

ERFASSUNG DER HETEROGENITÄT  
BEI DER AMYOTROPHEN LATERALSKLEROSE  
MITTELS D50-KRANKHEITSMODELLS  
UND VOXEL-BASIERTEN HIRNANALYSEN

Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät  
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Meerim Batyrbekova  
geboren am 30.04.1993 in Bischkek, Kirgisistan

## Gutachter

1. Prof. Dr. Julian Großkreutz, Lübeck
2. Prof. Dr. Thomas E. Mayer, Jena
3. Prof. Dr. Stefanie Schreiber, Magdeburg

Tag der öffentlichen Verteidigung: 04.07.2023

## **Inhaltsverzeichnis**

<b>1</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>5</b>
<b>2</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>6</b>
<b>3</b>	<b>Einleitung</b>	<b>8</b>
3.1	Amyotrophe Lateralsklerose	8
3.1.1	Definition	8
3.1.2	Epidemiologie	8
3.1.3	Ätiologie und Pathogenese	9
3.1.4	Klinik	11
3.1.5	Diagnose	13
3.1.6	Therapie	13
3.1.7	Prognose	14
3.2	ALS als Multisystemerkrankung	15
3.3	Bildgebungsverfahren bei ALS	16
3.3.1	Stellenwert von konventioneller MRT bei ALS	17
3.3.2	Voxel basierte Morphometrie	17
3.3.3	Diffusion Tensor Imaging (DTI)	19
3.3.4	Weitere strukturelle und funktionelle Bildgebung bei ALS	20
<b>4</b>	<b>Ziele der Arbeit</b>	<b>22</b>
<b>5</b>	<b>Methodik</b>	<b>23</b>
5.1	Auswahl der Probanden	23
5.1.1	Patienten	23
5.1.2	Gesunde Kontrollen	25
5.2	Klinische Scores	25
5.2.1	El-Escorial- und Awaji-Kriterien	25
5.2.2	Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale-revised	25
5.2.3	D50-Modell	26
5.3	Datenerfassung und Vorverarbeitung	28
5.3.1	Datenvorverarbeitung für Großhirnanalyse	29
5.3.2	Datenvorverarbeitung für Kleinhirnanalysen	31
5.3.3	Homogenitätsanalyse	32
5.4	Statistische Analyse	33
5.4.1	Gruppenvergleiche	33
5.4.2	Korrelationsanalyse	34
5.4.3	Kleinhirn-Analysen	34
<b>6</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>37</b>
6.1	Gruppenvergleiche	37
6.1.1	Gruppenvergleich: ALS-Patienten mit gesunden Kontrollen	37
6.1.2	Subgruppenanalyse bezogen auf den ALS-Subtyp	41
6.1.3	Subgruppenanalyse bezogen auf Krankheitsphasen	43
6.1.4	Subgruppenanalyse bezogen auf die Krankheitsaggressivität	45

6.2	Korrelationsanalysen	47
<b>7</b>	<b>Diskussion</b>	<b>48</b>
7.1	Gruppenvergleich: ALS-Patienten mit gesunden Kontrollen	48
7.2	Subgruppenvergleiche bezogen auf den ALS-Subtyp	53
7.3	Subgruppenvergleiche bezogen auf Phasen	54
7.4	Subgruppenvergleiche bezogen auf die Krankheitsaggressivität	57
7.5	Korrelationsanalysen	60
7.6	Limitationen bei der Interpretation der Ergebnisse	62
<b>8</b>	<b>Schlussfolgerungen</b>	<b>63</b>
<b>9</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>65</b>
<b>10</b>	<b>Anhang</b>	<b>82</b>

## 1 Abkürzungsverzeichnis

ALS	Amyotrophe Lateralsklerose
ALSFRS-R	Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale revised
ANCOVA	Analysis of Covariance (Kovarianzanalyse)
C9orf72	Chromosome 9 open reading frame 72
CAT12	Computational Anatomy Toolbox for SPM
cFL	Calculated Functional Loss Rate
cFS	Calculated Functional State
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DTI	Diffusion Tensor Imaging
EMG	Elektromyographie
FA	fraktionelle Anisotropie
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie
FTD	Frontotemporale Demenz
FUS	Fused in Sarcoma Protein
FWE	Family-Wise Error
FWHM	Full Width at Half Maximum
MD	mittlere Diffusivität
MRT	Magnetresonanztomographie
MTI	Magnetization Transfer Imaging
PR	Progressionsrate
pTDP-43	phosphoryliertes TDP-43
rD50	Relative D50
RNA	Ribonukleinsäure
SOD1	Superoxiddismutase 1
SPM	Statistical Parametric Mapping
SUIT	Spatially Unbiased Atlas Template of the Cerebellum and Brainstem
TARDBP	TAR DNA-binding protein 43
TDP-43	Transactive response DNA binding protein 43 kDa
TFCE	Threshold-free Cluster Enhancement
TIV	Totales intrakranielles Volumen
VBI	Voxel-based MRI intensitometry
VBM	Voxel basierte Morphometrie

## 2 Zusammenfassung

Die Amyotrophe Lateralsklerose ist eine progrediente, multisystemische neurodegenerative Erkrankung und hat eine klinisch stark heterogene Manifestation. Diese Ausgangssituation erschwert häufig eine frühzeitige Diagnosestellung, Therapieeinleitung einschließlich der Versorgung mit Hilfsmitteln. Eine hilfreiche Ergänzung für die Verlaufskontrolle und Prognose der Erkrankung könnten MRT-basierte Analysen sein. Deren Ergebnisse sind bisher sehr inhomogen, insbesondere in Bezug auf die Korrelation mit den klinischen Daten. Daher kommt dem neu entwickelten D50-Krankheitsmodell eine besondere Relevanz für die Darstellung des interindividuellen Krankheitsverlaufs der einzelnen Patienten zu. Mit Hilfe dieses Modells gelingt es, neue klinische Parameter zur Quantifizierung der Krankheitsakkumulation und -aggressivität abzuleiten. Zudem ermöglicht das D50-Modell Längsschnittdaten aus einer Querschnittskohorte zu generieren und den Vergleich sehr heterogener Krankheits- und Progressionssubtypen.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die ALS bedingten strukturellen Veränderungen im Groß- und Kleinhirn mittels Voxel-basierter Morphometrie (VBM) zu erfassen und diese in Zusammenhang mit den klinischen Parametern der ALS Erkrankung zu bringen. Zu diesem Zweck wurde die Heterogenität innerhalb der ALS-Patientenkohorte in Hinblick auf die Region der Erstsymptomatik, Krankheitsphasen sowie Krankheitsaggressivität, quantifiziert mit Hilfe des D50-Modells, untersucht. In der vorliegenden Studie wurden T1-gewichtete MRT Daten von 85 Patienten und 62 gesunden Kontrollpersonen mittels SPM12 analysiert. Die statistischen Analysen erfolgten anhand von ANCOVA-Tests oder Regressionsanalysen unter Anwendung einer „threshold-free cluster enhancement“ (TFCE) Methode.

Die ALS-Patienten wiesen eine ausgeprägte Dichteabnahme sowohl in motorischen als auch in extramotorischen Arealen auf. Die bulbäre ALS war im Vergleich zur spinalen Form durch stärkere strukturelle Defizite in frontotemporalen Arealen charakterisiert, was im Einklang mit vorherigen Ergebnissen steht.

Das D50-Modell ermöglichte erstmals verlässlich progrediente Veränderungen im zeitlichen Verlauf der ALS-Erkrankung in einer Querschnittsstudie nachzuweisen. So wiesen die Patienten in der späteren Phase II im Vergleich zu Patienten aus der früheren Phase I eine progrediente Dichteabnahme des Frontal-, Temporal- und Okzipitalkortex sowie der supratentoriellen Fasertrakte auf. Im Kleinhirnkortex konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Phasen nachgewiesen werden. Es ist

anzunehmen, dass die Kleinhirnveränderungen bereits in der frühen Krankheitsphase stattfinden und im Verlauf stabil bleiben. Ebenso konnte erstmals gezeigt werden, dass eine höhere Krankheitsaggressivität (definiert durch einen niedrigen D50 Wert) durch eine signifikant stärkere Dichteabnahme der weißen Substanz charakterisiert ist. Dieses Ergebnis wurde untermauert durch eine signifikante Korrelation zwischen strukturellen Veränderungen in Assoziationsfasern und der kalkulierten Verlustrate (cFL) klinischer Funktionen zum Zeitpunkt des MRTs. Eine frühzeitige Erkennung von Patienten mit einer hoch aggressiven ALS-Form könnte den Behandlern helfen, rechtzeitig eine Therapie und supportive Maßnahmen einzuleiten.

In der Kleinhirnanalyse war die höhere Krankheitsaggressivität durch eine ausgeprägte Reduktion der kortikalen Dichte charakterisiert. Dies sind ebenfalls neue Erkenntnisse, die vermuten lassen, dass eine hohe Krankheitsaggressivität mit früherem Verlust von zerebellären Kompensationsmechanismen einhergeht.

Unsere Ergebnisse legen nahe, dass die VBM zur Entwicklung von Prognose- und Verlaufsbiomarkern der ALS geeignet ist. Das D50-Modell stellt dabei eine gute Ergänzung für den klinischen Alltag dar und ermöglicht eine bessere Charakterisierung des klinischen Verlaufs für MRT- oder auch andere Biomarker-Studien. Jedoch sind weitere multimodale und multizentrische Studien notwendig, um die Reproduzierbarkeit dieser MRT-Analyse zu verifizieren.

### 3 Einleitung

#### 3.1 Amyotrophe Lateralsklerose

##### 3.1.1 Definition

Die Amyotrophe Lateralsklerose (ALS) ist eine progressive, multisystemische, neurodegenerative Erkrankung, die durch eine zunehmende Schädigung des 1. und 2. Motoneurons charakterisiert ist. Das klinische Bild ist hoch variabel, insbesondere bezüglich Abfolge und Geschwindigkeit der fortschreitenden motorischen Funktionsverluste in bulbären, thorakalen und Extremitätenmuskeln.

Erstmals wurde die Erkrankung von Jean-Martin Charcot 1869 beschrieben (Charcot und Joffroy 1869). Er hatte beobachtet, dass die Läsionen im Seitenstrang des Rückenmarks und in den Vorderhörnern zu unterschiedlichen Symptomen führen. Die Folgen der Gliose des Seitenstrangs (1. Motoneuron) sind gesteigerte Reflexe, positive Pyramidenbahnzeichen, progressive spastische Lähmungen mit konsekutiven Kontrakturen. Die Schädigung der Vorderhornzellen (2. Motoneuron) ist mit einer schaffenen Lähmung/Parese, fokalen Atrophien und Faszikulationen assoziiert. Es existiert bislang keine kausale Therapie und das einzig weltweit zugelassene krankheitsmodifizierende Medikament ist Riluzol, das das Überleben nur um wenige Monate verlängert (Bensimon et al. 1994, Miller et al. 2007). Die Patienten versterben daher in der Regel binnen weniger Jahre, vornehmlich an den Folgen der respiratorischen Insuffizienz (Simon et al. 2014, Westeneng et al. 2018).

##### 3.1.2 Epidemiologie

Amyotrophe Lateralsklerose ist eine Erkrankung, die weltweit verbreitet ist und typischerweise im Erwachsenenalter auftritt (Worms 2001). Die Inzidenz liegt meist um 2 pro 100.000 Personenjahren für europäische Staaten (Logroscino et al. 2010, Kiernan et al. 2011). Männer sind häufiger von der Erkrankung betroffen als Frauen (Leighton et al. 2019, Palese et al. 2019). Die ALS ist in Deutschland als klar altersassoziierte neurodegenerative Erkrankung anzusehen. Beispielsweise ergab die Auswertung eines klinisch-epidemiologischen Registers von 699 ALS-Fällen aus Süddeutschland einen Gipfel des Lebensalters bei Symptombeginn um das 75. - 79. Lebensjahr, im Durchschnitt lag das Erkrankungsalter bei 66,6 ( $\pm 11,6$ ) Jahren (Rosenbohm et al. 2017). Wiederholend diskutiert wird außerdem, dass die Inzidenzrate in der Bevölkerungsgruppe der über 80-jährigen unterschätzt ist, unter anderem weil Neuerkrankungsfälle bei diesen älteren Patienten nicht erkannt oder



zumindest nicht in spezialisierten tertiären Versorgungseinrichtungen erfasst werden und somit statistischen Erhebungen entgehen (Aragones et al. 2016). Erwartet wird außerdem ein deutlicher Anstieg der Prävalenz durch den demografischen Wandel, prognostiziert weltweit um mindestens 70% bis 2040 (Arthur et al. 2016).

Es existieren starke epidemiologische Unterschiede für die Verbreitung der ALS-Erkrankung regional und noch mehr global betrachtet. Exemplarisch ist im asiatischen Raum die ALS mit einer höheren Prävalenz und auch einem jüngeren Erkrankungsalter vertreten (Rosenbohm et al. 2018).

### 3.1.3 Ätiologie und Pathogenese

Obwohl die Symptome der ALS schon seit langem bekannt sind, bleibt die Ätiologie der ALS noch weitgehend ungeklärt. Eine selektive Vulnerabilität von Motoneuronen scheint durch verschiedene Störungen zellulärer Prozesse bedingt zu sein. Dazu werden u.a. ein gestörter Calcium-Haushalt, Beeinträchtigung der Mitochondrien, Störung der Proteinqualitätskontrolle und Bildung toxischer Proteinablagerungen mit Prionen-ähnlicher Ausbreitung, axonale Transportstörungen, Glutamat-vermittelte Exzitotoxizität, Hypermetabolismus, oxidativer Stress, inflammatorische Prozesse sowie Funktionsstörungen der Gliazellen gezählt (Shaw 2005, Turner et al. 2013, Robberecht und Philips 2013). Zudem werden auch Störungen des RNA Metabolismus, der RNA-Stabilität und ihrer Funktion für die Entstehung der ALS verantwortlich gemacht (Robberecht und Philips 2013, Turner et al. 2013).

Mehr als 90% aller Krankheitsfälle von ALS treten sporadisch auf, in den rechtlichen 5-10% der Fälle handelt es sich um eine familiäre ALS (Camu et al. 1999, Chio et al. 2008). Es gibt mehr als 40 ALS-assoziierte Gene, die größtenteils autosomal-dominant, zum Teil auch rezessiv oder X-chromosomal dominant vererbt werden (Deng et al. 2011, Peters et al. 2015). Die meisten genetischen Störungen können in drei pathophysiologische Gruppen kategorisiert werden und betreffen RNA-Prozesse, Proteinstoffwechsel oder axonalen Transport (Robberecht und Philips 2013). Teilweise zeigen die Mutationen eine nicht vollständige Penetranz, was eine genetische Beratung erschweren kann (Renton et al. 2014). Auf die wichtigsten Mutationen wird im Folgenden eingegangen.

#### **C9orf72**

Mit etwa 40% der familiären Fälle und ca. 7% der sporadischen Fälle ist die Hexanukleotid-Wiederholungsexpansion im nicht-kodierenden Abschnitt des

Chromosome 9 open reading frame 72 (C9orf72) die häufigste genetische Ursache der ALS (Turner et al. 2013). Der genaue Pathomechanismus bleibt bisher unklar. Es wurde gezeigt, dass die Wiederholungsexpansion die Bildung von mRNA-Foci induziert (Renton et al. 2011, DeJesus-Hernandez et al. 2011). Das von C9orf72 kodierte Protein spielt bei der Regulation des endosomalen Transports eine wichtige Rolle. Es scheint zudem mit den RAB-Proteinen (RAS-related in brain) zu interagieren, die an der Autophagie und endozytischem Transport beteiligt sind (Taylor et al. 2016). Die Expression des Hexanukleotid-Wiederholungsexpansion kann zur Veränderung der RNA-Prozessierung und Genexpression, Beeinträchtigung des Proteinabbaus, ER- und Nukleoli-Stress und zu Störungen im nukleozytoplasmatischen Transport von Proteinen und mRNA führen (Todd und Petrucelli 2016).

### **SOD1**

Die Superoxiddismutase 1 (SOD1) Mutation kann bei etwa 20% der familiären und 1% der sporadischen ALS Fällen nachgewiesen werden (Turner et al. 2013). Cu/Zn-enthaltende Superoxiddismutase ist ein zytosolisches Enzym, das für die Umwandlung von Superoxid-Anionen ( $O_2^-$ ) in Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ) zuständig ist (Fridovich 1986). Der Verlust der Funktion führt zu oxidativem Stress und schließlich zum Neuronentod. Zurzeit sind über 100 SOD-1 Mutationen identifiziert, aber nur für einige gibt es einen Hinweis auf Pathogenität (Renton et al. 2014). Verschiedene Mutationen führen zu unterschiedlichen Phänotypen. So gibt es Unterschiede bei den Erstsymptomen, Krankheitsbeginn und -dauer. Während die Patienten mit A4V-Mutation eine kurze Krankheitsdauer aufweisen, zeigen die G37R-, G41D- und G93C-Formen einen milderen Verlauf (Cudkowicz et al. 1997). Auch die Patienten mit einer D90A-Mutation entwickeln die Patienten erst nach 10 Jahren eine respiratorische Insuffizienz (Andersen et al. 1996).

### **TARDBP**

Die Mutationen des Transactive response (TAR) DNA-Bindungsprotein 43 Gens (TARDBP/TDP-43) machen ca. 4% der familiären ALS Fälle aus und sind autosomal-dominant (Turner et al. 2013, Renton et al. 2014). TDP-43 ist ein RNA- und DNA-Bindungsprotein, das die Transkription, RNA-Spleißen, RNA-Transport und -Stabilität reguliert und normalerweise im Nucleus lokalisiert ist. Eine Mutation im TARDBP-Gen führt zur Bildung von toxischem TDP-43 sowie zu seinem Funktionsverlust. Dieses Protein wird oft in zytoplasmatischen Alpha- und Tau-Synuclein-negativen, ubiquitinierten Aggregaten oder Einschlüssen bei ALS oder bei der frontotemporalen

Demenz (FTD) gesehen (Morgan und Orrell 2016). Es gibt zunehmend Hinweise darauf, dass sich solche Aggregate durch einen Prionen-ähnlichen Mechanismus entlang der Axone ausbreiten können (Braak et al. 2013, Brettschneider et al. 2013).

## **FUS**

Fused in Sarcoma (FUS) Mutation ist für ca. 4% der familiären Fälle verantwortlich (Turner et al. 2013, Renton et al. 2014). Das FUS-Protein befindet sich in der Regel im Nukleus. Gemeinsam mit TDP-43, einem DNA/RNA-Bindungsprotein, reguliert es die RNA-Prozessierung. Die beiden Proteine weisen nicht nur eine gemeinsame Funktion, sondern auch eine ähnliche Pathogenese auf. Die meisten Mutationen im FUS Gen führen zu einer Veränderung am C-terminalen Ende des Proteins, die als RNA-Bindungsdomäne agiert (Kwiatkowski et al. 2009). Durch eine Fehlfunktion der RNA-Synthese kommt es zu einer Proteineinlagerung im Zytoplasma von Neuronen und Gliazellen (Lagier-Tourenne und Cleveland 2009).

### 3.1.4 Klinik

Klinisch ist die ALS durch Folgen der Degeneration des 1. und 2. Motoneurons charakterisiert. Ein typischer Verlauf zeichnet sich durch einen progredienten Funktionsverlust aus - ein Stillstand oder eine Symptombesserung machen die Diagnose unwahrscheinlich (Traynor et al. 2000).

Der Untergang des 1. Motoneurons führt zum Verlust kortikaler Steuerungsfunktionen und somit zu gesteigerten Muskeleigenreflexen, positiven Pyramidenbahnzeichen (z.B. Babinski-Zeichen) und zu spastischen Lähmungen mit konsekutiven Kontrakturen.

Die Schädigung des 2. Motoneurons ist mit einer schlaffen Lähmung, fokalen Atrophien und Faszikulationen assoziiert. Dabei berichten Patienten u.a. von initial schmerzloser Verminderung der Kraft in den Händen, Armen, Beinen oder Füßen, häufig einseitig betont. Der bulbäre Beginn zeichnet sich durch den Befall der Hirnnervenkerne im Hirnstamm aus und führt zu Dysphonie, Dysarthrie, Dysphagie und (Pseudo-)Hypersalivation.

Bei etwa 70% der ALS Fälle handelt es sich um den spinalen Subtyp, der initial mit einer schmerzlosen Verminderung der Kraft in den Händen und Beinen mit oder ohne Stolperneigung einhergeht (Kiernan et al. 2011). Der bulbäre Subtyp kommt in 20-30% aller ALS Fälle vor und zeichnet sich durch einen primären Befall der Hirnnervenkerne im Hirnstamm aus. Die bulbäre ALS führt zur Dysarthrie, Dysphagie, Zungenatrophie

mit sichtbaren Faszikulationen und Gaumensegelparese. Weitere 5% der ALS-Fälle zeichnen sich durch initiale Beteiligung des Rumpfes aus und gehen mit einer respiratorischen Beteiligung einher (Kiernan et al. 2011).

Viele Patienten mit ALS leiden an einem deutlichen Gewichtsverlust. Dieser ist zum einen auf den gesteigerten Energieverbrauch und zum anderen auf eine erschwerte Nahrungsaufnahme aufgrund der Dysphagie zurückzuführen (Desport et al. 2001). Eine hochkalorische Ernährung und frühzeitige Anlage einer Ernährungssonde (per Gastrostomie) wirken sich positiv auf den Krankheitsverlauf aus (Bond et al. 2019, Burkhardt et al. 2017).

Ab dem Zeitpunkt einer zunehmenden Atemmuskulaturschwäche, tritt vermehrt eine anfangs nächtliche respiratorische Insuffizienz mit einer alveolären Hypoventilation auf (Prell et al. 2016). Infolge von Bettlägerigkeit und bei Infektionen kann es zu einer Dekompensation kommen, die bereits frühzeitig den Einsatz maschineller Beatmungshilfen mit nicht-invasiver Ventilation notwendig machen (Paipa et al. 2019, Pinto und Carvalho 2014).

Auch wenn die motorische Dysfunktion das klinische Bild der ALS prägt, ist die ALS eine multisystemische, neurodegenerative Erkrankung, bei der auch das vegetative System, der Tractus spinocerebellaris, die Hinterstrangbahn, Basalganglien und extramotorische Hirnareale ebenfalls betroffen sein können. Ein weiteres Symptom ist die pseudobulbäre Affektstörung, die durch Episoden von unfreiwilligem und unkontrollierbarem Lachen, Weinen oder Gähnen gekennzeichnet ist (Gallagher 1989).

Auch eine kognitive Störung im Sinne einer frontotemporalen Demenz kann im Zusammenhang mit der ALS auftreten. Aktuelle molekularbiologische und histopathologische Studien identifizierten Gemeinsamkeiten bei pathophysiologischen Mechanismen (Gao et al. 2017). Kognitive Defizite bei ALS sind unter anderem durch Persönlichkeitsveränderung, Reizbarkeit, oder schlechte Einsichtsfähigkeit gekennzeichnet (Phukan et al. 2007, Nass et al. 2012, Strong et al. 2017). Auf die Gemeinsamkeiten von ALS und FTD wird im Abschnitt 3.2 näher eingegangen.

### 3.1.5 Diagnose

Trotz der neuen technischen Entwicklungen in der Neurophysiologie und der Bildgebung bleiben die Anamnese und klinische Untersuchung entscheidend für die Diagnosestellung bei ALS.

Insbesondere für den Einschluss von Patienten in Studien wurden die (revidierten) El-Escorial-Kriterien entwickelt. Anhand der Anzahl von Regionen mit Schädigungszeichen des 1. und 2. Motoneurons erfolgt die Einordnung in Kategorien diagnostischer Sicherheit (Brooks et al. 2000). Schädigungen des zweiten Motoneurons können auch mittels Elektromyographie erfasst werden (de Carvalho et al. 2008).

Besonders in frühen Stadien ist der Ausschluss von Differentialdiagnosen wichtig, kann sich aber als schwierig erweisen. Dabei kommen hereditäre Erkrankungen, wie zum Beispiel die spinobulbäre Muskelatrophie Typ Kennedy oder hereditäre spastische Paraparese, in Betracht (Traynor et al. 2000). Auch andere neurodegenerative Erkrankungen, wie Parkinson oder die Multiple Systematrophie, können zu ähnlicher Symptomatik führen (Davenport et al. 1996, Traynor et al. 2000).

### 3.1.6 Therapie

Eine frühzeitige Betreuung durch ein erfahrenes interdisziplinäres Team hat sich in Hinsicht auf die Lebenserwartung und -qualität bei ALS als wichtig erwiesen (Klavzar et al. 2020).

Das einzig weltweit zugelassene Präparat bleibt Riluzol – ein Glutamat-Antagonist. Seine Anwendung führt zu einer leichten Progressionsverzögerung der ALS, die das durchschnittliche Überleben um wenige Monate verlängert (je nach Auswertung 3-6 Monate) (Lacomblez et al. 1996, Riviere et al. 1998).

Edaravone ist ein neues Medikament aus der Gruppe der Lactame, das seit Kurzem zur Behandlung der ALS in Japan und in den USA zugelassen ist. Seine Wirkung basiert auf der Eliminierung freier Radikale. In einer randomisierten Phase-3-Doppelblindstudie mit einer stark vorselektierter Patientenkohorte (u.a. Krankheitsdauer  $\leq 2$  Jahre und gute respiratorischen Funktion) konnte gezeigt werden, dass Edaravone im Vergleich zu Placebo den Abfall des ALSFRS-R Werts nach 24 Wochen verringern kann (Shefner et al. 2020).

Primäre Ziele der interdisziplinären, symptomatischen Therapie sind die Linderung von Beschwerden und der längst-mögliche Erhalt von Autonomie und Lebensqualität. Eine

Säule bilden dabei eine frühzeitige und hochfrequente Krankengymnastik und Ergotherapie. Neben der Förderung alltagsrelevanter muskulärer Restfunktionen wird bei diesen Therapien auch der Schmerzreduktion eine wichtige Rolle beigemessen (Meyer et al. 2018).

Bei einsetzender Dysarthrie und/oder Dysphagie ist Logopädie notwendig, sowie im Verlauf Hilfsmittel wie Alphabettafeln oder Sprachcomputer, um Kommunikationsmöglichkeiten zu erhalten (Korner et al. 2013b). Um eine katabole Situation zu vermeiden und die Aspirationsgefahr zu senken, sollte so früh wie möglich eine Anlage einer Ernährungssonde und Verordnung hochkalorischer Nahrung erfolgen (Korner et al. 2013a).

Eine wichtige Rolle bei der palliativen Therapie spielt außerdem die Pneumonieprophylaxe. Diese beinhaltet eine physikalische Therapie für Funktionserhalt der Atemmuskulatur, Reduktion der bronchialen Sekretobstruktion aber auch eine Senkung der Aspirationsgefahr, z.B. durch Behandlung der (Pseudo-)Hypersalivation. Letztere ist Folge der Schluckstörung und kann für den Patienten belastend sein. Sie kann medikamentös oder mittels einer Radiotherapie behandelt werden (Jackson et al. 2009, Cooper-Knock et al. 2011, Weikamp et al. 2016).

Um den Folgen einer chronischen Hypoventilation entgegenzuwirken, sollte eine nicht-invasive Heimbeatmung rechtzeitig eingeleitet werden (Chio et al. 2012). Die nicht-invasive Beatmung kann zur Verlängerung der Lebenszeit führen (Spittel et al. 2020).

