich wie die Brodmann-Areale, eine Unterteilung des Neokortex in bis zu 10 Schichten dar) des Rückenmarks an den Schaltneuronen, zum Teil aber auch direkt an den Motoneuronen [26]. Die Fasern des Tractus reticulospinalis enden vor allem in den Laminae VII und VIII der grauen Substanz und zusätzlich in der Lamina IX an den Motoneuronen für die Rumpfmuskulatur [30]. Der Tractus vestibulospinalis verläuft ungekreuzt an der ventralen Oberfläche des Rückenmarks, zieht dann nach dorsomedial und endet in der Lamina VIII an den Zwischenneuronen, wo er die  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Motoneurone der Streckermuskulatur beeinflusst [26]. Die bereits erwähnten Motoneurone signalisieren in der Motorik die Verbindung zwischen Rückenmark und Muskulatur und sind die Impulsgeber für die Ausführung einer Muskelkontraktion. Sie liegen im Ventralhorn der grauen Substanz und bilden die motorischen Kerngebiete entlang des gesamten Rückenmarks. Diese motorischen Wurzelzellen werden fachlich als unteres motorisches Neuron bezeichnet und sind die Efferenzen für Muskelkontraktionen und Reflexe [20]. Das untere Motoneuron besteht aus zwei verschiedenen Fasertypen: den  $\alpha$ - Fasern, die für die Muskelkontraktion zuständig sind und den  $\gamma$ -Fasern, die für die Empfindlichkeit der Längenrezeptoren der Muskelspindeln verantwortlich sind. Kommt es zu einer Beschädigung bestimmter unterer motorischer Neurone, so kann es je nach Ausmaß zu einzelnen Muskelausfällen bis hin zu Paresen kommen [25].

### **2.1.3 Periphere Nerven**

Das periphere Nervensystem ist die Verbindung zwischen dem zentralen Nervensystem und den Erfolgsorganen. Seine Aufgabe ist es, die Informationen, die ihm zugesandt wurden, über verschiedene Fasergruppen an das Zielorgan weiterzuleiten. Der efferente und somit motorische Anteil des peripheren Nervensystems besteht aus dem Axon je eines Neurons, dessen Zellkörper im Falle der Spinalnerven im Ventralhorn des Rückenmarks liegt. Der afferente und somit sensible

Teil besteht aus einem Neuron, dessen Zellkern in den Spinalganglien liegt [31]. Nach der Klassifikation von Erlanger und Gasser (1937) gibt es A-, B- und C-Nervenfasern, die je nach Myelinisierungsgrad, Leitungsgeschwindigkeit und Aktionspotential eingeteilt werden, da sie sich je nach Dicke des Axons und der Markscheide unterschiedlich verhalten [32]. A-Fasern sind die schnellsten Nervenfasern und werden nochmals unterteilt in vier Unterkategorien: die  $A\alpha$ -Fasern besitzen Efferenzen für die Skelettmuskulatur und Afferenzen aus Sehnen- und Muskelspindeln und haben eine Leitungsgeschwindigkeit von 70-120 m/s; die  $A\beta$ -Fasern regulieren die kutane Mechanosensorik mit einer Leitungsgeschwindigkeit von 30-70 m/s;  $A\gamma$ -Fasern innervieren die kontraktile Muskelspindeln (Leitungsgeschwindigkeit von 15-30 m/s), und  $A\delta$ -Nervenfasern sind mit ihren Afferenzen vorrangig zuständig für Temperaturempfindung und schnelle Nozizeption (Leitungsgeschwindigkeit von 12-30 m/s). Deutlich langsamer sind die B- und C-Nervenfasern. Beide sind hauptsächlich dem vegetativen Nervensystem zugehörig B-Fasern besitzen viszerale Afferenzen und sind sympathisch präganglionär (Leitungsgeschwindigkeit von 3-15 m/s). C-Fasern sind unmyelinisierte Nervenfasern (Leitungsgeschwindigkeit von 0,5-2 m/s) und dienen unter anderem der Nozizeption [33-35].

Die Spinalnerven (Nervi spinales) entspringen aus der Dorsalwurzel und der Ventralwurzel der Rückenmarksnerven. Die Dorsalwurzel besitzt afferent-sensible Fasern, wohingegen die Ventralwurzel motorische und vegetative Fasern führt. Sie treten segmental durch das Foramen intervertebrale aus dem Spinalkanal aus und teilen sich direkt anschließend in einen dorsalen und einen ventralen Ast. Diese teilen sich nochmals in einen medialen und einen lateralen Ast. Der Ramus medialis eines jeden Dorsalastes, versorgt die dorsale Rücken- und Halsmuskulatur, wohingegen der Ramus lateralis hauptsächlich für die Innervation der Haut zuständig ist. Die Ventraläste hingegen versorgen die komplette ventrale Muskulatur des Stammes, sowie deren Hautbezirke. Häufig bilden sich vor der endgültigen Aufteilung der Nerven große Geflechte (Plexus cervicalis, Plexus brachialis, Plexus lumbalis und Plexus sacralis), in denen sich die Axone mehrerer Abschnitte zusammenschließen. Somit bestehen die aus den Plexus austretenden peripheren Nerven aus Anteilen mehrerer Segmente.

Dadurch kommt es bei Verletzungen der motorischen Gebiete nicht zu Einschränkungen einzelner Muskeln, sondern je nach betroffenen Fasern zu entsprechenden Funktionsstörungen (z.B. Ataxie, Paresen) [36, 37].

#### **2.1.4 Skelettmuskulatur**

Die Verbindung der Nervenzellen mit den Muskelfasern ist durch Synapsen gewährleistet. Sie wird motorische Endplatte genannt. Erreicht nun ein elektrischer Reiz die motorische Endplatte, führt dies zur Öffnung von spannungsabhängigen Kalzium-Kanälen in der präsynaptischen Membran. Dadurch wird der Neurotransmitter Acetylcholin (ACh) aktiviert und in den synaptischen Spalt freigesetzt. ACh gelangt über Diffusion in die postsynaptische Membran und bindet sich dort an Rezeptoren, woraufhin Natrium ( $\text{Na}^+$ ) einströmt und an dieser Stelle zur Depolarisation führt. Diese Depolarisation öffnet erneut  $\text{Na}^+$ -Kanäle, die nun ein Aktionspotential am Sarkolemm (erregbare Zellmembran der Muskelzellen) der Muskelfaser auslöst. Das Aktionspotential setzt das elektrische Signal nun in ein chemisches Signal um, indem es über die so genannte Triade des sarcoplasmatischen Reticulums an 1,4-Dihydropyridinrezeptoren und Ryanodinrezeptoren bindet, wodurch es erneut zu einer Ausschüttung von Kalzium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) kommt [38]. Die Muskelkontraktion wird durch ein Ineinandergleiten von Aktin- und Myosinfilamenten ermöglicht. Huxley beschreibt 1954 in der Gleitfilamenttheorie, dass es bei einer Muskelkontraktion nicht zu einer Verkürzung der Filamentproteine Aktin und Myosin kommt, sondern dass diese ineinander gleiten und somit den Muskel an sich verkürzen [39]. Aktin und Myosin bilden das Sarcomer und sind über Z-Streifen mit weiteren Sarcomeren verknüpft. Aktin ist mit an den Z-Streifen befestigt und besteht aus zwei ineinander verschlungenen F-Aktinen, die jeweils mit Myosinköpfchen verbunden sind [40]. Ein Myosinfilament besteht je aus 300 Myosin-II-Molekülen, von denen jedes zwei Köpfchen aufweist, das zusätzlich zu der Bindungsstelle für das Aktin auch mit einem Adenosintriphosphat (ATP) verbunden ist. Bei einer Kontraktion der quergestreiften Muskulatur spielen zusätzlich Troponin und Tropomyosin eine

entscheidende Rolle. End-zu-End verknüpfte Tropomyosin-Moleküle sind mit dem Aktin verbunden und bilden alle 40nm zusammen mit einem Troponin-Molekül einen Troponin-Tropomyosin-Komplex. Kommt es nun zu einem Einstrom von  $\text{Ca}^{2+}$ , so beeinflusst dies über den Troponin-Tropomyosin-Komplex ein Spalten des ATPs durch Aktin, wodurch es nach Ablösen des anorganischen Phosphats des ATPs die Myosinköpfchen um 40 Grad kippen lässt. Somit kommt es zu einem Aneinander-Vorbeigleiten von Aktin und Myosin und durch das zusätzliche Abspalten von Adenosindiphosphat (ADP) entsteht eine stabile Muskelkontraktion. Diese wird erst wieder durch die neue Bindung von ATP an die Myosinköpfchen gelöst [41].

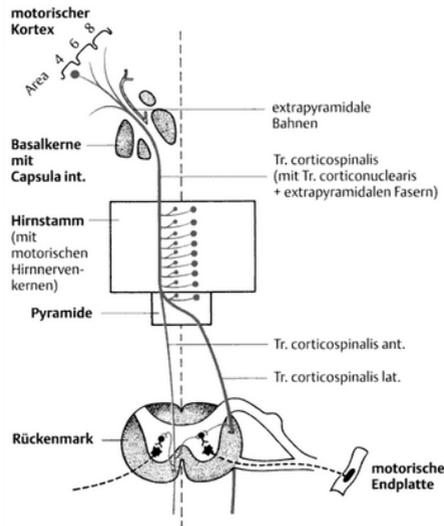


Fig. 2: Simplifizierte Darstellung der motorischen Faserverbindungen vom Motorkortex bis zur Muskelfaser. (Nach Delank und Gehlen [42]). Kortikospinale Fasern des pyramidalen Systems steuern vor allem die flexorbetonte phasische Muskulatur zur Ausführung gerichteter Einzelbewegungen (inklusive Feinmotorik beim Menschen) an. Die extrapyramidalen Fasern dominieren dagegen die tonische (posturale) Haltemuskulatur und hemmen

bei Fortbewegung über inhibitorische Interneurone die Extensoren der Gliedmaßen, so dass ein Gang möglich wird.

## **2.2 Transkranielle motorische Stimulation: TMS versus TES**

### **2.2.1 Geschichte**

Fritsch und Hitzig bewiesen im Jahre 1870 entgegen aller vorherigen Aussagen, dass das Großhirn elektrisch stimulierbar ist und somit Muskelkontraktionen an der kontralateralen Körperhälfte provoziert werden können [43]. Den Beweis lieferten sie durch eine Studie an Hunden, indem sie die Schädeldecke öffneten und im vorderen Bereich des Großhirns an verschiedenen Stellen („Centra“) unter Anwendung unterschiedlicher Stromstärken die Reaktion testeten. So entdeckten sie, dass durch einen sehr schwachen Stromimpuls gut eingrenzbare Muskeln stimuliert werden können. Je nachdem, wie stark die elektrische Reizung ist, kontrahieren die anschließenden Muskelgruppen ebenfalls.

Gualtierotti und Paterson schafften es 1954, das Großhirn von anästhesierten Pavianen mit elektrischer Stimulation durch die intakte Schädeldecke zu stimulieren und somit reizabhängige Muskelkontraktionen im Gesicht, am Hals und am Oberarm zu erzeugen [44].

Erstmalig gelang es Merton und Morton 1980 mittels der so genannten Transkraniellen Elektrostimulation (TES) am wachen Patienten definierte Bereiche des Motorkortex mit Oberflächenelektroden am intakten Schädel zu stimulieren und somit gezielte Zuckungen an den distalen Arm- und Fußmuskeln zu erzeugen [45]. Um die Schädelkalotte, sowie die Dura zu durchdringen, wurden ultrakurze Hochspannungsreize angewandt, die aber bei den Patienten und Forschern aufgrund der Schmerzhaftigkeit nur schwer toleriert wurden. Bereits 1896 versuchte der französische Physiker und Arzt d'Arsonval mit einer Spule, die den gesamten Kopf und Teile des Körpers umfasste, ein oszillierendes Magnetfeld zu erzeugen, was bei den

Probanden über Schwindel, Synkopen bis hin zu Flickerphosphenen (Lichtwahrnehmungen, die durch inadequate visuelle Reizung entstehen) führte. Walsh bewies dann 1946, dass die erzeugten Flickerphosphene durch eine direkte Reizung der Retina und der Sehnerven entstanden [46].

Polson entwickelte in Zusammenarbeit mit Barker und Freeston 1982 einen Magnetstimulator für die kontaktlose Reizung peripherer Nerven mittels Elektroden, ohne dass Artefakte die Aufzeichnungen der Muskelpotentiale behinderten [47]. Da der genaue Ort der Reizung am peripheren Nerven allerdings nicht bestimmt werden konnte, war diese Methode zunächst nicht von Nutzen.

Basierend auf dieser Entdeckung führte Barker dann im Jahre 1985 mit seinem Studenten Jalinous die TMS ein, was einem Quantensprung in der Humanmedizin gleichkam. Merton konnte sich als erster Proband davon überzeugen, dass TMS nicht-invasiv und schmerzfrei gut sichtbare Muskelkontraktionen an den kontralateralen Armen und Beinen hervorrufen kann [1].

## **2.2.2 Physikalische Grundlagen der TMS**

Die transkranielle Magnetstimulation basiert auf dem Gesetz der elektromagnetischen Induktion von Faraday (1831), die besagt, dass ein zeitveränderliches magnetisches Feld in einer Spule oder einer Leiterschleife einen Stromfluss erzeugt. Um dies zu beweisen, hat Faraday etliche Versuche durchgeführt: Man stelle sich einen Draht vor, der zu einer Schlinge verbogen wird und an dessen Ende ein ballistisches Galvanometer (elektromechanisches Strommessgerät) befestigt ist. Nimmt man nun einen Stabmagneten, der senkrecht zu der Schlinge positioniert ist, und nähert ihn der Schlinge an, so kommt es zu einem Ausschlag des Galvanometers. Die Menge der erzeugten Elektrizität ist nur abhängig von der Start- und Endposition des Magneten und nicht von der Geschwindigkeit, mit der dieser bewegt wird. Wenn man nun den Magneten anders herum der Schlinge nähert, so kommt es ebenfalls zu einem Ausschlag der gleichen Stärke, aber in entgegengesetzter Richtung (Fig. 3). Bewegt man zwei Magneten auf die Schlinge zu, kommt es zu einem Ausschlag doppelter Stärke. Das

passiert ebenfalls dann, wenn man eine doppelte Schlinge verwendet (Fig 4). Ersetzt man nun den Magneten durch eine stromdurchflossene Spule, so erhält man die gleichen Werte, wie mit dem Magneten (Fig. 5) [48].

