

Volumenveränderungen der
grauen Substanz bei nicht-dementen ALS-Erkrankten in
Abhängigkeit vom kognitiven Status

Eine longitudinale voxel-basierte morphometrische MRT-Studie

Inauguraldissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr. med.)

an der Klinik und Poliklinik für Neurologie

der medizinischen Fakultät

der Universität Rostock

vorgelegt von

Lea Kalina Gimbel

Geboren am 07.11.1991 in Bremen

Bremen, 07.02.2023



Dieses Werk ist lizenziert unter einer
Creative Commons Namensnennung - Nicht-kommerziell - Weitergabe unter
gleichen Bedingungen 4.0 International Lizenz.

Dekan: Prof. Dr. med. univ. Emil C. Reisinger, MBA

1. Gutachter: Prof. Dr. med. J. Prudlo, Universität Rostock, Klinik und Poliklinik für Neurologie

2. Gutachter: Prof. Dr. med. M. Weber, Universität Magdeburg, Universitätsklinikum für Neurologie

3. Gutachter: Prof. Dr. med. S. Schreiber, Universität Rostock, Institut für Diagnostische und Interventionelle Radiologie, Kinder- und Neuroradiologie

Eingereicht am: 07.02.2023

Tag der Verteidigung: 19.03.2024

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	1
1 Einleitung	3
1.1 Amyotrophe Lateralsklerose	3
1.2 Bildgebende Verfahren in der ALS-Diagnostik	9
1.3 Untersuchungsziele und Hypothesen	13
2 Material und Methoden	14
2.1 Studienkohorte und Studienaufbau	14
2.2 Neuropsychologische Untersuchungen und Gruppenzuteilung	15
2.3 Voxel-basierte Morphometrie	17
2.4 Statistische Auswertung	23
2.5 Regional-basierte Analyse	23
3 Ergebnisse	26
3.1 Ergebnisse der voxel-basierten Morphometrie	26
3.2 Ergebnisse der regional-basierten Analyse	29
4 Diskussion	33
4.1 Diskussion der Studienpopulation	33
4.2 Diskussion der Ergebnisse der VBM-Analyse	34
4.3 Diskussion der Ergebnisse der regional-basierten Analyse	40
4.4 Methodische Limitationen	41
4.5 Schlussfolgerungen und Ausblick	43
5 Literaturverzeichnis	45
6 Anhang	55
6.1 Neuropathologische Veränderungen	55
6.2 Gruppenwechsel	56
Selbstständigkeitserklärung	58
Lebenslauf	60

Abkürzungsverzeichnis

AAL	Automated Anatomical Labeling
A β	Amyloid β
ALS	Amyotrophe Lateralsklerose
ALSbi	ALS mit Verhaltensbeeinträchtigungen (behavioural impaired)
ALSci	ALS kognitiv beeinträchtigt (cognitive impaired)
ALSFRS-R	ALS Functional rating scale-revised
ALS-FTD	ALS mit frontotemporaler Demenz
ALS-FTSD	ALS frontotemporale Spektrumstörung
ALSni	ALS kognitiv nicht beeinträchtigt (non impaired)
ALS-TDP	ALS mit TDP-43 Nachweis
AUC	Area under the curve
bvFTD	Verhaltensvariante-FTD (behavioral variant)
C9orf72	Chromosome 9 open reading frame 72
CHMP2B	Charged multivesicular body protein 2B
DARTEL	Diffeomorphic anatomical registration through exponentiated lie algebra
DWI	Diffusion weighted imaging
DZNE	Deutsches Zentrum für Neurodegenerative Erkrankungen
EMG	Elektromyographie
et al.	Et alii (und andere)
f	Feminin
FDR	False discovery rate
FTD	Frontotemporale Demenz
FTD-TDP	Frontotemporale Demenz mit TDP-43 Nachweis
FTLD	Frontotemporaler Lappendegeneration