### 3.1.7 Prognose

Die durchschnittliche Überlebensdauer bei ALS beträgt drei Jahre, limitiert vor allem durch die respiratorische Insuffizienz (Dorst et al. 2018, Kiernan et al. 2011). Dennoch kann die Krankheitsdauer vom Fall zu Fall stark variieren. Etwa 50% der Patienten sterben innerhalb von drei Jahren nach Auftreten des Erstsymptoms und bei ca. 20% der Patienten liegt die durchschnittliche Lebenserwartung zwischen fünf und zehn Jahren (Talbot 2009, Kiernan et al. 2011). Nur bei 4% der ALS-Patienten beträgt die Lebenserwartung mehr als 10 Jahre (Norris et al. 1993, Turner et al. 2003). Die Lebenszeit scheint von einer Vielzahl von demografischen, krankheitsspezifischen und therapeutischen Faktoren abhängig zu sein. So sind beispielsweise hohes Alter, ein niedriger Body-Mass-Index (BMI), bulbärer oder respiratorischer Phänotyp mit einer schlechteren Prognose assoziiert (Moura et al. 2015, Calvo et al. 2017, Schumacher et al. 2020). Das Vorliegen einer Demenz ist ebenso mit einer kürzeren Lebensdauer

verbunden (Trojsi et al. 2017). Zudem zeigen die Träger der Hexanukleotid-Wiederholungsexpansion im C9orf72-Gen einen früheren Krankheitsausbruch und einen rascheren Verlauf (Byrne et al. 2012). Der frühzeitige Beginn der Therapie und die palliative Versorgung können den Verlauf positiv beeinflussen (Klavzar et al. 2020).

### 3.2 ALS als Multisystemerkrankung

Lange Zeit wurde ALS als eine Erkrankung angesehen, die selektiv nur Motoneurone betrifft. Heutzutage wird ALS hingegen vielmehr als eine Multisystemerkrankung betrachtet, die viele Gemeinsamkeiten mit der FTD aufweist. Diese Gemeinsamkeiten beinhalten das klinische Erscheinungsbild, genetische und histopathologische Überschneidungen sowie Befunde in der Bildgebung (Ringholz et al. 2005, Gao et al. 2017).

Eine kognitive Beeinträchtigung und Verhaltensauffälligkeiten sind bei gezielter Testung bei mehr als 50% aller ALS-Patienten nachweisbar (Ringholz et al. 2005). Bis zu 5% der Patienten entwickeln im Verlauf eine klinisch manifeste FTD (Abrahams et al. 1996). Umgekehrt entwickeln 12,5% der FTD-Patienten im Verlauf eine ALS und eine milde Motoneuronbeteiligung kann bei bis zu 40% der Patienten mit einer FTD beobachtet werden (Burrell et al. 2011, Bang et al. 2015). ALS-Patienten mit einer Verhaltensauffälligkeit weisen oft eine Apathie und einen Verlust des Mitgefühls (loss of sympathy) auf. Der Sprachfluss, soziale Kognition und exekutive Funktion zählen zu den am häufigsten beeinträchtigten kognitiven Fähigkeiten (Beeldman et al. 2016). Das Vorhandensein einer exekutiven Dysfunktion ist mit einer schnelleren Krankheitsprogression bei ALS assoziiert (Elamin et al. 2011).

Ebenso weisen ALS und FTD häufig Mutationen in den gleichen genetischen Loci auf. Besonders hervorzuheben sind dabei die Hexanukleotid-Wiederholungsexpansion im C9orf72-Gen und die FUS Mutation. Auch die TDP-43 beinhaltende zytoplasmatischen Aggregate konnten bei beiden Erkrankungen beobachtet werden (Neumann et al. 2006). Einen guten Überblick über weitere genetische Überschneidungen liefert die Arbeit von Gao et al. (2017).

Die ALS-Patienten weisen eine krankheitsbedingte Atrophie nicht nur im Motokortex, sondern auch weit über diesen Bereich hinaus gehend auf. Dass diese Veränderungen insbesondere auch frontotemporale Areale betreffen, konnte in vivo mittels verschiedener Techniken nachgewiesen werden (Turner et al. 2012, Menke et al. 2017). Konsequenter Weise ist der Grad der Beteiligung der extramotorischer

Hirnareale bei den ALS-Patienten mit einer kognitiven Beeinträchtigung oder einer manifestierten FTD stärker ausgeprägt als bei den neuropsychologisch unauffälligen Patienten (Mezzapesa et al. 2007, Lillo et al. 2012).

### 3.3 Bildgebungsverfahren bei ALS

Die bildgebenden Verfahren werden, wie bereits erwähnt, bei ALS bislang in erster Linie zum Ausschluss von Differentialdiagnosen benutzt. Dennoch gibt es neue, vielversprechende Methoden, die ALS-bedingte Veränderungen in vivo erfassen können. So wurden mittels Bildgebung strukturelle und funktionelle Veränderungen im präzentralen Kortex, kortikospinalen Trakt, Corpus callosum, aber auch in frontalen, sensorischen und prämotorischen Cortices, Thalamus und Mesencephalon detektiert (Grosskreutz et al. 2008, Menke et al. 2017). Teilweise lieferten bisherige Studien aber inkonsistente und kontroverse Ergebnisse. Schwierigkeiten bei der Bewertung von bisherigen Neuroimaging-Studien liegen unter anderem in einer geringen Patientenzahl, der starken Heterogenität innerhalb der Gruppen sowie der geringen Anzahl an longitudinalen Studien.



### 3.3.1 Stellenwert von konventioneller MRT bei ALS

Bisher hatte die konventionelle MRT keinen großen Stellenwert in der Diagnostik bei ALS. Hauptsächlich sollten andere Pathologien, wie z.B. zerebrale Läsionen oder Syringomyelie ausgeschlossen werden.

Bereits seit längerem ist bekannt, dass bei einigen Patienten Hyperintensitäten in T2-Wichtung entlang des kortikospinalen Traktes, besonders im hinteren Teil der Capsula interna, Centrum semiovale und im vorderen Hirnstamm sichtbar sind (Abe et al. 1997, Wang und Melhem 2005, Wang et al. 2011). Diese Veränderungen sind aber nicht ALS-spezifisch, korrelieren nicht mit der klinischen Symptomatik und können nicht zur Diagnosesicherung genutzt werden (Agosta et al. 2010). Bei manchen Patienten wurden Hypointensitäten im Bereich des motorischen Kortex in T2-Wichtung beschrieben. Es wird angenommen, dass diese Veränderungen durch Eisenablagerung, Gliose oder Makrophageninfiltration verursacht sein könnten (Hecht et al. 2002, Oba et al. 1993, Ishikawa et al. 1993). Des Weiteren kann eine Vergrößerung des Sulcus centralis beobachtet werden, was ein Ausdruck der Atrophie des Gyrus praecentralis ist. Hingegen ist die globale Hirnatrophie eher untypisch (Kassubek et al. 2005).

### 3.3.2 Voxel basierte Morphometrie

Voxel basierte Morphometrie (VBM) ist eine automatisierte, hypothesenfreie MRT-Analysetechnik, die zur Demonstration der regionalen Unterschiede der Dichte in der grauen und weißen Substanz angewandt wird. T1-gewichtete 3D-MRT-Daten von 1.5 T MR-Scannern und 1mm<sup>3</sup> Voxeln liefern für diesen Zweck ausreichende Details und Kontraste für die Analyse. VBM stützt sich auf die a priori Kenntnisse über die Gewebzusammensetzung, um für jeden Voxel eine Wahrscheinlichkeit auszurechnen (von 0 bis 1), zum Liquor, zur grauen oder weißen Substanz zu gehören. Die absoluten Wahrscheinlichkeitswerte werden benutzt, um den Bias zu reduzieren und Daten von verschiedenen Scannern (die unterschiedlichen Intensitäten liefern können) vergleichbar zu machen. Nach einer Segmentierung des Datensatzes in graue und weiße Substanz können die Dichtenunterschiede zwischen zwei Gruppen auf Voxel-Ebene erfasst werden (Ashburner und Friston 2000).

VBM-Studien dienen der systematischen in-vivo Untersuchung der Region-spezifischen Volumenveränderungen, wodurch neue Hypothesen generiert und alte überprüft werden können. Sie ermöglichen somit die Analyse der Veränderungen in

Bezug auf klinische Merkmale der Patienten. Bisherige VBM-Studien bei ALS haben hinsichtlich Veränderungen in den zentralen Hirnregionen teils heterogene Ergebnisse ergeben (Sheng et al. 2015, Huynh et al. 2016). Während in einigen Studien die Autoren eine Atrophie in den motorischen und prämotorischen Arealen beschrieben (Agosta et al. 2007, Grosskreutz et al. 2006), konnten andere Arbeitsgruppen diese Veränderungen nicht nachweisen (Ellis et al. 2001).

Bei ALS-Patienten wurden in VBM-Studien auch regionale Veränderungen außerhalb motorischer Hirnareale ermittelt. Diese Veränderungen betrafen den frontalen, temporalen, parietalen und den limbischen Kortex (Grosskreutz et al. 2006, Agosta et al. 2007, Kassubek et al. 2005). In einer Metanalyse von Sheng et al., bei der 20 VBM-Studien inkludiert wurden, konnten als übereinstimmende Ergebnisse Atrophien der grauen Substanz in frontalen, temporalen und somatosensorischen Regionen ermittelt werden (Sheng et al. 2015). Die Krankheitsdauer, -schwere und das steigende Alter der Patienten korrelierten dabei mit der Schwere der Atrophie.

Zur Erfassung der Veränderungen der weißen Substanz hat sich DTI (siehe Abschnitt 3.3.3) als Methode der Wahl etabliert. Dennoch wurden auch in VBM-Studien Strukturverluste der weißen Substanz im Corpus callosum, Kleinhirn, in okzipitalen und frontotemporalen Regionen beschrieben (Abrahams et al. 2005, Kassubek et al. 2005). In der Metaanalyse der aktuellen VBM-Datenlage von Chen et al. (2018a) wurden die meisten Veränderungen der weißen Substanz bilateral in den supplementär-motorischen Arealen und im Gyrus praecentralis, im linken Pedunculus cerebellaris medius und in der rechten Kleinhirnhemisphäre beschrieben. Eine starke Beteiligung zeigte sich auch im kortikospinalen Trakt, U-förmigen Assoziationsfasern, in den Projektionsfasern zum Striatum, und im Tractus cortico-ponto-cerebellaris.

Die VBM ermöglicht eine standardisierte, untersucherunabhängige Daten-Präprozessierung. Zudem erlaubt die VBM eine Ganzhirnbetrachtung ohne die Einengung auf a priori festgelegte Zielregionen. Es gibt dennoch einige Einschränkungen bei der Verwendung und Interpretation der VBM. Zum einen sind dies Fehlregistrierungen und die limitierte Genauigkeit bei der Lokalisierung der regionalen Volumendifferenzen (Mechelli et al. 2005). Eine weitere Fehlerquelle birgt die Interpretation der Ergebnisse, denn die Ursache der ermittelten Substanzveränderungen ist nicht genau bestimmbar, obwohl ein Substanzverlust, also eine Atrophie, in der Regel als Ursache anzunehmen ist (Grosskreutz et al. 2008, Mechelli et al. 2005).

Im speziellen Fall von VBM-Studien bei der ALS-Erkrankung lieferten diese bisher widersprüchliche Ergebnisse und beschriebene Befunde konnten nur selten in anderen Kohorten reproduziert werden. Dies kann zum Teil an der geringen Anzahl an Probanden, an der Heterogenität innerhalb der Gruppen aber auch an den Unterschieden in den Methoden liegen. Deshalb sind neue Studien mit großen und klinisch gut charakterisierten Kohorten notwendig.

Zur Beurteilung der weißen Substanz-Veränderungen anhand von T1-gewichteten MRT-Daten wurde von Hartung et al. (2014) eine weiterführende Methode entwickelt, die Voxel-based intensitometry (VBI). Sie ist eine Erweiterung der VBM und der Hauptunterschied ist, dass bei VBI davon ausgegangen wird, dass auch in den kleinen Intensitätsunterschieden durchaus eine auswertbare Information über die pathologischen Veränderungen steckt. Bei dieser Methode wird zwar die Präprozessierung von VBM angewandt, aber anstatt der Wahrscheinlichkeitswerte werden nach einer Normalisierung die tatsächlichen Intensitätswerte verglichen.

Die VBI-Analyse hat in einer ALS-Kohorte im Vergleich zu gesunden Kontrollen eine Intensitätszunahme der weißen Substanz im kortikospinalen Trakt, Corpus callosum, in subzentralen, frontalen und okzipitalen Regionen des Gehirns gezeigt. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit den Ergebnissen der DTI-Studien und den Sektionsbefunden (Smith 1960, Ciccarelli et al. 2009, Canu et al. 2011). Des Weiteren zeigte sich eine starke Korrelation zwischen der Intensitätszunahme und dem Schweregrad der Beeinträchtigung (gemessen via ALSFRS-R). Patienten mit bulbärer ALS zeigten eine weitreichendere Intensitätsänderung, die auch frontal und parietal zu finden war.

### 3.3.3 Diffusion Tensor Imaging (DTI)

Zur Beurteilung der Veränderungen in Fasertrakten der weißen Substanz wird häufig Diffusion Tensor Imaging (DTI) verwendet. Diese Methode beruht prinzipiell auf der Messung der Gerichtetheit von Wassermolekül-Diffusionen. Im Körpergewebe wird die Diffusion durch Membranen eingeschränkt (anisotrope Diffusion), weshalb die Diffusivität in der weißen Substanz entlang der Nervenfasern höher als quer zur Faserrichtung ist (Le Bihan et al. 1986). Zur Charakterisierung der Diffusionseigenschaften in bestimmten Regionen sind skalare Parameter wie die fraktionelle Anisotropie (FA) und mittlere Diffusivität (MD) geeignet. Die fraktionelle Anisotropie steigt mit dem Grad der Ausrichtung der zellulären Strukturen, ist also

innerhalb intakter Nervenfaserbahnen besonders hoch. Dahingegen geht ein Verlust der strukturellen Integrität der weißen Substanz mit einem Anstieg der mittleren Diffusivität und einer verminderten FA einher (Basser et al. 1994).

Bisherige DTI-Untersuchungen bei ALS zeigten signifikante Veränderungen in Diffusionsparametern. Häufig wurde eine Abnahme der FA im Corpus callosum (Sach et al. 2004, Ciccarelli et al. 2009, Sage et al. 2007, Sage et al. 2009, Agosta et al. 2007) und entlang des kortikospinalen Traktes beschrieben, die mit der Krankheitsschwere korrelierte (Ellis et al. 1999, Toosy et al. 2003, Hong et al. 2004, Graham et al. 2004). Patienten mit einer FA-Abnahme in frontalen Hirnregionen wiesen eine korrelierende Beeinträchtigung assoziierter kognitiver und exekutiver Funktionen auf (Sach et al. 2004, Sage et al. 2009, Keil et al. 2012). FA-Veränderung zeigten sich auch im Kleinhirn und korrelierten mit Krankheitsdauer, ALSFRS-R, physikalischen und exekutiven Funktionen (Keil et al. 2012). Darüber hinaus wurden mittels DTI auch mikrostrukturelle Veränderungen in temporalen und parietalen Hirnregionen beschrieben (Sage et al. 2007, Sage et al. 2009). Diese Befunde bestätigen nochmals, dass ALS als eine multisystemische neurodegenerative Erkrankung anzusehen ist.

DTI ist eine vielversprechende Methode zur Beurteilung der ALS-bedingten Pathologie der weißen Substanz. Jedoch gibt es auch hierbei methodische Limitationen. Fehlerquellen entstehen bspw. im Bereich kreuzender oder sich aufteilender Nervenfaserbahnen (Le Bihan et al. 2006). Zum anderen hängen Ergebnisse auch stark von der Auswahl der Zielregionen und der statistischen Auswertung ab, die oftmals nur teilweise standardisiert sind.

### 3.3.4 Weitere strukturelle und funktionelle Bildgebung bei ALS

Das Magnetization Transfer Imaging (MTI) basiert auf dem Magnetisierungsaustausch zwischen den gebundenen Protonen, die ein Bestandteil der Makromoleküle (z.B. Myelin) sind, und den frei beweglichen Protonen, die in Wassermolekülen stecken (Wolff und Balaban 1994). Der beim Magnetisierungsaustausch erzeugte Kontrast wird mit Hilfe der Magnetisierungstransferrate (MTR) beschrieben. Die MTR unterscheidet sich in einzelnen Geweben, was in unterschiedlichen Signalintensitäten und Kontrast (Magnetisierungstransferkontrast (MTC)) resultiert und eignet sich für die Erfassung der Veränderungen in der grauen und weißen Substanz (da Rocha et al. 2004, Cosottini et al. 2011). In einer Studie konnte bei ALS-Patienten im T1-gewichteten

spin-echo MTC eine Hyperintensität im kortikospinalen Trakt nachgewiesen werden (da Rocha et al. 2004). Jedoch konnten andere MTI-Studien dieses Ergebnis nicht reproduzieren und die Datenlage bleibt bisher inkonsistent (Kato et al. 1997, Tanabe et al. 1998, Charil et al. 2009). So war MTI bislang häufig nicht in der Lage besonders in den späten Stadien der ALS die Myelinschädigung zu detektieren. Diese Pseudonormalisierung der MTR könnte auf reaktive Gliose und axonalen Verlust zurückzuführen sein (Charil et al. 2009, Rocha und Maia Junior 2012).

Die funktionelle MRT (fMRT) liefert mit hoher räumlichen Auflösung Information über neuronale Aktivität. Steigt die Aktivität in einer bestimmten Hirnregion, so erhöht sich der Sauerstoffverbrauch und der Blutfluss in dieser Region. Durch den erhöhten Blutfluss sinkt die Konzentration des Desoxyhämoglobins. In fMRT-Aufnahmen kommt es zur Signalerhöhung (d.h. zum erhöhten BOLD-Signal). Bei Durchführung einer motorischen Aufgabe, zeigte sich bei ALS-Patienten eine gesteigerte Aktivierung im kontralateralen und ipsilateralen sensomotorischen Kortex, im supplementär-motorischen Areal, in Basalganglien und im Kleinhirn (Konrad et al. 2002, Konrad et al. 2006, Schoenfeld et al. 2005, Stanton et al. 2007). Diese gesteigerte Aktivierung dieser Regionen beruht wahrscheinlich auf funktionellen Kompensationen der Motoneuronverluste (Turner et al. 2012). In Ruhe (in der „resting state“-fMRT) zeichnet sich die ALS durch eine erniedrigte funktionale Konnektivität im sensomotorischen Netzwerk und in Arealen, die für Kognition und Verhalten zuständig sind (Mohammadi et al. 2009). Gleichzeitig wurden Zeichen für erhöhte funktionale Konnektivität in somatosensorischen Arealen identifiziert (Verstraete et al. 2012, Douaud et al. 2011). Es wird angenommen, dass dadurch strukturelle Schädigungen bis zum gewissen Grad kompensiert werden können (Chio et al. 2014, Turner et al. 2012). Außerdem könnte erhöhte funktionale Konnektivität auf die Schädigung der inhibitorischen Mechanismen zurückzuführen sein (Turner und Kiernan 2012).

#### 4 Ziele der Arbeit

ALS ist eine rasch progredient verlaufende, neurodegenerative Erkrankung, die sich klinisch sehr heterogen manifestiert. Zudem weist sie eine Überlappung mit der frontotemporalen Demenz auf. Zur Beurteilung des Krankheitsverlaufs wurde bisher die revidierte Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale (ALSFRS-R) benutzt. Das neue D50-Krankheitsprogressionsmodell (siehe Abschnitt 5.2.3) berechnet einen individuellen Krankheitsverlauf pro Patienten und bietet neue klinische Parameter zur Quantifizierung der Krankheitsakkumulation und -aggressivität (Prell et al. 2020, Steinbach et al. 2020b, Steinbach et al. 2021).

Bisher wurden viele VBM-Studien zur Erfassung der ALS bedingten Veränderungen durchgeführt. Jedoch zeigten diese teils widersprüchliche Ergebnisse (Sheng et al. 2015, Shen et al. 2016). Während einige Autoren eine Atrophie in den motorischen Arealen beschrieben (Grosskreutz et al. 2006), konnten andere diese Veränderungen nicht erfassen (Ellis et al. 2001). Auch Veränderungen im Kleinhirn wurden nur vereinzelt beschrieben (Prell und Grosskreutz 2013). Der erhebliche Unterschied in den Ergebnissen kann zum Teil an der geringen Anzahl an Probanden, an der Heterogenität innerhalb der Gruppen aber auch an den Unterschieden in den Methoden liegen.

Das primäre Ziel dieser Arbeit besteht in der Erfassung morphologischer Veränderungen im Groß- und Kleinhirn mittels VBM in einer großen, klinisch gut charakterisierten Kohorte.

Die Heterogenität der ALS gilt es im Hinblick auf den Subtyp (bulbär vs. spinal), die Krankheitsaggressivität (hoch vs. niedrig) sowie bezogen auf Krankheitsphasen (Phase I vs. Phase II) mit struktureller MRT-Bildgebung in Verbindung zu bringen.

Die Korrelation zwischen den VBM-Befunden und klinischen Parametern gilt es zu untersuchen.

Krankheitsspezifische MRT-Signalveränderungen, die sich auf diesem Weg innerhalb einer heterogenen ALS-Kohorte verifizieren ließen, würden einen entscheidenden Schritt bei der Etablierung von MRT-basierten Biomarkern für die ALS darstellen.

## 5 Methodik

### 5.1 Auswahl der Probanden

#### 5.1.1 Patienten

Als Grundlage für die Studie wurden in der Hans-Berger Klinik für Neurologie Jena in Zusammenarbeit mit der Sektion Neuroradiologie des Instituts für diagnostische und interventionelle Radiologie MRT-Untersuchungen bei ALS-Patienten durchgeführt. Aus der Querschnittskohorte von ALS-Patienten wurden 85 Patienten anhand nachfolgender Kriterien für die Studie identifiziert. Die Diagnosestellung erfolgte anhand der revidierten EL-Escorial-Kriterien (Brooks et al. 2000) sowie der Awaji-Kriterien (de Carvalho et al. 2008), wonach die Patienten einer „definitiven“, „wahrscheinlichen“, „laborgestützt-wahrscheinlichen“ oder „möglichen“ ALS zuzuordnen waren. Die Teilnahme aller Probanden an der Studie erfolgte nachfolgend der schriftlichen Unterzeichnung einer Einverständniserklärung für eine Biomarkerstudie bei Motoneuronenerkrankungen, entsprechend der von der lokalen Ethikkommission zuvor genehmigten Fassung (Ethik-Kommission der Friedrich-Schiller-Universität Jena, Bearbeitungs-Nr. 3633-11/12). Die regelmäßige neurologische Evaluation von klinischer Diagnose und Verlaufsparemtern der Patienten erfolgte in der Spezialsprechstunde für neuromuskuläre und Motoneuronenerkrankungen des Thüringer Muskelzentrums. Krankheitsspezifische Daten wurden in einer eigens dafür entwickelten Datenbank eingepflegt (aktuell implementiert in Microsoft® Access® 2010 v14.0, Seattle, WA, USA). In einem Mindestumfang wurden dabei erfasst: das Datum des Erstsymptoms, die Region des Erstsymptoms (Subtyp bulbärer oder spinaler Erkrankungsbeginn), der Zeitpunkt der Erstdiagnose, sowie der Schweregrad der Erkrankung anhand der ALSFRS-R Funktionsskala bei jeder Konsultation. Hiernach ergaben sich rechnerisch und nach D50-Modellierung des individuellen Krankheitsverlaufes (siehe Abschnitt 5.2.3) die Progressionsrate (PR), die Krankheitsaggressivität (D50), die Krankheitsakkumulation mittels relativer D50 (rD50), sowie die Zuordnung zu einer Krankheitsphase (I-IV). Die klinischen Daten der ALS-Kohorte sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Alter [in Jahren, Mittelwert, $\sigma$ , Spannweite]	60,1 $\pm$ 11,5 (27,3–78,8)
Geschlecht [Männer / Frauen] (%)	49 / 36 (57,6% / 42,4%)
Krankheitsdauer [in Monaten, Mittelwert, $\sigma$ , Spannweite]	20 $\pm$ 21,6 (4–136)
Subtyp [spinale ALS / bulbäre ALS] (%)	61 / 24 (72% / 28%)
ALSFRS-R [in Punkten, Mittelwert, $\sigma$ , Spannweite]	38,1 $\pm$ 6,9 (15–47)
PR [in Punkten/Monat, Mittelwert, $\sigma$ , Spannweite]	0,69 $\pm$ 0,55 (0,06–2,71)
rD50 [Mittelwert, $\sigma$ , Spannweite]	0,27 $\pm$ 0,13 (0,05–0,7)
Phase I (rD50 < 0,25) [Anzahl] (%)	I: 34 (40%)
Phase II (0,25 $\leq$ rD50 < 0,5) [Anzahl] (%)	II: 48 (56,5%)
Phase III/IV (0,5 $\leq$ rD50) [Anzahl] (%)	III: 3 (3,5%)
D50 [in Monaten, Mittelwert, $\sigma$ , Spannweite]	36,3 $\pm$ 28,7 (8,07–175,55)
cFS [in Punkten, Mittelwert, $\sigma$ , Spannweite]	38 $\pm$ 6,4 (15,1–48,6)
cFL [in Punkten/Monat, Mittelwert, $\sigma$ , Spannweite]	0,89 $\pm$ 0,57 (0,11–2,85)

Tabelle 1: Demografische und klinische Charakteristika der Patientenkohorte (n=85)

$\sigma$  – Standardabweichung

ALS – Amyotrophe Lateralsklerose

ALSFRS-R – Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale-revised (zeitnächster zum MRT)

PR – Progressionsrate (zeitnächste zum MRT),  $PR = \frac{48 - \text{ALSFRS-R}}{\text{Krankheitsdauer}}$

D50 – Zeitspanne, in der der Patient die Hälfte der funktionellen Fähigkeiten verliert, gemessen am ALSFRS-R Score. Anhand der D50 kann die Krankheitsaggressivität beschrieben werden.

rD50 – relative D50 (zum MRT); bezeichnet die Zeitpunkt-spezifische Krankheitsakkumulation (unabhängig von der Krankheitsaggressivität)

cFS - calculated functional state (zum MRT); beschreibt die berechnete Zeitpunkt-spezifische Krankheitsschwere und verwendet die gleiche Punktwerteskala wie der ALSFRS-R

cFL - calculated functional loss rate (zum MRT); Zeitpunkt-spezifische errechnete Verlustrate



### 5.1.2 Gesunde Kontrollen

In diese Studie flossen MRT-Daten von 62 gesunden Kontrollprobanden (27 Männer, 35 Frauen) ein. Das Durchschnittsalter (Mittelwert) der Probanden lag bei 54 Jahren (Spannweite 21–77,6 Jahre, Standardabweichung  $\pm 12,8$ ). Die Kontrollpersonen wiesen keine neurologischen, neuromuskulären oder psychiatrischen Vorerkrankungen auf und waren nicht auf die Einnahme zentral wirksamer Medikamente angewiesen. Die MRT-Daten, die in visueller Inspektion Strukturauffälligkeiten aufwiesen, die möglicherweise die Analysen beeinträchtigen könnten (wie Tumoren, Blutungen, ausgeprägte Hirnatrophie) wurden zuvor von der Analyse ausgeschlossen.

## 5.2 Klinische Scores

### 5.2.1 EI-Escorial- und Awaji-Kriterien

Die EI-Escorial-Kriterien dienen zur Einteilung der Diagnosesicherheit bei der ALS. Ursprünglich wurden diese Kriterien entwickelt, um einen frühzeitigen Einschluss von Patienten in Studien zu ermöglichen, näher am Erkrankungsbeginn. Anhand des Verteilungsmusters und des Ausmaßes der Symptome wird die Wahrscheinlichkeit der Diagnose bestimmt und als „definitive“, „wahrscheinliche“, „laborgesichert-wahrscheinliche“ oder „mögliche“ ALS definiert (Brooks et al. 2000). Die EI-Escorial-Kriterien sind hingegen für die klinische Praxis eher ungeeignet und zeigen Schwächen insbesondere in heterogenen Patientenkohorten (Agosta et al. 2015). Im Jahr 2008 wurden in Erweiterung die Awaji-Kriterien formuliert, die die Bedeutung von elektrophysiologischer Untersuchung hervorheben (de Carvalho et al. 2008). So sollen Denervierungszeichen in der Elektromyographie (EMG) gleichwertig zu klinischen Veränderungen beurteilt werden. In einer nachfolgenden Studie konnte gezeigt werden, dass die Awaji-Kriterien im Vergleich zu den EI-Escorial-Kriterien eine höhere Sensitivität bei der Diagnosestellung aufweisen (Carvalho und Swash 2009). Somit ist eine frühere Diagnosestellung möglich, die entscheidend ist für ein prospektives Therapiemanagement ist, u.a. für supportive Therapien und Hilfsmittel (Costa et al. 2012).