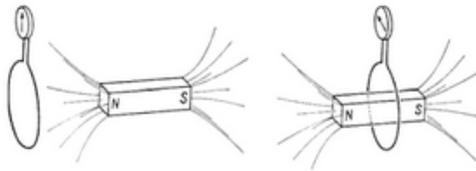


Fig. 3: Erzeugung eines Induktionsstroms durch Annäherung eines Stabmagneten an eine Kreisschlinge. (Nach Gerthsen und Kneser [48])

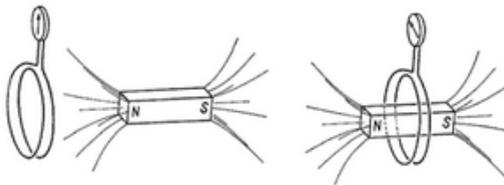


Fig. 4: Durch zwei Windungen an der Kreisschlinge kommt es beim Annähern des Magneten zu einem Ausschlag doppelter Stärke. (Nach Gerthsen und Kneser [48])

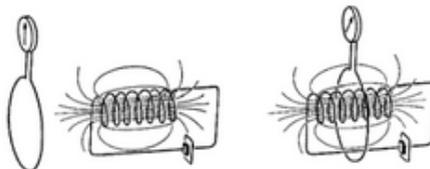


Fig. 5: Wird der Magnet durch eine Stromspule ersetzt, so kommt es zu einem Ausschlag gleicher Stärke. (Nach Gerthsen und Kneser [48])

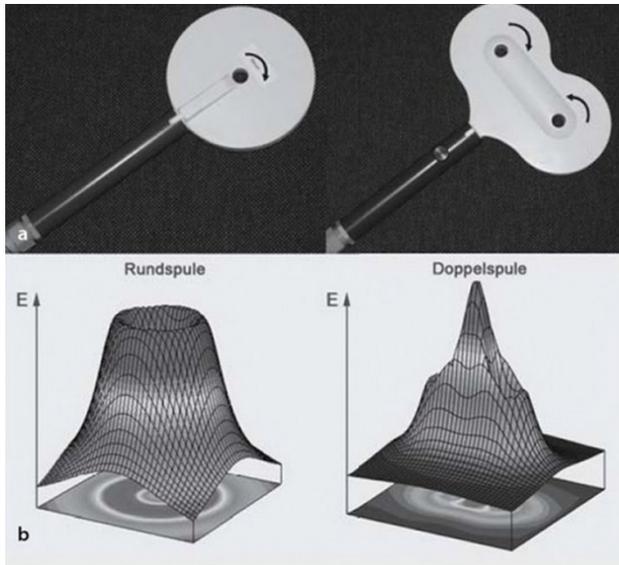
### 2.2.3 Technische Daten und Wirkmechanismus

Die TMS basiert, wie schon beschrieben, auf der Erzeugung eines magnetischen Feldes. Dafür benötigt es eine Stimulationsspule, die in der Lage ist, ein magnetisches Feld schnell auf- und wieder abzubauen. Die notwendigen Ströme, die die Spule durchlaufen, um eine Nervenreizung zu produzieren, liegen bei circa 1000-5000 Ampere (A) und die Spannungen befinden sich im Bereich von etwa 1000-3000 Volt (V). Um diese Werte in so kurzer Zeit zu erreichen, sind die Stimulatoren wie elektrische Schwingkreise aufgebaut. Ein Pulscondensator lädt sich zuerst bis auf die benötigte Spannung auf. Bei der Auslösung des Impulses wird diese Spannung dann über einen Thyristor (Einkristall-Halbleiter) in Form einer elektrischen Verbindung an die Spule geleitet. Somit kommt es zu einem Hin- und Herschwingen der Energie zwischen Kondensator und Spule, wodurch der bereits erwähnte Schwingkreis entsteht.

Die Reizstärke, mit der ein Impuls erzeugt wird, ist variabel. Üblicherweise lässt sich diese an den Stimulatoren zwischen 0% und 100% einstellen. Die Reizschwelle variiert allerdings unter den verschiedenen Geräten, daher kann man die gleichen Reizintensitäten von zwei unterschiedlichen Geräten nicht miteinander vergleichen.

In der TMS werden die folgenden zwei verschiedenen Spulen am häufigsten angewandt: die Rundspule und die Achterspule (Fig. 6). Die Rundspulen waren die ersten hergestellten Spulen. Das magnetische Feld dieser Spulen sammelt sich in deren Zentrum, das elektrische Feld bildet sich dagegen kreisförmig um das Zentrum herum. Das bedeutet, dass das Nervengewebe unter dem Zentrum nicht stimuliert wird. Aufgrund dieser Eigenschaft ist diese Spule nicht für präzise topographische Messungen geeignet. Allerdings weist sie eine sehr hohe Tiefenreichweite auf, wodurch sie die Anforderungen für neurophysiologische Untersuchungen erfüllt.

Die Achterspulen setzen sich dagegen aus zwei Rundspulen zusammen. Das hat den Vorteil, dass der Strom zunächst die eine Spule durchläuft und dann in entgegengesetzter Richtung die andere, wodurch es zu einer Bündelung des elektrischen Feldes in der Mitte dieser Spule kommt. Dies ermöglicht eine präzise Nervenreizung im Bereich des kleinen Feldes [49]. Bei der TMS handelt es sich um eine elektromagnetoelektrische Nervenstimulation, bei der ein elektrischer Reiz ein magnetisches Feld erzeugt, welches mit nur geringer Abschwächung das Gewebe durchdringt und vom Gehirn wiederum in ein elektrisches Signal umgewandelt wird, um die Nervenzellen zu reizen [50]. Im Gegensatz zu der transkraniellen Elektrostimulation muss die Spule nicht komplett die Schädeldecke berühren und es werden auch keine Elektroden am Schädel benötigt, die zu einer Bündelung des Stromflusses führen. Dadurch ist das Verfahren nahezu schmerzfrei [1]. Bei ausreichender Stimulationsintensität resultiert die TMS in einem Aktionspotenzial, das mittels Nadel- oder Oberflächenelektroden als MEP aufgezeichnet werden kann.



**Fig. 6:** a.) Rund- und Achterspule (Doppelspule) (nach Weyh und Siebner (2007))  
 b.) Die Verteilung des elektrischen Feldes (E) in 3D für beide Spulenformen (nach Weyh und Siebner (2007) [49])

### 2.2.5 Anwendung in der Humanmedizin

In der Humanmedizin hat die TMS ihren Platz vor allem in der Neurologie, der neurowissenschaftlichen Forschung und der Psychiatrie. Es gibt verschiedene Verfahren, die als diagnostische, sowie auch als therapeutische Methoden angewandt werden.

Die wohl bekannteste Anwendung findet die TMS in der Diagnostik der Multiplen Sklerose (MS). Dort ist sie wichtiger Bestandteil der funktionellen Beurteilung des pyramidalen Systems. Vor allem zu Beginn der Symptomatik dient sie dem Nachweis subklinischer Schäden mittels visueller, somatosensorisch, motorisch und akustisch evozierter Potenziale [51]. Auch in der Therapie der MS nimmt die

TMS in Form von repetitiver TMS (rTMS) einen immer wichtigeren Stellenwert ein und führt neben der medikamentösen Behandlung durch repetitive Stimulation zu einer Verbesserung von Spastiken, Erschöpfungszuständen und Depressionen [52].

Ebenfalls einen hohen Stellenwert hat die TMS in der Früherkennung von Motoneuronen-Erkrankungen wie z.B. der amyotrophen Lateralsklerose (ALS). Neben dem klinischen Bild gehören die Nadelelektromyographie zur Abgrenzung von akuter und chronischer Denervierung von einer Myopathie, sowie die Elektroneurographie zum Ausschluss einer multifokalen motorischen Neuropathie zum Goldstandard der Diagnostik der ALS. Um aber eine Frühschädigung von Motorkortex und Pyramidenbahn schnell und schonend zu erkennen und eine sichere Diagnose stellen zu können, ist die TMS von hoher Bedeutung. So kann schnellstmöglich die Therapie mit neuroprotektiven Medikamenten eingeleitet werden [53, 54].

Des Weiteren dient die TMS der Diagnosestellung bei Myelopathien (z.B. kompressive zervikale Myelopathie), Epilepsien, Bewegungsstörungen (z.B. Morbus Parkinson) und beim Schlaganfall [2].

In der Neurochirurgie kann die TMS ein Bestandteil des Monitorings bei Operationen an der Wirbelsäule, am Rückenmark oder am Gehirn sein und somit eine engere Überwachung der intraoperativen Reizweiterleitung gewährleisten [3, 55].

Auch der therapeutische Nutzen von TMS nimmt zu, vor allem bei psychischen Erkrankungen wie z.B. Depressionen oder Schizophrenie. Die rTMS kann durch Stimulation des präfrontalen Kortex eine Aktivierung von dopaminergen, noradrenergen und serotonergen Neuronen hervorrufen, wodurch es zu einer Ausschüttung von Dopamin kommt, was vorrangig in der Therapie von schlecht auf Antidepressiva ansprechenden Depressionen von großem Interesse ist [56, 57]. Niedrigfrequente rTMS findet ihren Einsatz z.B. in der Behandlung der Positivsymptomatik (akustische Halluzinationen) bei Schizophrenie. So wird die Negativsymptomatik (Angst, Anhedonie) der Schizophrenie mittels hochfrequenter rTMS über dem linken dorsolateralen präfrontalen Kortex behandelt [4, 58].

### **2.2.6 Anwendung in der Pferdemedizin**

In der Pferdemedizin findet die TMS vorwiegend Anwendung in der Überprüfung neurologischer Ursachen von Gangstörungen. 1996 wurde zum ersten Mal TMS bei zehn nicht anästhesierten Welsh Ponys durchgeführt, um zu zeigen, dass auch bei Pferden eine zuverlässige Erzeugung von MEPs möglich ist [59]. Diese Erkenntnis führte ein paar Jahre später zu weiteren Studien, denn man sah den Nutzen der TMS bei Pferden mit Schädigungen im Bereich der Halswirbelsäule [5].

Da neurologische Erkrankungen bei Pferden bis zu diesem Zeitpunkt vorrangig mittels klinischer Untersuchungen eingegrenzt wurden und CT, MRT und Röntgen auf Grund der Körpergröße nur den Kopf und die Halswirbelsäule, sowie Teile des zervikalen Rückenmarks darstellen können, bot die TMS ein vielversprechendes nicht-invasives diagnostisches Verfahren, um neurologische Erkrankungen weiter zu lokalisieren. Aus diesem Grund wurden die Untersuchungsvorgänge vertieft und die Methodik an das Pferd angepasst [60].

Nollet et al. schlossen zunächst aus, dass Sedativa (Detomidin und Butorphanol) Einfluss auf die MEPs haben, da Pferde für die Untersuchung sediert werden sollten [61]. Es folgte die Standardisierung des Verfahrens mit Schwerpunkt auf Elektroden- und Spulenpositionierung, sowie Stimulationsintensität. Die Position der Spule und auch die Spulenform haben einen erheblichen Einfluss auf die Genauigkeit der Ergebnisse. Der optimale Platzierungspunkt befindet sich auf der Medianen des Vorderkopfes, und zwar auf dem Kreuzungspunkt, der sich ergibt, wenn man zwei Linien vom Ohrgrund zu dem gegenüberliegenden medialen Augenwinkel zieht [8]. Mittels der angepassten Methodik konnten Referenzwerte von 84 gesunden Pferden etabliert werden [62].

Vergleiche mit neurologisch auffälligen Pferden zeigten, dass z.B. bei Schädigungen der Halswirbelsäule signifikante Verlängerungen oder Variablen der Latenzen zu verzeichnen waren. Eine Lokalisation der Läsion ist bislang nur grob möglich, da die Unterteilung auf Grund der Ableitung von Vorder- und Hintergliedmaße lediglich in zwei Abschnitte erfolgt. Allerdings gibt es bereits Studien, die an einer genaueren Eingrenzung durch unterschiedliche Elektrodenpositionierungen

arbeiten [63]. Eine Studie der Universität Gent befasste sich mit der Sensitivität von TMS bei 6 Pferden mit kompressiven Schäden des Rückenmarks. Ergänzend wurden Röntgenaufnahmen der Hals-, sowie der Brust- und Lendenwirbelsäule und eine Myelographie durchgeführt. Das Rückenmark der anschließend euthanasierten Tiere wurde histopathologisch untersucht, um die Befunde mit den Ergebnissen der TMS zu vergleichen. Eine 100%ige Übereinstimmung der verschiedenen Untersuchungsergebnisse konnte festgestellt werden [64]. Um diese Ergebnisse zu untermauern, wurden (ebenfalls in einer Studie der Universität Gent) Cut-Off Werte erarbeitet für Vorder- und Hintergliedmaße, um Pferde mit milden Rückenmarksläsionen, die in anderen Untersuchungsverfahren unauffällig erscheinen, von neurologisch gesunden Pferden besser unterscheiden zu können [7].

### **2.3 Problematik der Differentialdiagnosen equiner Ataxien**

Die Ataxie (*ataxia* steht im Griechischen für *Unordnung*) entsteht durch eine fokale oder systemische Schädigung im Bereich des zentralen Nervensystems. Die Auswirkungen resultieren in einer Inkoordination des Bewegungsablaufes und äußern sich z.B. durch einen schwankenden, kraftlosen Gang, eine abnormale Stellung der Gliedmaßen und eine Hyper- oder Hypometrie. Beispielsweise kommt es zu vermehrtem Stolpern bei abruptem Anhalten, starkem Überkreuzen der Gliedmaßen oder Auf-der-Stelle-Drehen bei schnellen Richtungswechseln [65].

Neuroanatomisch lässt sich die Ataxie grundsätzlich vier Strukturen zuordnen: 1. Rückenmark (spinale Ataxie), als wesentliche Signalstrecke propriozeptiver und motorischer Informationen kaudal des Kopfes, 2. Innenohr (vestibuläre Ataxie), bei Schädigung des Gleichgewichtssinnes, 3. Kleinhirn (zerebelläre Ataxie) mit Inkoordination antagonistischer Muskelgruppen (Extensoren versus Flexoren), und 4. temporale Großhirnrinde (zerebrale/kortikale Ataxie), bei der die bewusste Wahrnehmung propriozeptiver Signale und die Initiierung von Bewegungsabläufen fehlschlägt. Die Unterscheidung der ersten drei ist in der Regel bereits durch eine

Gangbildbeurteilung möglich, wobei epidemiologisch der Gruppe der spinalen Ataxien beim Pferd die größte Bedeutung zukommt. Als wohl bekannteste Unterform der spinalen Ataxie wird in der Literatur das sogenannte Wobbler-Syndrom angeführt. Es umfasst die Gesamtheit der durch Rückenmarkskompression im Bereich der Halswirbelsäule entstandenen Funktionsausfälle, im Sinne einer zervikalen Kompressionsmyelopathie, wie z.B. als Folge extraduraler Hämatome, Zubildungen und Fehlstellungen der Spondylgelenke inklusive Synovialzysten, Malartikulation (Inkongruenz) und Subluxationen der zervikalen Wirbelkörper [66].

In dieser Hinsicht waren Traumata des Schädels und der Wirbelsäule nach einer umfassenden retrospektiven Studie an 543 neurologischen Pferden, mit 34,4% die häufigste Krankheitsursache. Dabei dominierte mit 15,3% die zervikale Kompressionsmyelopathie. Hierauf folgten nicht-traumatische Erkrankungen des ZNS wie das Fehlanpassungssyndrom (Neonatal maladjustment syndrome) mit 11,4%. Weitere Ursachen neurologischer Symptome waren unter anderem die bakterielle Meningoenzephalomyelitis und Meningitis, hepatische Enzephalopathie, kongenitale Defekte, equine Herpesvirus 1 Myeloenzephalopathie und Malformationen anderer Art, als der zervikalen kompressiven Form [67].

In einer weiteren Postmortalstudie an 316 selektierten ataktischen Pferden (im Vergleich zu 2545 Kontrolltieren), ließ sich ebenfalls die Mehrzahl der Ataxiefälle auf eine zervikale vertebrale kompressive Myelopathie zurückführen (24%), gefolgt von Ataxien unbekannter Ursache (18%) und degenerativen Myeloenzephalopathien, vorwiegend in Form von NAD (12%). Weit dahinter kamen Traumata anderer Art mit 8%. [68].

Die Symptomatik der spinalen Ataxie ist oft mit einer Unterfunktion des oberen motorischen Neurons (obere Motoneuron-Parese) vermischt und von ihr durch klinische Untersuchungen nicht komplett abzugrenzen [29].

Gleichsam ist es bei einer neurologischen Untersuchung nicht immer ersichtlich, ob die spinale Ataxie durch eine fokale bzw. multifokale intraspinalen Rückenmarksschädigung oder eine diffuse Degeneration der langen Rückenmarksaxone zu Stande kommt. Auf Grund vieler möglicher Differentialdiagnosen können auch erfahrene und

geschulte Kliniker vor allem bei milden neurologischen Anzeichen Schwierigkeiten haben, eine klare Diagnose zu stellen. Das ist natürlich gerade dann wichtig, wenn es der Entscheidung über den weiteren Nutzen des Pferdes, möglicher Therapieansätze oder der Entscheidung zur Euthanasie dienen soll [69, 70].