FUS	Fused in Sarcoma
L oder l	Links
LMN	Lower motor neuron
m	Maskulin
ml	Milliliter
mm ³	Kubikmillimeter
MND	Motoneuron-Erkrankung
MNI	Montreal Neurological Institute
MoCA	Montreal Cognitive Assessment
MRT	Magnetresonanztomographie
N	Anzahl Teilnehmende
n.a.	nicht zugeteilt (not assigned)
NFT	Neurofibrillary Tangles
NIA	National Institute on Aging
p-NF-H	Phosphoryliertes Neurofilament H
PGRN	Progranulin
PPA	Primär progressive Aphasie
R oder r	Rechts
ROC	Grenzwertoperierungskurve (Receiver-Operating-Characteristic)
ROI	Region of Interest
SBM	Oberflächenbasierte Morphometrie
SD	Standardabweichung
SOD1	Superoxid Dismutase-1
SPM	Statistical Parametric Mapping
T1, T2	MRT Wichtung

t _{1,2,3,max}	Untersuchungszeitpunkte
TAU	Tau-Protein
TARDBP	Transactive response DNA binding protein
TDP-43	Transactive response DNA binding protein of 43 kDa
TIV	Totales intrakranielles Volumen
u.a.	Unter Anderem
UBQLN2	Ubiquilin-2
UMN	Upper motor neuron
UPS	Ubiquitin-Proteasom-Systems
VCP	Valosin-containing Protein
VBM	Voxel-basierte Morphometrie
vs.	Versus
z.B.	Zum Beispiel

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildung 1: Das ALS-FTD Spektrum	6
Abbildung 2: Die 1. Revision der El Escorial Kriterien nach Brooks et al. 2000.....	7
Abbildung 3: Schritte zur Vorverarbeitung mit VBM8	18
Abbildung 4: Schritte zur Bilddatenvorverarbeitung longitudinaler Datenanalysen mit VBM8	22
Abbildung 5: Diskriminationsfähigkeit anhand von ROC-Kurven.....	25
Abbildung 6: VBM-Analyse, Hirnregionen mit vermindertem Hirnvolumen, Querschnitt	27
Abbildung 7: VBM-Analyse, Hirnregionen mit vermindertem Hirnvolumen, Längsschnitt ..	28
Abbildung 8: Boxplot-Analyse ausgewählter Hirnregionen	31
Abbildung 9: ROC-Kurven inklusive Berechnung der AUC.....	32
Abbildung 10: Änderungen durch Gruppenvergleich	57
Tabelle 1: Demographische Charakterisierung der Studienkohorte	16
Tabelle 2: ausgewählte ROIs zur spezifischeren Untersuchung	24
Tabelle 3: VBM-Analyse, signifikante Volumenminderung der grauen Hirnsubstanz, Querschnitt	27
Tabelle 4: VBM-Analyse, signifikante Volumenminderung der grauen Hirnsubstanz, Längsschnitt	28
Tabelle 5: ROI-Analyse, Signifikante Hirnregionen, Querschnitt.....	29
Tabelle 6: ROI-Analyse, Signifikante Hirnregionen, Längsschnitt	30
Tabelle 7: Autopsiebefunde und Alzheimerkomorbidität.....	55

Danksagung

Für die große Unterstützung, konstruktive Kritik und wertvolle Hilfe möchte ich mich bei meinem Doktorvater, Prof. Dr. Johannes Prudlo sowie bei meinem Betreuer, Dr. Martin Dyrba bedanken. Außerdem gilt mein Dank Dr. Elisabeth Kasper für ihre unschätzbare Hilfe bei der Gruppenzuordnung der Teilnehmenden sowie Petr Sabik für die Hilfe bei der visuellen Qualitätskontrolle der MRT-Bilder.

Für ihre fachliche und emotionale Unterstützung danke ich Louisa Labohm sowie meiner Familie.

Zuletzt gilt mein ausgesprochener Dank allen Personen, die bereit waren, an dem Projekt „Cognition in Motor Neuron Disease“ teilzunehmen und ohne deren Daten diese Studie nicht möglich gewesen wäre.

Zusammenfassung

Die Amyotrophe Lateralsklerose (ALS) ist eine neurodegenerative Erkrankung, die innerhalb weniger Jahre zum Tod durch Atemlähmung führt. Die Ätiologie ist, abgesehen von den genetischen Formen, ungeklärt. Neben den neuromuskulären Ausfällen zeigt die Hälfte der ALS-Erkrankten Beeinträchtigungen der Kognition und des Verhaltens, die das Ausmaß einer frontotemporalen Demenz (ALS-FTD) erreichen können.