### 5.2.2 Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale-revised (ALSFRS-R)

Zur Erfassung der motorischen Symptomlast bei ALS-Patienten hat der ALSFRS-R Summenscore eine sehr hohe internationale Verbreitung. Vorteile liegen in der Durchführbarkeit in Form eines standardisierten Patienteninterviews, das auch am Krankenbett erhoben werden kann. Der ALSFRS-R ist eine Summenskala von 48 Maximalpunkten (keine alltagsrelevanten Einschränkungen), der bei zunehmendem Krankheitsprogress abnimmt (Cedarbaum et al. 1999). Der ALSFRS-R setzt sich aus 12 Fragen zusammen. Für jede Frage können 0 bis 4 Punkte vergeben werden, wobei 4 Punkte für einen unauffälligen Befund und 0 für einen kompletten Verlust der Autonomie in diesem Bereich stehen. Die 12 Fragen können auch inhaltlich gruppiert werden, beispielsweise in Subscores zur Beurteilung der bulbären Funktionen (Fragen 1-3), der Feinmotorik und Grobmotorik (Fragen 4-9) und der Atmung (Fragen 10-12) (Franchignoni et al. 2013).

Eine weit verbreitete Variante der groben Abschätzung der Krankheitsprogressionsgeschwindigkeit ist die Berechnung der Progressionsrate (PR) (Ellis et al. 1999, Ciccarelli et al. 2006, Grosskreutz et al. 2006, Kimura et al. 2006), die dem linear approximierten monatlichen Abfall des ALSFRS-R seit Erkrankungsbeginn entspricht:  $PR = \frac{48 - \text{ALSFRS-R}}{\text{Krankheitsdauer}}$ .

Beobachtungen von ALS-Kohorten haben hingegen gezeigt, dass der individuelle longitudinale Abfall des ALSFRS-R nicht linear ist (Gordon et al. 2010), weswegen die PR nur eine Näherung der Progression für den individuellen Krankheitsverlauf darstellt. Um den Krankheitsverlauf im Gesamten genauer zu erfassen und exaktere Beschreibungen der hoch inter-individuell verschiedenen Krankheitsprogression zu ermöglichen, wurde das D50-Modell entwickelt.

### 5.2.3 D50-Modell

Grundsätzlich beruht das D50-Modell auf der Beobachtung, dass der individuelle Abfall des ALSFRS-R mit der Zeit im Krankheitsverlauf eines Patienten am ehesten einem sigmoidalen Verlauf entspricht (Abbildung 1).

Dabei zeigt sich zu Erkrankungsbeginn eine langsame Abnahme der alltagsrelevanten körperlichen Funktionen. Darauf folgt ein beschleunigter Krankheitsfortschritt, der zum Ende der Erkrankung in einen Plateau-artigen Verlauf übergeht. Der Krankheitsverlauf für den individuellen Patienten wird im D50-Modell anhand der zu verschiedenen Zeitpunkten verfügbaren ALSFRS-R-Werte individuell berechnet (Poesen et al. 2017, Prell et al. 2020, Steinbach et al. 2020b, Steinbach et al. 2021).

Der Wert D50 ist dabei als Zeitspanne definiert, in der ein Patient die Hälfte seiner körperlichen Funktionen verliert. D50 stellt somit eine Quantifizierung für die

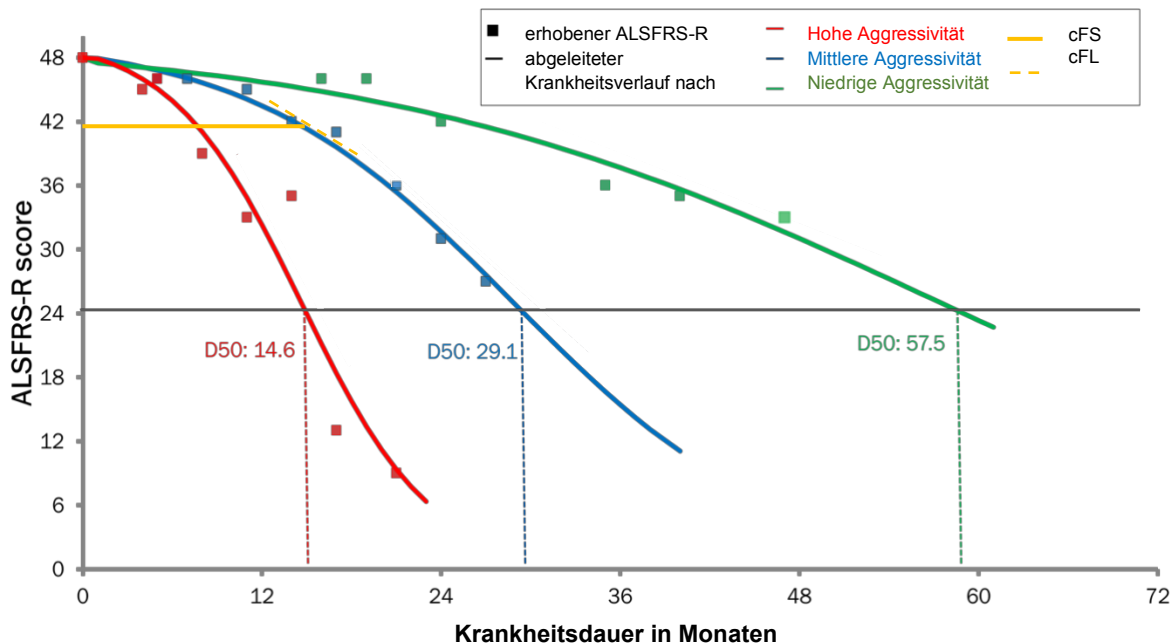


Abbildung 1 das D50-Modell

Dargestellt sind drei verschiedene Verläufe mit unterschiedlicher Krankheitsaggressivität.

D50 – Zeitspanne, in der der Patient die Hälfte der körperlichen Fähigkeiten verliert, gemessen am ALSFRS-R Score. Anhand der D50 kann die Krankheitsaggressivität beschrieben werden.

Krankheitsaggressivität dar, bezogen auf den individuellen Gesamtverlauf der Erkrankung (Abbildung 1).

Eine grobe Unterteilung erlaubt damit die Unterscheidung von Patienten in hohe ( $D50 < 30$  Monate) und niedrige Krankheitsaggressivität ( $D50 \geq 30$  Monate). Dabei entspricht der hohe D50 Wert einem mildereren Krankheitsverlauf und ein niedriger D50 Wert ist mit einer hohen Krankheitsaggressivität assoziiert.  $dx$  stellt die Steigung der D50-Kurve dar. Da  $dx$  und D50 bekannter Weise in ALS-Kohorten eine starke lineare Korrelation zeigen, kann die D50 alleine zur Quantifizierung der individuellen Krankheitsaggressivität verwendet werden (Prell et al. 2020, Steinbach et al. 2020a). Weiterhin kann man anhand der individuellen kalkulierten Kurve den cFS (calculated functional state) und die cFL (calculated functional loss rate) zu jedem beliebigen Zeitpunkt errechnen (Abbildung 1). cFS beschreibt dabei die berechnete Krankheitsschwere und entspricht Punktzahlen im ALSFRS-R Score. Bei der cFL handelt es sich um den lokal errechneten Verlust der ALSFRS-R-Punkte pro Monat. Mittels cFS und cFL ist es möglich die Krankheitsschwere und -Progression zum

Zeitpunkt der MRT-Untersuchung zu bestimmen, auch wenn zu diesem Zeitpunkt kein ALSFRS-R erhoben wurde.

Werden die individuellen D50 Werte eines Patienten auf 0,5 normiert, so erhält man die Skala für die relativen D50 (rD50). Die rD50 ist ein Referenzpunkt, wobei der Krankheitsbeginn als 0 und der Zeitpunkt, an dem der Patient 50% seiner körperlichen Funktionen verloren hat, als 0,5 definiert sind. Anhand der rD50 kann der ALS Verlauf standardisiert und zwischen den Patienten vergleichbar gemacht werden und dies entscheidender Weise unabhängig von der individuellen Krankheitsaggressivität. Es zeigt sich, dass die Patienten allesamt ähnliche Phasen der Abnahme körperlichen Fähigkeiten mit der Zeit durchlaufen (Abbildung 2). Vereinfacht kann der Kurs der Erkrankung basierend auf rD50 in mindestens 3 verschiedene Krankheits-Phasen eingeteilt werden. Zunächst besteht eine frühe semi-stabile Phase I, wenn rD50 zwischen 0 und 0,25 liegt und in der ein relativ flacher Funktionsverlust mit der Zeit zu verzeichnen ist. Darauf folgt die frühe progressive Phase II (rD50 zwischen 0,25 und 0,5) mit beschleunigter Krankheitsprogression. Es folgen eine späte progressive und späte semi-stabile Phase III/IV (rD50 größer als 0,5).

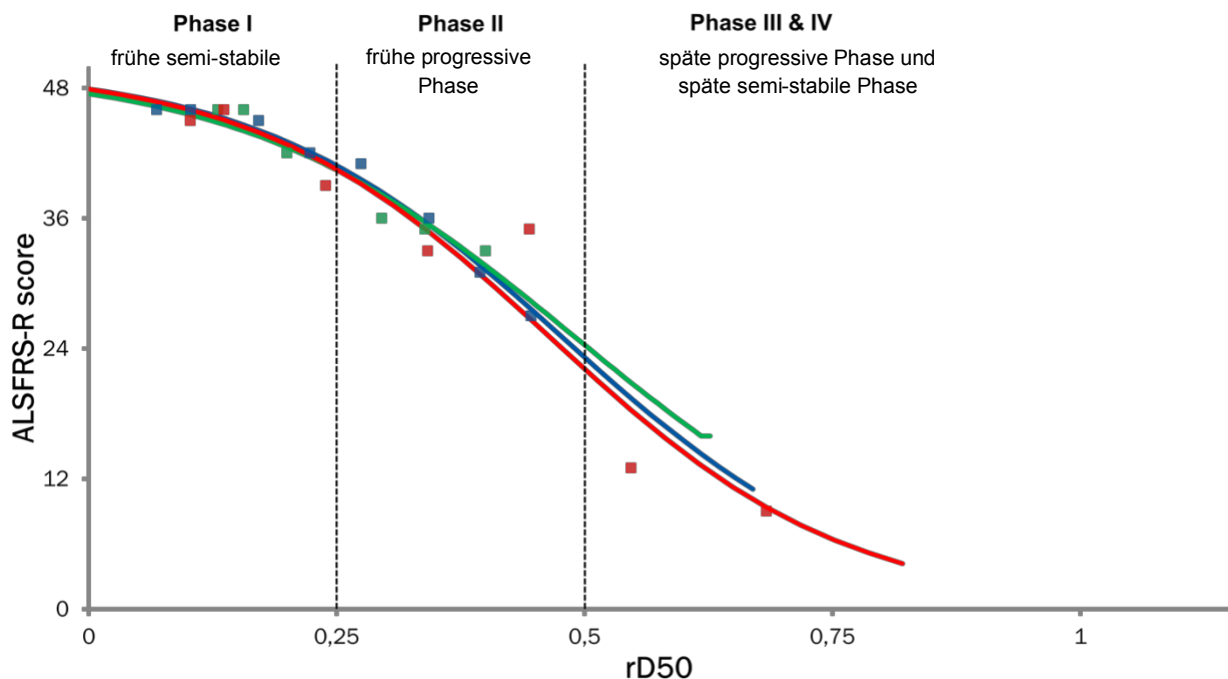


Abbildung 2: das D50-Modell. Einteilung in Phasen anhand von rD50.

### 5.3 Datenerfassung und Vorverarbeitung

Im Rahmen der Biomarker-Studie bei Motoneuronerkrankungen wurden prospektiv MRT-Daten von ALS-Patienten und gesunden Kontrollen am Institut für diagnostische und interventionelle Radiologie der Friedrich-Schiller-Universität Jena erfasst. Die MRT-Messungen wurden allesamt am selben Siemens MRT-Gerät gemessen (Feldstärke 1,5 Tesla, System Sonata, Software: NUMARIS/4, Version: syngo MR 2002B, 4-Kanal-Spule). Für diese Studie wurden insgesamt etwa 250 T1-gewichtete 3D-MRT-Datensätze ausgewertet und vorverarbeitet, die allesamt nach einem harmonisierten T1-gewichteten Protokoll erhoben wurden (FLASH-3D-Sequenz: 192 sagittale Schichten, Repetitionszeit 15ms, Echozeit 5ms, Kippwinkel 30°). Die T1-Rohdatensätze wurden allesamt vor einer weiterführenden wissenschaftlichen Prozessierung und Auswertung pseudonymisiert. Im Anschluss erfolgte durch das Programm dcm2nii eine Konvertierung der Datensätze aus dem DICOM- in das NIFTI-Format.

Anschließend wurden die Bilder händisch, anhand der vorderen und hinteren Kommissur (AC-PC Linie) bezüglich des Bildkoordinatenursprungs neu ausgerichtet und eingedreht. Dieser Schritt erfolgte bereits mittels der der Statistical Parametric Mapping (SPM12) Software. SPM bietet Analysemethoden für MRT-Datensätze wie VBM von der Vorverarbeitung der Datensätze bis hin zu statistischen Analysen mit parametrischen Karten (T-Wert-Karten) (Ashburner und Friston 2000, Ashburner 2009). MRTs mit groben anatomischen Auffälligkeiten und einer schlechten Qualität wurden aus der Auswertung ausgeschlossen (siehe Abschnitt 5.3.3), sodass am Ende insgesamt 147 MRT-Datensätze für die statistische Auswertung verwendet wurden.

### 5.3.1 Datenvorverarbeitung für Großhirnanalyse

Für die Datenvorverarbeitung wurde die CAT12-toolbox (Computational Anatomy Toolbox for SPM <http://dbm.neuro.uni-jena.de/vbm/download/>) für SPM12 (Wellcome Trust Centre for Neuroimaging, London, UK; [www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm](http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm)) unter Verwendung von MATLAB Version 7.9.0(R2009b) verwendet. Die Verarbeitungsschritte wurden automatisiert durch die CAT12-Toolbox vorgenommen, entsprechend der darin standardisiert enthaltenen Abfolge von Vorverarbeitungsschritten (CAT12 → Preprocessing → Segment Data). CAT12 ist durch zusätzliche Schritte zur Rausch-Reduzierung und einer nicht a priori Segmentierung sowie eine Dartel-Normalisierung gekennzeichnet (Ashburner 2007). Somit werden bessere Segmentierungsergebnisse erzielt. Die Datenprozessierung

kann in der CAT12-Toolbox in zwei große Schritte zusammengefasst werden, die initiale und verfeinerte Voxel-basierte Prozessierung (<http://www.neuro.uni-jena.de/cat12/CAT12-Manual.pdf>), deren Prinzipien im Folgenden kurz erläutert werden sollen.

Zunächst wird das Rauschen aus den Datensätzen mittels spatial adaptive non-local means (SANLM) denoising filter reduziert (Manjon et al. 2010). Danach erfolgen Resampling, bias-Korrekturen und affine Registrierung, um die Datenqualität zu verbessern (Gaser C. et al. 2016).

Im folgenden Schritt erfolgt die Segmentierung, die auf den SPM-typischen Standards beruht (Ashburner und Friston 2005). Dieser Schritt wird jedoch nur notwendig, um das extrazerebrale Gewebe aus dem Bild zu entfernen und stellt die Grundlage für die eigentliche Segmentierung dar. Hierfür erfolgt zunächst eine Registrierung der MRT-Bilder in einen standardisierten anatomischen Raum, in diesem Fall mit Hilfe eines Templates aus dem Montreal Neurological Institute (MNI Space, McGill-University, Canada) Standardraum. Unter Nutzung von linearen und nichtlinearen Transformationsalgorithmen werden die MRTs stereotaktisch dem Template angepasst (Ashburner und Friston 2000).

Im nächsten Schritt werden die Daten in graue und weiße Substanz sowie Liquor segmentiert. Die Segmentierung basiert auf den Intensitätswerten der MRT-Bilder und der Kenntnis über die räumliche Verteilung verschiedener Gewebetypen im gesunden Gehirn. Durch die Gegenüberstellung der Voxelintensitäten und der Wahrscheinlichkeitskarten wird jedem Voxel ein Wahrscheinlichkeitswert zwischen 0 und 1 zugeordnet, mit dem er zur grauen oder weißen Substanz bzw. zum Liquor gehören könnte (Ashburner und Friston 2000, Mechelli et al. 2005). Das extrazerebrale Gewebe (Haut, Knochen, Dura und die Sinusräume) wird herausgerechnet.

Die segmentierten Datensätze werden nun in die linke und rechte Hemisphäre, in die subkortikalen Bereiche und das Kleinhirn eingeteilt. Darüber hinaus werden lokale Hyperintensitäten der weißen Substanz detektiert und bei den folgenden Bearbeitungsschritten berücksichtigt. Anschließend wird lokale Intensitätskorrektur aller Gewebeklassen durchgeführt. Die Intensitätskorrektur ist besonders für die richtige Zuordnung der Voxel zur grauen Substanz wichtig, die z.B. durch hohen Eisengehalt eine falsch-hohe Intensität aufweisen (Dahnke 2012). Im nächsten Schritt erfolgt die Segmentierung, der auf adaptive maximum a posteriori (AMAP) Segmentierung (Rajapakse et al. 1997) und partial volume estimation (PVE) (Tohka et

al. 2004) beruht. Diese Prozesse basieren nicht auf a priori Daten der Gewebewahrscheinlichkeiten, sondern schätzen die Anteile jedes Gewebetyps (graue Substanz, weiße Substanz, Liquor) für jeden Voxel. Zuletzt werden die Datensätze mithilfe von Dartel-Registrierungen (Ashburner 2007) räumlich auf einen gemeinsamen Referenzraum normalisiert.

Weitere wichtige Schritte sind Berechnungen der totalen intrakraniellen Volumina (TIV) der einzelnen MRTs (CAT12 → Statistical Analysis → Estimate TIV) und die Glättung. Durch die Berücksichtigung der TIVs als Kovariable in den Analysen können die Volumen- und Größenunterschiede der Gehirne ausgeglichen werden. Somit wird die Aussagekraft der Gruppenvergleiche verbessert.

Um das Rauschen zu reduzieren und das Signal-Rauschen-Verhältnis zu optimieren, werden die MRT-Daten geglättet. Die segmentierten Bilder werden dafür mit einem isotropen Gauß-Filter geglättet, dessen Größe den Maßstab bestimmt, mit dem die strukturellen Veränderungen sensitiv detektiert werden (Ashburner und Friston 2000). Durch die Glättung jedes Voxels mittels Durchschnittswerte seiner Umgebung, werden Voxel-Intensitäten normalverteilt, was wichtig für die anschließenden statistischen Analysen ist. Außerdem kompensiert die Glättung die Ungenauigkeiten der vorherigen Schritte. In dieser Arbeit erfolgte eine Glättung der Bilder mit einem 8 mm FWHM<sup>1</sup>-Kernel für die Großhirnanalysen und mit 3 mm FWHM-Kernel für die Kleinhirnanalysen (Ashburner und Friston 2000).

### 5.3.2 Datenvorverarbeitung für Kleinhirnanalysen

Standard-Ganzhirn-Templates liefern gewöhnlich eine nur geringe Auflösung im Kleinhirn und Normalisierungen von T1-Datensätzen zum Standard-Raum mittels SPM waren insbesondere in Kleinhirnregionen fehleranfällig (Diedrichsen 2006, Diedrichsen et al. 2009). Aus diesem Grund wurde die Vorverarbeitung für die Kleinhirnanalysen mittels SUIT Toolbox (A spatially unbiased atlas template of the cerebellum and brainstem, [http://www.diedrichsenlab.org/imaging/suit\\_download.htm](http://www.diedrichsenlab.org/imaging/suit_download.htm)) für SPM12 durchgeführt. Die SUIT Toolbox ist speziell für die Analysen der grauen Substanz des Kleinhirns entwickelt worden. Sie wurde zur Unterstützung verschiedener Kleinhirn-Analysetechniken entwickelt u.a. auch für die VBM. Durch Verwendung des automatisierten nichtlinearen Normalisierungsverfahrens wird eine

stärkere Überlappung zwischen einzelnen MRT-Daten erzielt, womit ihre Vergleichbarkeit gesteigert wird. Zusätzlich kann durch eine bessere Identifizierung der Kleinhirngrenzen auch eine falsche Zuordnung der Voxel zum Kleinhirn, z.B. vom visuellen Kortex, verringert werden (Diedrichsen 2006).

Um das Kleinhirn und den Hirnstamm vom gesamten Gehirn zu extrahieren, wird ein auf dem Segmentierungsverfahren von Ashburner and Friston (2005) basierender Algorithmus angewandt. Dabei wird für jedes Voxel die Wahrscheinlichkeit ausgerechnet, zum Kleinhirn oder Hirnstamm zu gehören. Zudem wird mithilfe des Segmentierungsalgorithmus für jedes Voxel eine Wahrscheinlichkeit zur grauen oder zur weißen Substanz zu gehören berechnet (Diedrichsen, 2006). Bei der Isolierung wurde das SUIT Template verwendet, das aus Kleinhirnen 20 junger gesunder Probanden entwickelt wurde (Diedrichsen et al. 2009).

Im nächsten Schritt wird das Kleinhirn an das SUIT Template angepasst. Das Ziel dieser Normalisierung ist dabei eine bestmögliche Korrespondenz der Kleinhirne mit dem SUIT Template zu erzielen. Diese Methode ermöglicht bessere Überlappung einzelner Fissuren. Die Dartel-Normalisierung (Ashburner 2007) verwendet die bei der Isolierung entstandenen Wahrscheinlichkeitskarten der grauen und weißen Substanz. Am Ende der Normalisierung entstehen eine Transformationsmatrix und ein nichtlineares Flussfeld (flowfield). Um ein Kleinhirn an das SUIT Template anzupassen, werden nun die Transformationsmatrix und das flowfield benutzt. Mit Hilfe einer Maske können die falschzugeordneten Voxel entfernt werden. Alle MRT-Daten wurden nach der Vorverarbeitung nochmals händisch kontrolliert und ggf. neu ausgerichtet und segmentiert.

Abschließend wurden die Kleinhirn-Daten mit einem 3mm FWHM Kernel geglättet. Eine kleinere Kernel-Größe wurde gewählt, um eine höhere anatomische Detailauflösung zu behalten.

### 5.3.3 Homogenitätsanalyse

Mit Hilfe des Befehls "check data quality" unter CAT12 (CAT12 → Check data quality → Check sample → VBM data homogeneity) erfolgte eine Homogenitätsanalyse der normalisierten MRT-Daten. Dieser Prozess ermöglicht die Identifizierung der Daten mit schlechter Qualität und wird bei Analysen großer Datenmengen empfohlen. Dabei werden für alle MRT-Bilder der Durchschnittswert und die Standardabweichung ihrer Intensitätswerte berechnet und die Bilder mit einer starken Abweichung identifiziert.



Solche starken Abweichungen vom Mittelwert könnten die statistische Aussagekraft der Analysen reduzierten. Andererseits können sie auch die Folge der Erkrankung sein und mussten daher einzeln auf sonstige Artefakte visuell inspiziert werden, was nach Ausschluss von qualitativ beeinträchtigten Datensätzen zu den finalen 147 Bilddatensätzen führte, die für die statistische Analysen verwendet wurden.

#### 5.4 Statistische Analyse

Die statistische Analyse erfolgt ebenfalls mittels SPM12. Die Software benutzt das generalisierte lineare Modell und erlaubt per se statistische Berechnung ohne a priori Hypothese. So entstehen statistisch parametrische Karten (T-Wert-Karten) anhand derer signifikante Unterschiede anatomisch zugeordnet werden können.

In dieser Studie wurden statistische Gruppenvergleiche anhand des „one-way-ANOVA“ Designs in SPM erstellt unter zusätzlicher Einbeziehung von Kovariablen (einer ANCOVA entsprechend). Kovariablen war insbesondere von Bedeutung, da für die Interpretation der errechneten Kontraste zwischen den Subgruppen Rückschlüsse auf die Subgruppen-definierende Variable gezogen werden sollten, unabhängig von den möglicherweise störenden Einflussgrößen, die sich auch zwischen beiden Subgruppen unterschieden (siehe Abschnitt 2.4.1). Für alle Analysen wurden ALSFRS-R, D50, rD50-, cFS- und cFL-Werte natürlich logarithmiert, um eine Normalverteilung der Werte zu erreichen. Innerhalb der statistischen Modelldefinitionen von SPM wurden außerdem generell folgende Parameter definiert: absolute Maskierung mit einem Intensitäts-Schwellenwert von 0,2, implizierte Maskierung und globale Skalierung.

Im nächsten Schritt erfolgte eine TFCE-Analyse (Threshold-free cluster enhancement) mittels TFCE Toolbox (<http://www.neuro.uni-jena.de/tfce/>) unter SPM12 (Smith und Nichols 2009). Diese Anwendung ermöglicht die Auswertung der Ergebnisse, ohne Festlegung eines Cluster-Schwellenwertes. Dabei wird das Signal von zusammenhängenden Clustern mittels eines Algorithmusverfahrens gegenüber dem Hintergrundrauschen verstärkt.

Das Signifikanzniveau wurde für Gruppenvergleiche bei  $p < 0,001$  und für Korrelationsanalysen bei  $p < 0,05$  festgelegt, Korrekturen für multiple Vergleiche erfolgten jeweils per family-wise error (FWE) Methode.

##### 5.4.1 Gruppenvergleiche

Zunächst wurden 85 ALS-Patienten mit 62 gesunden Kontrollen verglichen. Zwischen beiden Gruppen bestand ein signifikanter Altersunterschied, da die Patienten im Durchschnitt älter waren als die Kontrollprobanden (ALS: Mittelwert 60,1 Jahre, Standardabweichung  $\pm 11,5$  Jahre; Kontrollen: Mittelwert 54 Jahre, Standardabweichung  $\pm 12,8$  Jahre; Zweistichproben-T-test  $p=0,003$ ). Bei der Geschlechterverteilung bestand hingegen kein signifikanter Unterschied (ALS: 36 weiblich, 49 männlich; Kontrollen: 36 weiblich, 26 männlich; Chi-Quadrat-Test:  $p=0,266$ ). In den Zwischengruppen-Vergleichen wurden das totale intrakranielle Volumen (TIV), das Alter und das Geschlecht als möglicherweise störende Kovariablen mit einbezogen.

Darauffolgend wurden die ALS-Patienten anhand folgender klinischer Parameter in Subgruppen unterteilt: anhand des ALS-Subtyps (bulbär oder spinal), anhand der D50 oder der rD50.

Bezogen auf die bei Erkrankungsbeginn zuerst betroffenen Region konnten 24 Patienten dem bulbären ALS-Subtyp und 61 dem spinalen ALS-Subtyp zugeordnet werden. Das TIV, das Alter, das Geschlecht, die rD50 und die D50 wurden als Kovariablen in das statistische design mit einbezogen.

Die Patientenkohorte konnte anhand des D50-Wertes in zwei Krankheitsaggressivität-Subgruppen eingeteilt werden: einer mit hoher ( $n=44$ ,  $D50 < 30$  Monate) und einer mit niedriger Krankheitsaggressivität ( $n=41$ ,  $D50 \geq 30$  Monate). Das TIV, das Alter, das Geschlecht, die rD50 und der ALS-Subtyp wurden hier als möglicherweise störende Kovariablen berücksichtigt.