Nicht nur die Differenzierung der Lokalisation der Rückenmarksschädigung kann eine erhebliche Herausforderung darstellen, sondern auch weitere Erkrankungen, die zum Beispiel von einer zervikalen kompressiven Myelopathie klinisch nicht oder nur schwer zu unterscheiden sind. Auch die equine degenerative Myeloenzephalopathie (EDM), die neuroaxonale Dystrophie (NAD), die protozoäre Myeloenzephalitis, sowie die equine Herpesvirus 1 Myeloenzephalopathie können durchaus in einer symmetrischen Ataxie mit abnormaler Haltung und häufig einer ausgeprägten Hypermetrie resultieren [71].

Beim jungen ataktischen Pferd ist die Osteochondrose mit Sicherheit als eine der häufigsten Ursachen für Kompressionen im Bereich des zervikalen Rückenmarks in Betracht zu ziehen [72]. Dieses Krankheitsbild kann in manchen Fällen spinalchirurgisch therapiert werden. Dafür ist allerdings eine klare Abgrenzung zu metabolisch-toxischen, sowie degenerativen Erkrankungen mit Beeinträchtigung propriozeptiver Fasern und denen der oberen motorischen Neurone essenziell [73].

Von den anderen Lokalisationen wird die zerebrale Form oft durch traumatische oder infektiöse Erkrankungen von Groß-, Mittel- oder Zwischenhirn verursacht. Sie geht aber in der Regel mit weiteren zentralnervösen Ausfällen einher. Die zerebelläre Ataxie basiert auf angeborenen oder degenerativen Veränderungen der Kleinhirnrinde mit einem richtungsweisenden hypertaktischen Gangbild [66]. Beispiel hierfür ist die zerebelläre kortikale Degeneration (Abiotrophie) der Araberfohlen [74]. Das Gangbild hier weicht aber von der NAD/EDM ab, bei der die tiefen zerebellären Kerngebiete mitbetroffen sein können. Sie manifestiert sich aber wie nahezu jede spinale Ataxie [71, 75]. Letztere stellt daher die größte diagnostische Herausforderung dar.

In Hinsicht auf eine differenzierte Lokalisationsdiagnostik der spinal anmutenden Ataxie eröffnet die TMS der Pferdepraxis

großartige Möglichkeiten. Eine weitere Anpassung der Untersuchungsgegebenheiten an die Anatomie, Neurobiologie und die Psyche des klinisch erkrankten Pferdes ist dahingehend von großer Bedeutung.

## **3 Eigene Untersuchungen**

### **3.1 Zielsetzung**

Nur durch die TMS besteht die Möglichkeit, die gesamte Länge der absteigenden Bahnen des Rückenmarks nicht-invasiv am stehenden, sedierten Pferd zu evaluieren. Aus den oben angeführten Problemen in der Diagnostik des neurologischen equinen Patienten war das Ziel dieser präklinischen Studie die Optimierung der Messmethodik, um noch präzisere Ergebnisse erreichen zu können. Für dieses Vorhaben wurde die Wirkung submaximaler Stimulationsintensitäten (SI) ermittelt und damit die minimalste Spulenleistung, die erforderlich ist, um konstante, messbare MEPs auszulösen. Des Weiteren trägt die Reduktion der SI zur Minimierung der sensorischen Irritationen des Pferdepatienten bei.

## **3.2 Publikation**

Folgendes Manuskript wurde zur Publikation im Journal of Veterinary Equine Science angenommen (DOI: [10.1016/j.jevs.2022.103912](https://doi.org/10.1016/j.jevs.2022.103912)).

ORIGINAL RESEARCH / RESEARCH ARTICLE

### **Evaluation and utility of submaximal stimulation intensity in transcranial magnetic stimulation in the standing horse**

L. Walendy<sup>1</sup>, L.S. Goehring<sup>2</sup>, Y. Zablotski<sup>1</sup>, T. Weyh<sup>3</sup>, K. Matiasek<sup>4</sup>, A. May<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Equine Hospital, Center for Clinical Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-Universitaet, Munich, Germany

<sup>2</sup> M.H. Gluck Equine Research Center, Department of Veterinary Science, College of Agriculture, Food & Environment, University of Kentucky, Lexington, KY, USA

<sup>3</sup>Institute of Electrical Energy, Systems, Universität der Bundeswehr, Munich, Germany

<sup>4</sup>Section of Clinical & Comparative Neuropathology, Center for Clinical Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-Universitaet Muenchen, Munich, Germany

\*) Corresponding author:

Dr. Anna May  
Equine Hospital of Ludwig-Maximilians-Universitaet Munich  
Sonnenstrasse 14  
85764 Oberschleissheim  
Germany

[anna.may@pferd.vetmed.uni-muenchen.de](mailto:anna.may@pferd.vetmed.uni-muenchen.de)

Acknowledgments: The authors thank Dr. H-P. Remler, Main and State stud farm Schwaiganger, Bavaria, Katleen Vanschandevijl, Equine Hospital 'De Bosdreef', Moerbeke, Belgium and Gunther van Loon, Ghent University, Belgium, for technical advice. Special thanks also to Dipl.-Math. Ulrike von Hehn for initial statistical consultation.

This study was performed at the Equine Hospital, Center for Clinical Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-Universitaet Muenchen, Munich, Germany, and at Bavaria's Main Stud Farm 'Haupt- und Landgestuet Schwaiganger', Ohlstadt, Germany.

The study was supported through internal funds of the Equine Hospital, Center for Clinical Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-Universitaet Muenchen, Munich, Germany.

Authors declare no conflict of interest.

No off-label antimicrobials were used.

## ABSTRACT

Transcranial magnetic stimulation (TMS) has been successfully used in horses to evaluate function and integrity of descending motor pathways in patients affected by neurological gait abnormalities. In preceding studies, lengthening latency times (LT) of cranially evoked limb muscle potentials have been considered a reliable diagnostic parameter. Standardized settings use device output signal intensities of 100%.

The aim of this study was to determine the effect of submaximal stimulation intensities (SI) and to determine the minimum coil output necessary to evoke motor unit potentials (MUP). As an additional effect, lower stimulation intensities are supposed to decrease sensory irritation of the equine patient. Altogether, 36 neurologically healthy horses underwent TMS under sedation with a dome coil at stimulation intensities varying from 40%-100% of device output intensity. Motor potentials were recorded by surface electrodes from all four limbs and LT was calculated in milliseconds.

To further refine the stimulation settings, cortical motor thresholds (CMT) were assessed in triplets, using IFCN recommendations. The electromyographic recordings were evaluated in 30 horses.

Increasing stimulation intensities resulted in significant ( $p < 0.05$ ) LT shortening until application of 80% of maximal output intensity. Further increase to maximal SI of 100%, brought up no significant differences ( $p > 0.05$ ). Gating effects were excluded as there was no difference of LT upon ascending and descending SI changes ( $p > 0.05$ ). CMT revealed a large inter-individual variability amongst horses independent of their body size. There was a strong linearity in between CMT and LT even within submaximal SI ranges ( $p < 0.001$ ).

The inverse impact of SI on LT may be explained by deeper penetration of the magnetic field, circumvention of interposed neurons and subsequent activation of fast acting motor pathways. However, in warmblood horses a stimulation intensity of 80% coil output already

appeared sufficient for reproducible activation of lower motor neurons in all limbs. Furthermore, due to the strong linear correlation of CMT and LT, the tested CMT algorithms may be used to estimate the normal LT on submaximal stimulation for equine myelopathy patients in future.

**Keywords:** equine, myelopathy, motor unit potential, latency, cortical motor threshold, neurodiagnostics

- Highlights:**
- high-resolution dome-shaped coils are feasible for TMS in horses
  - increase of TMS stimulation intensity results in reduction of LT of limb muscle recordings in the sedated horse
  - SI of 80% appears sufficient to elicit the virtually shortest LT of limb muscle stimulation
  - stimulation settings can be individually tailored and normal LT can be predicted for equine patients using defined CMT algorithms

## 1. Introduction

There is little opportunity for objective and non-invasive nervous system assessment in the horse. Radiography, computed tomography (CT) and magnetic resonance imaging (MRI) may provide images of head and upper cervical parts of the spinal cord. For simple body size reasons, their applicability is however restricted to the neural tissues no farther caudal than the middle cervical spine. They mostly allow for anatomical insights, evaluation of water contents, vascularity and blood CNS barrier function while the functionality of neuronal circuits cannot be screened by clinical standard scanners. Moreover, CT and MRI are expensive, require general anesthesia and bear the associated risks of neurological deterioration and anesthetic complications.

Objective electrofunctional data, can be obtained from the brain by electroencephalography (EEG), and from the neuromuscular system by nerve conduction studies or electromyography (EMG) [76, 77]. Bridging the gap between these two compartments, introduction of transcranial magnetic stimulation (TMS) in the horse, indeed has unraveled the chance to evaluate the functional integrity of the spinal cord e.g. in ataxic patients.

With TMS, the clinician can assess motor excitability, transmission and conduction of the upper motor neuron (UMN) comprising of motor cortex, subcortical motor centers and descending spinal pathways in humans [78, 79]. For several years now, TMS also has been utilized for functional spinal cord assessment in the horse [5-7, 80, 81]. In practice, electric activity of central neuronal motor networks is induced by a charged magnetic coil, to be held against the frontal facial plane of the horse. Application of a single electromagnetic stimulus can depolarize motor neurons [82] up to a level that an evoked action potential descends along spinal UMN pathways to the lower alpha-motor neurons (LMN) of the ventral horn. From there the signal propagates forward via ventral roots and peripheral motor fibers to the neuromuscular junction where a critical number will elicit a muscle contraction in the connected muscle [29, 83]. On electromyography, the electrical activity of this (lower) motor unit is recorded as a

magnetically evoked motor unit potential (MUP) [83-86]. This can be further compared to nerve conduction studies to separate functionality of the peripheral nerve and nerve roots from that of central pathways.

Principal indications for TMS diagnostics in equine neurology are in particular the work-up of traumatic versus degenerative causes of spinal ataxias by aiding the neuroanatomical lesion location. Its unique capability to examine the entire descending paths of the nervous system in the standing horse is an advantage of this non-invasive method.

Hitherto, TMS investigations in the horse have been using standard settings with stimulation intensities at 100% of device output. Preceding investigations identified the time elapsing between coil discharge and MUP recording from trunk muscles, forelimb and hindlimb muscles – the so-called latency time (LT) - to be clinically most reliable [8]. In ataxic horses, focal or diffuse spinal cord diseases selectively increase LT in fore and/or hindlimbs if descending pathways are involved [5, 6, 80, 81].

In human medicine TMS often is based on individual evaluation of the the cortical motor threshold (CMT) to identify the lowest possible stimulation intensity needed to produce a consistent MUP for an individual. Keeping SI low is likely to reduce startle reactions and discomfort in the lightly sedated standing horse. To guarantee for accurate measurements, it was hypothesized that CMT of horses also should allow for prediction of SI suitable for diagnostic purpose. Hence, the minimum coil output necessary to evoke an MUP was assessed in terms of CMT in order to predict the physiological LT on base of patient specific central excitability.

## **2. Material and Methods**

### **2.1 Involved animals**

To obtain physiological data, all animal experiments were conducted

on a healthy cohort of horses owned either by the LMU teaching hospital or Bavaria's Main State Stud farm 'Haupt- und Landgestuet Schwaiganger', Ohlstadt, Germany.

Performance was approved by the Government of Upper Bavaria Animal Care and Use committee, Munich, Germany, listed under project #55.2-1-54-2532-30-2016.

Only healthy animals without evidence of gait abnormalities, limb and back pain and neurological abnormalities were included. An orthopedic and neurological examination was performed before each setting by board certified clinicians. Moreover, before measurements, the following data were collected: animal identification number, height at withers, weight estimated by tape, breed, age, sex, rectal temperatures.

### **2.1.2 Animal preparation**

For measurements, horses were sedated with routine intravenous application of detomidine<sup>a</sup> (10µg/kg) and butorphanol<sup>b</sup> (10µg/kg) [61]. Where possible, horses were placed in exam stocks or, alternatively, in a closed 3-walled space (padded stall) facing the exit. To identify lateralized effects electrodes were affixed to both fore- and hindlimbs.

## **2.2 Device and stimulation settings**

The main study comprised two trials, in which a protocol adapted from Ghent University, Belgium, described by Nollet et al. and Rijckaert et al. was followed [8, 87, 88]. As device and coil design equipment differed stimulation settings were first validated. Thereafter, the main study was performed, using two different TMS protocols.

For all experiments, a Nicolet Viking™ (Natus Neurology Inc.,

Middleton, WI USA) recording device connected to a magnetic circular coil (MagPro Compact MMC-140-II, MagVenture®, Farum, Denmark) was used. To reduce artifacts and for signal detection of a muscle contraction (i.e. the sum of MUP of a certain area) glue-on surface electrodes (Natus® Disposable 2x2 electrodes, Natus Neurology Inc., Middleton, WI, USA) were connected with the recording device. The device allowed two simultaneous recordings. As a modification to the Ghent University recording protocol, a paired approach to both fore or hindlimbs was conducted rather than restricting the examination to the ipsilateral limb pair. A 4x4cm area over the bellies of extensor carpi radialis muscles (forelimbs) and extensor digitalis longus muscle (hindlimbs) each was clipped for the attachment of the positive surface electrode. An additional 'skin-over-bone' area in proximity was chosen at the radial tuberosity on the forelimbs and the lateral malleolus of the tibia on the hindlimbs for placement of the negative electrode. The ground electrode (Natus® reusable ground electrode, Natus Neurology Inc., Middleton, WI, USA) was placed over the dorsal spinous process of the 5<sup>th</sup> thoracic vertebra. All electrodes on each limb were secured by adhesive medical tape (OMNIFIX®, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Germany).

For better anatomic adaption to equine skull and brain contour, a domed coil (MMC-140-II, MagVenture®, Lucernemarken 15, DK-3520 Farum, Denmark) with maximum slew rate of magnetic flux density of 33 kT/sec at the moment of discharge at 100% stimulation intensity was utilized. The SI could be varied in 5% steps from 0 to 100%.

For CMT determination a computer software for threshold hunting developed by Awiszus and Brockardt et al. in 2003 was used [89] [90]. By definition, CMT reflects the lowest stimulation intensity needed to produce an amplitude of at least 50 $\mu$ V in 50% of measurements. Coil position was determined at forehead midline at crossing lines between the rostral medial corners of the ear to the contralateral medial canthuses of the eyes [8]. In order to evaluate reproducibility, triplicate measurements were done for each limb pair with a minimum of 60 seconds between measurements. LT were measured in milliseconds (msec).

## **2.3 Experimental trials**

### **2.3.1 Trial 1 - Validation of coil, recording device and environmental factors**

Measurements were repeated in different settings in the same animal under different conditions to rule out influence of exercise, day time and season (outside temperatures): i) before or after 20 minutes of lunging; ii) without exercising at different times of the day (8am or 3pm), and iii) during early spring and late summer (measurements also without exercising).

In addition, it was evaluated whether an increasing stimulation protocol (40 – 60 – 80 – 100%) vs. a decreasing protocol (100 – 80 – 60 – 40%) influenced LT in subsequent measurements. The reason for not measuring with lower intensities than 40% was to avoid the recording of inconsistent MUPs.

### **2.3.2 Trial 2 – Assessment of CMT and stimulation intensities**

Experiments were conducted during Fall of 2017 on four separate days with six to eight horses on a given day. For each horse, a CMT was determined first, followed by measurements with increasing stimulation intensities.

CMT determination started with defining the cut-off of stimulation discharge intensity of the coil with or without an MUP recording. First, maximal (100%) and minimal (0%) intensity of the device output scale was selected, with 100% indicating a success and 0% indicating a failure.