Ziel dieser longitudinalen Studie war es, Veränderungen des Hirnvolumens von ALS-Erkrankten in Abhängigkeit vom kognitiven Status mittels Voxel-basierter Morphometrie (VBM) zu untersuchen. Dies erfolgte zum einen über eine Ganzhirn-Analyse, zum anderen über einen regional-basierten Ansatz.

In einem bizenrischen Studiendesign (Rostock und Magdeburg) wurden 64 nicht-demente Personen mit ALS (ALS ohne FTD) eingeschlossen. Die Teilnehmenden wurden neuropsychologisch getestet und erhielten alle drei bis sechs Monate eine kraniale 3-Tesla-MRT an baugleichen Siemens MAGNETOM-Verio Scannern. 54 ALS-Erkrankte wiesen keine kognitiven Beeinträchtigungen auf (ALSni/54), zehn ALS-Erkrankte hatten kognitive Beeinträchtigungen (ALSci/10).

Mittels T1-gewichteter MRT-Sequenzen wurde die graue Hirnsubstanz bis zu viermal untersucht. Die jeweils letzte verfügbare MRT wurde zur Beurteilung der grauen Hirnsubstanz in Abhängigkeit vom kognitiven Status herangezogen. Der maximale Beobachtungszeitraum betrug 18 Monate.

Zum Zeitpunkt „baseline“ (t_0) konnte eine signifikant stärkere Volumenminderung der Gruppe ALSci gegenüber der Gruppe ALSni in weiten Teilen der grauen Hirnsubstanz (frontotemporal, postcentral, okzipital) und in subkortikalen Hirnregionen (Gyrus cinguli, Hippocampus, Thalamus und Amygdala) nachgewiesen werden. Die frontotemporale Beteiligung ist dabei aufgrund der ALS-typischen kognitiven Funktionseinschränkung (exekutive Funktionen) von besonderer Bedeutung. Eine okzipitale Hirnvolumenminderung beschreiben wir - soweit bekannt - erstmals.

Die longitudinale Analyse erbrachte nach der FDR-Korrektur überraschenderweise keine signifikanten hirnvolumetrischen Unterschiede zwischen den Gruppen ALSci und ALSni. Ob dies auf eine nur geringe Hirnvolumenabnahme bei kognitiv beeinträchtigten ALS-Erkrankten im

Krankheitsverlauf hinweist, bleibt offen. Ebenso könnte es Ausdruck des Multisystemcharakters der Erkrankung sein, wodurch bei zu geringer Stichprobengröße auch bei ausgezeichneter neuropsychologischer Eingruppierung keine Signifikanzen auftreten. Zusätzlich können der erkrankungsbedingt geringe Beobachtungszeitraum, die hohe Schwundquote und die unterschiedlichen Intervalle der Messzeitpunkte (drei bis sechs Monate) zu diesem Ergebnis beigetragen haben.

1 Einleitung

1.1 Amyotrophe Lateralsklerose

Die ALS ist eine progressive neurodegenerative Erkrankung des zentralen Nervensystems, die sowohl motorische als auch nicht-motorische Nervenzellen befällt. Sie ist eine klinisch, genetisch und neuropathologisch heterogene Erkrankung mit Multisystemcharakter.

Epidemiologie und Ätiologie

Die Inzidenz der ALS betrug 2010 in Europa 2.16 Fälle pro 100.000 Personen pro Jahr [1], die Prävalenz wurde in einer irischen Studie für 2003 mit 6.4 Fällen pro 100.000 Personen angegeben [2]. Männer sind in einem Verhältnis von 1,5:1 häufiger betroffen als Frauen [1].

Klassischer Weise wird die Erkrankung in eine sporadische (90-95% der Erkrankten) und eine familiäre Form (5-10% der Erkrankten) unterteilt. Das mediane Erkrankungsalter der sporadischen ALS liegt überwiegend bei 65 Jahren, die familiäre Form tritt typischer Weise früher auf [1,3,4].

Die Ätiologie der sporadischen ALS ist bisher ungeklärt. Vermutlich gibt es jedoch ein genetisches Risiko [5]. In etwa 70% der Fälle von familiärer ALS lassen sich mittlerweile krankheitsverursachende Gene nachweisen, darunter *C9orf72*, *SOD1*, *TARDBP* und *FUS* [6].