Abschließend erfolgte der Vergleich zwischen den Patienten in Phase I ( $n=34$ ,  $0 \leq rD50 < 0,25$ ) mit denen in Krankheits-Phase II ( $n=48$ ,  $0,25 \leq rD50 < 0,5$ ). Hierzu wurden das TIV, das Alter, das Geschlecht, D50 und der ALS-Subtyp als Kovariablen verwendet.

#### 5.4.2 Korrelationsanalyse

Es wurden Korrelationen zwischen den klinischen Parametern (ALSFRS-R, PR, D50, rD50, cFS, cFL) und VBM-Veränderungen der grauen und weißen Substanz untersucht. Hierzu wurden jeweils multiple Regressionsanalysen durchgeführt, immer unter Einbeziehung vom TIV als Kovariable.

#### 5.4.3 Kleinhirn-Analysen

Die statistische Auswertung der Kleinhirn-Veränderungen erfolgte ebenfalls mittels SPM, mit den gleichen statistischen Designdefinitionen wie bei den Ganzhirnanalysen. Aufgrund des besonderen Vorverarbeitungsprozesses, wie unter Abschnitt 5.3.2 beschrieben, erfüllten jeweils 3 Datensätze der Kontrollen und der Patienten die Qualitätskontrollen nach der Vorverarbeitung nicht. Somit sind 82 Patienten- und 59 Kontroll-MRTs (29 Männer, 30 Frauen, Alter 21–77,6 Jahre, SD 12,8) in die Kleinhirn-Analyse eingegangen. Einen Überblick über die klinischen Parameter der Patienten bietet die Tabelle 2.

Methodenbedingt wurden ausschließlich die Veränderungen der grauen Substanz untersucht. Die Zuordnung der signifikanten Cluster zu den Kleinhirnregionen erfolgte mit Hilfe des SUIT probabilistic anatomical atlas (<http://www.diedrichsenlab.org/imaging/propatlas.htm>) und der Anatomy Toolbox ([https://www.fz-juelich.de/inm/inm-1/DE/Forschung/\\_docs/SPMANatomyToolbox/SPMANatomyToolbox\\_node.html](https://www.fz-juelich.de/inm/inm-1/DE/Forschung/_docs/SPMANatomyToolbox/SPMANatomyToolbox_node.html)).

Alter [in Jahren, Mittelwert, $\sigma$ , Spannweite]	60,1±11,5 (27,3–78,8)
Geschlecht [Männer / Frauen] (%)	47 / 35 (57,3% / 42,7%)
Krankheitsdauer [in Monaten, Mittelwert, $\sigma$ , Spannweite]	20±21.6 (4–136)
Subtyp [spinale ALS / bulbäre ALS] (%)	59 / 23 (72% / 28%)
ALSFRS-R [in Punkten, Mittelwert, $\sigma$ , Spannweite]	37,8±6,84 (15–47)
PR [in Punkten/Monat, Mittelwert, $\sigma$ , Spannweite]	0,69±0,52 (0,06–2,71)
rD50 [Mittelwert, $\sigma$ , Spannweite]	0,27±0,13 (0,05–0,7)
Phase I [Anzahl] (%)	I: 32 (39%)
Phase II [Anzahl] (%)	II: 47 (57,3%)
Phase III/IV [Anzahl] (%)	III: 3 (3,7%)
D50 [in Monaten, Mittelwert, $\sigma$ , Spannweite]	36,9±29,1 (10,36–176,36)
cFS [in Punkten, Mittelwert, $\sigma$ , Spannweite]	37,7±6,6 (15,1–48,5)
cFL [in Punkten/Monat, Mittelwert, $\sigma$ , Spannweite]	0,88±0,53 (0,11–2,52)

Tabelle 2: Charakteristika der Patientenkohorte in den Kleinhirn-Analysen (n=82)

$\sigma$  – Standardabweichung

ALS – Amyotrophe Lateralsklerose

ALSFRS-R – Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale-revised (zeitnächster zum MRT)

PR – Progressionsrate (zeitnächste zum MRT),  $PR = \frac{48 - \text{ALSFRS-R}}{\text{Krankheitsdauer}}$

*D50 – Zeitspanne, in der der Patient die Hälfte der funktionellen Fähigkeiten verliert, gemessen am ALSFRS-R Score. Anhand der D50 kann die Krankheitsaggressivität beschrieben werden.*

*rD50 – relative D50 (zum MRT); bezeichnet die Zeitpunkt-spezifische Krankheitsakkumulation (unabhängig von der Krankheitsaggressivität)*

*cFS - calculated functional state (zum MRT); beschreibt die berechnete Zeitpunkt-spezifische Krankheitsschwere und verwendet die gleiche Punktwerteskala wie der ALSFRS-R*

*cFL - calculated functional loss rate (zum MRT); Zeitpunkt-spezifische errechnete Verlustrate*

## 6 Ergebnisse

### 6.1 Gruppenvergleiche

#### 6.1.1 Gruppenvergleich: ALS-Patienten mit gesunden Kontrollen

Im Gruppenvergleich zwischen den ALS-Patienten und gesunden Kontrollen waren die stärksten signifikanten Reduktionen der kortikalen Dichte für die Patientengruppe innerhalb der grauen Substanz im Bereich der medialen und inferioren Abschnitte des Frontallappens sowie im Temporallappen zu verzeichnen. Zusätzliche Reduktionen der grauen Substanz konnten bei den Erkrankten im Parietal- und Okzipitallappen sowie in den subkortikalen Regionen beobachtet werden (Abbildung 3). Es fand sich keine signifikante Dichtezunahme bei den ALS-Patienten im Vergleich zu den Kontrollen.

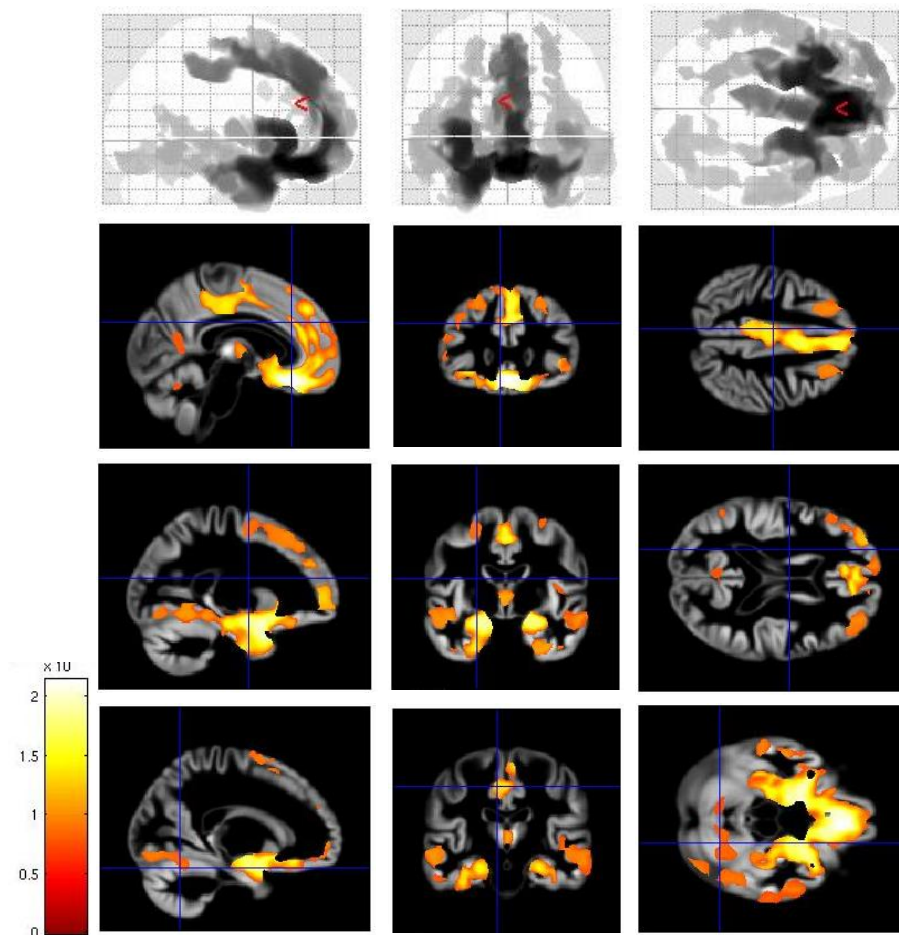


Abbildung 3: Gruppenvergleich der ALS-Patienten mit gesunden Kontrollen. Die Patienten wiesen im Vergleich zu den gesunden Probanden eine signifikante Reduktion der kortikalen Dichte insbesondere in den frontotemporalen Bereichen auf. In der oberen Reihe ist das Glass Brain in drei Schnittebenen mit allen signifikanten Clustern als Summenprojektion dargestellt. Die unteren Abbildungen stellen die Cluster mit signifikanter Reduktion der kortikalen Dichte als T-Wert-Karte farblich dar. Die Farbskala am linken Rand zeigt die T-Werte der entsprechenden Voxel. TFCE-Analyse, FWE-korrigiert,  $p < 0,001$ .

Eine ausgedehnte Dichteabnahme der weißen Substanz konnte bei ALS-Patienten im bilateralen Frontal- und Parietallappen bis zum Hirnstamm hinunterreichend festgestellt werden, sie betraf dabei u.a. das Corpus callosum, die Corona radiata, beide corticospinalen Trakte, sowie die Capsula interna und externa. Zusätzlich wurde eine Reduktion der weißen Substanz auch in beiden Temporallappen beobachtet (Abbildung 4). Es wurde keine signifikante Dichtezunahme der weißen Substanz bei den ALS-Patienten im Vergleich zu den Kontrollen festgestellt.

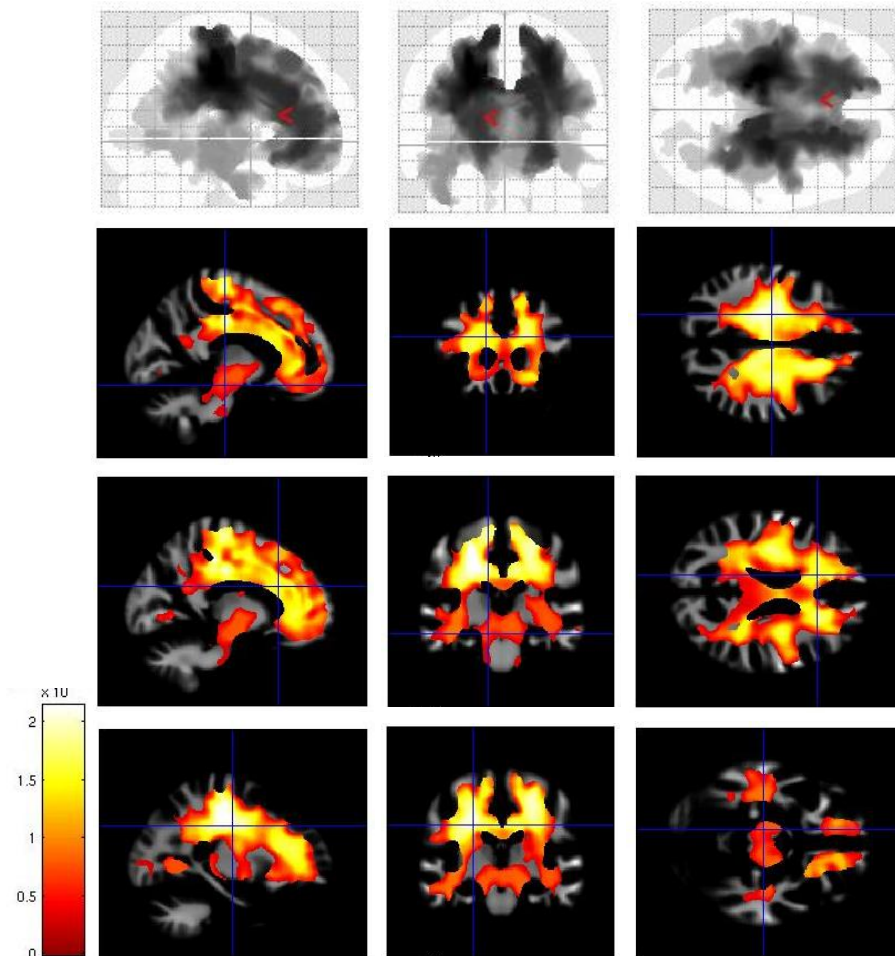


Abbildung 4: Gruppenvergleich der ALS-Patienten mit gesunden Kontrollen. In der Patientengruppe fand sich im Vergleich zu den gesunden Kontrollpersonen eine ausgedehnte Dichtereduktion der weißen Substanz. In der oberen Reihe ist das Glass Brain in drei Schnittebenen mit allen signifikanten Clustern als Summenprojektion dargestellt. In den unteren Abbildungen sind die Hirnareale mit signifikanter Dichteabnahme der weißen Substanz als T-Wert-Karte farblich dargestellt. Die Farbskala am linken Rand zeigt die T-Werte der entsprechenden Voxel. TFCE-Analyse, FWE-korrigiert,  $p < 0,001$

In der Ganzhirnanalyse wurde eine signifikante Dichteabnahme der grauen Substanz in den bilateralen Lobuli VI und VIIa, Nucleus interpositus, im rechten Lobulus V und im linken ventralen Nucleus dentatus detektiert.

In der isolierten Kleinhirnanalyse (mittels SUIT) zeigte sich bei gleichem Signifikanzniveau von  $p < 0,001$  eine Abnahme der kortikalen Dichte, die größtenteils Lobuli VII-X betraf (Abbildung 5). Nach einer FWE-Korrektur waren diese Ergebnisse hingegen nicht mehr signifikant.

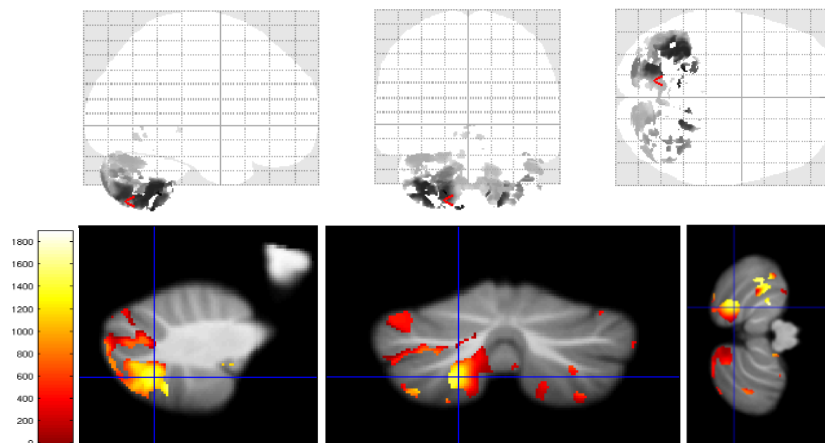


Abbildung 5: Gruppenvergleich zwischen den ALS-Patienten und Kontrollen. Im Glass Brain (oben) und MRT-Bild (unten) sind in drei verschiedenen Ebenen die Kleinhirnareale dargestellt, die bei ALS durch eine Abnahme der kortikalen Dichte gekennzeichnet sind. Die Farbskala am linken Rand zeigt die T-Werte der entsprechenden Voxel. TFCE-Analyse, unkorrigiert,  $p < 0,001$ .

Gleichzeitig zeigte sich in den Kleinhirnanalysen eine Dichtezunahme bei den ALS-Patienten gegenüber der Kontrollgruppe im Lobus anterior (Lobuli I-V) sowie im Lobulus VI und im Crus (VIIA) (Abbildung 6). Nach einer FWE-Korrektur für multiple Vergleiche waren diese Ergebnisse ebenfalls nicht mehr signifikant.

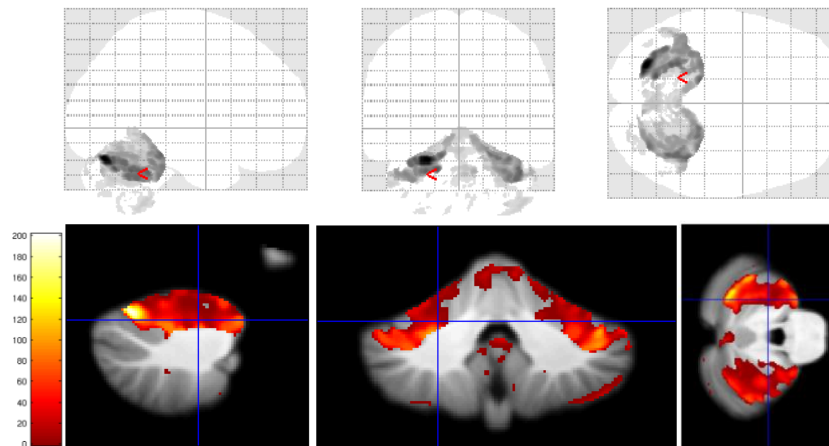


Abbildung 6: Gruppenvergleich zwischen den ALS-Patienten und gesunden Kontrollen. Dargestellt sind die Kleinhirnareale, in denen ALS-Patienten eine Dichtezunahme zeigten. Die Farbskala am linken Rand zeigt die T-Werte der entsprechenden Voxel. TFCE-Analyse, unkorrigiert,  $p < 0,001$ .



### 6.1.2 Subgruppenanalyse bezogen auf den ALS-Subtyp

Patienten mit einem bulbären Krankheitsbeginn waren gegenüber Patienten mit einem spinalen Subtyp durch eine stärkere Dichteabnahme der grauen und weißen Substanz in den bifrontalen und bitemporalen Großhirnregionen charakterisiert (Abbildung 7, Abbildung 8). Im umgekehrten Fall waren keine Dichteabnahmen von Patienten mit spinalem Symptombeginn gegenüber bulbären zu eruieren. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede im Kleinhirn, weder in der Ganzhirnanalyse, noch in der spezifischen SUII-Analyse.

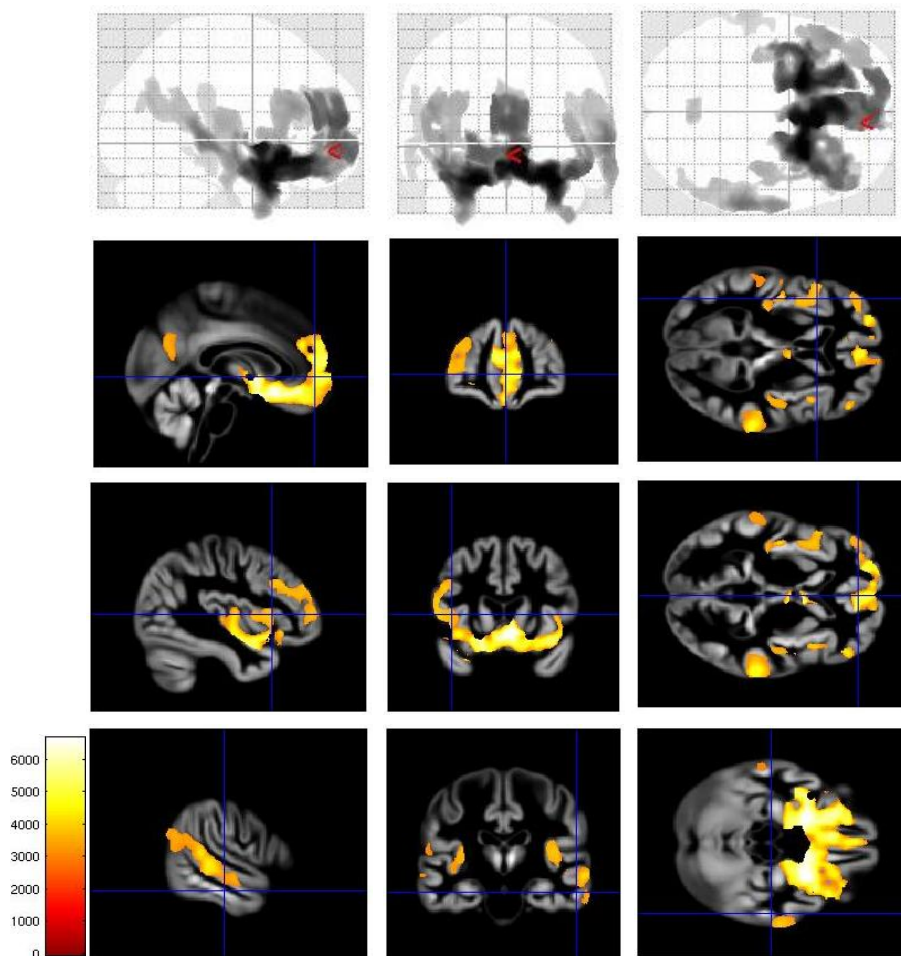


Abbildung 7: Subgruppenvergleich zwischen den Patienten mit unterschiedlichem ALS-Subtyp. Die Patienten mit bulbärem ALS-Typ wiesen eine stärkere Dichtereduktion in der grauen Substanz, bifrontal und bitemporal, auf. In der oberen Reihe ist das Glass Brain in drei Schnittebenen mit allen signifikanten Clustern als Summenprojektion abgebildet. In den unteren Reihen sind die Cluster mit signifikanter Reduktion in T-Wert Kontrasten dargestellt. Die Farbskala zeigt jeweils die T-Werte der entsprechenden Voxel. TFCE-Analyse, FWE-korrigiert,  $p < 0,001$ .

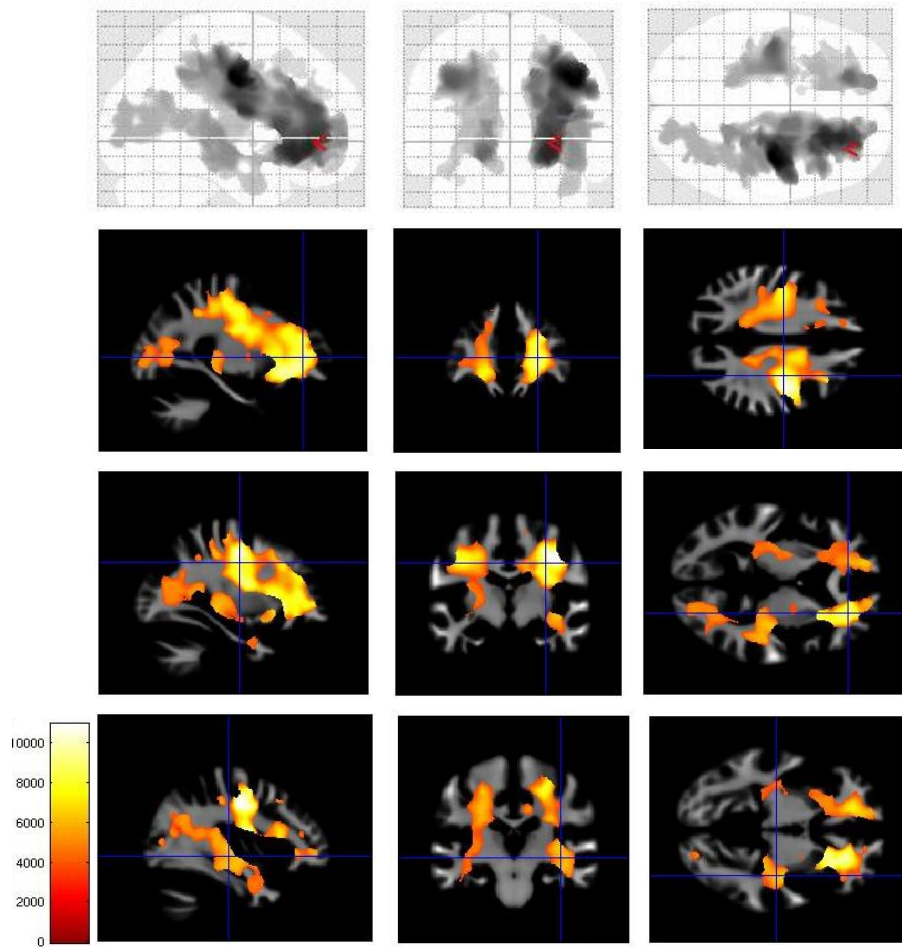


Abbildung 8: Subgruppenvergleich zwischen den Patienten mit unterschiedlichem ALS-Subtyp. Die Patienten mit bulbärem ALS-Typ wiesen eine stärkere Dichtereduktion in der weißen Substanz, bifrontal und bitemporal, auf. In der oberen Reihe ist das Glass Brain in drei Schnittebenen mit allen signifikanten Clustern als Summenprojektion dargestellt. In den unteren Reihen sind die Cluster mit signifikanter Reduktion in T-Wert Kontrasten abgebildet. Die Farbskala zeigt jeweils die T-Werte der entsprechenden Voxel. TFCE-Analyse, FWE-korrigiert,  $p < 0,001$ .

### 6.1.3 Subgruppenanalyse bezogen auf Krankheitsphasen

Der Subgruppenvergleich zwischen den Patienten in Phase I ( $0 \leq rD50 < 0,25$ ) und Phase II ( $0,25 \leq rD50 < 0,5$ ) zeigte, dass die Patienten in Phase II eine stärkere Abnahme der kortikalen Dichte in den frontalen, temporalen und okzipitalen Arealen aufwiesen (Abbildung 9).

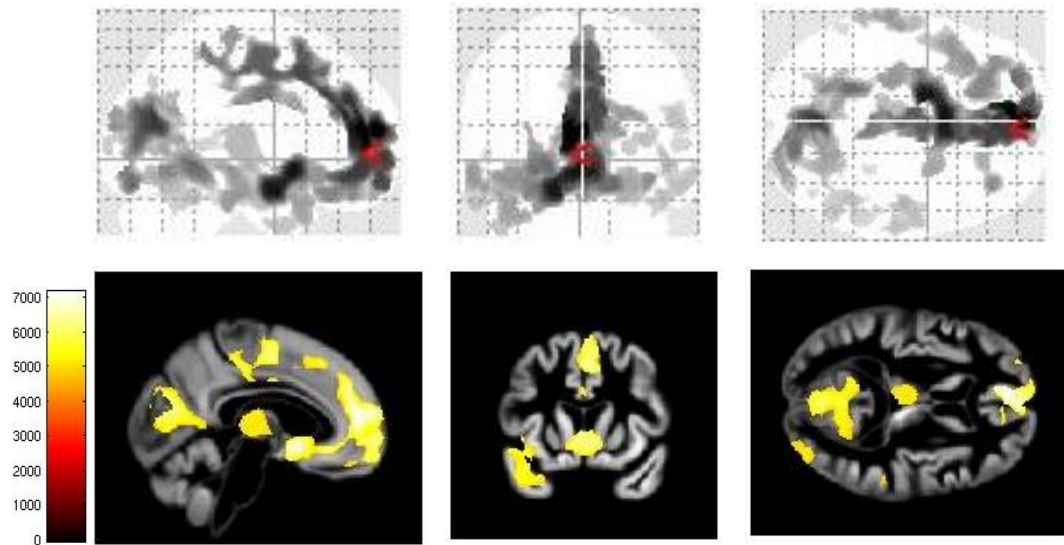


Abbildung 9: Subgruppenvergleich zwischen den Patienten in Phase I und Phase II. Patienten in Phase II zeigten im Vergleich zu den Patienten in Phase I eine geringere kortikale Dichte. Oben ist das Glass Brain in drei Schnittebenen mit allen signifikanten Clustern als Summenprojektion dargestellt. Die unteren Abbildungen stellen die Cluster mit signifikanter Reduktion der kortikalen Dichte als T-Wert-Karte farblich dar. Die Farbskala am linken Rand zeigt die jeweiligen T-Werte der entsprechenden Voxel. TFCE-Analyse, FWE-korrigiert,  $p < 0,001$ .