Based on these values, the software recommended stimulation intensities, e.g. at 30% intensity, 40% or 50%. After every stimulation, a failure or a success was registered in the software through manual input of the values.

On average, 10 stimuli recommended by the software are necessary to set a CMT [90]. Once CMT was determined, this particular stimulation value was then set at 100 (CMT100%). The software then recalculated a stimulation intensity of CMT120% for forelimbs and CMT140% for hindlimbs because CMT stimulation intensities higher than 140% cause significant discomfort in human medicine and intensities lower than 120% show inconsistent MUPs [91]. Measurements were performed as triplets. After threshold determination, we evaluated CMT and LT in both limb pairs at output SIs of 40%, 60%, 80% and 100%.

## 2.4 Statistical methods

Quantitative values of CMT and LT were presented as mean and standard deviation, minimum and maximum, as well as quartiles. Results were tested for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov test.

Spearman's rank correlation analysis was performed to investigate the relation between measures with deviation from normal distribution. Due to the violation of numerous assumptions (normality of residual distribution, heteroscedasticity of residuals, heterogeneity of variances between groups and presence of outliers), a robust linear mixed effects model to predict a latency time with different SIs and sides (front, hind) with the interaction between SIs and sides was fitted. A robust model showed better performance in terms of conditional R<sup>2</sup>, marginal R<sup>2</sup> and ICC, as compared to models with rank-, log- and square root transformed data. The robust model included "individual animal" as random effect. Tukey method was used for adjustment for multiple testing. Data analysis was performed using R 4.0.3 (2020-10-10). Results with a p-value < 0.05 were considered statistically significant.

We checked following model assumptions with following tests: (1) the normality of residuals was checked by the Shapiro-Wilk normality test, (2) the homogeneity of variances between groups was checked with

Bartlett test, (3) the heteroscedasticity (constancy of error variance) was checked with Breusch-Pagan test (1979).

### **3. Results**

#### **3.1 Composition of cohort – Signalment & Demographics**

Animals of the first trial included 1 Haflinger stallion, 2 Standardbred mares, 1 Warmblood mare, and 2 Shetland ponies, (1 mare and 1 gelding). These animals were between 11 and 17 years old (Mean  $14.8 \pm$  standard deviation 2.0 years, median age 15 years), the height at the withers was approximately 110 cm (ponies) and between 155 cm and 164 cm for the horses (Mean  $143.5 \pm$  standard deviation 23.9, median 157 cm). Body weight ranged from 120 to 550kg (Mean  $390.8 \pm$  standard deviation 191.2, median 500 kg).

The group of horses of the second trial comprised a total of 30 Warmblood horses (15 mares, 13 geldings, 2 stallions), with ages between 3 and 17 years (Mean  $7.9 \pm$  standard deviation 4.4 years, median age 7 years). Height at withers measured between 154 and 174 cm (Mean  $163 \pm$  standard deviation 4.9 cm, median height 162 cm), while body weight (weight tape) ranged from 480 to 650 kg (Mean  $553 \pm$  standard deviation 42.2, median weight 600 kg).

#### **3.2 Results of stimulation**

None of the stimulations evoked any harmful or adverse effects. Similar to the coil used by Nollet et al. 2003, the position for optimal stimulation by the domed coils as characterized by shortest LT, highest amplitude and the lowest deviation between left and right limb measurements was at the median of the forehead on the crossing of two lines drawn between the rostral parts of the ear to the contralateral medial aspects of the eye. Paramedian deviation resulted in a relative

decrease of contralateral LT compared to the ipsilateral limbs, as reported previously [8].

There was no seasonal effect nor impact of room temperature, rectal temperature, time of the day, pre- or post-exercise LT measurements (all  $p > 0.05$ ). With SI above 40% maximal intensity, each stimulation led to a MUP in all animals, regardless of recording site. Neither ascending (40% to 100% SI) nor descending (100% to 40% SI) series of pulses in 5% SI increments showed remarkable effects on LT on outcome parameters. When implementing the withers' height, there was no recognizable effect on LT in between horses of different sizes ( $p=0.428$ ). Throughout tested animals and stimulation intensities, hindlimb LT presented a greater scatter of values compared to the forelimbs as the standard deviation in Table 1 demonstrate. Thereby, LT was not different between the body sides upon midline stimulation.

The mean CMT100 value for the group of horses in trial 2 was  $34.7 \pm 5.64$  (Mean  $\pm$  SD). Table 2 gives an overview of CMT(100) and LT (in msec) for forelimbs (CMT120%) or hindlimbs (CMT140%). CMT showed a wide inter-individual spread from 23.94 to 44.44. The mean CMT100 values corresponded with a mean LT (in msec) of CMT120% (forelimbs) which was  $50.0 \pm 7.35$  msec, and CMT140%  $61.7 \pm 8.31$  for hindlimbs. Spearman's rank correlation analysis showed a negative correlation in between CMT and LT for forelimbs ( $r_s = -0.713$ ,  $p < 0.001$ ), and for hindlimbs (hindlimb  $r_s = -0.815$ ,  $p < 0.001$ ) (Fig. 2). The regression coefficient in a healthy Warmblood horse for a given CMT is  $y = 89.8 - 1.1x$  in forelimbs and  $y = 106.4 - 1.3x$  in the hindlimbs. Notably, in all animals a non-linear shortening of LT with increasing SI, both for fore and hindlimbs was observed ( $p < 0.05$ ). Shortening became more evident between 40% and 60% SI and between 60% and 80% SI when compared to 80% and 100% SI (Fig. 1). Moreover, the higher the SI, the narrower was the range of LT (Table 1). The impact of SI on LT could be demonstrated no matter if stimulation intensities were increasing from 40 to 100% or decreasing from 100 to 40%.

## 4. Discussion

This study reproduced the feasibility of performing TMS investigations with paired limb muscle recordings in the sedated standing horse using a dome shaped coil. After assuring that changes to the output setting had no effect on values obtained by non-sequential repeat TMS, the focus was on the impact of stimulation intensity (SI) variations on MUP frequency, CMT and LT.

This study resulted in five significant observations: First of all, CMT showed a wide variation in between individuals (as represented in table 2), whereas the repetition of CMT intra-individually resulted in very consistent MUPs. Second, MUPs were constantly elicited in both forelimbs and hindlimbs from 40% of maximal SI upwards. Third, in all animals and TMS sessions without exception LT became shorter when SI increased. Fourth, the variation of LT with SI of 80% and 100% is narrow compared to that measured after stimulation with SI of 40% to 60% and 60% to 80%. Fifth and finally, intralimb LT variation on subsequent stimulations is greater in the hindlimbs than in the forelimbs as shown in the standard deviation in table 1.

Per definition, CMT is the lowest intensity needed to evoke an MUP of minimal amplitude in a target muscle [92]. An increased stimulation intensity to reach CMT or an abnormal lengthening of LT can be considered as a pathological finding if it is certain, that the measurements have been performed correctly [2]. Both increases of LT and of CMT indicate a net delay in signal transduction and/or neurotransmission along neuroanatomical pathways. As early as in 1994, the International Federation of Clinical Neurophysiology (IFCN) defined guidelines for the clinical application of magnetic stimulation in humans [25]. To reduce the number of stimulations, Awiszus et al. (2003) established a method for threshold estimation based on the maximum-likelihood-strategy [9]. For the maximum-likelihood threshold hunting procedure, Awiszus et al. in cooperation with J.J. Brockardt (Medical University of South Carolina, USA) created a freeware for CMT hunting<sup>c</sup> [89].

In human medicine TMS diagnostics (and in addition, therapeutic applications) is often based on the CMT [92]. LT lengthening at CMT, or an increased stimulation intensity to reach CMT with LT unchanged is considered a pathological finding. While LT comprises already a widely accepted diagnostic determinant in TMS in horses [5, 6, 87], this study for the first time evaluated CMT in healthy horses based on IFCN guidelines. Its diagnostic value remains to be addressed in future studies. In people, lengthening of LT or a CMT increase indicates a delay in signal transduction over distinct neuroanatomical pathways [2]. A carefully defined outcome, e.g. the lift of the (right/left) index finger or an MUP with pre-defined amplitude are used to specify exam results. For the right index finger in humans a defined intracortical brain area or 'hot spot' of the person's brain left hemisphere as part of the motor cortex had been stimulated for this response. From this 'hot spot' on, descending motor pathways of the (monosynaptic) corticospinal tract, also known as the pyramidal pathway, address lower motor neurons of the cervical intumescence. From there nerve roots convey the signal via the brachial plexus to the respective motor nerve branches, which results in a measurable MUP in the first dorsal interosseous muscle and/or results in a visible finger twitch. MUP amplitude reflects the number of functional lower motor neurons, neuromuscular junctions and muscle fibers that became finally activated [93]. This particular pathway, the pyramidal tract, initiates fine motor movement with a stronger influence on the contralateral and a weaker influence on the ipsilateral limb pair. The extrapyramidal system in people is mostly acting on postural and proximal limb muscles. It mainly employs subcortical motor centers nuclei. These, however, also receive cortical inputs from premotor areas mainly. On TMS, extrapyramidal corticoreticulospinal pathways, due to their multisynaptic interruptions, convey their impulses much slower than the pyramidal system [94].

Limb movement and limb muscle activity of ungulates require different UMN pathways to fulfill their needs. As a need for fine-motor control in distal limbs is less important in the horse, the pyramidal system as part of the lateral pathways is subsequently less well developed and does not appear to elicit major motor actions in the limbs [27].

Instead, horses mostly employ the extrapyramidal pathways of lateral funiculus (predominantly rubrospinal tract) and the ventral portion of the spinal cord white matter to the left and right of the ventral median fissure. The ventral funiculus contains vestibulospinal, tectospinal and (pontine and medullary) reticulospinal pathways. Less is known about premotor areas of equine cortex as possible impulse source for the extrapyramidal relais nuclei. As in other species, extrapyramidal pathways resemble a multi-synaptic system [28], and therefore are supposed to direct their impulses slower than pyramidal pathways.

Vestibulospinal and reticulospinal pathways are responsible for the postural muscles and are selectively inhibited if locomotion is initiated. All motor nuclei that allow for stance and gait in the horse after synapsing to the LMN are located caudal to the diencephalon [29]. While many text books state that the pyramidal pathways end in the neck region of the horse with their primary function in facial and tongue movements, head and neck balance and movements [29], Breazile et al. (1967) showed in stimulation experiments in anesthetized horses the extension of the corticospinal pathways all the way to the tibial nerve. For our better understanding, all reporter muscles used in this study were anti-gravity muscles used for footing, and hence, are under the control of ventromedial (reticulospinal) pathways, whose nuclei are localized quite deep in the brain stem [27]. The question arises whether MUPs in the horse were evoked from direct stimulation of deep nuclei or via the less appreciated corticospinal system after superficial cortical stimulation. Technological data indicate that tissue penetration increases with higher SI without changing the size of the

focus, meaning that the magnetic field is likely to induce action potentials in deeper subcortical areas. In particular in the horse, signal deflection/weakening relates to the thickness of bones, size of the interposed frontal sinuses, volume of cerebrospinal spinal fluid and inclination of nerve tracts [95, 96]. With low stimulation intensities, the most superficial cortical neurons can be targeted and stimulation signals may even detour outside the bony skull tissue and be channeled via peripheral afferent circuits to the brain stem nuclei [97]. Stronger stimulation is supposed to reach deeper structures and thereby

to shortcut the UMN pathway. However, given a tissue penetration of no more than 10 cm, ephaptic excitation of cortical efferents – corticospinal (pyramidal) and corticoreticular (extrapyramidal) likewise – is unlikely to shorten the LTs to the amount observed. Instead, it is more likely that the magnetic field induces somatodendritic action potentials in diencephalic (or lower) extrapyramidal motor centers and thereby circumvents (possibly multiple) synaptic delays. From a diagnostic point of view, it might be speculated that TMS at lower SI may pick up lesions of cortical motor neurons and their efferents (both classes) while TMS at higher SI fetches the net output of subcortical extrapyramidal neurons. This requires to be tested in clinical patients with cortical or subcortical white matter lesions.

The surplus effect decreased however at highest intensities. The variation of LT was narrow with SI of 80% to 100% compared to that measured with SI of 40% to 60% and 60% to 80%. LT is the time between coil discharge and MUP onset, and, hence, the time necessary for a signal to i) reach an excitable spot with subsequent membrane depolarization of neurons in a nucleus, ii) travel along the axon with a certain velocity depending on diameters of axon and myelin sheath, as well as iii) to pass synapses including the motor neuron end plate. Notably, below 80%, LT not only is longer, but also results in a wider dispersion of MUP recordings in particular in the hind limbs. Once an action potential has been induced it travels along descending motor pathways in the (healthy) spinal cord within fairly unanimous velocity values. Low-intensity stimulation not only may reach neurons located closer to the coil, but also preferentially stimulates low threshold population of neurons and therefore leads to a less optimal summation of the impulse that seems to result in a wider dispersion of the signal [2]. Contribution of signal detour via extra-cranial circuits and peripheral-afferent pathways, according to Journée et al., might resemble another possibility of MUP dispersion. The higher the impulse the more intense and bundled is the response, as the signal penetrates the brain tissue in a more compact manner. The collected data suggest that stimulation intensity of 80% vs 100% in Warmblood horses does not make a significant difference, as a plateau of LT has been reached. Lower stimulation intensities may

therefore not yield consistent results in all individuals and have to be adapted to the individual horse. The utility of this modality in a clinical setting is therefore not affected. In contrast to horses, a plateau of the LT has been described at an SI of 60-70% (manufacturer's setting) in people [98].

The recordings in the hindlimbs were constantly of greater variation than in the forelimbs. This effect could not be traced back to different sizes as assessed by wither's heights. One reason for this could be the different anatomy of the motor pathways. Two main pass-through structures might influence the signal transport to the limbs: the oligosynaptic pathways and polysynaptic pathways. Concerning the forelimbs, a pyramidal motor input could still be part of the stimulation, which results in an activation of oligosynaptic (phasic) pathways with the result of a quick, transient response. In hindlimbs, a contribution of oligosynaptic pathways to activation of the recording muscles is unlikely. Hence, predominantly extrapyramidal polysynaptic (tonic) pathways are activated when stimulating the hindlimbs. These, on the other hand, more than forelimbs are influenced by spinal pattern generators via propriospinal pathways, inhibitory interneurons and axosynaptic gating mechanisms. This offers the possibility of slower motor responses and greater variability of muscle discharges [83]. These LT variations have to be considered when performing TMS in the hindlimbs for diagnostic reasons.

In contrast to the LT, MUP amplitudes are broadly considered unreliable as diagnostic parameters in horses as they are not consistent. In the study of Nollet et al. in 2003, a very large SD of intra- and interindividual amplitudes could be observed even in the same muscle. Two possible reasons were mentioned: A functional asymmetry in the motor system of the horse or the difference between pyramidal and extrapyramidal system [8]. In future, the individual LT should be assessed per single patient and recording site using the CMT algorithms proposed by IFCN guidelines [2, 92].

In this study, CMT showed insignificant intra-individual variation in between repetitive TMS, while the results were quite different

in between individual horses. It needs to be evaluated in further studies on healthy and neurologically affected horses but may be a promising method and the prediction of LT via CMT should be helpful to distinguish neurological disorders from healthy descending motor pathways in the horse. Based on the observed LT plateau at SI  $\geq$  80%, reduction of device output should be performed to have minimal sensory irritation of the equine clinical patients without compromising the diagnostic accuracy. Lower intensities in future may turn out adding important information on cortical motor efferents, while higher intensity recordings predict the state of deep motor nuclei and descending tracts. Both pulse trains should be applied for therapeutic stimulation of injured UMN tracts, as done in people, and for monitoring progress during rehabilitation [99].