Insgesamt stellt die ALS eine Erkrankung dar, bei der genetische Faktoren und Umweltfaktoren interagieren und über verschiedene molekulare Wege zu einer heterogenen klinischen Endstrecke führen [6–8].

Klinik

Im Zentrum der klinischen Präsentation der ALS steht die motorische Systemdegeneration [6]. Typischerweise fokal beginnend weiten sich motorische Defizite innerhalb von Wochen bis Monaten auf andere Körperregionen aus [8].

Betroffen sind das obere Motoneuron (upper motor neuron, UMN) mit seinem Perikaryon im primär-motorischen Kortex und das untere Motoneuron (lower motor neuron, LMN) mit seinem Perikaryon im Hirnstamm (bulbär) oder im Rückenmark (spinal).

Durch den degenerativen Prozess des LMN kommt es zur Denervation des zugeordneten Muskels mit schlaffen Paresen, Muskelatrophien, Faszikulationen und Krämpfen. Der degenerative

Prozess des UMN führt zu spastischen Paresen mit erhöhtem Reflexniveau und positiven Pyramidenbahnzeichen [8].

Anhand der zuerst auftretenden Symptome können zwei Typen unterschieden werden: Der spinale Typ (*spinal onset ALS*; 75% der Fälle) beginnt an den Extremitäten (selten primär an der Atemmuskulatur), der bulbäre Typ (*bulbar onset ALS*; 25% der Fälle) mit Dysarthrie und Dysphagie. Außerdem können hier pseudobulbäre Symptome mit einer Affektinkontinenz, wie pathologischem Lachen oder Weinen, auftreten. Der bulbäre Typ ist mit einer schlechteren Prognose assoziiert [9–11].

Während die klassische ALS ein Nebeneinander von Schädigungszeichen des LMN und des UMN auszeichnet (in mindestens einer von vier Regionen: Bulbär, zervikal, thorakal oder lumbosakral), gibt es zahlreiche ALS-Varianten, bei denen ein *Oberes-* oder ein *Unteres Motoneuronsyndrom* dominieren [8,10].

Der Verlauf der ALS ist rasch progredient und immer letal. Die Betroffenen versterben durchschnittlich drei bis vier Jahre nach Diagnosestellung, meistens an einer chronisch-hyperkapnisch respiratorischen Insuffizienz [10,11].

Kognitive Beeinträchtigung

Die klinische Heterogenität der ALS findet ihren Ausdruck in Erkrankungsbeginn und -progression sowie in einer variablen Manifestation extramotorischer Symptome, betreffend insbesondere Kognition und Verhalten bis hin zur Assoziation mit einer frontotemporalen Demenz (ALS-FTD) in 10-15% der Fälle [8,12,13]. ALS-FTD ist mit einer schlechteren Prognose assoziiert und zeigt sich in der Regel schon früh im Krankheitsverlauf [8,12–16].

Daneben kommt es bei etwa 30% der ALS-Erkrankten zu kognitiven Beeinträchtigungen, die nicht die Kriterien einer Demenz erfüllen und als fronto-temporales Syndrom bezeichnet werden können (ALSci) [12,17]. Der exekutiven Dysfunktion kommt innerhalb dieser Gruppe eine besondere Bedeutung zu, da diese die dominierende kognitive Einschränkung darstellt [12,13]. Exekutivfunktionen sind höhere kognitive Prozesse, die komplexe mentale Vorgänge wie bewusste Aufmerksamkeit, das Arbeitsgedächtnis, die Planung motorischer Handlungen, Verhaltensweisen und die Einhaltung sozialer Moralvorstellungen steuern und kontrollieren [18]. Die Exekutivfunktionen werden wesentlich dem präfrontalen Kortex zugeordnet und entstehen durch Integration von Informationen, die aus verschiedenen kortikalen Systemen stammen [18,19]. Die Wortflüssigkeit ist die am häufigsten beeinträchtigte Exekutivfunktion in Kognitionsstudien der ALS [20–22]. ALS-Erkrankte mit exekutiver Dysfunktion haben eine geringere Lebenserwartung [23].