Des Weiteren konnte eine Dichteabnahme der weißen Substanz in den supratentoriellen Faserverbindungen detektiert werden (Abbildung 10). Es wurde keine Dichtezunahme der weißen oder grauen Substanz bei ALS-Patienten in Phase II im Vergleich zu Phase I Patienten festgestellt. In der Kleinhirnanalyse zeigte sich keine signifikante Reduktion oder Zunahme der kortikalen Dichte.

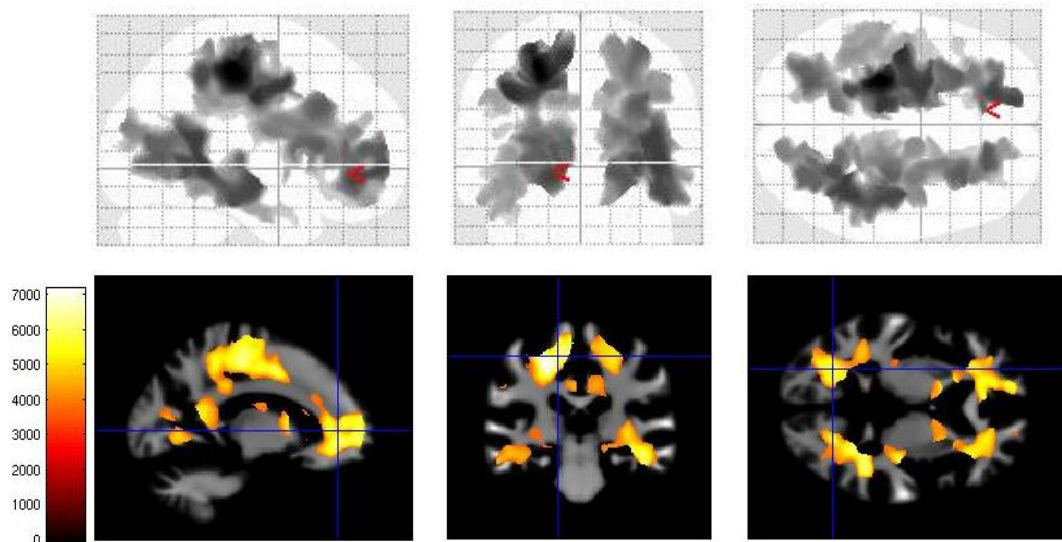


Abbildung 10: Subgruppenvergleich zwischen den Patienten in Phase I und Phase II. Eine signifikante Dichtereduktion der weißen Substanz in Phase II im Vergleich zu Phase I wurde in den supratentoriellen Faserverbindungen festgestellt. Die Farbskala am linken Rand zeigt die T-Werte der entsprechenden Voxel. TFCE-Analyse, FWE-korrigiert,  $p < 0,001$

#### 6.1.4 Subgruppenanalyse bezogen auf die Krankheitsaggressivität

Patienten mit einer hohen Krankheitsaggressivität ( $D50 < 30$  Monate) wiesen eine deutliche Dichteabnahme der supratentoriellen weißen Substanz im Vergleich zu Patienten mit einer geringen Krankheitsaggressivität ( $D50 \geq 30$  Monate) auf (Abbildung 11). Die Cluster mit signifikanten Unterschieden befanden sich insbesondere im Corpus callosum, in der Fornix, in der Capsula interna und externa, im Cingulum, in der Corona radiata, Radiatio thalami und in den Assoziationstrakten. Es wurden jedoch keine signifikanten Unterschiede in der grauen Substanz beobachtet.

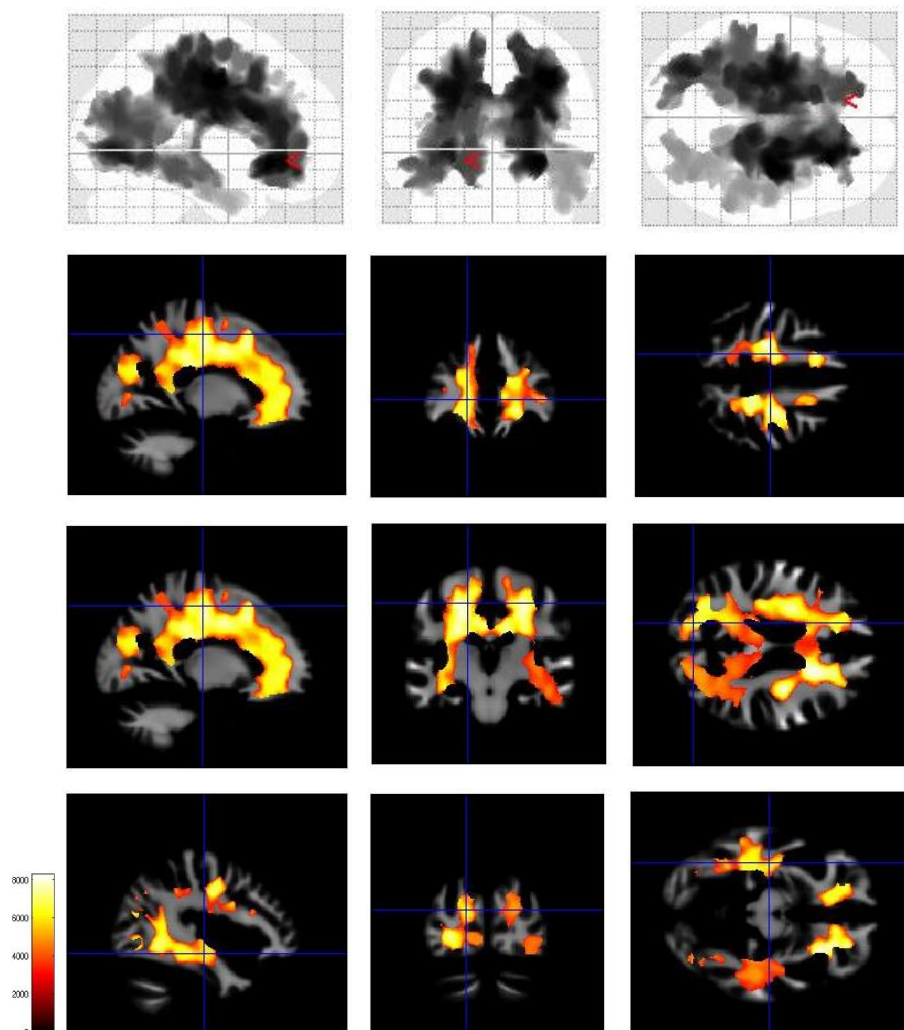


Abbildung 11: Subgruppenvergleich bezogen auf die Krankheitsaggressivität. Eine hohe Krankheitsaggressivität war in Ganzhirnanalysen im Vergleich zu einer geringeren Krankheitsaggressivität mit einer stärkeren Dichteabnahme der supratentoriellen weißen Substanz assoziiert. In der oberen Reihe ist das Glass Brain in drei Schnittebenen mit allen signifikanten Clustern als Summenprojektion abgebildet. In den unteren Reihen sind die Cluster mit signifikanter Reduktion in T-Wert Kontrasten dargestellt. Die Farbskala zeigt jeweils die T-Werte der entsprechenden Voxel. TFCE-Analyse, FWE-korrigiert,  $p < 0,001$ .

In der Kleinhirnanalyse konnte gezeigt werden, dass die Patienten mit einer hohen Krankheitsaggressivität eine ausgeprägte Reduktion der kortikalen Dichte aufweisen. Diese war bilateral im Vermis (X), Crus (VIIa), Lobus anterior (Lobuli I-V) und im Lobus posterior (Lobuli VII-IX) lokalisiert sowie bilateral im Nucleus fastigii und Nucleus dentatus (Abbildung 12). In keiner Kleinhirnanalyse zeigte sich eine Dichtezunahme bei den Patienten mit einer hohen Krankheitsaggressivität gegenüber Patienten mit gering aggressiver ALS.

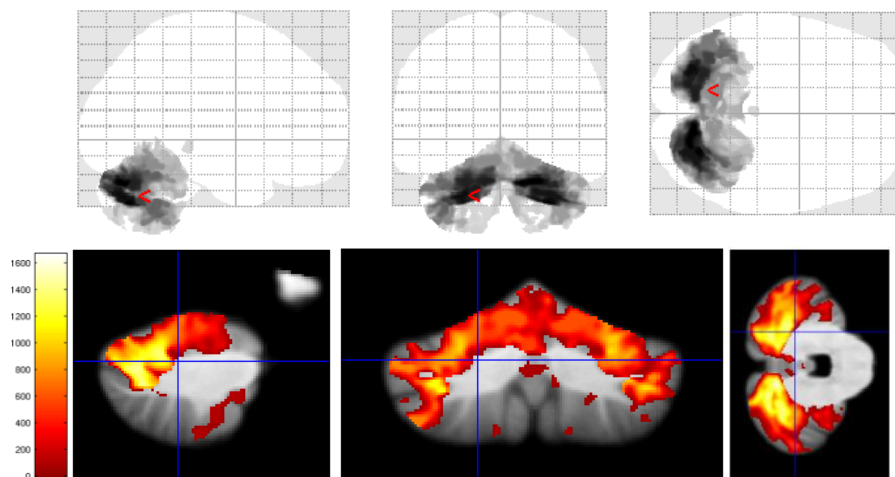


Abbildung 12: Subgruppenvergleich bezogen auf die Krankheitsaggressivität. Farblich dargestellt sind die Kleinhirnareale, die bei einer hohen Krankheitsaggressivität eine signifikante Dichteabnahme aufweisen. Die Farbskala zeigt jeweils die T-Werte der entsprechenden Voxel. TFCE-Analyse, FWE-korrigiert,  $p < 0,001$ .

## 6.2 Korrelationsanalysen

Zwischen der Dichte in der weißen Substanz und der kalkulierten Verlustrate cFL wurde eine signifikante negative Korrelation beobachtet. Diese Korrelation betraf Assoziationsfasern der linken Hemisphäre, die Frontal-, Parietal- und Occipitallappen untereinander vernetzen: namentlich den Fasciculus longitudinalis superior, Fasciculus longitudinalis inferior und den Fasciculus occipitofrontalis (Abbildung 13). Weitere Korrelationsanalysen des Großhirns lieferten keine signifikanten Ergebnisse. Ebenso konnte keine signifikante Korrelation zwischen den klinischen Parametern und dem Volumen der grauen Substanz des Kleinhirns nachgewiesen werden.

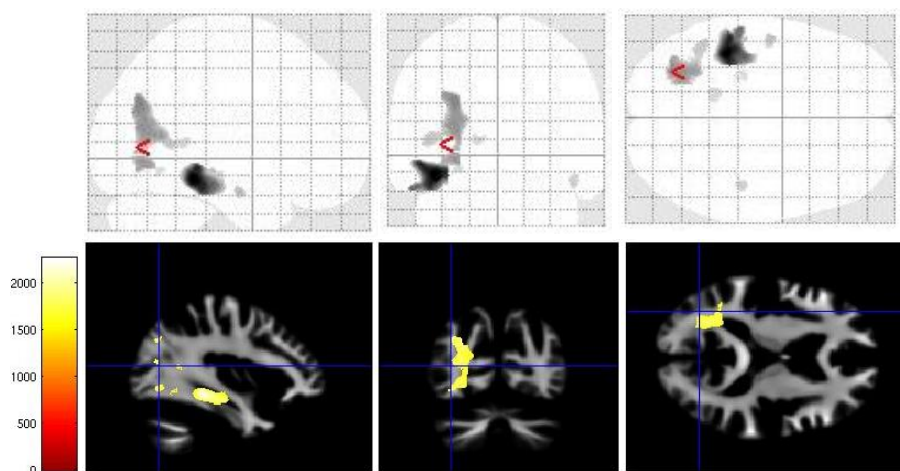


Abbildung 13: Die Dichteabnahme in den Assoziationsfasern steht in einer negativen Korrelation mit der cFL. In der oberen Reihe ist das Glass Brain in drei Schnittebenen mit allen signifikanten Clustern als Summenprojektion abgebildet. In den unteren Reihen sind die Cluster mit signifikanter Korrelation in T-Wert Kontrasten dargestellt. Die Farbskala am linken Rand zeigt die T-Werte der entsprechenden Voxel. TFCE-Analyse, FWE-korrigiert,  $p < 0,05$

## 7 Diskussion

### 7.1 Gruppenvergleich: ALS-Patienten mit gesunden Kontrollen

#### **Graue Substanz**

In der vorliegenden Arbeit war es möglich, in einer großen, gut charakterisierten Kohorte, hochsignifikante Unterschiede zwischen den ALS-Patienten und den gesunden Personen zu detektieren.

Die ALS-Patienten wiesen in unserer Studie im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen eine hochsignifikante Dichteabnahme der grauen Substanz in den extramotorischen Arealen auf. Die Reduktion war besonders ausgeprägt im Bereich des medialen und inferioren Frontallappens, der in komplexen Sprech- und Sprachverarbeitungsprozessen, u.a. bei der Erkennung der emotionalen Satzmelodie beteiligt ist (Buchanan et al. 2000, Greenlee et al. 2007). Ebenso zeigten die ALS-Patienten eine hochsignifikante Reduktion der kortikalen Dichte im medialen Teil des Temporallappens. Diese Hirnareale, insbesondere das anteriore Cingulum, spielen eine besondere Rolle bei der Kontrolle der Aufmerksamkeit, Initiierung, Motivation und dem zielgerichteten Verhalten (Devinsky et al. 1995). Der entorhinale Kortex, der ebenso von einer hochsignifikanten Dichteabnahme betroffen war, ist bei der schnellen Kodierungen neuer Assoziationen und bei der Gedächtniskonsolidierung beteiligt (Baker et al. 2018, Takehara-Nishiuchi 2014).

Es liegt nahe, dass die überproportionale Beeinträchtigung frontotemporaler Bereiche in der hiesigen ALS-Kohorte mit kognitiven Defiziten assoziiert ist, wie sie bei ALS-Patienten in Form von komorbider frontotemporaler Demenz auftritt (Strong et al. 2017). Während Mioshi et al. (2013) und Bueno et al. (2018) zuvor einen Zusammenhang zwischen Dichtereduktion in solchen Arealen und kognitiven Defiziten beschrieben, haben Bede et al. (2013b) und Christidi et al. (2018c) hingegen diese Veränderungen auch bei Patienten ohne kognitive Beeinträchtigung beobachtet. Es ist bisher in Bezug auf kognitive Veränderungen also nicht von einem unmittelbaren Zusammenhang mit dem Ausmaß frontotemporaler Veränderungen auszugehen, wie sie mit VBM detektierbar sind. Tatsächlich unterstreicht diese Beobachtung aber erneut die Existenz eines gemeinsamen pathophysiologischen Spektrums für die FTD und die ALS (Turner et al. 2012, Menke et al. 2017, Gao et al. 2017).

In unserer Patientengruppe zeigte sich zudem eine Dichteabnahme beidseits im Hippocampus, in der Amygdala und im Thalamus. Ähnliche Veränderungen konnten



auch in anderen Studien beobachtet werden (Thivard et al. 2007, Bede et al. 2013a, Bede et al. 2013b, Christidi et al. 2018c). Ersteres ist ebenfalls in vorherigen Studien von anderen Autoren beschrieben (Thivard et al. 2007, Bede et al. 2013b). Der Hippocampus zählt zum limbischen System und ist für die Gedächtniskonsolidierung und für das räumliche Gedächtnis verantwortlich (Buzsaki und Moser 2013, Fogwe et al. 2020). Die meisten Afferenzen bezieht er vom entorhinalen Kortex (Fogwe et al. 2020). Die Volumenabnahme des Hippocampus bei ALS-Patienten wurde von Abdulla et al. (2014) in einen Zusammenhang mit dem Schweregrad der Beeinträchtigung des verbalen Gedächtnisses gebracht.

Der Thalamus fungiert als „Tor zum Bewusstsein“ und ist für die Weiterleitung sensorischer Signale an den Kortex verantwortlich (Schmahmann 2003). In der DTI-Analyse von Tu et al. (2018) wurde die gestörte Konnektivität des Thalamus bei ALS mit der fortschreitenden frontotemporalen Beteiligung assoziiert.

Die Amygdala zählt ebenso zum limbischen System und spielt eine wichtige Rolle bei einer Vielzahl kognitiver Funktionen und affektiver Verhaltensweisen wie Verteidigung, Flucht, Schmerz, Motivation, Lernen, emotionalen Reaktionen und Gedächtnis (Chipika et al. 2020). Veränderungen in der Amygdala bei ALS werden mit einer abnormen emotionalen Antwort auf Reize in Verbindung gebracht (Lule et al. 2005). Zudem scheint die Beteiligung der Amygdala mit einer Beeinträchtigung bei der Erkennung von Bedrohungen einher zu gehen (Schmolck et al. 2007).

Die ALS-Patienten wiesen zudem eine Dichteabnahme der grauen Substanz in den Parietal- und Okzipitallappen auf. Der Parietallappen ist für die Perzeption, somatosensorische Funktion, visuelle Steuerung und für das räumliche Denken verantwortlich (Javed et al. 2020). Es ist eine Integrationsstelle zwischen motorischem System und den sensorischen Reizen, vor allem des visuellen Systems (Javed et al. 2020). Der Okzipitallappen wird in die primäre und sekundäre Sehrinde eingeteilt und zählt zum visuellen System. In der Sehrinde werden die visuellen Reize verarbeitet und an den Parietallappen und an den Temporallappen weitergeleitet (Rehman und Al Khalili 2020). Der Okzipitallappen spielt eine entscheidende Rolle bei der räumlich-visuellen Orientierung. Die Reduktion der kortikalen Dichte in den Parietal- und Okzipitallappen bei ALS-Patienten wurden bereits in anderen Studien beschrieben (Grosskreutz et al. 2006, Agosta et al. 2007, Mezzapesa et al. 2007). Auch die Veränderungen in diesen Hirngebieten gehen mit neurokognitiven Defiziten einher (Christidi et al. 2018c). Jedoch zeigten andere Studien, dass die Dichteabnahme in

diesen Gebieten auch bei neuropsychologisch unauffälligen Patienten auftreten kann (Bede et al. 2013b, Bede et al. 2013a, Agosta et al. 2016, Christidi et al. 2018c). Dies könnte ein weiteres Indiz dafür sein, dass die Veränderungen in extramotorischen Hirnarealen bei ALS nicht unmittelbar mit kognitiven Defiziten einhergehen. Viel mehr scheinen sie ebenso eine wichtige Rolle bei den Kompensationsmechanismen der motorischen Ausfälle zu spielen (Christidi et al. 2018c).

Zusammenfassend lässt sich anhand der von uns detektierten Veränderungen der grauen Substanz feststellen, dass ALS als eine Multisystemerkrankung mit einer Überlappung mit der FTD betrachtet werden muss (Turner und Verstraete 2015, Shen et al. 2016, Menke et al. 2017, Chen et al. 2018b, Christidi et al. 2018b). Auch wenn in dieser Arbeit zwar ausschließlich Patienten ohne eine klinisch manifeste Demenz untersucht wurden, ist nicht auszuschließen, dass die Patienten eine subklinische kognitive Beeinträchtigung hatten. Weitere Studien mit Berücksichtigung eines umfassenden neuropsychologischen Profils der Patienten sind daher weiterhin erforderlich.

### **Weißer Substanz**

Auch hinsichtlich der weißen Substanz konnte eine ausgeprägte Dichtereduktion bei den ALS-Patienten nachgewiesen werden. Die Reduktion war hier besonders ausgeprägt im Frontal- und Temporallappen. Dabei waren Corpus callosum, Fornix, der kortikospinale Trakt, Capsula interna und externa, Cingulum, Corona radiata, Radiatio thalami, Assoziationsfasern und der Hirnstamm betroffen. Diese Ergebnisse stimmen mit der aktuellen Datenlage zu Veränderungen der weißen Substanz überein. Bisherige Studien detektierten eine Dichteabnahme der weißen Substanz überwiegend innerhalb motorischer Fasertrakte und entlang des kortikospinalen Trakts (Abrahams et al. 2005, Kassubek et al. 2005, De Marco et al. 2015). Eine Beteiligung vom Corpus callosum wird ebenfalls häufig bei ALS-Patienten beschrieben (Filippini et al. 2010). Die von Chen et al. (2018a) durchgeführte Metaanalyse von VBM-Studien ergab, dass die Dichteabnahme der weißen Substanz besonders ausgeprägt in den bilateralen supplementär-motorischen Arealen, Gyrus praecentralis und im Kleinhirn war. Die Reduktion betraf zudem den kortikospinalen Trakt, Kommissurenfasern, Assoziationsfasern, Projektionsfasern zum Striatum, den Tractus corticopontinus und den Tractus pontocerebellaris.

Dennoch gibt es einige VBM-Studien, die keine Veränderungen der weißen Substanz detektieren konnten (Grosskreutz et al. 2006, Thivard et al. 2007, Mezzapesa et al. 2007). Diese Diskrepanz in den Ergebnissen könnte an der geringen Anzahl der Probanden, einer Inhomogenität innerhalb der Kohorte in Bezug auf Krankheitsdauer und -schwere, sowie an den Analysemethoden liegen (Chen et al. 2018a, Kim et al. 2017b, Rajagopalan et al. 2013). Mögliche Ursache für unsere hochsignifikanten Ergebnisse ist gegebenenfalls neben der großen, gut charakterisierten Kohorte, die Anwendung der TFCE-Analyse (Rajagopalan und Pioro 2015). DTI und VBI scheinen deutlich sensitiver in Bezug auf die Veränderungen der weißen Substanz zu sein (Menke et al. 2017, Hartung et al. 2014). Tatsächlich, konnten Steinbach et al. (2021) in einer, mit dieser Kohorte größtenteils übereinstimmenden DTI Analyse, weitreichende und konstante Veränderungen in der weißen Substanz zeigen.

### **SUIT-Analyse**

Die Ganzhirnanalyse ergab bei den ALS-Patienten eine signifikante Dichtereduktion der grauen Substanz des Kleinhirns in den bilateralen Lobuli VI, VIIa (Crus), im rechten Lobulus V und beidseits im Nucleus interpositus sowie im linken Nucleus dentatus. Dahingegen ergab die kleinhirnspezifische SUIT-Analyse eine Reduktion der grauen Substanz in der Patientengruppe, die größtenteils den Lobus posterior (VIIb-X) betrifft. Interessanterweise ergab sich gleichzeitig eine höhere kortikale Dichte in den anterioren Lobuli (I-VI) des Kleinhirns sowie im Crus (VIIa) bei ALS-Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen. Diese Ergebnisse waren nach einer FWE-Korrektur jedoch nicht mehr signifikant und sind daher eher als eine Tendenz anzusehen.

In der VBM-Studie von Christidi et al. (2018c) konnte eine Dichteabnahme der grauen Substanz in der linken Kleinhirnhemisphäre sowohl bei den ALS-Patienten mit einer kognitiven Beeinträchtigung als auch bei neuropsychiatrisch unauffälligen Patienten detektiert werden. Die ALS-assoziierten Kleinhirnveränderungen können mit einer motorischen (Tan et al. 2014) und/oder einer kognitiven Beeinträchtigung (Kim et al. 2017b) einhergehen. Dabei scheinen die neuropsychiatrischen Symptome vermehrt mit den Veränderungen im Crus (VIIa) und im Lobus anterior (I-VI) assoziiert zu sein, während die motorische Symptomatik mit den Veränderungen des Lobus posterior (VIIb-X) assoziiert ist (Tan et al. 2014). Insofern bestätigen die Ergebnisse der SUIT-Analyse die Erkenntnisse aus früheren Untersuchungen zu Kleinhirnveränderungen

bei ALS-Patienten. Offen bleibt die Frage, weshalb sich in unserer Kleinhirnanalyse eine tendenzielle Dichtezunahme im Lobus anterior abzeichnen ließ, auch wenn nach einer FWE-Korrektur für multiple Vergleiche diese nicht mehr signifikant waren. Möglicherweise ist dies auf frühe Kompensationsmechanismen zurückzuführen. Die Arbeitsgruppe von Schoenfeld et al. (2005) stellte bei ALS-Patienten mittels fMRT eine Aktivierung der linken Kleinhirnhemisphäre bei Ausübung schwerer motorischer Tests fest. Um die in der vorliegenden Arbeit gezeigte Tendenz von möglicherweise konsekutiven strukturellen Veränderungen innerhalb des Kleinhirns zu verifizieren, sind weiterführende Studien in noch größeren ALS-Kohorten mit einem umfassenden neuropsychologischen Profil wünschenswert.

Bei der Ganzhirnanalyse wurde die weiße Substanz des Kleinhirns mituntersucht. Dabei zeigte sich bei den ALS-Patienten im Vergleich zu den Kontrollpersonen eine Dichtereduktion im Pedunculus cerebellaris medius und in den bilateralen Pedunculus cerebellaris superior. Dies passt zu den Ergebnissen vorausgehender Studien, u.a. von Kassubek et al. (2005), De Marco et al. (2015), Chen et al. (2018a), die insbesondere Veränderungen im linken Pedunculus cerebellaris medius und in den Kleinhirnhemisphären beschrieben. Die Veränderungen der zerebellären weißen Substanz wurden bei den Patienten mit einer Dysarthrie (De Marco et al. 2015) und einem pseudobulbären Affekt beobachtet (Christidi et al. 2018a). Dabei wird dem Pedunculus cerebellaris medius sowie dem Tractus corticopontinus und dem Tractus pontocerebellaris eine besondere Bedeutung bei der Motorik und der Sprechmotorik beigemessen (Chen et al. 2018a).

Da die SUIT-Toolbox für die Analyse der grauen Substanz des Kleinhirns entwickelt wurde, wurden die Veränderungen der weißen Substanz damit nicht separat untersucht. Daher sind weitere Studien, die z.B. SUIT-Analyse und Traktografie vereinen, für das Verständnis der Rolle des Kleinhirns notwendig.

## 7.2 Subgruppenvergleiche bezogen auf den ALS-Subtyp

Im Subgruppenvergleich bezogen auf den ALS-Subtyp zeigten die Patienten mit einer bulbären ALS eine stärker ausgeprägte Dichtereduktion der grauen und weißen Substanz mit einer deutlich stärkeren Beteiligung der frontotemporalen Areale im Vergleich zur spinalen ALS. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit früheren Studien (Chen et al. 2018b, Kim et al. 2017a, Hartung et al. 2014, Turner et al. 2012). Der bulbäre Subtyp ist durch eine schlechtere Prognose gekennzeichnet (Mandrioli et al. 2006, Calvo et al. 2017, Moura et al. 2015, Gordon et al. 2010). Die mit strukturellem MRT ermittelten Unterschiede zum spinalen Phänotyp weisen auf eine pathophysiologisch eigenständige Entität dieser Erkrankung hin. Somit ist der bulbäre Subtyp durch ein stärkeres Ausmaß an Ausbreitung der ALS-assoziierten Pathologie gekennzeichnet. Aus diesem Grund ist es notwendig, den ALS-Subtyp als Kovariable in Analysen zu berücksichtigen. Ebenso sind separate Untersuchungen für einen bulbären bzw. spinalen Erkrankungsbeginn bei ausreichend großen Kohorten empfehlenswert. Entscheidend ist es, in den statistischen Vergleichen zwischen bulbärer gegenüber spinaler ALS, die Unterschiede in der Krankheitsakkumulation, in der Krankheitsaggressivität und in den demografischen Faktoren durch das Miteinbeziehen dieser Kovariablen zu korrigieren.

Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Subtypen im Kleinhirn eruiert werden. Zwar wurde eine stärkere zerebelläre Beteiligung bei bulbärer ALS zuvor beschrieben (Kim et al. 2017a), jedoch wurde in dieser Studie ein niedrigeres Signifikanzniveau gewählt. Es zeigten sich auch dort nach Korrektur für multiple Vergleiche keine signifikanten Unterschiede mehr.