<sup>a</sup> (Cepesedan®, CP-Pharma Handelsgesellschaft mbH, Burgdorf, Germany)

<sup>b</sup> (Alvegesic®, Dechra Veterinary Products Deutschland GmbH, Aulendorf, Germany)

<sup>c</sup>Software can be downloaded, free of charge at: [www.clinicalresearcher.org/software.htm](http://www.clinicalresearcher.org/software.htm)

## References

1. Aleman, M., *Miscellaneous neurologic or neuromuscular disorders in horses*. Vet Clin North Am Equine Pract, 2011. **27**(3): p. 481-506.
2. Cuddon, P.A., *Electrophysiology in neuromuscular disease*. Vet Clin North Am Small Anim Pract, 2002. **32**(1): p. 31-62.
3. Kobayashi, M. and A. Pascual-Leone, *Transcranial magnetic stimulation in neurology*. Lancet Neurol, 2003. **2**(3): p. 145-56.
4. Lefaucheur, J.P., et al., *Evidence-based guidelines on the therapeutic use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS): An update (2014-2018)*. Clin Neurophysiol, 2020. **131**(2): p. 474-528.
5. Nollet, H., et al., *The use of magnetic motor evoked potentials in horses with cervical spinal cord disease*. Equine Vet J, 2002. **34**(2): p. 156-63.
6. Nollet, H., et al., *Use of magnetic motor-evoked potentials in horses with bilateral hind limb ataxia*. Am J Vet Res, 2003. **64**(11): p. 1382-6.
7. Nollet, H., et al., *Role of transcranial magnetic stimulation in differentiating motor nervous tract disorders from other causes of recumbency in four horses and one donkey*. Vet Rec, 2005. **157**(21): p. 656-8.
8. Journee, S.L., et al., *State-of-the-Art Diagnostic Methods to Diagnose Equine Spinal Disorders, With Special Reference to Transcranial Magnetic Stimulation and Transcranial Electrical Stimulation*. J Equine Vet Sci, 2019. **81**: p. 102790.
9. Rijckaert, J., et al., *Determination of magnetic motor evoked potential latency time cutoff values for detection of spinal cord dysfunction in horses*. J Vet Intern Med, 2019. **33**(5): p. 2312-

- 2318.
10. Barker, A.T., *An introduction to the basic principles of magnetic nerve stimulation*. J Clin Neurophysiol, 1991. **8**(1): p. 26-37.
  11. DeLahunta, A.G., E. , *Upper Motor Neuron*, in *Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology*. 2009. p. 192-220.
  12. Furr, M.R., S. , *Overview of Neuroanatomy*, in *Equine Neurology*, J. Masty, Editor. 2008. p. 3-32.
  13. DeLahunta, A.G., E., *Lower Motor Neuron: Spinal Nerve, General Somatic Efferent System*, in *Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology*. 2009. p. 77-133.
  14. Wijnberg, I.D., et al., *Quantitative motor unit action potential analysis of skeletal muscles in the Warmblood horse*. Equine Vet J, 2002. **34**(6): p. 556-61.
  15. Furr, M.R., S., *Electrodiagnostic Evaluation of the Nervous System*, in *Equine Neurology*, V.A. Lacombe, F., Editor. 2008. p. 127-148.
  16. Nollet, H., et al., *Standardization of transcranial magnetic stimulation in the horse*. Vet J, 2003. **166**(3): p. 244-50.
  17. Nollet, H., et al., *Influence of detomidine and buprenorphine on motor-evoked potentials in horses*. Vet Rec, 2003. **152**(17): p. 534-7.
  18. Nollet, H., et al., *Transcranial magnetic stimulation: review of the technique, basic principles and applications*. Vet J, 2003. **166**(1): p. 28-42.
  19. Rijckaert, J., et al., *Magnetic Motor Evoked Potential Recording in Horses Using Intramuscular Needle Electrodes and Surface Electrodes*. J Equine Vet Sci, 2018. **68**: p. 101-107.
  20. Awiszus, F.B., J. J.; Available from: <http://www.clinicalresearcher.org/software.htm>
  21. Awiszus, F. and H. Feistner, *Kortikale Reizschwelle*, in *Das TMS-Buch. Handbuch der transkraniellen Magnetstimulation*, H.R. Siebner and U. Ziemann, Editors. 2007. p. 149-158.
  22. Siebner, H.R. and U. Ziemann, *Bestimmung der zentralmotorischen Leitungszeit*, in *Das TMS-Buch*. 2007. p. 71-78.
  23. Rossini, P.M., et al., *Non-invasive electrical and magnetic*

- stimulation of the brain, spinal cord, roots and peripheral nerves: Basic principles and procedures for routine clinical and research application. An updated report from an I.F.C.N. Committee. Clin Neurophysiol, 2015. 126(6): p. 1071-1107.*
24. Groppa, S., et al., *A practical guide to diagnostic transcranial magnetic stimulation: report of an IFCN committee. Clin Neurophysiol, 2012. 123(5): p. 858-82.*
  25. Rossini, P.M., et al., *Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord and roots: basic principles and procedures for routine clinical application. Report of an IFCN committee. Electroencephalogr Clin Neurophysiol, 1994. 91(2): p. 79-92.*
  26. Awiszus, F., *TMS and threshold hunting. Suppl Clin Neurophysiol, 2003. 56: p. 13-23.*
  27. Ziemann, U., et al., *Dissociation of the pathways mediating ipsilateral and contralateral motor-evoked potentials in human hand and arm muscles. J Physiol, 1999. 518 ( Pt 3)(Pt 3): p. 895-906.*
  28. Jang, S.H. and S.J. Lee, *Corticoreticular Tract in the Human Brain: A Mini Review. Front Neurol, 2019. 10: p. 1188.*
  29. Breazile, J.E., D.P. Jennings, and B.C. Swafford, *Conduction velocities in the corticospinal tract of the horse. Exp Neurol, 1967. 17(3): p. 357-63.*
  30. Saliani, A., et al., *Axon and Myelin Morphology in Animal and Human Spinal Cord. Front Neuroanat, 2017. 11: p. 129.*
  31. Herbsman, T., et al., *Motor threshold in transcranial magnetic stimulation: the impact of white matter fiber orientation and skull-to-cortex distance. Hum Brain Mapp, 2009. 30(7): p. 2044-55.*
  32. Davis, N.J., *Variance in cortical depth across the brain surface: Implications for transcranial stimulation of the brain. Eur J Neurosci, 2020.*
  33. Journée, S.L., et al., *Comparison of Muscle MEPs From Transcranial Magnetic and Electrical Stimulation and Appearance of Reflexes in Horses. Front Neurosci, 2020. 14: p. 570372.*
  34. Urban, P.P., *Motorisch evozierte Potenziale der kranialen*

*Muskeln*, in *Das TMS-Buch*, H.R.Z. Siebner, U., Editor. 2007. p. 99-108.

35. Lefaucheur, J.P., et al., *Evidence-based guidelines on the therapeutic use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS)*. Clin Neurophysiol, 2014. **125**(11): p. 2150-2206.

## TABLES

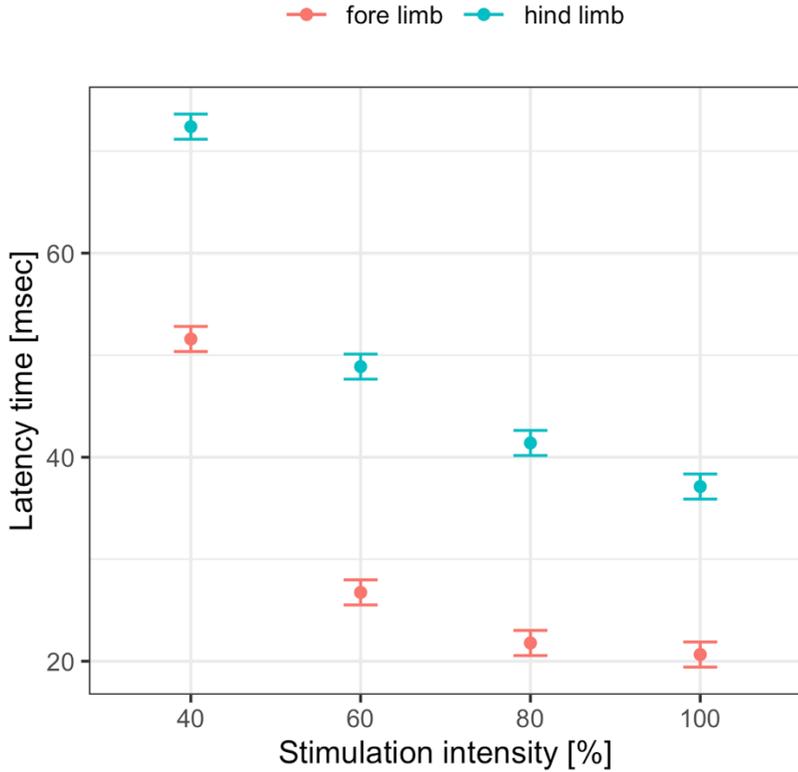
**Table 1.** Latency times in msec of (left) fore- or hindlimb of 30 horses with increasing stimulation intensity

% of device output signal intensity in %	N	Mean	SD	Min	Max	Percentiles		
						25 <sup>th</sup>	50 <sup>th</sup> Median	75 <sup>th</sup>
<b>(left) forelimb 40%</b>	30	51.5	5.95	36.80	66.20	48.30	52.20	54.60
<b>(left) forelimb 60%</b>	30	27.5	5.81	21.60	43.80	23.20	25.50	29.90
<b>(left) forelimb 80%</b>	30	21.8	1.03	20.00	24.60	20.95	21.60	22.45
<b>(left) forelimb 100%</b>	30	20.7	1.16	18.00	23.00	19.60	20.60	21.60
<b>(left) hindlimb 40%</b>	30	75.4	11.16	57.60	96.60	67.55	72.70	83.95
<b>(left) hindlimb 60%</b>	30	49.6	6.39	39.60	65.60	45.05	49.80	52.20
<b>(left) hindlimb 80%</b>	30	41.2	6.10	27.60	54.40	38.05	41.50	44.00
<b>(left) hindlimb 100%</b>	30	36.6	5.31	25.40	46.60	34.10	37.80	40.40

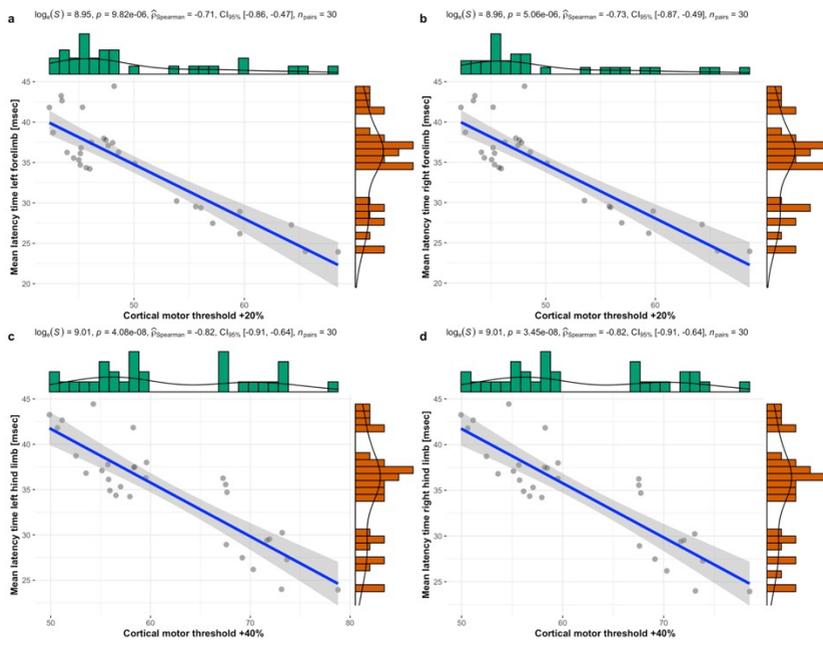
**Table 2.** Distribution of Cortical Motor Threshold (CMT) and Mean Latency

	N	Mean	Standard deviation	Min	Max	Percentiles		
						25 <sup>th</sup>	50 <sup>th</sup> Median	75 <sup>th</sup>
Cortical motor threshold as stim intensity in %	30	34.7	5.64	23.94	44.44	29.51	35.84	37.83
Mean latency time at CMT+20% (left) forelimb in msec	30	50.0	7.35	42.33	68.50	45.10	47.37	55.72
Mean latency at CMT+40% (left) hindlimb in msec	30	61.7	8.31	49.87	78.80	55.58	58.37	69.48

## FIGURES



**Figure 1:** Latency time predicted by a robust linear mixed effects model. Results showed a non-linear relationship for shortening of LT with increasing SI, both for fore ( $p < 0.05$ ) and hindlimbs.



**Figure 2:** Scatter Plots to Display the Correlation Between Mean Latency Time and Cortical Motor Threshold for left forelimb (a), right forelimb (b), left hindlimb (c) and right hindlimb (d)

## **4 Erweiterte Diskussion**

### **4.1 TMS – die funktionelle Lokalisationsdiagnostik beim ataktischen Pferd**

Die Diagnose und antemortem Differenzierung von Ataxieursachen des Pferdes erweist sich speziell bei den vermeintlich spinalen Formen und Erkrankungen der großen motorischen und propriozeptiven Bahnsysteme als große Herausforderung [100]. Eine genaue Lokalisation der Ursache und eine Eingrenzung der Form, ob fokal und/oder systemisch, ob primär neurologisch oder orthopädisch oder beides, bedarf technologisch aufwendiger, teurer und zum Teil invasiver Untersuchungsmethoden, da die klinische neurologische Untersuchung allein in der Regel unzureichend ist.

Auf Grund der großen Ähnlichkeiten der klinischen Ausfälle müssen sowohl die knöchernen als auch Weichteilstrukturen inklusive der des zentralen und am besten auch des peripheren Nervensystems untersucht werden [101]. So kann erst bei klaren Hinweisen auf eine Rückenmarkskompression sowie deren Relevanz für das Erscheinungsbild das Risiko einer dekompressiven und stabilisierenden Wirbelsäulenoperation, in Hinsicht auf die Begleitmorbidität, das Narkoserisiko und die Prognose (nicht zuletzt in Hinsicht der Nutzung des Tieres) in Kauf genommen und das finanzielle Risiko verantwortet werden.

Eine klassische Strategie ist die Darstellung der Gewebe, inklusive Nervengewebe und des muskuloskelettalen Systems. Ideal wäre hier natürlich die Koregistrierung von Computertomographie für knöcherne Strukturen der Wirbelsäule und Magnetresonanztomographie für Bänder, Muskeln, Rückenmark und Nervenwurzeln. Die Auswirkungen von Trauma und Kompression des Rückenmarks lassen sich in kleineren Spezies in der Tat sehr gut im MRT darstellen. Funikuläre Defekte sind beispielsweise in der Traktographie besonders gut hervorzuheben [102]. Leider lassen sich die tiefzervikalen und thorakolumbalen Rückenmarksregionen im Pferd auf Grund der Abmessungen nicht abbilden [103]. Daher beschränkt sich die Bildgebungsdiagnostik der ataktischen Pferde auf die obere bis

mittlere Halsregion. Zervikale Stenosen bedürfen unter Umständen schwieriger Stressaufnahmen in Vollnarkose. Sie führen allerdings nicht immer zur definitiven Diagnose und erlauben keine direkte Aussage über die Rückenmarksfunktion und möglicherweise klinisch kompensierte Schädigungen.