Kognitiv beeinträchtigte, nicht-demente ALS-Erkrankte (ALSci) zeigen außerdem- unabhängig von der exekutiven Dysfunktion- Veränderungen der sozialen Kognition, des Verhaltens (Interessenverlust, Empathieverlust) und der Gedächtnisleistung [8,12,13,16].

Daneben kann es auch zu einer Dysregulation emotionaler Reize kommen [24]. Zu den an emotionalen Prozessen beteiligten Hirnstrukturen werden der präfrontale Kortex, die Amygdala, der anteriore Gyrus cinguli, der Hippocampus und die Inselrinde gezählt [25]. Einige dieser Strukturen gehören zum limbischen System, zu welchem der Gyrus cinguli, der Gyrus parahippocampalis, der Hippocampus, die Amygdala, der Hypothalamus und die Septumregion gezählt werden [26].

Der Befall motorischer und nicht-motorischer Hirnregionen begründet den Multisystemercharakter der ALS. Die Vielfalt kognitiver Einschränkungen stellt ein Spektrum verschiedener Ausprägungsgrade dar, deren ausgeprägteste die ALS-FTD ist [27].

Andererseits zeigten in einer Studie von Burrell et al. 12,5% der in die Studie eingeschlossenen Personen mit einer frontotemporalen Demenz (FTD) Merkmale einer ALS [28]. Weitere 27,3% der Teilnehmenden mit FTD zeigten klinische Zeichen eines Funktionsverlustes der Motoneurone, die nicht die vollen Diagnosekriterien einer Motoneuronenerkrankung (MND) erfüllten.

Daher wird vermehrt die Theorie eines MND-FTD Kontinuums diskutiert, bei dem die ALS und die FTD Extreme eines Spektrums darstellen [8].

Es gibt nur wenige longitudinale Studien zur Kognition bei ALS mit widersprüchlichen Ergebnissen. Während die einen Studien eine Verschlechterung der Kognition im Verlauf der Lähmungskrankung beschreiben [14,29–31], gehen andere von einem gleichbleibenden kognitiven Status aus [32]. Eine Entwicklung kognitiver Beeinträchtigungen bei initial kognitiv gesunden Personen mit ALS kommt nur in seltenen Fällen vor [14,23,32–34].

In einer longitudinalen Studien konnte gezeigt werden, dass Exekutivfunktionen vergleichsweise früh beeinträchtigt sind, während sich sprachliche Defizite erst im Verlauf manifestieren [16]. Außerdem scheinen neuropsychiatrische Symptome früher aufzutreten als die klassischen motorischen Defizite der ALS [35].

Pathophysiologie der ALS

Die der ALS zugrundeliegenden neurodegenerativen Prozesse sind bis heute nicht vollständig verstanden. Während für die familiäre ALS genetische Defekte als krankheitsverursachend gelten, wird für die sporadische Form eine Kombination aus Umweltfaktoren und genetischem Risiko angenommen [8].

Die Aggregation des translational veränderten Proteins TDP-43 in Motoneuronen und Gliazellen ist ein wiederkehrendes histopathologisches Merkmal. Dadurch erklären sich Überlappungen mit anderen, ebenfalls durch Proteineinschlüsse gekennzeichneten neurodegenerativen Erkrankungen, wie der Parkinson-Krankheit oder der Alzheimer-Krankheit [6,15]. Bei fast allen ALS-Erkrankten kann eine TDP-43-Proteinopathie nachgewiesen werden. Diese findet sich auch bei mehr als der Hälfte aller Erkrankten mit frontotemporaler Lappendegeneration (FTLD) und erklärt die klinischen, pathophysiologischen und bildgebenden Überlappungen der ALS mit den FTLD [36,37].¹