### 7.3 Subgruppenvergleiche bezogen auf Phasen

#### **Graue Substanz**

Durch die Einteilung der Patienten in Phasen anhand der rD50-Werte war eine pseudolongitudinale Untersuchung der Patientenkohorte möglich. Dies ist von großer Relevanz für klinische Studien, da eine invasive Beatmung und der schlechte Allgemeinzustand der Patienten in späten Phasen eine MRT Untersuchung erschweren können. Im Subgruppenvergleich bezogen auf die Krankheitsphasen zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen der frühen semi-stabilen Phase I und der früh-progressiven Phase II. Die stärkere kortikale Dichteabnahme betraf bei den Patienten in der Phase II den orbitofrontalen Kortex, den Frontalpol, das basale Vorderhirn, den Gyrus praecentralis, Cingulum und die Insula. Im Temporallappen waren beidseits die Amygdala, der Thalamus, der linke entorhinale Kortex und der linke Hippocampus vermehrt von der Dichteabnahme betroffen. Zusätzlich waren in unserer Studie Teile des Okzipitallappens sowie des Parietallappens in der Phase II mehr betroffen als in Phase I.

Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit bisherigen longitudinalen Studien (Kwan et al. 2012, Menke et al. 2014, Menke et al. 2018). Die Arbeitsgruppe von Kwan et al. (2012) beobachtete bei ALS-Patienten in einem follow-up MRT eine Abnahme der kortikalen Schichtdicke und eine kortikale Volumenabnahme im Gyrus praecentralis. Auch eine Volumenabnahme im Frontal- und Temporallappen wurde beschrieben (Senda et al. 2011, Menke et al. 2018). Eine vermehrte Dichtereduktion wurde von Menke et al. (2018) in einer longitudinalen Studie im Cingulum, der Basalganglien, Hippocampus und der Amygdala detektiert. Die Arbeit von Westeneng et al. (2015) beschrieb in einer longitudinalen Studie eine fortschreitende Volumenabnahme des Hippocampus bei ALS Patienten.

#### **Weißer Substanz**

Eine progressive Dichtereduktion der weißen Substanz wurde in der späteren Phase im Corpus callosum, Fornix, Cingulum, in der Capsula interna und externa, Corona radiata und Radiatio thalami festgestellt. Zusätzlich waren die Assoziationstrakte (Fasciculus longitudinalis superior und inferior, Fasciculus frontooccipitalis superior und inferior) und der rechte Pedunculus cereberalis in Phase II stärker betroffen. Ähnliche Veränderungen wurden bereits mittels DTI-Analysen von Menke et al. (2014), (2018) beobachtet. In diesen Studien waren der Fasciculus longitudinalis superior, der

kortikospinale Trakt und das Corpus callosum am stärksten betroffen. In einer VBI-Analyse von Hartung et al. (2014), die spezifisch die Veränderungen der weißen Substanz erfassten, wurden die Patienten in zwei Gruppen mit einer niedrigen und hohen Krankheitsschwere (anhand des ALSFRS-R) eingeteilt. Eine stärkere Intensitätsveränderung der weißen Substanz wurde bei den Patienten mit einer hohen Krankheitsschwere detektiert. Dabei zeigte sich eine steigende Intensität der weißen Substanz mit zunehmender Krankheitsschwere.

Die Arbeitsgruppe von Braak et al. (2013) beobachtete post-mortem bei ALS-Patienten eine Prionen-ähnliche kortikofugale Ausbreitung der pathologischen phosphorylierten TDP-43 Einschlüsse. Basierend auf diesen Ergebnissen wurde der Krankheitsverlauf der ALS-Patienten in vier Stadien eingeteilt (Braak et al. 2013, Brettschneider et al. 2013). Laut dieser Hypothese ist das frühe Krankheitsstadium (1) durch Läsionen im agranularen Motokortex, Hirnstamm und in den motorischen Kernen der Hirnnerven V, VII, und X–XII sowie in den  $\alpha$ -Motoneuronen des Rückenmarks charakterisiert. Das zweite Stadium zeichnet sich durch eine Beteiligung des präfrontalen Neokortex, des Hirnstamms, der Formatio reticularis, der präzerebellaren nuclei und des Nucleus ruber aus. Im dritten Stadium betrifft die pTDP-43 Pathologie den präfrontalen und postzentralen Neokortex und das Striatum. Zuletzt, im vierten Stadium, lassen sich die pTDP-43 Läsionen in anteromedialen Bereichen des Temporallappens sowie im Hippocampus nachweisen.

### **SUIT-Analyse**

In der Kleinhirnanalyse ergab sich keine signifikante Reduktion oder Zunahme der kortikalen Dichte in Phase II im Vergleich zu Phase I. Es ist anzunehmen, dass die kortikalen Veränderungen im Kleinhirn bereits in der frühen Phase auftreten und danach stabil bleiben. Jedoch wurde in der longitudinalen Studie von Bede und Hardiman (2018) mit 32 ALS-Patienten nach vier und acht Monaten eine progrediente Degeneration der Kleinhirnrinde detektiert. Um diese widersprüchlichen Ergebnisse besser zu verstehen, sollten in Zukunft longitudinale SUIT-Analysen mit Einbeziehung des D50-Modells überprüft werden. Wichtig ist dabei auch, möglichst präsymptomatische Patienten einzubeziehen.

Unsere Studie konnte mithilfe des D50-Modells und der von rD50 abgeleiteten Phasen sehr gut die Ergebnisse der longitudinalen Studien reproduzieren. Des Weiteren stehen unsere Ergebnisse im Einklang mit der Theorie von der stufenweisen

kortikofugalen Ausbreitung der ALS-bedingten Veränderungen. Somit lässt sich feststellen, dass das neue D50 Krankheitsmodell und die aus diesem Modell abgeleitete Einteilung in Krankheitsphasen sehr gut den tatsächlichen Krankheitsverlauf und die strukturellen Hirnveränderungen widerspiegelt. Dennoch ist eine longitudinale VBM-Studie mit Einbeziehung der vom D50-Modell abgeleiteten klinischen Parametern essenziell, um die bestehenden Ergebnisse zu prüfen und die Möglichkeit der standardmäßigen Anwendung des D50-Modells in klinischen Studien und im klinischen Alltag zu evaluieren.



#### 7.4 Subgruppenvergleiche bezogen auf die Krankheitsaggressivität

##### **Graue Substanz**

Interessanterweise wurde kein signifikanter Unterschied in der grauen Substanz des Großhirns zwischen den Patienten mit unterschiedlicher Krankheitsaggressivität detektiert. Diese Ergebnisse legen nahe, dass die beiden Subgruppen ein ähnliches Befallsmuster in der grauen Substanz aufweisen und die Veränderungen der weißen Substanz maßgeblich für das Fortschreiten der Erkrankung sind. Diese Annahme steht im Einklang mit dem Krankheitsmodell von Braak et al. (2013) und Brettschneider et al. (2013). In deren Modell wird angenommen, dass die Läsionen im Kortex entstehen und sich entlang der Axone ausbreiten (siehe Abschnitt 7.3). Ein fehlender signifikanter Unterschied im Kleinhirn zwischen den beiden Subgruppen in der Ganzhirnanalyse ist am ehesten auf die Vorverarbeitung zurückzuführen (siehe auch Abschnitt 5.3.2) (Diedrichsen 2006, Diedrichsen et al. 2009).

##### **Weißer Substanz**

Die Subgruppe mit einer hohen Krankheitsaggressivität ( $D50 < 30$  Monate) wies im Vergleich zur Subgruppe mit niedriger Aggressivität ( $D50 \geq 30$  Monate) eine stärkere Dichtereduktion der supratentoriellen weißen Substanz des Großhirns auf. Diese Erkenntnisse könnten in Zukunft genutzt werden, um die Patienten mit einer hohen Krankheitsaggressivität zu identifizieren und eine frühzeitige Versorgung mit supportiven Hilfsmitteln zu ermöglichen. Die signifikanten Unterschiede zeigten sich im Corpus callosum, in der Fornix, in der Capsula interna und externa, im Cingulum, in der Corona radiata, Radiatio thalami und in den Assoziationstrakten (Fasciculus longitudinalis superior und inferior, Fasciculus frontooccipitalis superior und inferior). Diese Ergebnisse wurden von Steinbach et al. (2021) mittels einer DTI Analyse in einer ähnlichen Patientengruppe bestätigt. Die Beteiligung der Capsula interna bei ALS-Patienten wurde auch von Menke et al. (2012) mit der Krankheitsprogression in einen Zusammenhang gebracht. Es wurde angenommen, dass die Veränderungen im Crus posterior der Capsula interna zur Identifizierung der Patienten mit einer schnellen Krankheitsprogression dienen könnten (Menke et al. 2012).

### **SUIT-Analyse**

Die Ergebnisse der Kleinhirnanalyse sind von hohem Interesse. Zum aktuellen Zeitpunkt gibt es nur wenig Studien, die sich auf die Veränderungen des Kleinhirns fokussieren.

In der SUIT-Kleinhirnanalyse konnte gezeigt werden, dass die Patienten mit einer hohen Krankheitsaggressivität eine hochsignifikant stärkere Reduktion der kortikalen Dichte im Vergleich zu Patienten mit niedriger Krankheitsaggressivität aufweisen. Dies war bilateral im Vermis, Crus, Lobus anterior, Lobus posterior sowie bilateral im Nucleus fastigii und Nucleus dentatus lokalisiert. Bisherige Ergebnisse deuten darauf hin, dass die neuropsychiatrischen Symptome vermehrt mit den Veränderungen im Crus und im Lobus anterior assoziiert sind und die motorische Symptomatik auf die Veränderungen des Lobus posterior zurückzuführen ist (Tan et al. 2014). Die Tatsache, dass die Patienten mit einer höheren Krankheitsaggressivität eine signifikante Atrophie in allen oben aufgeführten Arealen aufweisen, könnte ebenso bedeuten, dass sie nicht nur von stärkeren motorischen Einschränkungen, sondern auch von stärkerer kognitiver Dysfunktion betroffen sind (Tan et al. 2014, Kim et al. 2017b). Obwohl die ALS-Patienten in der vorliegenden Arbeit neuropsychiatrisch unauffällig waren, lassen sich subklinische Veränderungen nicht ausschließen. Für das bessere Verständnis sind weitere Kleinhirnanalysen an neuropsychologisch gut charakterisierten Kohorten notwendig.

Die ALS-Patienten dieser Studie wiesen im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen eine Zunahme der kortikalen Dichte im Lobus anterior und im Crus auf, die wahrscheinlich auf die frühen Kompensationsmechanismen zurückzuführen sind (Schoenfeld et al. 2005). Da die Patienten mit einer hohen Krankheitsaggressivität ( $D50 < 30$  Monate) eine kortikale Dichteabnahme auch in diesen Gebieten aufweisen, ist anzunehmen, dass eine höhere Krankheitsaggressivität mit einem früheren Verlust der Kompensationsmechanismen einhergeht.

Unsere Studie hat einen hochsignifikanten Unterschied in der grauen Substanz zwischen den Patienten mit unterschiedlicher Krankheitsaggressivität gezeigt. Da die Veränderungen der weißen Substanz des Kleinhirns in unserer Studie methodenbedingt nicht untersucht werden konnten, sind multimodale VBI- und DTI-Studien mit Einbeziehung der vom D50-Modell abgeleiteten klinischen Parameter von

besonderem Interesse. Auch DTI-Analysen mit Augenmerk auf eine Korrelation zwischen den klinischen Parametern und zerebellären Fasertrakten gilt es in Zukunft durchzuführen. Für weitere Studien ist es wichtig, die neuropsychologischen Befunde der ALS-Patienten zu dokumentieren, um zu prüfen, inwieweit die detektierten Kleinhirnveränderungen subklinische kognitive Einschränkungen verursachen.

## 7.5 Korrelationsanalysen

In vorangehenden Arbeiten wurde bereits versucht MRT-Befunde in Zusammenhang mit klinischen Daten zu bringen. Jedoch zeigte sich häufig keine Korrelation zwischen den klinischen Daten und den Veränderungen der grauen oder weißen Substanz.

Besonders schwierig war es, eine Korrelation zwischen der PR (Progressionsrate, die Anhand der Abnahme im ALSFRS-R Score berechnet wird) und VBM-Befunden zu finden. So wurde in einigen Studien eine fehlende Korrelation zwischen der PR und dem Volumen der grauen oder weißen Substanz beschrieben (Grosskreutz et al. 2006, Rajagopalan et al. 2013, Rajagopalan und Piore 2015). Dies liegt vermutlich zum einen an der starken Heterogenität innerhalb der Patientenkohorten und der geringen Probandenanzahl; aber insbesondere auch an der Ungenauigkeit der PR, den tatsächlichen Krankheitsverlauf widerzuspiegeln. Die Studie von Zhang et al. (2014) beschrieb zwar zuvor eine positive Korrelation zwischen der PR und der kortikalen Dichte im rechten prämotorischen Kortex, jedoch nur bei den Patienten, die einen Erkrankungsbeginn in den rechten Extremitäten aufweisen (rechts-spinaler Subtyp). Ein grundsätzliches Problem bei der PR ist, dass für ihre Berechnung angenommen wird, dass die ALS einen mit der Zeit linearen Krankheitsverlauf hat. Wie bereits oben dargestellt, ist aber vielmehr von einem nicht-linearen, sigmoidalen Krankheitsverlauf auszugehen (Gordon et al. 2010) (siehe auch Abschnitt 5.2.3).

Basierend auf dem D50-Modell konnte in dieser Studie erstmals eine signifikante Korrelation zwischen der kalkulierten funktionellen Verlustrate (cFL) und der Dichteabnahme der weißen Substanz gezeigt werden. Diese Korrelation betraf Assoziationsfasern der linken Hemisphäre, die Frontal-, Parietal- und Okzipitallappen untereinander vernetzen: Fasciculus longitudinalis superior, Fasciculus longitudinalis inferior und Fasciculus occipitofrontalis. Dies ist erneut mit pathophysiologischen Modellvorstellungen zu ALS von Braak et al. (2013), Brettschneider et al. (2013) zu vereinbaren. Es wird angenommen, dass die Ausbreitung der pTDP-43 Läsionen, die für den Fortschritt der ALS Erkrankung ursächlich sind, entlang dieser Assoziationsfasern geschieht (Braak et al. 2013).

Die negative Korrelation zwischen cFL und der Dichte der weißen Substanz ist ein vielversprechendes Ergebnis im Hinblick auf die Entwicklung von Biomarkern bei ALS, basierend auf Bildgebungsverfahren und somit möglicherweise ein Verfahren, ALS-Patienten mit aggressivem Krankheitsverlauf frühzeitig zu identifizieren. Auf diese Weise könnten Behandler bereits in einer sehr frühen Krankheitsphase die

Therapiemöglichkeiten mit den Betroffenen erörtern und notwendige supportive Maßnahmen einleiten. Das birgt insbesondere angesichts der fehlenden kausalen Behandlungsmöglichkeit und dem dadurch großen Stellenwert supportiver Maßnahmen einen großen Mehrwert. Dennoch sollten zunächst unsere Ergebnisse in großen multizentrischen longitudinalen Studien, die nicht nur VBM, sondern auch DTI-Analysen beinhalten, verifiziert werden.

### 7.6 Limitationen bei der Interpretation der Ergebnisse

Die Ergebnisse unserer Studie stehen im Einklang mit der aktuellen VBM-Datenlage und liefern zusätzlich neue Erkenntnisse in Bezug auf die Krankheitsphasen und - Aggressivität. Jedoch gibt es hierbei Limitationen, die bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden sollten.

So wurden in der vorliegenden Studie keine ausführlichen neuropsychologischen Testungen durchgeführt. Die neuropsychologische Charakterisierung der Patienten könnte zu einem besseren Verständnis des Zusammenhangs zwischen den subklinischen kognitiven Beeinträchtigungen und den Dichteveränderungen in den frontotemporalen und zerebellären Arealen führen.

Des Weiteren lagen uns keine genetischen Informationen über die Studienteilnehmer vor. Es wäre dennoch von besonderem Interesse, die Patienten auf das Vorliegen ALS-assoziiierter Mutationen zu untersuchen, da beispielweise die Träger der Hexanukleotid-Wiederholungsexpansion im C9orf72 durch einen früheren Krankheitsausbruch und einen rascheren Verlauf charakterisiert sind.

In Zusammenschau unserer Ergebnisse und der Theorie über die kortikofugale Ausbreitung der ALS wird die besondere Rolle der weißen Substanz bei der Krankheitsprogression verdeutlicht. Da VBM jedoch nicht in der Lage ist die Läsionen der Fasertrakte exakt zu identifizieren, wäre in Zukunft eine multimodale Studie mit VBM und DTI empfehlenswert.

Methodenbedingt, konnten mittels SUIT-Toolbox nur die Veränderungen der grauen Substanz untersucht werden. Mit Hilfe neuer Studien, die VBM und Konnektivitätsanalysen vereinen, könnte man die ALS-bedingten Veränderungen im Kleinhirn ggf. besser nachvollziehen.

## 8 Schlussfolgerungen

Ziel dieser Arbeit war es, ALS bedingte Veränderungen im Großhirn und Kleinhirn mittels VBM zu erfassen und diese im Zusammenhang mit den klinischen Parametern zu analysieren. Weiterhin sollte die Heterogenität der ALS im Hinblick auf die Subtypen untersucht und mit Hilfe des neuen D50 Krankheitsmodells erfasst werden.

Bei ALS-Patienten konnte im Vergleich zu den Kontrollpersonen eine weitreichende Dichteabnahme der grauen und weißen Substanz detektiert werden. Dies stützt die Theorie, dass ALS eine multisystemische Erkrankung ist. Das Kleinhirn wies dabei ein komplexes Muster der Reduktion der kortikalen Dichte auf. Zusätzlich konnte bei ALS-Patienten eine tendenzielle Dichtezunahme im Lobus anterior und im Crus des Kleinhirns detektiert werden, die wahrscheinlich auf frühe Kompensationsmechanismen zurückzuführen ist.

Die Patienten mit bulbärem ALS-Subtyp wiesen im Vergleich zum spinalen ALS-Subtyp eine stärkere Dichteabnahme sowohl in der grauen als auch in der weißen Substanz auf. Es konnte gezeigt werden, dass die bulbäre ALS mit einer hoch signifikant stärkeren Beteiligung der frontotemporalen Areale einhergeht. Diese Erkenntnisse stehen im Einklang mit der Beobachtung, dass die Patienten mit einer bulbären ALS viel öfter extramotorische Symptome aufweisen und durch eine schlechtere Prognose gekennzeichnet sind (Calvo et al. 2017). Beide Subtypen sollten daher in zukünftigen Analysen getrennt untersucht oder zumindest für die Region des Symptombeginns korrigiert werden.

Im Subgruppenvergleich bezogen auf Krankheitsphasen zeigten die Patienten in der Phase II ( $0,25 \leq rD50 < 0,5$ ) im Vergleich zu Phase I ( $0 \leq rD50 < 0,25$ ) eine deutlich stärkere Dichtereduktion im Frontal-, Temporal- und Okzipitallappen sowie in den supratentoriellen Projektionsbahnen. Somit ist es uns mit Hilfe des D50-Modells gelungen die Progredienz der ALS-bedingten Veränderungen über den zeitlichen Verlauf innerhalb einer Querschnittskohorte nachzuweisen. So erwies sich das D50-Modell als eine gute Ergänzung für die MRT-Analysen, um in einer Querschnittsstudie die Progredienz der ALS bedingten Veränderungen zu untersuchen. Dies ist besonders bedeutsam, da eine MRT-Untersuchung bei Patienten in späten Krankheitsphasen durch eine Ateminsuffizienz und eine invasive Beatmung erschwert sein kann. Im Kleinhirn konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Krankheitsphasen festgestellt werden. Daher ist anzunehmen, dass die

Kleinhirnveränderungen bereits in der frühen Krankheitsphase stattfinden und im zeitlichen Verlauf stabil bleiben.

Eine hohe Krankheitsaggressivität ( $D50 < 30$  Monate) ging mit einer ausgeprägten Dichtereduktion der weißen Substanz des Großhirns einher. Die Veränderungen in der weißen Substanz bei ALS-Patienten zeigten eine signifikante Korrelation mit der berechneten Funktionsverlust-Rate (cFL). Dies stellt somit eine gute Basis zur Entwicklung eines Prognose- und Progressionsbiomarkers dar.

Weitere multizentrische multimodale Studien sollten durchgeführt werden, um die Reproduzierbarkeit dieser Ergebnisse zu evaluieren und die mögliche Anwendung der MRT-basierten Untersuchungen als Biomarker der ALS zusammen mit dem D50-Modell zu prüfen.



## 9 Literaturverzeichnis

- Abdulla S, Machts J, Kaufmann J, Patrick K, Kollwe K, Dengler R, Heinze HJ, Petri S, Vielhaber S, Nestor PJ. 2014. Hippocampal degeneration in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Aging*, 35 (11):2639-2645.
- Abe K, Fujimura H, Kobayashi Y, Fujita N, Yanagihara T. 1997. Degeneration of the pyramidal tracts in patients with amyotrophic lateral sclerosis. A premortem and postmortem magnetic resonance imaging study. *J Neuroimaging*, 7 (4):208-212.
- Abrahams S, Goldstein LH, Kew JJ, Brooks DJ, Lloyd CM, Frith CD, Leigh PN. 1996. Frontal lobe dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis. A PET study. *Brain*, 119 ( Pt 6):2105-2120.
- Abrahams S, Goldstein LH, Suckling J, Ng V, Simmons A, Chitnis X, Atkins L, Williams SC, Leigh PN. 2005. Frontotemporal white matter changes in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol*, 252 (3):321-331.
- Agosta F, Pagani E, Rocca MA, Caputo D, Perini M, Salvi F, Prella A, Filippi M. 2007. Voxel-based morphometry study of brain volumetry and diffusivity in amyotrophic lateral sclerosis patients with mild disability. *Hum Brain Mapp*, 28 (12):1430-1438.
- Agosta F, Chio A, Cosottini M, De Stefano N, Falini A, Mascalchi M, Rocca MA, Silani V, Tedeschi G, Filippi M. 2010. The present and the future of neuroimaging in amyotrophic lateral sclerosis. *AJNR Am J Neuroradiol*, 31 (10):1769-1777.
- Agosta F, Al-Chalabi A, Filippi M, Hardiman O, Kaji R, Meininger V, Nakano I, Shaw P, Shefner J, van den Berg LH, Ludolph A, ALS/MND WFNRGo. 2015. The El Escorial criteria: strengths and weaknesses. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*, 16 (1-2):1-7.
- Agosta F, Ferraro PM, Riva N, Spinelli EG, Chio A, Canu E, Valsasina P, Lunetta C, Iannaccone S, Copetti M, Prudente E, Comi G, Falini A, Filippi M. 2016. Structural brain correlates of cognitive and behavioral impairment in MND. *Hum Brain Mapp*, 37 (4):1614-1626.
- Andersen PM, Forsgren L, Binzer M, Nilsson P, Ala-Hurula V, Keranen ML, Bergmark L, Saarinen A, Haltia T, Tarvainen I, Kinnunen E, Udd B, Marklund SL. 1996. Autosomal recessive adult-onset amyotrophic lateral sclerosis associated with homozygosity for Asp90Ala CuZn-superoxide dismutase mutation. A clinical and genealogical study of 36 patients. *Brain*, 119 ( Pt 4):1153-1172.
- Aragones JM, Altimiras J, Roura-Poch P, Homs E, Bajo L, Povedano M, Cortes-Vicente E, Illa I, Al-Chalabi A, Rojas-Garcia R. 2016. Amyotrophic lateral sclerosis: A higher than expected incidence in people over 80 years of age. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*, 17 (7-8):522-527.

- Arthur KC, Calvo A, Price TR, Geiger JT, Chio A, Traynor BJ. 2016. Projected increase in amyotrophic lateral sclerosis from 2015 to 2040. *Nat Commun*, 7:12408.
- Ashburner J. 2007. A fast diffeomorphic image registration algorithm. *Neuroimage*, 38 (1):95-113.
- Ashburner J. 2009. Computational anatomy with the SPM software. *Magn Reson Imaging*, 27 (8):1163-1174.
- Ashburner J, Friston KJ. 2000. Voxel-based morphometry--the methods. *Neuroimage*, 11 (6 Pt 1):805-821.
- Ashburner J, Friston KJ. 2005. Unified segmentation. *Neuroimage*, 26 (3):839-851.
- Baker CM, Burks JD, Briggs RG, Milton CK, Conner AK, Glenn CA, Sali G, McCoy TM, Battiste JD, O'Donoghue DL, Sughrue ME. 2018. A Connectomic Atlas of the Human Cerebrum-Chapter 6: The Temporal Lobe. *Operative Neurosurgery*, 15:S245-S294.
- Bang J, Spina S, Miller BL. 2015. Frontotemporal dementia. *Lancet*, 386 (10004):1672-1682.
- Basser PJ, Mattiello J, LeBihan D. 1994. Estimation of the effective self-diffusion tensor from the NMR spin echo. *J Magn Reson B*, 103 (3):247-254.
- Bede P, Hardiman O. 2018. Longitudinal structural changes in ALS: a three time-point imaging study of white and gray matter degeneration. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*, 19 (3-4):232-241.
- Bede P, Bokde AL, Byrne S, Elamin M, McLaughlin RL, Kenna K, Fagan AJ, Pender N, Bradley DG, Hardiman O. 2013a. Multiparametric MRI study of ALS stratified for the C9orf72 genotype. *Neurology*, 81 (4):361-369.
- Bede P, Bokde A, Elamin M, Byrne S, McLaughlin RL, Jordan N, Hampel H, Gallagher L, Lynch C, Fagan AJ, Pender N, Hardiman O. 2013b. Grey matter correlates of clinical variables in amyotrophic lateral sclerosis (ALS): a neuroimaging study of ALS motor phenotype heterogeneity and cortical focality. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 84 (7):766-773.
- Beeldman E, Raaphorst J, Klein Twennaar M, de Visser M, Schmand BA, de Haan RJ. 2016. The cognitive profile of ALS: a systematic review and meta-analysis update. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 87 (6):611-619.
- Bensimon G, Lacomblez L, Meininger V. 1994. A controlled trial of riluzole in amyotrophic lateral sclerosis. ALS/Riluzole Study Group. *N Engl J Med*, 330 (9):585-591.
- Bond L, Ganguly P, Khamankar N, Mallet N, Bowen G, Green B, Mitchell CS. 2019. A Comprehensive Examination of Percutaneous Endoscopic Gastrostomy and Its Association with Amyotrophic Lateral Sclerosis Patient Outcomes. *Brain Sci*, 9 (9).