Da die Schnittbildgebung in Narkose durchgeführt werden muss, besteht hier ein zusätzliches Risiko für den ataktischen Patienten mit der Gefahr einer Verschlechterung und einem erhöhten Unfallrisiko in der Aufwachphase. Im Gegensatz zur klassischen elektrischen Hirnstimulation kann mittels TMS am lediglich sedierten stehenden Pferd eine nicht-invasive-Überprüfung der Nervenleitung und Neurotransmission zwischen oberem und unterem motorischen Neuron durchgeführt werden. Hierdurch lässt sich der Schädigungsbereich anatomisch fokussieren und die Ataxie damit differenzialdiagnostisch eingrenzen.

Die TMS hat sich daher in der Diagnostik von Gangbildveränderungen des Pferdes bereits bewährt. Allerdings wurde sie meist eingesetzt, um eine generelle Unterscheidung von Schwäche und komplexen neurologischen Mustern zu unterscheiden. Sie offeriert den objektiven Einblick in die Reizweiterleitung entlang der absteigenden motorischen Bahnen des Rückenmarks, wodurch eine Läsion entlang des zervikalen oder thorakal-thorakolumbalen Rückenmarks nachgewiesen werden kann [6]. Da die meisten Formen der spinalen Ataxie mit Einbezug sowohl motorischer als auch propriozeptiver Bahnen einhergehen, können motorische Ableitungen als Surrogat propriozeptiver Defizite dienen und der Schaden bezüglich der Ausbreitung entlang des Rückenmarks eingengt werden. Eine weitere Ausarbeitung der TMS-Protokolle beim stehenden Pferdepatienten sollte diese Form der Diagnostik weiter optimieren und damit die Risikoabschätzung und Patientenversorgung verbessern können, sowie die Überwachung über den Fortschritt in der Phase der Rekonvaleszenz ermöglichen.

## **4.2 TMS mit Standardequipment - eine robuste Untersuchungstechnik im Feld**

Aufbauend auf der Pionierarbeit von Nollet [8] wurde in dieser Studie - zur besseren anatomischen Adaptation an die Stirnregion des Pferdeschädels - eine gekrümmte Rundspule verwendet. Ihre Auflösung mit Stimulationsfokus ist ähnlich präzise zu führen, wie die der publizierten flachen Rundspulen, allerdings mit stärkerer Eindringtiefe, was für den großen Equidenschädel vorteilhaft sein könnte. Die Krümmung spiegelt darüber hinaus die Konvexität der zu stimulierenden Großhirnregion besser wider.

Hiermit ließ sich der prädefinierte Stimulationspunkt in der Mittellinie leicht auffinden. Jede Abweichung von der Mittellinie konnte darüber hinaus an zeitlichen Rechts-links-Differenzen der MEPs abgelesen und korrigiert werden. Darin liegt der Vorteil der hier verwendeten bilateralen Ableitmethode im Gegensatz zur unilateralen Beinpaarablesung nach Nollet [8].

Die Potenziale wurden, wie in der Literatur, mit einem kommerziellen Standardstimulator erzeugt und konnten zuverlässig mittels voreingestellter Maximalintensität (100% der Geräteleistung) reproduziert werden. Sollten andere Intensitäten angestrebt werden (s.u.), so sind diese bedienungsfreundlich einzustellen, wie in dieser Studie geschehen.

Außerdem haben sich die in der Humanmedizin etablierten Oberflächenelektroden als ausgezeichnete Ableitelektroden bewährt. Neben der Rasur muss beim Pferd zur Vermeidung einer Dislokation, wegen seiner variierenden Kooperation oder Unruhe, der ungleich stärkeren Hautflexibilität bzw. -verschiebbarkeit und der irritablen Hautmuskulatur, die Elektrode mit einem besonders stark adhäsiven Klebestreifen fixiert werden.

Ferner hat sich bei wiederholten Messungen am selben Tier, bei unterschiedlichen äußeren Gegebenheiten gezeigt, dass die erhobenen Werte uneingeschränkt reproduzierbar waren. Es wurden hierbei Messungen an zwei verschiedenen klinikeigenen Örtlichkeiten durchgeführt, im Frühjahr und im Herbst, bei unterschiedlichen Temperaturen, Metern Meereshöhe und Tageszeiten (vormittags

versus nachmittags). Des Weiteren wurde die Pferde vor und nach Belastung durch 20-minütiges Longieren gemessen, um den möglichen Einfluss der aufgewärmten und vorbeanspruchten Muskulatur zu überprüfen. Die Veränderung der Bedingungen hatte keinen messbaren Einfluss auf die untersuchten Parameter. Die TMS ist somit als robuste Methode der Nervenmessung ortsunabhängig einsetzbar. Im ambulatorischen Bereich würde sich allerdings die Verwendung von leichteren mobilen Stimulatoren der neuen Generation empfehlen. Von einer Vergleichbarkeit der Werte und Ergebnisse ist in praxi auszugehen.

### **4.3 CMT und die Neurobiologie der Motorik des Pferdes**

Nach Feststellung der technologischen Reproduzierbarkeit lag der Schwerpunkt der Studie einerseits auf der Feinadaptation der Einstellungen für das Pferd, andererseits wurden die Auswirkungen von Variationen der SI auf MEP-Parameter, CMT und die Latenzzeit (LZ) der Muskelablesungen untersucht.

In der Humanmedizin stützt sich die TMS-Diagnostik (und darüber hinaus auch deren therapeutische Anwendung) häufig auf die CMT [23]. Während die LZ bereits ein weithin akzeptierter diagnostischer Parameter der TMS bei Pferden ist [5, 6, 87], wurde in dieser Studie zum ersten Mal die CMT bei gesunden Pferden auf der Grundlage der Richtlinien der International Federation of Clinical Neurophysiology (IFCN) bewertet. Auffällig in dieser Studie war, dass die CMT eine große Variation zwischen den Individuen zeigte, während die Reproduzierbarkeit intra-individuell sehr konsistente MEPs ergab. Der sogenannte Nullwert des gesunden Tieres kann folglich nicht aus einer Gruppenstatistik ermittelt werden. Der diagnostische Nutzen der CMT im Sinne einer Abweichung von der individuell vorausgesagten LZ muss jedoch in künftigen Studien am neurologischen Pferd untersucht werden. Wie beim Pferd weist auch beim Menschen die CMT große interindividuelle Unterschiede auf [104]. In der Humanmedizin deutet eine Verlängerung der LZ oder eine erhöhte CMT auf eine Verzögerung der Signalübertragung über verschiedene neuroanatomische Bahnen

hin [24].

Laut Definition ist die CMT die niedrigste Intensität, die erforderlich ist, um ein MEP mit minimaler Amplitude in einem Zielmuskel hervorzurufen [92]. Ist eine stärkere SI erforderlich, um die CMT auszulösen, oder ist die LZ deutlich verlängert, kann das als pathologischer Befund angesehen werden, wenn sichergestellt ist, dass die Messungen korrekt durchgeführt wurden [2]. Bereits 1994 hat die IFCN Richtlinien für die klinische Anwendung der Magnetstimulation am Menschen definiert [105]. Um die Anzahl der Stimulationen zu reduzieren, etablierten Awiszus et al. (2003) eine Methode zur Schwellenwertschätzung auf der Basis der Maximum-Likelihood-Strategie [9]. Für das Maximum-Likelihood-Schwellenwert-Suchverfahren haben Awiszus et al. in Zusammenarbeit mit J.J. Brockardt (Medical University of South Carolina, USA) ein Computerprogramm entwickelt [89].

Beim Menschen initiiert die Pyramidenbahn feinmotorische Bewegungen mit einem stärkeren Einfluss auf das kontralaterale und einem schwächeren Einfluss auf das ipsilaterale Gliedmaßenpaar. Das extrapyramidale System wirkt dagegen beim Menschen hauptsächlich auf die Haltungsmuskulatur und die proximalen Gliedmaßen. Es nutzt vor allem subkortikale Kerne der motorischen Zentren. Diese erhalten jedoch auch kortikale Inputs aus prämotorischen Arealen. Demgegenüber leiten die extrapyramidalen kortikoretikulospinalen Bahnen bei der TMS aufgrund ihrer multisynaptischen Umschaltstellen ihre Impulse viel langsamer weiter als das pyramidale System [94]. Das entspricht eher der Situation beim Ungulaten.

Die Gliedmaßen der Equiden benötigen für ihre Bewegung und Muskelaktivität Bahnen multipler Systeme von oberen motorischen Neuronen, um ihre Aufgaben zu erfüllen. Da der Bedarf der Feinmotorik in den distalen Gliedmaßen beim Pferd weniger wichtig ist, ist das pyramidale System als Teil der lateralen Bahnen in der Folge weniger gut entwickelt und scheint keine größeren motorischen Aktionen in den Gliedmaßen auszulösen [27]. Somit stellt sich die Frage, ob die MEPs beim Pferd durch direkte Stimulation tiefer Nuclei oder durch das weniger entwickelte kortikospinale System nach oberflächlicher kortikaler Stimulation hervorgerufen wurden.

## 4.4 Einfluss von Variationen der SI auf Eindringtiefe und Latenzzeit

Technologische Daten weisen darauf hin, dass die Durchdringung des Gewebes mit höherer SI zunimmt, ohne dass sich der Fokus ändert, was bedeutet, dass das Magnetfeld wahrscheinlich Aktionspotenziale in tieferen subkortikalen Bereichen induziert. Insbesondere beim Pferd hängt die Signalverteilung und -stärke von der Dicke der Knochen, der Größe der dazwischenliegenden Stirnhöhlen, dem Volumen der Rückenmarksflüssigkeit und der Neigung der Nervenbahnen ab [95, 96]. Mit niedrigen SI können die oberflächlichsten kortikalen Neurone erreicht werden und die Stimulationssignale können sogar einen Umweg über das knöcherne Schädelgewebe nehmen und über periphere afferente Schaltkreise zu den Nuclei des Hirnstamms geleitet werden [33]. Da in einer (nicht veröffentlichten) Voruntersuchungen an Kaltblutpferden Einzeltiere keinerlei Muskelpotenziale bei TMS mit 100% Geräteleistung zeigten, ist die Hypothese der peripheren Stimulation unwahrscheinlich.

Eine stärkere Stimulation soll tiefere Strukturen erreichen und damit den Weg des oberen motorischen Neurons abkürzen. Bei einer Gewebsdurchdringung von nicht mehr als 10 cm ist es jedoch unwahrscheinlich, dass die ephaptische Erregung kortikaler Efferenzen – sowohl kortikospinaler (pyramidaler) als auch kortikoretikulärer (extrapyramidaler) – die LZ auf das beobachtete Maß verkürzt.

Stattdessen ist es wahrscheinlicher, dass das Magnetfeld somatodendritische Aktionspotentiale in dienzephalen extrapyramidalen motorischen Zentren induziert und dadurch (möglicherweise multiple) synaptische Verzögerungen umgeht. Aus diagnostischer Sicht könnte spekuliert werden, dass die TMS bei niedrigerer SI Läsionen kortikaler motorischer Neuronen und ihrer Efferenzen (beider Klassen) erfassen kann, während die TMS bei höherer SI den Netto-Output subkortikaler extrapyramidaler Neuronen abrufft. Dies muss bei Patienten mit Läsionen der kortikalen oder subkortikalen weißen Substanz getestet werden.

MEPs wurden sowohl in den Vorder- als auch in den Hintergliedmaßen ab 40 % der maximalen SI konstant ausgelöst. Bei ausnahmslos allen

Tieren wurde bei höherer SI die LZ kürzer und die Schwankungsbreite der LZ war bei einer SI von 80% und 100% deutlich geringer, als bei einer Stimulation mit einer Intensität von 40% bis 60% und 60% bis 80%.

Die LZ entspricht der Zeit zwischen der Entladung der Spule und dem Einsetzen des MEP und damit der Zeit, die ein Signal benötigt, um 1) eine erregbare Stelle mit anschließender Membrandepolarisation der Neuronen in einem Kern zu erreichen, 2) sich mit einer bestimmten Geschwindigkeit, die von den Durchmessern des Axons und der Myelinscheide abhängt, entlang des Axons zu bewegen, sowie 3) Synapsen einschließlich der Endplatte des Motoneurons zu passieren. Unter 80% war die LZ nicht nur länger, sondern führte auch zu einer größeren Streuung der Aufzeichnungen von MEPs, insbesondere in den hinteren Gliedmaßen. Sobald ein Aktionspotenzial ausgelöst wurde, erreicht das Signal die Nuclei (bei einer SI von 80 oder 100%) und führt zu einem Alles-oder-Nichts-Aktionspotenzial, das sich entlang der absteigenden motorischen Bahnen im (gesunden) Rückenmark mit übereinstimmenden Geschwindigkeitswerten ausbreitet. Eine Stimulation mit niedriger Intensität kann nicht nur Neuronen erreichen, die sich näher an der Spule befinden (s.o.), sondern stimuliert auch bevorzugt eine Neuronenpopulation mit niedriger Schwelle und führt daher zu einer weniger optimalen Summierung des Impulses, was zu einer größeren Streuung des Signals zu führen scheint [2].

Eine mögliche Signalumleitung über extrakranielle Schaltkreise und peripher-afferente Bahnen könnte laut Journée et al. ebenfalls eine Ursache für die Streuung von MEPs sein. Je höher der Impuls, desto intensiver und gebündelter ist die Antwort, da das Signal das Hirngewebe kompakter durchdringt.

Die gesammelten Daten deuten darauf hin, dass eine Stimulationsintensität von 80% gegenüber 100% bei Warmblutpferden keinen signifikanten Unterschied macht, da ein Plateau von der LZ erreicht wurde.

Niedrigere Stimulationsintensitäten führen daher möglicherweise nicht bei allen Individuen zu konsistenten Ergebnissen und müssen an das einzelne Pferd angepasst werden. Im Gegensatz zu Pferden wurde beim Menschen ein Plateau der LZ bereits bei einer SI von 60-70% (Herstellereinstellung) beschrieben [98], was somit einen spezies-

spezifischen Unterschied darstellt.

Die Aufzeichnungen aus den Hintergliedmaßen wiesen durchweg größere Schwankungen auf, als die der Vordergliedmaßen. Dieser Effekt war nicht auf unterschiedliche Körpergrößen zurückzuführen. Ein Grund dafür könnten die Unterschiede der motorischen Versorgung der Hintergliedmaßen versus der Vordergliedmaßen sein. Zwei wichtige Durchgangsstrukturen könnten den Signaltransport zu den Gliedmaßen beeinflussen: die oligosynaptischen Bahnen und die polysynaptischen Bahnen. Bei den Vordergliedmaßen könnte ein pyramidaler motorischer Input noch Teil der Stimulation sein, was zu einer Aktivierung der oligosynaptischen (phasischen) Bahnen mit dem Ergebnis einer schnellen, vorübergehenden Reaktion führt. In den Hintergliedmaßen ist eine Beteiligung oligosynaptischer Bahnen unwahrscheinlich. Daher werden bei der Stimulation der Hintergliedmaßen vorwiegend extrapyramidale polysynaptische (tonische) Bahnen aktiviert. Mehr als die Vordergliedmaßen, werden die Hintergliedmaßen von spinalen Schaltkreisen über propriospinale Bahnen, inhibitorische Interneuronen und axosynaptische Reiz-Mechanismen beeinflusst. Dies bietet die Möglichkeit einer langsameren motorischen Reaktion und einer größeren Variabilität der Muskelentladungen [83]. Diese Variationen der LZ müssen bei der Durchführung von TMS an der Hintergliedmaße aus diagnostischen Gründen berücksichtigt werden.

#### **4.5 Weitere Untersuchungsstrategien**

Mit der bisherigen Messmethode ist es möglich, eine fokale Schädigung des Rückenmarks auf einen Bereich vor oder nach dem zweiten Brustwirbel einzugrenzen. Weitere Hinweise zur Situation der oberen und mittleren Halswirbelsäule können der diagnostischen Bildgebung entnommen werden. Eine noch genauere Lokalisation von fokalen Rückenmarksschädigungen könnte über ein Abarbeiten der segmentalen Spinalnerven anhand des Ablesens der Muskelgruppen entlang der Wirbelsäule vorgenommen werden. Hier würde sich beispielsweise eine zusätzliche Ableitung aus folgenden Muskeln

empfehlen: 1. M. splenius, 2. M. omotraversarius, 3. M. deltoideus, 4. M. trapezius, 5. M. latissimus dorsi (verschiedene Höhen), 6. M. tensor fasciae latae, und 7. M. gluteus medius. Ob sich die hier verwendeten Oberflächenelektroden eignen, um aus großflächigen Muskeln mit mehreren Ableitungsstellen wie der thorakalen Muskulatur präzise abzuleiten, muss noch geklärt werden. Gegebenenfalls muss hier erneut auf Nadelelektroden zurückgegriffen werden.

## 5 Zusammenfassung

Das Pferd ist als großgewachsenes Fluchttier auf die von Geburt an bestehende Fähigkeit zur sofortigen Ausführung balancierter und koordinierter Gliedmaßenbewegungen angewiesen. Ein Schaden der absteigenden Rückenmarksbahnen und eine daraus erwachsende Beeinträchtigung der Geh- und Stehfähigkeit kann nicht nur für das Pferd erhebliche gesundheitliche Folgen haben, sondern auch eine Gefahr für den Menschen (z.B. Reiter) darstellen. Leider geben die neurologischen Ausfälle alleine oft keinen Aufschluss über die konkrete Ursache der Schädigung und erlauben daher nur unzureichend eine klare Aussage zur Prognose und Therapierbarkeit. Es werden dem Kliniker weitere Untersuchungstechniken abverlangt, die insbesondere über die Lokalisation und longitudinale Ausbreitung der Schädigung Rückschlüsse auf die Art der Erkrankung liefern sollen. Den bildgebenden Verfahren sind hier aufgrund der Größe der Tiere ab der oberen Halswirbelsäule kaudalwärts Grenzen gesetzt.

Unter anderem deshalb bietet sich die TMS zur nicht-invasiven, harmlosen, funktionellen Überprüfung der oberen motorischen Bahnen bis zu den Vorder- versus Hintergliedmaßen an. Sie wird in der Humanmedizin routinemäßig eingesetzt und hat seit einiger Zeit auch Eingang in die Pferdeneurologie gefunden. Dabei werden überwiegend simplifizierte und pauschalisierte Humanprotokolle verwendet.

Beim Menschen allerdings werden die Protokolle individualisiert, um so präzise Daten wie möglich für den Einzelpatienten zu erheben. Dafür wird in vielen Untersuchungsprotokollen die kortikale motorische Reizschwelle (CMT) ermittelt, über die sich die optimale Stimulationsintensität kalkulieren lässt. Die angepassten Stimulationsintensitäten würden im gesunden Individuum konsistente MEPs erzeugen, weshalb bereits kleinere Abweichungen der MEP-Parameter eine hohe diagnostische Aussagekraft besitzen. Per definitionem entspricht die CMT der Stimulationsintensität die notwendig ist, um in 50% der Messungen ein MEP mit einer Amplitude von mindestens 50  $\mu$ V zu erhalten.

In der Humanmedizin gilt die Amplitude als die maximale periphere

motorische Antwort und ist von großer klinisch-diagnostischer Relevanz bei Störungen der kortikospinalen Weiterleitung [106]. In der Pauschalanwendung der Protokolle gelten die MEP-Amplituden beim Pferd bislang als unzuverlässige diagnostische Parameter, da sie zu inkonsistent hervorzurufen sind. In einer Studie von Nollet et al. (2003) konnten demnach beim intra- und interindividuellen Amplitudenvergleich sogar innerhalb des gleichen Muskels extrem große Variabilitäten beobachtet werden. Hierfür wurden zwei mögliche Gründe genannt: Eine funktionelle Asymmetrie im motorischen System des Pferdes oder aber die Tatsache, dass die Motorik des Pferdes im Gegensatz zum Menschen vorrangig durch das extrapyramidale System gesteuert wird [8].

In der eigens durchgeführten Studie dieser Arbeit zeigten sich nach Implementierung der CMT für das jeweilige Tier höchstens unbedeutende intraindividuelle Amplituden-Schwankung bei Wiederholungsmessungen. Die Abweichungen gegenüber anderen Individuen blieben dagegen bestehen.

Die in der Literatur beim Pferd als Auswertungsparameter bevorzugte Latenzzeit (LZ) des MEPs wurde bislang lediglich nach Stimulation mit einer Intensität von 100% der Geräteleistung ausgewertet. Um nun den Einfluss unterschiedlicher Intensitäten auf die LZ herauszufinden, wurden in dieser Studie Messungen mit schrittweise aufsteigenden Stimulationsintensitäten von 40% bis 100% durchgeführt. Dabei konnte eine Verkürzung der LZ bis zur SI 80% ermittelt werden, ab welcher ein Plateau zu verzeichnen ist. Dieser Effekt könnte auf einer intensitätsabhängigen Verschiebung des Stimulationsfokus in die tieferen Hirnzentren beruhen. Die LZ konnte außerdem mittels Regressionskurven aus den CMTs der Einzeltiere zuverlässig vorausgesagt werden.

Als Ausblick auf weiterführende Untersuchungen bezüglich des Nutzens der kortikalen Reizschwelle, sowie der Messung mit niedrigeren Stimulationsintensitäten, sollte die individuelle LZ unter Verwendung der in den IFCN-Richtlinien [2, 92] vorgeschlagenen CMT-Algorithmen bewertet und an klinischen Pferdepatienten überprüft werden. Auch der Nutzen der MEP-Amplitude im Rahmen der Stimulation mit geringerer SI sollte untersucht werden, um noch genauere Aussagen über die intakte oder nicht intakte Reizweiterleitung treffen zu können.

Die Vorhersage der LZ mittels CMT sollte hilfreich sein, um neurologische Störungen von denen von gesunden absteigenden motorischen Bahnen beim Pferd zu unterscheiden. Aufgrund des beobachteten Plateaus der LZ bei SI  $\geq$  80% könnte außerdem die Geräteleistung reduziert werden, um die sensorische Irritation (Dysästhesie, akustische Schreckreaktionen) der Patienten zu minimieren, ohne die diagnostische Genauigkeit zu beeinträchtigen. Die Anwendung niedriger Intensitäten könnte andererseits in Zukunft differenzierte Informationen über die kortikalen motorischen Efferenzen liefern, während Aufzeichnungen mit höheren Intensitäten den Zustand der tiefen motorischen Kerne und der absteigenden Bahnen vorhersagen könnten. Beide Messmethoden sollten, wie beim Menschen, für die therapeutische Stimulation verletzter Bahnen des oberen motorischen Neurons und für die Überwachung des Fortschritts während der Rehabilitation eingesetzt werden [99].

## 6 Summary

As a large-bodied flight animal, the horse depends on its innate ability to immediately execute balanced and coordinated limb movements. Damage to the descending spinal cord pathways and the resulting impairment of the ability to walk and stand can not only have significant health consequences for the horse, but also pose a danger to humans (e.g. riders). Unfortunately, neurological deficits alone often do not provide information about the specific cause of the impairment and therefore do not adequately allow a clear statement about prognosis and treatability. Further examination techniques are required of the clinician, which should provide conclusions about the nature of the disease, in particular via the localization and longitudinal spread of the damage. Imaging techniques are limited here due to the size of the animals from the upper cervical spine, caudally.

For this reason, among others, TMS lends itself to non-invasive, harmless, functional testing of the upper motor pathways up to the forelimbs versus hindlimbs. It is routinely used in human medicine and has recently found its way into equine neurology. For the most part, simplified and generalized human protocols are used.

In humans, however, protocols are individualized to collect data as precisely as possible for the individual patient. For this purpose, many examination protocols determine the cortical motor threshold (CMT), which can be used to calculate the optimal stimulation intensity. The adjusted stimulation intensities would produce consistent MEPs in the healthy individual, which is why even small deviations in MEP parameters have a high diagnostic value. By definition, the CMT corresponds to the stimulation intensity necessary to obtain a MEP with an amplitude of at least 50  $\mu\text{V}$  in 50% of the measurements.

In human medicine, amplitude is considered to be the maximal peripheral motor response and is of great clinical diagnostic relevance in disorders of corticospinal conduction [106]. Hitherto, MEP amplitudes in the horse have been considered unreliable diagnostic parameters because they are too inconsistent to elicit. Accordingly, in a study by

Nollet et al. (2003), extremely large variabilities were observed when comparing amplitudes intra- and interindividually, even within the same muscle. Two possible reasons were given for this: A functional asymmetry in the equine motor system or the fact that the equine motor system, in contrast to humans, is primarily controlled by the extrapyramidal system [8].

In the specially conducted study of this work, after implementation of the CMT for the respective animal, at most insignificant intraindividual amplitude variation was shown in repeated measurements. In contrast, the deviations compared to other individuals remained.

The latency time (LT) of the MEP, which is preferred in the literature as an evaluation parameter in horses, has so far only been evaluated after stimulation with an intensity of 100% of the device output. In order to find out the influence of different intensities on the latency time, measurements with gradually increasing stimulation intensities from 40% to 100% were performed in this study. A shortening of the LT could be determined up to a SI of 80%, from which point a plateau was observed. This effect could be due to an intensity-dependent shift of the stimulation focus to the deeper brain centers. The LT could also be reliably predicted using regression curves from the CMTs of the individual animals.

As an outlook for further investigations regarding the utility of cortical stimulus threshold, as well as measurement with lower stimulation intensities, individual LT should be evaluated using the CMT algorithms proposed in the IFCN guidelines [2, 92] and verified in clinical equine patients. The utility of MEP amplitude in the context of stimulation with lower SI should also be investigated to provide even more accurate information about intact or non-intact stimulus conduction.

Prediction of LT by CMT should be useful to distinguish neurological disorders from those of healthy descending motor pathways in the horse. Furthermore, because of the observed plateau of LT at  $SI \geq 80\%$ , device power could be reduced to minimize sensory irritation (dysesthesia, acoustic startle responses) in patients without

compromising diagnostic accuracy.

The use of lower intensities, on the other hand, could provide differentiated information about cortical motor efferents in the future, while recordings with higher intensities can predict the state of deep motor nuclei and descending pathways. Both measurement methods should be used, as in humans, for therapeutic stimulation of injured upper motor neuron pathways and for monitoring progress during rehabilitation [79, 99].

## 7 Literaturverzeichnis

1. Barker, A.T., R. Jalinous, and I.L. Freeston, *Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex*. Lancet, 1985. **1**(8437): p. 1106-7.
2. Groppa, S., et al., *A practical guide to diagnostic transcranial magnetic stimulation: report of an IFCN committee*. Clin Neurophysiol, 2012. **123**(5): p. 858-82.
3. Umana, G.E., et al., *Navigated Transcranial Magnetic Stimulation Motor Mapping Usefulness in the Surgical Management of Patients Affected by Brain Tumors in Eloquent Areas: A Systematic Review and Meta-Analysis*. Front Neurol, 2021. **12**: p. 644198.
4. Nucifora, F.C., Jr., et al., *Treatment resistant schizophrenia: Clinical, biological, and therapeutic perspectives*. Neurobiol Dis, 2019. **131**: p. 104257.
5. Nollet, H., et al., *The use of magnetic motor evoked potentials in horses with cervical spinal cord disease*. Equine Vet J, 2002. **34**(2): p. 156-63.
6. Nollet, H., et al., *Use of magnetic motor-evoked potentials in horses with bilateral hind limb ataxia*. Am J Vet Res, 2003. **64**(11): p. 1382-6.
7. Rijckaert, J., et al., *Determination of magnetic motor evoked potential latency time cutoff values for detection of spinal cord dysfunction in horses*. J Vet Intern Med, 2019. **33**(5): p. 2312-2318.
8. Nollet, H., et al., *Standardization of transcranial magnetic stimulation in the horse*. Vet J, 2003. **166**(3): p. 244-50.
9. Awiszus, F., *TMS and threshold hunting*. Suppl Clin Neurophysiol, 2003. **56**: p. 13-23.
10. Trepel, M., *Gliederung und Außenansicht des Gehirns*, in *Neuroanatomie. Struktur und Funktion*. 2004. p. 101-106.
11. Nickel, R., A. Schummer, and E. Seiferle, *Zentralnervensystem*, in *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. Nervensystem, Sinnesorgane, Endokrine Drüsen*. 2004. p. 28-53.

12. Hummel, G., [*The fine structure of cerebral motor cortex in the horse*]. Zentralbl Veterinarmed C, 1976. **5**(1): p. 35-53.
13. Schmidt, M.J., C. Knemeyer, and H. Heinsen, *Neuroanatomy of the equine brain as revealed by high-field (3Tesla) magnetic-resonance-imaging*. PLoS One, 2019. **14**(4): p. e0213814.
14. Brodmann, K., *Beschreibung der einzelnen Hirnkarten, in Vergleichende Lokalisationslehre der Großhirnrinde. In ihren Prinzipien dargestellt auf Grund des Zellenbaues*. 1909. p. 127-197.
15. Brodmann, K., *Vergleichende Lokalisationslehre der Großhirnrinde. In ihren Prinzipien dargestellt auf Grund des Zellenbaues*. 1909. p. 215-219.
16. Kushchayev, S.V., et al., *The discovery of the pyramidal neurons: Vladimir Betz and a new era of neuroscience*. Brain, 2012. **135**(Pt 1): p. 285-300.
17. Zilles, K. and G. Rehkämper, *Motorisches System, in Funktionelle Neuroanatomie. Lehrbuch und Atlas*. 1998. p. 261-301.
18. Pascual-Leone, A., et al., *Modulation of muscle responses evoked by transcranial magnetic stimulation during the acquisition of new fine motor skills*. J Neurophysiol, 1995. **74**(3): p. 1037-45.
19. Blickhan, R., *Motorische Systeme bei Vertebraten, in Neurowissenschaft - Vom Molekül zur Kognition*, J. Dudel, R. Menzel, and R.F. Schmidt, Editors. 2001. p. 191-213.
20. Stoffel, M.H., *Somatisches Nervensystem und höhere Sinne, in Funktionelle Neuroanatomie für die Tiermedizin*. 2011. p. 152-153.
21. Forssmann, W.G.H., C., *Zentrales Nervensystem, in Neuroanatomie*. 1985, Springer, Berlin, Heidelberg. p. 39-158.
22. Wagner, M.J. and L. Luo, *Neocortex-Cerebellum Circuits for Cognitive Processing*. Trends Neurosci, 2020. **43**(1): p. 42-54.
23. Bruni, E. and D.G. Montemurro, *Cerebral Cortex - Topography and Localization of Function, in Human*

- Neuroanatomy. A Text, Brain Atlas, and Laboratory Dissection Guide*. 2009. p. 65-89.
24. Szalay, F., *Development of the equine brain motor system*. Neurobiology (Bp), 2001. **9**(2): p. 107-35.
  25. Trepel, M., *Rückenmark (Medulla spinalis)*, in *Neuroanatomie. Struktur und Funktion*. 2004. p. 81-100.
  26. Nickel, R., A. Schummer, and E. Seiferle, *Zentralnervensystem*, in *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. Nervensystem, Sinnesorgane, Endokrine Drüsen*, 2004. p. 28-53.
  27. Breazile, J.E., D.P. Jennings, and B.C. Swafford, *Conduction velocities in the corticospinal tract of the horse*. Exp Neurol, 1967. **17**(3): p. 357-63.
  28. Saliani, A., et al., *Axon and Myelin Morphology in Animal and Human Spinal Cord*. Front Neuroanat, 2017. **11**: p. 129.
  29. DeLahunta, A.G., E. , *Upper Motor Neuron*, in *Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology*. 2009. p. 192-220.
  30. Hirsch, M., *Glossar der Neuroanatomie*. 2000. p. 151.
  31. Trepel, M., *Peripheres Nervensystem*, in *Neuroanatomie. Struktur und Funktion*. 2004. p. 21-80.
  32. Erlanger, J.G., H. S., *Electrical signs of nervous activity*, ed. E.R.J. Foundation. Vol. 93. 1937: Philadelphia: University of Pennsylvania Press.
  33. Rohen, J.W., *Morphologie der funktionellen Systeme des Nervensystems*, in ***Funktionelle Neuroanatomie: Lehrbuch und Atlas***, J.W. Rohen, Editor. 2001, Schattauer. p. 61-90.
  34. Krücke, W., *Physiologie der peripheren Nerven*, in *Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie*, W. Scholz, Editor. 1955, Schattauer. p. 11-14.
  35. Köhling, R.S., E.-J., *Allgemeine Neurophysiologie*, in *Physiologie: Das Lehrbuch*, E.-J.H. Speckmann, J.; Köhling, R., Editor. 2019, Elsevier GmbH. p. 17-58.
  36. Nickel, R., A. Schummer, and E. Seiferle, *Peripheres Nervensystem*, in *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. Nervensystem, Sinnesorgane, Endokrine Drüsen*. 2004. p. 228-385.