- Braak H, Brettschneider J, Ludolph AC, Lee VM, Trojanowski JQ, Del Tredici K. 2013. Amyotrophic lateral sclerosis--a model of corticofugal axonal spread. *Nat Rev Neurol*, 9 (12):708-714.
- Brettschneider J, Del Tredici K, Toledo JB, Robinson JL, Irwin DJ, Grossman M, Suh E, Van Deerlin VM, Wood EM, Baek Y, Kwong L, Lee EB, Elman L, McCluskey L, Fang L, Feldengut S, Ludolph AC, Lee VM, Braak H, Trojanowski JQ. 2013. Stages of pTDP-43 pathology in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol*, 74 (1):20-38.
- Brooks BR, Miller RG, Swash M, Munsat TL, World Federation of Neurology Research Group on Motor Neuron D. 2000. El Escorial revisited: revised criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord*, 1 (5):293-299.
- Buchanan TW, Lutz K, Mirzazade S, Specht K, Shah NJ, Zilles K, Jancke L. 2000. Recognition of emotional prosody and verbal components of spoken language: an fMRI study. *Cognitive Brain Research*, 9 (3):227-238.
- Bueno APA, Pinaya WHL, Moura LM, Bertoux M, Radakovic R, Kiernan MC, Teixeira AL, de Souza LC, Hornberger M, Sato JR. 2018. Structural and functional papez circuit integrity in amyotrophic lateral sclerosis. *Brain Imaging Behav*, 12 (6):1622-1630.
- Burkhardt C, Neuwirth C, Sommacal A, Andersen PM, Weber M. 2017. Is survival improved by the use of NIV and PEG in amyotrophic lateral sclerosis (ALS)? A post-mortem study of 80 ALS patients. *PLoS One*, 12 (5):e0177555.
- Burrell JR, Kiernan MC, Vucic S, Hodges JR. 2011. Motor neuron dysfunction in frontotemporal dementia. *Brain*, 134 (Pt 9):2582-2594.
- Buzsaki G, Moser EI. 2013. Memory, navigation and theta rhythm in the hippocampal-entorhinal system. *Nat Neurosci*, 16 (2):130-138.
- Byrne S, Elamin M, Bede P, Shatunov A, Walsh C, Corr B, Heverin M, Jordan N, Kenna K, Lynch C, McLaughlin RL, Iyer PM, O'Brien C, Phukan J, Wynne B, Bokde AL, Bradley DG, Pender N, Al-Chalabi A, Hardiman O. 2012. Cognitive and clinical characteristics of patients with amyotrophic lateral sclerosis carrying a C9orf72 repeat expansion: a population-based cohort study. *Lancet Neurol*, 11 (3):232-240.
- Calvo A, Moglia C, Lunetta C, Marinou K, Ticozzi N, Ferrante GD, Scialo C, Soraru G, Trojsi F, Conte A, Falzone YM, Tortelli R, Russo M, Chio A, Sansone VA, Mora G, Silani V, Volanti P, Caponnetto C, Querin G, Monsurro MR, Sabatelli M, Riva N, Logroscino G, Messina S, Fini N, Mandrioli J. 2017. Factors predicting survival in ALS: a multicenter Italian study. *J Neurol*, 264 (1):54-63.
- Camu W, Khoris J, Moulard B, Salachas F, Briolotti V, Rouleau GA, Meininger V. 1999. Genetics of familial ALS and consequences for diagnosis. French ALS Research Group. *J Neurol Sci*, 165 Suppl 1:S21-26.

- Canu E, Agosta F, Riva N, Sala S, Prella A, Caputo D, Perini M, Comi G, Filippi M. 2011. The topography of brain microstructural damage in amyotrophic lateral sclerosis assessed using diffusion tensor MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol*, 32 (7):1307-1314.
- Carvalho MD, Swash M. 2009. Awaji diagnostic algorithm increases sensitivity of El Escorial criteria for ALS diagnosis. *Amyotroph Lateral Scler*, 10 (1):53-57.
- Cedarbaum JM, Stambler N, Malta E, Fuller C, Hilt D, Thurmond B, Nakanishi A. 1999. The ALSFRS-R: a revised ALS functional rating scale that incorporates assessments of respiratory function. BDNF ALS Study Group (Phase III). *J Neurol Sci*, 169 (1-2):13-21.
- Hrsg. 1869. Deux cas d'atrophie musculaire progressive : avec lésions de la substance grise et des faisceaux antéro-latéraux de la moelle épinière. *Archives de physiologie normale et pathologique* 2.
- Charil A, Corbo M, Filippi M, Kesavadas C, Agosta F, Munerati E, Gambini A, Comi G, Scotti G, Falini A. 2009. Structural and metabolic changes in the brain of patients with upper motor neuron disorders: a multiparametric MRI study. *Amyotroph Lateral Scler*, 10 (5-6):269-279.
- Chen G, Zhou B, Zhu H, Kuang W, Bi F, Ai H, Gu Z, Huang X, Lui S, Gong Q. 2018a. White matter volume loss in amyotrophic lateral sclerosis: A meta-analysis of voxel-based morphometry studies. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 83:110-117.
- Chen ZY, Liu MQ, Ma L. 2018b. Gray Matter Volume Changes over the Whole Brain in the Bulbar- and Spinal-onset Amyotrophic Lateral Sclerosis: a Voxel-based Morphometry Study. *Chin Med Sci J*, 33 (1):20-28.
- Chio A, Pagani M, Agosta F, Calvo A, Cistaro A, Filippi M. 2014. Neuroimaging in amyotrophic lateral sclerosis: insights into structural and functional changes. *Lancet Neurol*, 13 (12):1228-1240.
- Chio A, Traynor BJ, Lombardo F, Fimognari M, Calvo A, Ghiglione P, Mutani R, Restagno G. 2008. Prevalence of SOD1 mutations in the Italian ALS population. *Neurology*, 70 (7):533-537.
- Chio A, Calvo A, Moglia C, Gamna F, Mattei A, Mazzini L, Mora G, Parals. 2012. Non-invasive ventilation in amyotrophic lateral sclerosis: a 10 year population based study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 83 (4):377-381.
- Chipika RH, Christidi F, Finegan E, Li Hi Shing S, McKenna MC, Chang KM, Karavasilis E, Doherty MA, Hengeveld JC, Vajda A, Pender N, Hutchinson S, Donaghy C, McLaughlin RL, Hardiman O, Bede P. 2020. Amygdala pathology in amyotrophic lateral sclerosis and primary lateral sclerosis. *J Neurol Sci*, 417:117039.
- Christidi F, Karavasilis E, Ferentinos P, Xirou S, Velonakis G, Rentzos M, Zouvelou V, Zalonis I, Efsthathopoulos E, Kelekis N, Evdokimidis I. 2018a. Investigating the neuroanatomical substrate of pathological laughing and crying in

- amyotrophic lateral sclerosis with multimodal neuroimaging techniques. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*, 19 (1-2):12-20.
- Christidi F, Karavasilis E, Velonakis G, Rentzos M, Zambelis T, Zouvelou V, Xirou S, Ferentinos P, Efstathopoulos E, Kelekis N, Evdokimidis I, Karandreas N. 2018b. Motor and extra-motor gray matter integrity may underlie neurophysiologic parameters of motor function in amyotrophic lateral sclerosis: a combined voxel-based morphometry and transcranial stimulation study. *Brain Imaging Behav*, 12 (6):1730-1741.
- Christidi F, Karavasilis E, Riederer F, Zalonis I, Ferentinos P, Velonakis G, Xirou S, Rentzos M, Argiropoulos G, Zouvelou V, Zambelis T, Athanasakos A, Toulas P, Vadikolias K, Efstathopoulos E, Kollias S, Karandreas N, Kelekis N, Evdokimidis I. 2018c. Gray matter and white matter changes in non-demented amyotrophic lateral sclerosis patients with or without cognitive impairment: A combined voxel-based morphometry and tract-based spatial statistics whole-brain analysis. *Brain Imaging Behav*, 12 (2):547-563.
- Ciccarelli O, Behrens TE, Altmann DR, Orrell RW, Howard RS, Johansen-Berg H, Miller DH, Matthews PM, Thompson AJ. 2006. Probabilistic diffusion tractography: a potential tool to assess the rate of disease progression in amyotrophic lateral sclerosis. *Brain*, 129 (Pt 7):1859-1871.
- Ciccarelli O, Behrens TE, Johansen-Berg H, Talbot K, Orrell RW, Howard RS, Nunes RG, Miller DH, Matthews PM, Thompson AJ, Smith SM. 2009. Investigation of white matter pathology in ALS and PLS using tract-based spatial statistics. *Hum Brain Mapp*, 30 (2):615-624.
- Cooper-Knock J, Ahmedzai SH, Shaw P. 2011. The use of subcutaneous glycopyrrolate in the management of sialorrhoea and facilitating the use of non-invasive ventilation in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler*, 12 (6):464-465.
- Cosottini M, Pesaresi I, Piazza S, Diciotti S, Belmonte G, Battaglini M, Ginestroni A, Siciliano G, De Stefano N, Mascalchi M. 2011. Magnetization transfer imaging demonstrates a distributed pattern of microstructural changes of the cerebral cortex in amyotrophic lateral sclerosis. *AJNR Am J Neuroradiol*, 32 (4):704-708.
- Costa J, Swash M, de Carvalho M. 2012. Awaji criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review. *Arch Neurol*, 69 (11):1410-1416.
- Cudkowicz ME, McKenna-Yasek D, Sapp PE, Chin W, Geller B, Hayden DL, Schoenfeld DA, Hosler BA, Horvitz HR, Brown RH. 1997. Epidemiology of mutations in superoxide dismutase in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol*, 41 (2):210-221.
- da Rocha AJ, Oliveira AS, Fonseca RB, Maia AC, Jr., Buainain RP, Lederman HM. 2004. Detection of corticospinal tract compromise in amyotrophic lateral sclerosis with brain MR imaging: relevance of the T1-weighted spin-echo

- magnetization transfer contrast sequence. *AJNR Am J Neuroradiol*, 25 (9):1509-1515.
- Dahnke RZ, G.; Gaser, C. Local Adaptive Segmentation <http://www.neuro.uni-jena.de/hbm2012/HBM2012-Dahnke02.pdf>.
- Davenport RJ, Swingler RJ, Chancellor AM, Warlow CP. 1996. Avoiding false positive diagnoses of motor neuron disease: lessons from the Scottish Motor Neuron Disease Register. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 60 (2):147-151.
- de Carvalho M, Dengler R, Eisen A, England JD, Kaji R, Kimura J, Mills K, Mitsumoto H, Nodera H, Shefner J, Swash M. 2008. Electrodiagnostic criteria for diagnosis of ALS. *Clin Neurophysiol*, 119 (3):497-503.
- De Marco M, Merico A, Berta G, Segato N, Citton V, Baglione A, Venneri A. 2015. Morphometric correlates of dysarthric deficit in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*, 16 (7-8):464-472.
- DeJesus-Hernandez M, Mackenzie IR, Boeve BF, Boxer AL, Baker M, Rutherford NJ, Nicholson AM, Finch NA, Flynn H, Adamson J, Kouri N, Wojtas A, Sengdy P, Hsiung GY, Karydas A, Seeley WW, Josephs KA, Coppola G, Geschwind DH, Wszolek ZK, Feldman H, Knopman DS, Petersen RC, Miller BL, Dickson DW, Boylan KB, Graff-Radford NR, Rademakers R. 2011. Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in noncoding region of C9ORF72 causes chromosome 9p-linked FTD and ALS. *Neuron*, 72 (2):245-256.
- Deng HX, Chen W, Hong ST, Boycott KM, Gorrie GH, Siddique N, Yang Y, Fecto F, Shi Y, Zhai H, Jiang H, Hirano M, Rampersaud E, Jansen GH, Donkervoort S, Bigio EH, Brooks BR, Ajroud K, Sufit RL, Haines JL, Mugnaini E, Pericak-Vance MA, Siddique T. 2011. Mutations in UBQLN2 cause dominant X-linked juvenile and adult-onset ALS and ALS/dementia. *Nature*, 477 (7363):211-215.
- Desport JC, Preux PM, Magy L, Boirie Y, Vallat JM, Beaufriere B, Couratier P. 2001. Factors correlated with hypermetabolism in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Am J Clin Nutr*, 74 (3):328-334.
- Devinsky O, Morrell MJ, Vogt BA. 1995. Contributions of Anterior Cingulate Cortex to Behaviour. *Brain*, 118:279-306.
- Diedrichsen J. 2006. A spatially unbiased atlas template of the human cerebellum. *Neuroimage*, 33 (1):127-138.
- Diedrichsen J, Balsters JH, Flavell J, Cussans E, Ramnani N. 2009. A probabilistic MR atlas of the human cerebellum. *Neuroimage*, 46 (1):39-46.
- Dorst J, Ludolph AC, Huebers A. 2018. Disease-modifying and symptomatic treatment of amyotrophic lateral sclerosis. *Ther Adv Neurol Disord*, 11:1756285617734734.
- Douaud G, Filippini N, Knight S, Talbot K, Turner MR. 2011. Integration of structural and functional magnetic resonance imaging in amyotrophic lateral sclerosis. *Brain*, 134 (Pt 12):3470-3479.

- Elamin M, Phukan J, Bede P, Jordan N, Byrne S, Pender N, Hardiman O. 2011. Executive dysfunction is a negative prognostic indicator in patients with ALS without dementia. *Neurology*, 76 (14):1263-1269.
- Ellis CM, Suckling J, Amaro E, Jr., Bullmore ET, Simmons A, Williams SC, Leigh PN. 2001. Volumetric analysis reveals corticospinal tract degeneration and extramotor involvement in ALS. *Neurology*, 57 (9):1571-1578.
- Ellis CM, Simmons A, Jones DK, Bland J, Dawson JM, Horsfield MA, Williams SC, Leigh PN. 1999. Diffusion tensor MRI assesses corticospinal tract damage in ALS. *Neurology*, 53 (5):1051-1058.
- Filippini N, Douaud G, Mackay CE, Knight S, Talbot K, Turner MR. 2010. Corpus callosum involvement is a consistent feature of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology*, 75 (18):1645-1652.
- Fogwe LA, Reddy V, Mesfin FB. 2020. Neuroanatomy, Hippocampus. StatPearls. Treasure Island (FL).
- Franchignoni F, Mora G, Giordano A, Volanti P, Chio A. 2013. Evidence of multidimensionality in the ALSFRS-R Scale: a critical appraisal on its measurement properties using Rasch analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 84 (12):1340-1345.
- Fridovich I. 1986. Superoxide dismutases. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol*, 58:61-97.
- Gallagher JP. 1989. Pathologic laughter and crying in ALS: a search for their origin. *Acta Neurol Scand*, 80 (2):114-117.
- Gao FB, Almeida S, Lopez-Gonzalez R. 2017. Dysregulated molecular pathways in amyotrophic lateral sclerosis-frontotemporal dementia spectrum disorder. *EMBO J*, 36 (20):2931-2950.
- Gordon PH, Cheng B, Salachas F, Pradat PF, Bruneteau G, Corcia P, Lacomblez L, Meininger V. 2010. Progression in ALS is not linear but is curvilinear. *J Neurol*, 257 (10):1713-1717.
- Graham JM, Papadakis N, Evans J, Widjaja E, Romanowski CA, Paley MN, Wallis LI, Wilkinson ID, Shaw PJ, Griffiths PD. 2004. Diffusion tensor imaging for the assessment of upper motor neuron integrity in ALS. *Neurology*, 63 (11):2111-2119.
- Greenlee JDW, Oya H, Kawasaki H, Volkov IO, Severson MA, Howard MA, Brugge JF. 2007. Functional connections within the human inferior frontal gyrus. *Journal of Comparative Neurology*, 503 (4):550-559.
- Grosskreutz J, Kaufmann J, Fradrich J, Dengler R, Heinze HJ, Peschel T. 2006. Widespread sensorimotor and frontal cortical atrophy in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *BMC Neurol*, 6:17.

- Grosskreutz J, Peschel T, Unrath A, Dengler R, Albert CL, Kassubek J. 2008. Whole brain-based computerized neuroimaging in ALS and other motor neuron disorders. *Amyotrophic Lateral Sclerosis*.
- Hartung V, Prell T, Gaser C, Turner MR, Tietz F, al. e. 2014. Voxel-Based MRI Intensitometry Reveals Extent of Cerebral White Matter Pathology in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *PLoS ONE*.
- Hecht MJ, Fellner F, Fellner C, Hilz MJ, Neundorfer B, Heuss D. 2002. Hyperintense and hypointense MRI signals of the precentral gyrus and corticospinal tract in ALS: a follow-up examination including FLAIR images. *J Neurol Sci*, 199 (1-2):59-65.
- Hong YH, Lee KW, Sung JJ, Chang KH, Song IC. 2004. Diffusion tensor MRI as a diagnostic tool of upper motor neuron involvement in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci*, 227 (1):73-78.
- Huynh W, Simon NG, Grosskreutz J, Turner MR, Vucic S, Kiernan MC. 2016. Assessment of the upper motor neuron in amyotrophic lateral sclerosis. *Clin Neurophysiol*, 127 (7):2643-2660.
- Ishikawa K, Nagura H, Yokota T, Yamanouchi H. 1993. Signal loss in the motor cortex on magnetic resonance images in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol*, 33 (2):218-222.
- Jackson CE, Gronseth G, Rosenfeld J, Barohn RJ, Dubinsky R, Simpson CB, McVey A, Kittrell PP, King R, Herbelin L, Muscle Study G. 2009. Randomized double-blind study of botulinum toxin type B for sialorrhea in ALS patients. *Muscle Nerve*, 39 (2):137-143.
- Javed K, Reddy V, Lui F. 2020. *Neuroanatomy, Cerebral Cortex*. StatPearls. Treasure Island (FL).
- Kassubek J, Unrath A, Huppertz HJ, Lule D, Ethofer T, Sperfeld AD, Ludolph AC. 2005. Global brain atrophy and corticospinal tract alterations in ALS, as investigated by voxel-based morphometry of 3-D MRI. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord*, 6 (4):213-220.
- Kato Y, Matsumura K, Kinoshita Y, Narita Y, Kuzuhara S, Nakagawa T. 1997. Detection of pyramidal tract lesions in amyotrophic lateral sclerosis with magnetization-transfer measurements. *AJNR Am J Neuroradiol*, 18 (8):1541-1547.
- Keil C, Prell T, Peschel T, Hartung V, Dengler R, Grosskreutz J. 2012. Longitudinal diffusion tensor imaging in amyotrophic lateral sclerosis. *BMC Neurosci*, 13:141.
- Kiernan MC, Vucic S, Cheah BC, Turner MR, Eisen A, Hardiman O, Burrell JR, Zoing MC. 2011. Amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet*, 377 (9769):942-955.
- Kim HJ, de Leon M, Wang X, Kim HY, Lee YJ, Kim YH, Kim SH. 2017a. Relationship between Clinical Parameters and Brain Structure in Sporadic Amyotrophic



- Lateral Sclerosis Patients According to Onset Type: A Voxel-Based Morphometric Study. *PLoS One*, 12 (1):e0168424.
- Kim HJ, Oh SI, de Leon M, Wang X, Oh KW, Park JS, Deshpande A, Buj M, Kim SH. 2017b. Structural explanation of poor prognosis of amyotrophic lateral sclerosis in the non-demented state. *Eur J Neurol*, 24 (1):122-129.
- Kimura F, Fujimura C, Ishida S, Nakajima H, Furutama D, Uehara H, Shinoda K, Sugino M, Hanafusa T. 2006. Progression rate of ALSFRS-R at time of diagnosis predicts survival time in ALS. *Neurology*, 66 (2):265-267.
- Klavzar P, Koritnik B, Leonardis L, Dolenc Groselj L, Kirbis M, Ristic Kovacic S, Klinar P, Pohar Perme M, Zidar J. 2020. Improvements in the multidisciplinary care are beneficial for survival in amyotrophic lateral sclerosis (ALS): experience from a tertiary ALS center. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*, 21 (3-4):203-208.
- Konrad C, Jansen A, Henningsen H, Sommer J, Turski PA, Brooks BR, Knecht S. 2006. Subcortical reorganization in amyotrophic lateral sclerosis. *Exp Brain Res*, 172 (3):361-369.
- Konrad C, Henningsen H, Bremer J, Mock B, Deppe M, Buchinger C, Turski P, Knecht S, Brooks B. 2002. Pattern of cortical reorganization in amyotrophic lateral sclerosis: a functional magnetic resonance imaging study. *Exp Brain Res*, 143 (1):51-56.
- Korner S, Hendricks M, Kollwe K, Zapf A, Dengler R, Silani V, Petri S. 2013a. Weight loss, dysphagia and supplement intake in patients with amyotrophic lateral sclerosis (ALS): impact on quality of life and therapeutic options. *BMC Neurol*, 13:84.
- Korner S, Sieniawski M, Kollwe K, Rath KJ, Krampfl K, Zapf A, Dengler R, Petri S. 2013b. Speech therapy and communication device: impact on quality of life and mood in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*, 14 (1):20-25.
- Kwan JY, Meoded A, Danielian LE, Wu T, Floeter MK. 2012. Structural imaging differences and longitudinal changes in primary lateral sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis. *Neuroimage Clin*, 2:151-160.
- Kwiatkowski TJ, Jr., Bosco DA, Leclerc AL, Tamrazian E, Vanderburg CR, Russ C, Davis A, Gilchrist J, Kasarskis EJ, Munsat T, Valdmanis P, Rouleau GA, Hosler BA, Cortelli P, de Jong PJ, Yoshinaga Y, Haines JL, Pericak-Vance MA, Yan J, Ticozzi N, Siddique T, McKenna-Yasek D, Sapp PC, Horvitz HR, Landers JE, Brown RH, Jr. 2009. Mutations in the FUS/TLS gene on chromosome 16 cause familial amyotrophic lateral sclerosis. *Science*, 323 (5918):1205-1208.
- Lacomblez L, Bensimon G, Leigh PN, Guillet P, Powe L, Durrleman S, Delumeau JC, Meininger V. 1996. A confirmatory dose-ranging study of riluzole in ALS. ALS/Riluzole Study Group-II. *Neurology*, 47 (6 Suppl 4):S242-250.

- Lagier-Tourenne C, Cleveland DW. 2009. Rethinking ALS: the FUS about TDP-43. *Cell*, 136 (6):1001-1004.
- Le Bihan D, Poupon C, Amadon A, Lethimonnier F. 2006. Artifacts and pitfalls in diffusion MRI. *J Magn Reson Imaging*, 24 (3):478-488.
- Le Bihan D, Breton E, Lallemand D, Grenier P, Cabanis E, Laval-Jeantet M. 1986. MR imaging of intravoxel incoherent motions: application to diffusion and perfusion in neurologic disorders. *Radiology*, 161 (2):401-407.
- Leighton DJ, Newton J, Stephenson LJ, Colville S, Davenport R, Gorrie G, Morrison I, Swingler R, Chandran S, Pal S, Consortium C-M. 2019. Changing epidemiology of motor neurone disease in Scotland. *J Neurol*, 266 (4):817-825.
- Lillo P, Mioshi E, Burrell JR, Kiernan MC, Hodges JR, Hornberger M. 2012. Grey and white matter changes across the amyotrophic lateral sclerosis-frontotemporal dementia continuum. *PLoS One*, 7 (8):e43993.
- Logroscino G, Traynor BJ, Hardiman O, Chio A, Mitchell D, Swingler RJ, Millul A, Benn E, Beghi E, Eurals. 2010. Incidence of amyotrophic lateral sclerosis in Europe. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 81 (4):385-390.
- Lule D, Kurt A, Jurgens R, Kassubek J, Diekmann V, Kraft E, Neumann N, Ludolph AC, Birbaumer N, Anders S. 2005. Emotional responding in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol*, 252 (12):1517-1524.
- Mandrioli J, Faglioni P, Nichelli P, Sola P. 2006. Amyotrophic lateral sclerosis: prognostic indicators of survival. *Amyotroph Lateral Scler*, 7 (4):211-220.
- Manjon JV, Coupe P, Marti-Bonmati L, Collins DL, Robles M. 2010. Adaptive non-local means denoising of MR images with spatially varying noise levels. *J Magn Reson Imaging*, 31 (1):192-203.
- Mechelli A, Price CJ, Friston KJ, Ashburner J. 2005. Voxel-based morphometry of the human brain: Methods and applications. *Current Medical Imaging Reviews*, 1 (2):105-113.
- Menke RA, Agosta F, Grosskreutz J, Filippi M, Turner MR. 2017. Neuroimaging Endpoints in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurotherapeutics*, 14 (1):11-23.
- Menke RA, Abraham I, Thiel CS, Filippini N, Knight S, Talbot K, Turner MR. 2012. Fractional anisotropy in the posterior limb of the internal capsule and prognosis in amyotrophic lateral sclerosis. *Arch Neurol*, 69 (11):1493-1499.
- Menke RA, Korner S, Filippini N, Douaud G, Knight S, Talbot K, Turner MR. 2014. Widespread grey matter pathology dominates the longitudinal cerebral MRI and clinical landscape of amyotrophic lateral sclerosis. *Brain*, 137 (Pt 9):2546-2555.

- Menke RAL, Proudfoot M, Talbot K, Turner MR. 2018. The two-year progression of structural and functional cerebral MRI in amyotrophic lateral sclerosis. *Neuroimage Clin*, 17:953-961.
- Meyer R, Spittel S, Steinfurth L, Funke A, Kettemann D, Munch C, Meyer T, Maier A. 2018. Patient-Reported Outcome of Physical Therapy in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Observational Online Study. *JMIR Rehabil Assist Technol*, 5 (2):e10099.
- Mezzapesa DM, Ceccarelli A, Dicuonzo F, Carella A, De Caro MF, Lopez M, Samarelli V, Livrea P, Simone IL. 2007. Whole-brain and regional brain atrophy in amyotrophic lateral sclerosis. *AJNR Am J Neuroradiol*, 28 (2):255-259.
- Miller RG, Mitchell JD, Lyon M, Moore DH. 2007. Riluzole for amyotrophic lateral sclerosis (ALS)/motor neuron disease (MND). *Cochrane Database Syst Rev*, (1):CD001447.
- Mioshi E, Lillo P, Yew B, Hsieh S, Savage S, Hodges JR, Kiernan MC, Hornberger M. 2013. Cortical atrophy in ALS is critically associated with neuropsychiatric and cognitive changes. *Neurology*, 80 (12):1117-1123.
- Mohammadi B, Kollwe K, Samii A, Krampfl K, Dengler R, Munte TF. 2009. Changes of resting state brain networks in amyotrophic lateral sclerosis. *Exp Neurol*, 217 (1):147-153.
- Morgan S, Orrell RW. 2016. Pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis. *Br Med Bull*, 119 (1):87-98.
- Moura MC, Novaes MR, Eduardo EJ, Zago YS, Freitas Rdel N, Casulari LA. 2015. Prognostic Factors in Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Population-Based Study. *PLoS One*, 10 (10):e0141500.
- Nass RD, Meister IG, Haupt WF, Fink GR. 2012. [ALS and frontotemporal dementia - case report and review of the literature]. *Fortschr Neurol Psychiatr*, 80 (12):711-719.
- Neumann M, Sampathu DM, Kwong LK, Truax AC, Micsenyi MC, Chou TT, Bruce J, Schuck T, Grossman M, Clark CM, McCluskey LF, Miller BL, Masliah E, Mackenzie IR, Feldman H, Feiden W, Kretzschmar HA, Trojanowski JQ, Lee VM. 2006. Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science*, 314 (5796):130-133.
- Norris F, Shepherd R, Denys E, U K, Mukai E, Elias L, Holden D, Norris H. 1993. Onset, natural history and outcome in idiopathic adult motor neuron disease. *J Neurol Sci*, 118 (1):48-55.
- Oba H, Araki T, Ohtomo K, Monzawa S, Uchiyama G, Koizumi K, Nogata Y, Kachi K, Shiozawa Z, Kobayashi M. 1993. Amyotrophic lateral sclerosis: T2 shortening in motor cortex at MR imaging. *Radiology*, 189 (3):843-846.