37. König, H.E.M., I.; Mülling, C.; Seeger, J.; Liebich, H.-G., *Nervensystem (Systema Nervosum)*, in *Anatomie der Haussäugetiere*, H.E.L. König, H.-G., Editor. 2012, Schattauer GmbH. p. 485-556.
38. von Engelhardt, W., *Muskulatur*, in *Physiologie der Haustiere*, 2000. p. 120-126.
39. Huxley, H. and J. Hanson, *Changes in the cross-striations of muscle during contraction and stretch and their structural interpretation*. *Nature*, 1954. **173**(4412): p. 973-6.
40. Ebert, G., *Biopolymere. Struktur und Eigenschaften*. 1993.
41. Silbernagl, S. and A. Despopoulos, *Nerv und Muskel, Arbeit*, in *Taschenatlas Physiologie*. 2012. p. 64-70.
42. Delank, H.-W. and W. Gehlen, *Untersuchung der Motorik*, in *Neurologie*. 2006. p. 28-39.
43. Fritsch, G. and E. Hitzig, *Ueber die elektrische Erregbarkeit des Grosshirns*. *Archiv Anat Physiol Wiss Med*, 1870. **37**(2): p. 300-332.
44. Gualtierotti, T. and A.S. Paterson, *Electrical stimulation of the unexposed cerebral cortex*. *J Physiol*, 1954. **125**(2): p. 278-91.
45. Merton, P.A. and H.B. Morton, *Stimulation of the cerebral cortex in the intact human subject*. *Nature*, 1980. **285**(5762): p. 227.
46. Walsh, G., H. Barlow, and H.I. Kohn, *Magnetic stimulation of the human retina*. *Fed Proc*, 1946. **5**(1 Pt 2): p. 110.
47. Polson, M.J., A.T. Barker, and I.L. Freeston, *Stimulation of nerve trunks with time-varying magnetic fields*. *Med Biol Eng Comput*, 1982. **20**(2): p. 243-4.
48. Gerthsen, C. and H.O. Kneser, *Elektrizität und Magnetismus*, in *Physik. Ein Lehrbuch zum Gebrauch neben Vorlesungen*. 1971. p. 217-222.
49. Weyh, T. and H.R. Siebner, *Hirnstimulation - Technische Grundlagen*, in *Das TMS-Buch*, H.R. Siebner and U. Ziemann, Editors. 2007. p. 18-26.
50. Siebner, H.R. and U. Ziemann, *Hirnstimulation- Physiologische Grundlagen*, in *Das TMS-Buch*. 2007. p. 28-45.

51. Buchner, H., *Multiple Sklerose (MS)*, in *Praxisbuch Evozierte Potenziale*, H. Buchner, Editor. 2014. p. 106-112.
52. Nasios, G., et al., *Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation, Cognition, and Multiple Sclerosis: An Overview*. *Behav Neurol*, 2018. **2018**: p. 8584653.
53. van den Bos, M.A.J., et al., *Pathophysiology and Diagnosis of ALS: Insights from Advances in Neurophysiological Techniques*. *Int J Mol Sci*, 2019. **20**(11).
54. Krampfl, K.D., R., *Motoneuronenerkrankungen*, in *Das TMS-Buch*, H.R.Z. Siebner, U., Editor. 2007. p. 237-246.
55. Hargreaves, S.J. and J.W. Watt, *Intravenous anaesthesia and repetitive transcranial magnetic stimulation monitoring in spinal column surgery*. *Br J Anaesth*, 2005. **94**(1): p. 70-3.
56. Garnaat, S.L., et al., *Updates on Transcranial Magnetic Stimulation Therapy for Major Depressive Disorder*. *Psychiatr Clin North Am*, 2018. **41**(3): p. 419-431.
57. Fitzgerald, P.B., *Targeting repetitive transcranial magnetic stimulation in depression: do we really know what we are stimulating and how best to do it?* *Brain Stimul*, 2021. **14**(3): p. 730-736.
58. Otani, V.H., et al., *A systematic review and meta-analysis of the use of repetitive transcranial magnetic stimulation for auditory hallucinations treatment in refractory schizophrenic patients*. *Int J Psychiatry Clin Pract*, 2015. **19**(4): p. 228-32.
59. Mayhew, I.G. and J.R. Washbourne, *Magnetic motor evoked potentials in ponies*. *J Vet Intern Med*, 1996. **10**(5): p. 326-9.
60. Rijckaert, J., et al., *Accuracy of transcranial magnetic stimulation and a Bayesian latent class model for diagnosis of spinal cord dysfunction in horses*. *J Vet Intern Med*, 2020. **34**(2): p. 964-971.
61. Nollet, H., et al., *Influence of detomidine and buprenorphine on motor-evoked potentials in horses*. *Vet Rec*, 2003. **152**(17): p. 534-7.
62. Nollet, H., et al., *Transcranial magnetic stimulation: normal values of magnetic motor evoked potentials in 84 normal horses and influence of height, weight, age and sex*. *Equine Vet J*, 2004. **36**(1): p. 51-7.

63. Rijckaert, J., et al., *Magnetic motor evoked potentials of cervical muscles in horses*. BMC Vet Res, 2018. **14**(1): p. 290.
64. Vanschandevijl, K.N., H.; Vercauteren, G.; Ducatelle, R.; Deprez, P., *Sensitivity of Transcranial Magnetic Stimulation in Relation to Histopathological Findings in Six Horses with Compressive Lesions of the Spinal Cord*. Equine Veterinary Journal, 2015.
65. Furr, M.R., S., *Neurologic Examination*, in *Equine Neurology*, M.R. Furr, S., Editor. 2008, Blackwell Publishing p. 65-76.
66. Dietz, O.M., A.; Eikmeier, H., *Krankheiten des Nervensystems*, in *Handbuch Pferdepraxis*, O.H. Dietz, B., Editor. 1999, Ferdinand Enke Verlag. p. 623-650.
67. Laugier, C.T., J.; Foucher, N.; Sevin, C., *A Necropsy Survey of Neurologic Diseases in 4,319 Horses Examined in Normandy (France) from 1986 to 2006*. Journal of Equine Veterinary Science, 2009. **29**: p. 561-568.
68. Hales, E.N., et al., *Postmortem diagnoses of spinal ataxia in 316 horses in California*. J Am Vet Med Assoc, 2021. **258**(12): p. 1386-1393.
69. Olsen, E., et al., *Rater agreement on gait assessment during neurologic examination of horses*. J Vet Intern Med, 2014. **28**(2): p. 630-8.
70. Saville, W.J.A., et al., *Interobserver Variation in the Diagnosis of Neurologic Abnormalities in the Horse*. J Vet Intern Med, 2017. **31**(6): p. 1871-1876.
71. Burns, E.N. and C.J. Finno, *Equine degenerative myeloencephalopathy: prevalence, impact, and management*. Vet Med (Auckl), 2018. **9**: p. 63-67.
72. Alitalo, I. and M. Kärkkäinen, *Osteochondrotic changes in the vertebrae of four ataxic horses suffering from cervical vertebral malformation*. Nord Vet Med, 1983. **35**(12): p. 468-74.
73. Schulze, N., et al., *Arthroscopic removal of osteochondral fragments of the cervical articular process joints in three horses*. Vet Surg, 2021.
74. DeBowes, R.M., H.W. Leipold, and M. Turner-Beatty,

- Cerebellar abiotrophy*. Vet Clin North Am Equine Pract, 1987. **3**(2): p. 345-52.
75. Mayhew, I.G., et al., *Equine degenerative myeloencephalopathy*. J Am Vet Med Assoc, 1977. **170**(2): p. 195-201.
  76. Aleman, M., *Miscellaneous neurologic or neuromuscular disorders in horses*. Vet Clin North Am Equine Pract, 2011. **27**(3): p. 481-506.
  77. Cuddon, P.A., *Electrophysiology in neuromuscular disease*. Vet Clin North Am Small Anim Pract, 2002. **32**(1): p. 31-62.
  78. Kobayashi, M. and A. Pascual-Leone, *Transcranial magnetic stimulation in neurology*. Lancet Neurol, 2003. **2**(3): p. 145-56.
  79. Lefaucheur, J.P., et al., *Evidence-based guidelines on the therapeutic use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS): An update (2014-2018)*. Clin Neurophysiol, 2020. **131**(2): p. 474-528.
  80. Nollet, H., et al., *Role of transcranial magnetic stimulation in differentiating motor nervous tract disorders from other causes of recumbency in four horses and one donkey*. Vet Rec, 2005. **157**(21): p. 656-8.
  81. Journee, S.L., et al., *State-of-the-Art Diagnostic Methods to Diagnose Equine Spinal Disorders, With Special Reference to Transcranial Magnetic Stimulation and Transcranial Electrical Stimulation*. J Equine Vet Sci, 2019. **81**: p. 102790.
  82. Barker, A.T., *An introduction to the basic principles of magnetic nerve stimulation*. J Clin Neurophysiol, 1991. **8**(1): p. 26-37.
  83. Furr, M.R., S. , *Overview of Neuroanatomy*, in *Equine Neurology*, J. Masty, Editor. 2008. p. 3-32.
  84. DeLahunta, A.G., E., *Lower Motor Neuron: Spinal Nerve, General Somatic Efferent System*, in *Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology*. 2009. p. 77-133.
  85. Wijnberg, I.D., et al., *Quantitative motor unit action potential analysis of skeletal muscles in the Warmblood horse*. Equine Vet J, 2002. **34**(6): p. 556-61.
  86. Furr, M.R., S., *Electrodiagnostic Evaluation of the Nervous*

- System*, in *Equine Neurology*, V.A. Lacombe, F., Editor. 2008. p. 127-148.
87. Nollet, H., et al., *Transcranial magnetic stimulation: review of the technique, basic principles and applications*. Vet J, 2003. **166**(1): p. 28-42.
88. Rijckaert, J., et al., *Magnetic Motor Evoked Potential Recording in Horses Using Intramuscular Needle Electrodes and Surface Electrodes*. J Equine Vet Sci, 2018. **68**: p. 101-107.
89. Awiszus, F.B., J. J.; Available from: <http://www.clinicalresearcher.org/software.htm>.
90. Awiszus, F. and H. Feistner, *Kortikale Reizschwelle*, in *Das TMS-Buch. Handbuch der transkraniellen Magnetstimulation*, H.R. Siebner and U. Ziemann, Editors. 2007. p. 149-158.
91. Siebner, H.R. and U. Ziemann, *Bestimmung der zentralmotorischen Leitungszeit*, in *Das TMS-Buch*. 2007. p. 71-78.
92. Rossini, P.M., et al., *Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord, roots and peripheral nerves: Basic principles and procedures for routine clinical and research application. An updated report from an I.F.C.N. Committee*. Clin Neurophysiol, 2015. **126**(6): p. 1071-1107.
93. Ziemann, U., et al., *Dissociation of the pathways mediating ipsilateral and contralateral motor-evoked potentials in human hand and arm muscles*. J Physiol, 1999. **518 ( Pt 3)** (Pt 3): p. 895-906.
94. Jang, S.H. and S.J. Lee, *Corticoreticular Tract in the Human Brain: A Mini Review*. Front Neurol, 2019. **10**: p. 1188.
95. Herbsman, T., et al., *Motor threshold in transcranial magnetic stimulation: the impact of white matter fiber orientation and skull-to-cortex distance*. Hum Brain Mapp, 2009. **30**(7): p. 2044-55.
96. Davis, N.J., *Variance in cortical depth across the brain surface: Implications for transcranial stimulation of the brain*. Eur J Neurosci, 2020.
97. Journée, S.L., et al., *Comparison of Muscle MEPs From Transcranial Magnetic and Electrical Stimulation and*

- Appearance of Reflexes in Horses*. Front Neurosci, 2020. **14**: p. 570372.
98. Urban, P.P., *Motorisch evozierte Potenziale der kranialen Muskeln*, in *Das TMS-Buch*, H.R.Z. Siebner, U., Editor. 2007. p. 99-108.
99. Lefaucheur, J.P., et al., *Evidence-based guidelines on the therapeutic use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS)*. Clin Neurophysiol, 2014. **125**(11): p. 2150-2206.
100. Mitchell, C.W., et al., *The use of magnetic resonance imaging in evaluating horses with spinal ataxia*. Vet Radiol Ultrasound, 2012. **53**(6): p. 613-20.
101. Miller, M.M. and C. Collatos, *Equine degenerative myeloencephalopathy*. Vet Clin North Am Equine Pract, 1997. **13**(1): p. 43-52.
102. Boucher, S., et al., *Diffusion Tensor Imaging Tractography of White Matter Tracts in the Equine Brain*. Front Vet Sci, 2020. **7**: p. 382.
103. Scrivani, P.V., *Advanced imaging of the nervous system in the horse*. Vet Clin North Am Equine Pract, 2011. **27**(3): p. 439-53.
104. Claus, D., *Motorisch evozierte Potenziale der Bein- und Fußmuskeln*, in *Das TMS-Buch*, H.R.Z. Siebner, U., Editor. 2007, Springer Medizin Verlag. p. 90-98.
105. Rossini, P.M., et al., *Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord and roots: basic principles and procedures for routine clinical application. Report of an IFCN committee*. Electroencephalogr Clin Neurophysiol, 1994. **91**(2): p. 79-92.
106. Kaelin-Lang, A., *Motorisch evozierte Potenziale - Eine Einführung*, in *Das TMS-Buch*, H.R.Z. Siebner, U., Editor. 2007, Springer Medizin Verlag. p. 59-68.

## 8 Danksagung

Ich danke Herrn Professor Göhring für die Ermöglichung, Förderung und Unterstützung dieser Doktorarbeit.

Frau Professor Anna May möchte ich für die Unterstützung bei der praktischen Durchführung und der Auswertung der Daten danken.

Ein ganz besonderer Dank gilt Herrn Dr. Remler vom Haupt- und Landgestüt Schwaiganger der es uns ermöglicht hat, die Messungen an den Pferden des Gestüts durchzuführen und uns die Räumlichkeiten zur Verfügung gestellt hat.

Herrn Professor Matiasek danke ich für die vielen Anregungen und Hilfestellungen bezüglich dieser Doktorarbeit.

Frau Dipl.-Math. Ulrike von Hehn möchte ich ein großes Dankeschön aussprechen für die Geduld bei all meinen Fragen bezüglich der Statistik - und das zu jeder Tages- und Nachtzeit.

Zuletzt gilt der größte Dank meiner Familie. Mama, Papa, danke, dass ihr all das überhaupt ermöglicht habt. Danke für eure Unterstützung, euren Glauben an mich und eure unendliche Geduld. Simon, danke, dass du mir immer den Rücken stärkst und hinter mir stehst, egal in welcher Situation.