- Paipa AJ, Povedano M, Barcelo A, Dominguez R, Saez M, Turon J, Prats E, Farrero E, Virgili N, Martinez JA, Corbella X. 2019. Survival benefit of multidisciplinary care in amyotrophic lateral sclerosis in Spain: association with noninvasive mechanical ventilation. *J Multidiscip Healthc*, 12:465-470.
- Palese F, Sartori A, Verriello L, Ros S, Passadore P, Manganotti P, Barbone F, Pisa FE. 2019. Epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis in Friuli-Venezia Giulia, North-Eastern Italy, 2002-2014: a retrospective population-based study. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*, 20 (1-2):90-99.
- Peters OM, Ghasemi M, Brown RH, Jr. 2015. Emerging mechanisms of molecular pathology in ALS. *J Clin Invest*, 125 (5):1767-1779.
- Phukan J, Pender NP, Hardiman O. 2007. Cognitive impairment in amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet Neurol*, 6 (11):994-1003.
- Pinto S, Carvalho M. 2014. Breathing new life into treatment advances for respiratory failure in amyotrophic lateral sclerosis patients. *Neurodegener Dis Manag*, 4 (1):83-102.
- Poesen K, De Schaepdryver M, Stubendorff B, Gille B, Muckova P, Wendler S, Prell T, Ringer TM, Rhode H, Stevens O, Claeys KG, Couwelier G, D'Hondt A, Lamaire N, Tilkin P, Van Reijen D, Gourmaud S, Fedtke N, Heiling B, Rumpel M, Rodiger A, Gunkel A, Witte OW, Paquet C, Vandenberghe R, Grosskreutz J, Van Damme P. 2017. Neurofilament markers for ALS correlate with extent of upper and lower motor neuron disease. *Neurology*, 88 (24):2302-2309.
- Prell T, Grosskreutz J. 2013. The involvement of the cerebellum in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*, 14 (7-8):507-515.
- Prell T, Gaur N, Steinbach R, Witte OW, Grosskreutz J. 2020. Modelling disease course in amyotrophic lateral Sclerosis: pseudo-longitudinal insights from cross-sectional health-related quality of life data. *Health Qual Life Outcomes*, 18 (1):117.
- Prell T, Ringer TM, Wullenkord K, Garrison P, Gunkel A, Stubendorff B, Witte OW, Grosskreutz J. 2016. Assessment of pulmonary function in amyotrophic lateral sclerosis: when can polygraphy help evaluate the need for non-invasive ventilation? *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 87 (9):1022-1026.
- Rajagopalan V, Piore EP. 2015. Disparate voxel based morphometry (VBM) results between SPM and FSL softwares in ALS patients with frontotemporal dementia: which VBM results to consider? *BMC Neurol*, 15:32.
- Rajagopalan V, Liu Z, Allexandre D, Zhang L, Wang XF, Piore EP, Yue GH. 2013. Brain white matter shape changes in amyotrophic lateral sclerosis (ALS): a fractal dimension study. *PLoS One*, 8 (9):e73614.
- Rajapakse JC, Giedd JN, Rapoport JL. 1997. Statistical approach to segmentation of single-channel cerebral MR images. *IEEE Trans Med Imaging*, 16 (2):176-186.

- Rehman A, Al Khalili Y. 2020. Neuroanatomy, Occipital Lobe. StatPearls. Treasure Island (FL).
- Renton AE, Chio A, Traynor BJ. 2014. State of play in amyotrophic lateral sclerosis genetics. *Nat Neurosci*, 17 (1):17-23.
- Renton AE, Majounie E, Waite A, Simon-Sanchez J, Rollinson S, Gibbs JR, Schymick JC, Laaksovirta H, van Swieten JC, Myllykangas L, Kalimo H, Paetau A, Abramzon Y, Remes AM, Kaganovich A, Scholz SW, Duckworth J, Ding J, Harmer DW, Hernandez DG, Johnson JO, Mok K, Ryten M, Trabzuni D, Guerreiro RJ, Orrell RW, Neal J, Murray A, Pearson J, Jansen IE, Sondervan D, Seelaar H, Blake D, Young K, Halliwell N, Callister JB, Toulson G, Richardson A, Gerhard A, Snowden J, Mann D, Neary D, Nalls MA, Peuralinna T, Jansson L, Isoviita VM, Kaivorinne AL, Holtta-Vuori M, Ikonen E, Sulkava R, Benatar M, Wu J, Chio A, Restagno G, Borghero G, Sabatelli M, Consortium I, Heckerman D, Rogaeva E, Zinman L, Rothstein JD, Sendtner M, Drepper C, Eichler EE, Alkan C, Abdullaev Z, Pack SD, Dutra A, Pak E, Hardy J, Singleton A, Williams NM, Heutink P, Pickering-Brown S, Morris HR, Tienari PJ, Traynor BJ. 2011. A hexanucleotide repeat expansion in C9ORF72 is the cause of chromosome 9p21-linked ALS-FTD. *Neuron*, 72 (2):257-268.
- Ringholz GM, Appel SH, Bradshaw M, Cooke NA, Mosnik DM, Schulz PE. 2005. Prevalence and patterns of cognitive impairment in sporadic ALS. *Neurology*, 65 (4):586-590.
- Riviere M, Meininger V, Zeisser P, Munsat T. 1998. An analysis of extended survival in patients with amyotrophic lateral sclerosis treated with riluzole. *Arch Neurol*, 55 (4):526-528.
- Robberecht W, Philips T. 2013. The changing scene of amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Rev Neurosci*, 14 (4):248-264.
- Rocha AJ, Maia Junior AC. 2012. Is magnetic resonance imaging a plausible biomarker for upper motor neuron degeneration in amyotrophic lateral sclerosis/primary lateral sclerosis or merely a useful paraclinical tool to exclude mimic syndromes? A critical review of imaging applicability in clinical routine. *Arq Neuropsiquiatr*, 70 (7):532-539.
- Rosenbohm A, Peter RS, Erhardt S, Lule D, Rothenbacher D, Ludolph AC, Nagel G, Group ALSRS. 2017. Epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis in Southern Germany. *J Neurol*, 264 (4):749-757.
- Rosenbohm A, Liu M, Nagel G, Peter RS, Cui B, Li X, Kassubek J, Rothenbacher D, Lule D, Cui L, Ludolph AC, Group ALSRSS. 2018. Phenotypic differences of amyotrophic lateral sclerosis (ALS) in China and Germany. *J Neurol*, 265 (4):774-782.
- Sach M, Winkler G, Glauche V, Liepert J, Heimbach B, Koch MA, Buchel C, Weiller C. 2004. Diffusion tensor MRI of early upper motor neuron involvement in amyotrophic lateral sclerosis. *Brain*, 127 (Pt 2):340-350.

- Sage CA, Peeters RR, Gorner A, Robberecht W, Sunaert S. 2007. Quantitative diffusion tensor imaging in amyotrophic lateral sclerosis. *Neuroimage*, 34 (2):486-499.
- Sage CA, Van Hecke W, Peeters R, Sijbers J, Robberecht W, Parizel P, Marchal G, Leemans A, Sunaert S. 2009. Quantitative diffusion tensor imaging in amyotrophic lateral sclerosis: revisited. *Hum Brain Mapp*, 30 (11):3657-3675.
- Schmahmann JD. 2003. Vascular syndromes of the thalamus. *Stroke*, 34 (9):2264-2278.
- Schmolck H, Mosnik D, Schulz P. 2007. Rating the approachability of faces in ALS. *Neurology*, 69 (24):2232-2235.
- Schoenfeld MA, Tempelmann C, Gaul C, Kuhnel GR, Duzel E, Hopf JM, Feistner H, Zierz S, Heinze HJ, Vielhaber S. 2005. Functional motor compensation in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol*, 252 (8):944-952.
- Schumacher J, Peter RS, Nagel G, Rothenbacher D, Rosenbohm A, Ludolph AC, Dorst J, Group ALSRSS. 2020. Statins, diabetes mellitus and prognosis of amyotrophic lateral sclerosis: data from 501 patients of a population-based registry in southwest Germany. *Eur J Neurol*, 27 (8):1405-1414.
- Senda J, Kato S, Kaga T, Ito M, Atsuta N, Nakamura T, Watanabe H, Tanaka F, Naganawa S, Sobue G. 2011. Progressive and widespread brain damage in ALS: MRI voxel-based morphometry and diffusion tensor imaging study. *Amyotroph Lateral Scler*, 12 (1):59-69.
- Shaw PJ. 2005. Molecular and cellular pathways of neurodegeneration in motor neurone disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 76 (8):1046-1057.
- Shefner J, Heiman-Patterson T, Piroo EP, Wiedau-Pazos M, Liu S, Zhang J, Agnese W, Apple S. 2020. Long-term edaravone efficacy in amyotrophic lateral sclerosis: Post-hoc analyses of Study 19 (MCI186-19). *Muscle Nerve*, 61 (2):218-221.
- Shen D, Cui L, Fang J, Cui B, Li D, Tai H. 2016. Voxel-Wise Meta-Analysis of Gray Matter Changes in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Front Aging Neurosci*, 8:64.
- Sheng L, Ma H, Zhong J, Shang H, Shi H, Pan P. 2015. Motor and extra-motor gray matter atrophy in amyotrophic lateral sclerosis: quantitative meta-analyses of voxel-based morphometry studies. *Neurobiol Aging*, 36 (12):3288-3299.
- Simon NG, Turner MR, Vucic S, Al-Chalabi A, Shefner J, Lomen-Hoerth C, Kiernan MC. 2014. Quantifying disease progression in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol*, 76 (5):643-657.
- Smith MC. 1960. Nerve Fibre Degeneration in the Brain in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 23 (4):269-282.

- Smith SM, Nichols TE. 2009. Threshold-free cluster enhancement: addressing problems of smoothing, threshold dependence and localisation in cluster inference. *Neuroimage*, 44 (1):83-98.
- Spittel S, Maier A, Kettemann D, Walter B, Koch B, Krause K, Norden J, Munch C, Meyer T. 2020. Non-invasive and tracheostomy invasive ventilation in amyotrophic lateral sclerosis: Utilization and survival rates in a cohort study over 12 years in Germany. *Eur J Neurol*.
- Stanton BR, Williams VC, Leigh PN, Williams SC, Blain CR, Jarosz JM, Simmons A. 2007. Altered cortical activation during a motor task in ALS. Evidence for involvement of central pathways. *J Neurol*, 254 (9):1260-1267.
- Steinbach R, Gaur N, Roediger A, Mayer TE, Witte OW, Prell T, Grosskreutz J. 2021. Disease aggressiveness signatures of amyotrophic lateral sclerosis in white matter tracts revealed by the D50 disease progression model. *Hum Brain Mapp*, 42 (3):737-752.
- Steinbach R, Prell T, Gaur N, Stubendorff B, Roediger A, Ilse B, Witte OW, Grosskreutz J. 2020a. Triage of Amyotrophic Lateral Sclerosis Patients during the COVID-19 Pandemic: An Application of the D50 Model. *J Clin Med*, 9 (9):2873.
- Steinbach R, Batyrbekova M, Gaur N, Voss A, Stubendorff B, Mayer TE, Gaser C, Witte OW, Prell T, Grosskreutz J. 2020b. Applying the D50 disease progression model to gray and white matter pathology in amyotrophic lateral sclerosis. *Neuroimage Clin*, 25:102094.
- Strong MJ, Abrahams S, Goldstein LH, Woolley S, McLaughlin P, Snowden J, Mioshi E, Roberts-South A, Benatar M, HortobaGyi T, Rosenfeld J, Silani V, Ince PG, Turner MR. 2017. Amyotrophic lateral sclerosis - frontotemporal spectrum disorder (ALS-FTSD): Revised diagnostic criteria. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*, 18 (3-4):153-174.
- Takehara-Nishiuchi K. 2014. Entorhinal cortex and consolidated memory. *Neuroscience Research*, 84:27-33.
- Talbot K. 2009. Motor neuron disease: the bare essentials. *Pract Neurol*, 9 (5):303-309.
- Tan RH, Devenney E, Dobson-Stone C, Kwok JB, Hodges JR, Kiernan MC, Halliday GM, Hornberger M. 2014. Cerebellar integrity in the amyotrophic lateral sclerosis-frontotemporal dementia continuum. *PLoS One*, 9 (8):e105632.
- Tanabe JL, Vermathen M, Miller R, Gelinis D, Weiner MW, Rooney WD. 1998. Reduced MTR in the corticospinal tract and normal T2 in amyotrophic lateral sclerosis. *Magn Reson Imaging*, 16 (10):1163-1169.
- Taylor JP, Brown RH, Jr., Cleveland DW. 2016. Decoding ALS: from genes to mechanism. *Nature*, 539 (7628):197-206.

- Thivard L, Pradat PF, Lehericy S, Lacomblez L, Dormont D, Chiras J, Benali H, Meininger V. 2007. Diffusion tensor imaging and voxel based morphometry study in amyotrophic lateral sclerosis: relationships with motor disability. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 78 (8):889-892.
- Todd TW, Petrucelli L. 2016. Insights into the pathogenic mechanisms of Chromosome 9 open reading frame 72 (C9orf72) repeat expansions. *J Neurochem*, 138 Suppl 1:145-162.
- Tohka J, Zijdenbos A, Evans A. 2004. Fast and robust parameter estimation for statistical partial volume models in brain MRI. *Neuroimage*, 23 (1):84-97.
- Toosy AT, Werring DJ, Orrell RW, Howard RS, King MD, Barker GJ, Miller DH, Thompson AJ. 2003. Diffusion tensor imaging detects corticospinal tract involvement at multiple levels in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 74 (9):1250-1257.
- Traynor BJ, Codd MB, Corr B, Forde C, Frost E, Hardiman O. 2000. Amyotrophic lateral sclerosis mimic syndromes: a population-based study. *Arch Neurol*, 57 (1):109-113.
- Trojsi F, Siciliano M, Femiano C, Santangelo G, Lunetta C, Calvo A, Moglia C, Marinou K, Ticozzi N, Drago Ferrante G, Scialo C, Soraru G, Conte A, Falzone YM, Tortelli R, Russo M, Sansone VA, Chio A, Mora G, Poletti B, Volanti P, Caponnetto C, Querin G, Sabatelli M, Riva N, Logroscino G, Messina S, Fasano A, Monsurro MR, Tedeschi G, Mandrioli J. 2017. Comorbidity of dementia with amyotrophic lateral sclerosis (ALS): insights from a large multicenter Italian cohort. *J Neurol*, 264 (11):2224-2231.
- Tu S, Menke RAL, Talbot K, Kiernan MC, Turner MR. 2018. Regional thalamic MRI as a marker of widespread cortical pathology and progressive frontotemporal involvement in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 89 (12):1250-1258.
- Turner MR, Kiernan MC. 2012. Does interneuronal dysfunction contribute to neurodegeneration in amyotrophic lateral sclerosis? *Amyotroph Lateral Scler*, 13 (3):245-250.
- Turner MR, Verstraete E. 2015. What does imaging reveal about the pathology of amyotrophic lateral sclerosis? *Curr Neurol Neurosci Rep*, 15 (7):45.
- Turner MR, Parton MJ, Shaw CE, Leigh PN, Al-Chalabi A. 2003. Prolonged survival in motor neuron disease: a descriptive study of the King's database 1990-2002. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 74 (7):995-997.
- Turner MR, Agosta F, Bede P, Govind V, Lule D, Verstraete E. 2012. Neuroimaging in amyotrophic lateral sclerosis. *Biomark Med*, 6 (3):319-337.
- Turner MR, Hardiman O, Benatar M, Brooks BR, Chio A, de Carvalho M, Ince PG, Lin C, Miller RG, Mitsumoto H, Nicholson G, Ravits J, Shaw PJ, Swash M, Talbot K, Traynor BJ, Van den Berg LH, Veldink JH, Vucic S, Kiernan MC.



2013. Controversies and priorities in amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet Neurol*, 12 (3):310-322.
- Verstraete E, Veldink JH, Hendrikse J, Schelhaas HJ, van den Heuvel MP, van den Berg LH. 2012. Structural MRI reveals cortical thinning in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 83 (4):383-388.
- Wang S, Melhem ER. 2005. Amyotrophic lateral sclerosis and primary lateral sclerosis: The role of diffusion tensor imaging and other advanced MR-based techniques as objective upper motor neuron markers. *Ann N Y Acad Sci*, 1064:61-77.
- Wang S, Melhem ER, Poptani H, Woo JH. 2011. Neuroimaging in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurotherapeutics*, 8 (1):63-71.
- Weikamp JG, Schinagl DA, Verstappen CC, Schelhaas HJ, de Swart BJ, Kalf JG. 2016. Botulinum toxin-A injections vs radiotherapy for drooling in ALS. *Acta Neurol Scand*, 134 (3):224-231.
- Westeneng HJ, Verstraete E, Walhout R, Schmidt R, Hendrikse J, Veldink JH, van den Heuvel MP, van den Berg LH. 2015. Subcortical structures in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Aging*, 36 (2):1075-1082.
- Westeneng HJ, Debray TPA, Visser AE, van Eijk RPA, Rooney JPK, Calvo A, Martin S, McDermott CJ, Thompson AG, Pinto S, Kobeleva X, Rosenbohm A, Stubendorff B, Sommer H, Middelkoop BM, Dekker AM, van Vugt J, van Rheenen W, Vajda A, Heverin M, Kazoka M, Hollinger H, Gromicho M, Korner S, Ringer TM, Rodiger A, Gunkel A, Shaw CE, Bredenoord AL, van Es MA, Corcia P, Couratier P, Weber M, Grosskreutz J, Ludolph AC, Petri S, de Carvalho M, Van Damme P, Talbot K, Turner MR, Shaw PJ, Al-Chalabi A, Chio A, Hardiman O, Moons KGM, Veldink JH, van den Berg LH. 2018. Prognosis for patients with amyotrophic lateral sclerosis: development and validation of a personalised prediction model. *Lancet Neurol*, 17 (5):423-433.
- Wolff SD, Balaban RS. 1994. Magnetization transfer imaging: practical aspects and clinical applications. *Radiology*, 192 (3):593-599.
- Worms PA. 2001. The epidemiology of motor neuron diseases: a review of recent studies. *Journal of the Neurological Sciences*, 191 (1-2):3-9.
- Zhang Q, Mao C, Jin J, Niu C, Bai L, Dang J, Zhang M. 2014. Side of limb-onset predicts laterality of gray matter loss in amyotrophic lateral sclerosis. *Biomed Res Int*, 2014:473250.

## 10 Anhang

Neuromuskuläre Ambulanz : : Hans-Berger-Klinik für Neurologie : : Universitätsklinikum Jena

ALSFERS-R V1.1

Der ALSFRS-R ist die revidierte Fassung der Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale (ALSFERS). Diese funktionelle Rating-Scala bildet die Beeinträchtigungen im Alltag durch die ALS weitgehend linear zum Krankheitsverlauf ab (Normal: 48/48, absteigend).

1. Sprache	4 Normale Sprachproduktion 3 Bemerkbare Sprachveränderung 2 Mit Wiederholungen verständlich 1 Sprache mit Hilfskommunikation 0 Verlust verständlicher Sprache	<b>Name:</b> _____ <b>Vorname:</b> _____ <b>geboren:</b> ____ . ____ . ____
2. Speichelfluß	4 Normal 3 leicht aber definitiv vermehrter Speichel im Mund, mögl. nächtlicher Ausfluß 2 mäßig vermehrte Speichelproduktion; mögl. geringer Ausfluß 1 deutlicher Überfluß an Speichel mit einigem Ausfluß 0 Deutlicher Speichelausfluß; braucht andauernd Taschentuch	US-Datum ____ . ____ . ____ Hz ____
3. Schlucken	4 Normale Nahrungsaufnahme 3 frühe Eßprobleme - gelegentlich Verschlucken 2 Änderung der Speisekonsistenz notwendig 1 Zusätzliche Nahrungsversorgung über Magensonde/PEG 0 ausschließliche Ernährung über Magensonde/PEG	7. Drehen im Bett und Arrangieren der Bettdecke
4. Handschrift	4 Normal 3 langsam und ungenau: alle Wörter lesbar 2 Nicht alle Wörter sind lesbar 1 Kann den Stift fassen, aber nicht schreiben 0 Kann den Stift nicht fassen	4 Normal 3 Langsam und ungeschickt, keine Hilfe notwendig 2 Kann sich nur mit großer Schwierigkeit alleine drehen und die Bettdecke legen 1 Kann Bewegung beginnen, die Drehung/Bettlage aber nicht alleine beenden 0 Hilflos
5.a. Schneiden von Nahrung und Handhabung von Utensilien <b>keine PEG</b>	4 Normal 3 langsam und ungeschickt; keine Hilfe notwendig 2 Kann die meiste Nahrung langsam und ungeschickt aufnehmen; wenig Hilfe notwendig 1 Nahrung muß von Hilfsperson geschnitten werden, kann sie langsam aufnehmen 0 Muß gefüttert werden	8. Gehen
5.b. Schneiden von Nahrung und Handhabung von Utensilien <b>mit PEG</b>	4 Normal 3 Ungeschickt, kann alle Handgriffe selbst durchführen 2 Braucht Hilfe mit Verschlüssen und Bändern 1 Kann die Hilfsperson nur minimal unterstützen 0 Kann in keine Weise mehr die PEG handhaben	4 Normal 3 frühe Gehschwierigkeiten 2 Gehen mit Hilfe 1 Gehunfähig, kann im Sitzen die Beine sinnvoll bewegen 0 Keine sinnvolle Beinbewegung mehr möglich
6. Anziehen und Hygiene	4 Normal 3 Unabhängige und vollständig selbst mit Anstrengung und verminderter Effizienz 2 Vereinzelt Hilfe oder Hilfsmittel notwendig 1 Braucht eine Hilfsperson 0 Vollständige Abhängigkeit	9. Treppensteigen
		4 Normal 3 verlangsamt 2 leichte Unsicherheit und Ermüdbarkeit 1 braucht Hilfe 0 Treppensteigen unmöglich
		10. Atemnot
		4 Keine 3 beim Gehen 2 beim Essen, Baden, Anziehen 1 in Ruhe, im Sitzen oder im Liegen 0 Erhebliche Atemnot, Beatmungshilfe erwogen
		11. Orthopnoe
		4 Keine 3 Schlafstörungen wegen Kurzatmigkeit, braucht nicht mehr als zwei Kissen 2 Benötigt dauerhaft mehr als zwei Kissen 1 Kann nur im Sitzen schlafen 0 Kann nicht schlafen
		12. Respirator. Insuffizienz
		4 Keine 3 Intermittierend BIPAP 2 dauerhaft BIPAP während der Nacht 1 dauerhaft BIPAP Tag und Nacht 0 Invasive Ventilation über Intubation oder Tracheostomie
		<b>SUMME:</b> / 48

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Demografische und klinische Charakteristika der Patientenkohorte (n=85)..... 24

Tabelle 2: Charakteristika der Patientenkohorte in den Kleinhirn-Analysen (n=82)..... 35

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 das D50-Modell..... 27

Abbildung 2: das D50-Modell. Einteilung in Phasen anhand von rD50. .... 28

Abbildung 3: Gruppenvergleich der ALS-Patienten mit gesunden Kontrollen. Die Patienten wiesen im Vergleich zu den gesunden Probanden eine signifikante Reduktion der kortikalen Dichte insbesondere in den frontotemporalen Bereichen auf. In der oberen Reihe ist das Glass Brain in drei Schnittebenen mit allen signifikanten Clustern als Summenprojektion dargestellt. Die unteren Abbildungen stellen die Cluster mit signifikanter Reduktion der kortikalen Dichte als T-Wert-Karte farblich dar. Die Farbskala am linken Rand zeigt die T-Werte der entsprechenden Voxel. TFCE-Analyse, FWE-korrigiert,  $p < 0,001$ . .... 37

Abbildung 4: Gruppenvergleich der ALS-Patienten mit gesunden Kontrollen. In der Patientengruppe fand sich im Vergleich zu den gesunden Kontrollpersonen eine ausgedehnte Dichtereduktion der weißen Substanz. In der oberen Reihe ist das Glass Brain in drei Schnittebenen mit allen signifikanten Clustern als Summenprojektion dargestellt. In den unteren Abbildungen sind die Hirnareale mit signifikanter Dichteabnahme der weißen Substanz in Form einer T-Wert-Karte farblich dargestellt. Die Farbskala am linken Rand zeigt die T-Werte der entsprechenden Voxel. TFCE-Analyse, FWE-korrigiert,  $p < 0,001$  ..... 38

Abbildung 5: Gruppenvergleich zwischen den ALS-Patienten und Kontrollen. Im Glass Brain (oben) und in drei verschiedenen Ebenen (unten) sind die Kleinhirnareale dargestellt, die bei ALS durch eine Abnahme der kortikalen Dichte gekennzeichnet sind. Die Farbskala am linken Rand zeigt die T-Werte der entsprechenden Voxel. TFCE-Analyse, unkorrigiert,  $p < 0,001$ ..... 39

Abbildung 6: Gruppenvergleich zwischen den ALS-Patienten und gesunden Kontrollen. Dargestellt sind die Kleinhirnareale, in denen ALS-Patienten eine Dichtezunahme zeigten. 40

Abbildung 7: Subgruppenvergleich zwischen den Patienten mit unterschiedlichem ALS-Subtyp..... 41

Abbildung 8: Subgruppenvergleich zwischen den Patienten mit unterschiedlichem ALS-Subtyp. Die Patienten mit bulbärem ALS-Typ wiesen eine stärkere Dichtereduktion in der weißen Substanz, bifrontal und bitemporal, auf. In der oberen Reihe ist das Glass Brain in drei Schnittebenen mit allen signifikanten Clustern als Summenprojektion dargestellt. In den unteren Reihen sind die Cluster mit signifikanter Reduktion in T-Wert Kontrasten abgebildet. Die Farbskala zeigt jeweils die T-Werte der entsprechenden Voxel. TFCE-Analyse, FWE-korrigiert,  $p < 0,001$ . .... 42

Abbildung 10: Subgruppenvergleich zwischen den Patienten in Phase I und Phase II. .... 44

Abbildung 9: Subgruppenvergleich zwischen den Patienten in Phase I und Phase II. Patienten in Phase II zeigten im Vergleich zu den Patienten in Phase I eine geringere kortikale Dichte auf. Oben ist das Glass Brain in drei Schnittebenen mit allen signifikanten

*Clustern als Summenprojektion dargestellt. Die unteren Abbildungen stellen die Cluster mit signifikanter Reduktion der kortikalen Dichte als T-Wert-Karte farblich dar. Die Farbskala am linken Rand zeigt die jeweiligen T-Werte der entsprechenden Voxel. TFCE-Analyse, FWE-korrigiert,  $p < 0,001$ . ..... 43*

*Abbildung 11: Subgruppenvergleich bezogen auf die Krankheitsaggressivität..... 45*

*Abbildung 12: Subgruppenvergleich bezogen auf die Krankheitsaggressivität..... 46*

*Abbildung 13: Die Dichteabnahme in den Assoziationsfasern steht in einer negativem Korrelation mit der cFL. In der oberen Reihe ist das Glass Brain in drei Schnittebenen mit allen signifikanten Clustern als Summenprojektion abgebildet. In den unteren Reihen sind die Cluster mit signifikanter Korrelation in T-Wert Kontrasten dargestellt. Die Farbskala am linken Rand zeigt die T-Werte der entsprechenden Voxel. TFCE-Analyse, FWE-korrigiert,  $p < 0,0547$*

## **Danksagung**

Mein herzlicher Dank gilt meinem Doktorvater, PD Dr. med. Julian Grosskreutz, für die Überlassung des Themas und seine freundliche Betreuung während der Verfassung dieser Arbeit. Ich danke ihm für seine geduldige, motivierende und unterstützende Art und ebenso für die Möglichkeit meine Arbeit auf verschiedenen Kongressen vorstellen zu dürfen.

Dem Deutschen Akademischen Austauschdienst (DAAD) möchte ich für die Ermöglichung des Medizinstudiums in Deutschland danken und dem Interdisziplinären Zentrum für klinische Forschung (IZKF) danke ich für die Gewehrleistung des Promotionsstipendiums.

Mein großer Dank gilt auch Herrn Dr. med. Robert Steinbach für seine Hilfe und konstruktive Kritik bei der Erstellung dieser Arbeit sowie für die Publikation unserer Ergebnisse.

Herrn PD Dr. med. Tino Prell und Herrn Dr. med. Viktor Hartung danke ich für ihre Unterstützung bei fachlichen und technischen Fragen.

Weiterhin bedanke ich mich bei der ganzen Arbeitsgruppe NEDIG für die Hilfe bei der Datenerhebung und Datenpflege. Ein besonderer Dank gilt Frau Dr. Beatrice Stubendorff für Ihre Hilfe bei statistischen Fragen.

Ebenso danke ich Herrn Prof. Dr. rer. nat. Christian Gaser für seine Unterstützung und konstruktive Kritik bei der Durchführung der Analysen.

Mein ganz besonderer Dank gilt auch meiner Familie, die stets an mich geglaubt und mich motiviert hat.

### **Ehrenwörtliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:

- PD Dr. med. Julian Grosskreutz
- PD Dr. med. Tino Prell
- Dr. med. Robert Steinbach

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, den 14.06.2022

Meerim Batyrbekova