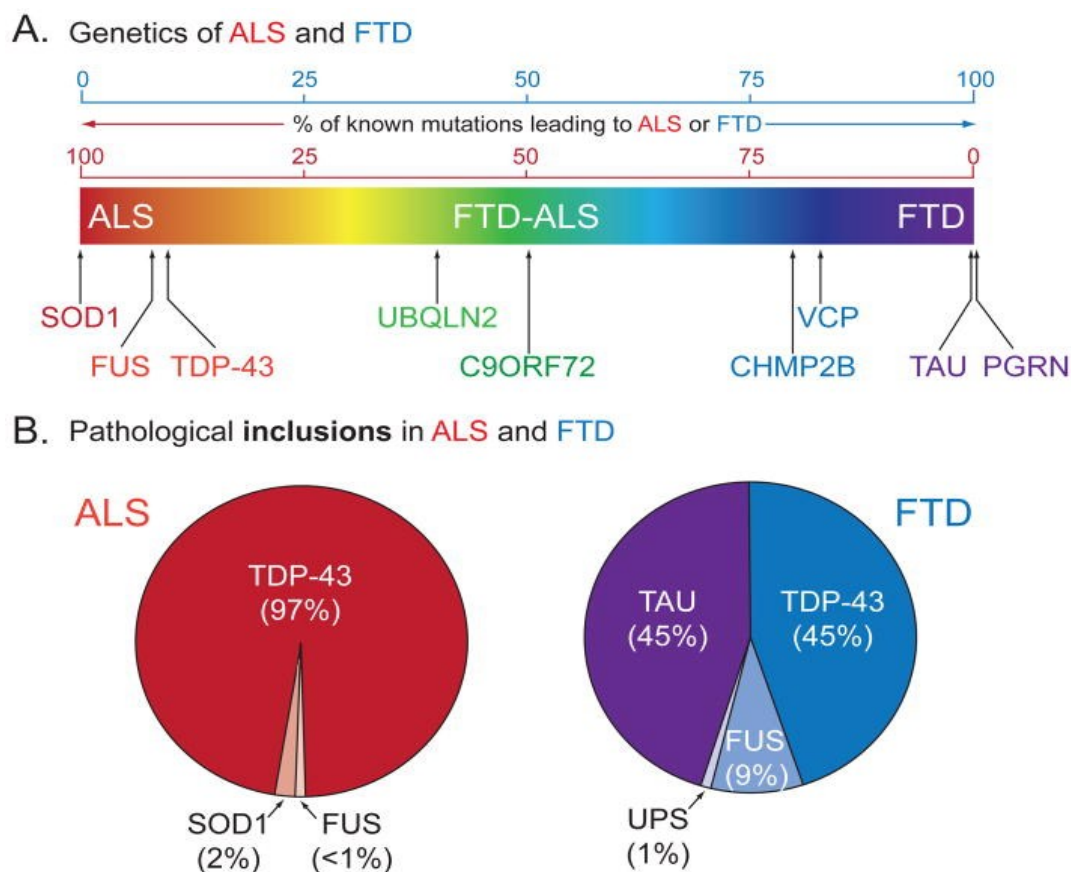


Abbildung 1: Das ALS-FTD Spektrum

Nach Ling et al. 2013, FTD und FTLD synonym verwendet [15]

A: genetische Merkmale: Die wichtigsten bekannten genetischen Mutationen sind nach der Häufigkeit, mit der sie zu ALS oder FTD führen, dargestellt.

B: neuropathologische Merkmale: Pathologische Proteineinschlüsse in ALS und FTD, wobei TDP-43 und FUS die Überschneidungen von ALS und FTD widerspiegeln.

¹ Unter dem Begriff FTD werden die bvFTD und Varianten der PPA zusammengefasst. Der Begriff FTLD spezifiziert die zugrundeliegenden neuropathologischen Veränderungen. FTD und FTLD werden in den Quellen teilweise synonym verwendet [38].

Diagnostik

Die Diagnose der ALS basiert maßgeblich auf klinischen Kriterien. Definitive Tests oder Biomarker existieren bisher nicht. Aufgrund der vielfältigen klinischen Präsentation dauert es durchschnittlich 14 Monate bis zur Diagnosestellung [39]. Dies hat zur Folge, dass die Betroffenen verzögert einen Zugang zu Therapien und wissenschaftlichen Studien erhalten [40–42].

Im Forschungsbereich helfen die El Escorial Kriterien, eine standardisierte Diagnose zu stellen. Sie basieren auf UMN- und LMN-Zeichen der vier Regionen: bulbär, zervikal, thorakal und lumbosakral [43]. Die El Escorial Kriterien wurden 1994 entwickelt und 2000 zum ersten Mal revidiert. Erst die 2. Revision (2015) ordnete nicht nur die ALS-Varianten dem klinischen Spektrum der ALS zu, sondern nahm erstmals auch die Assoziation mit einer FTD als festen Bestandteil eines Teils der ALS-Erkrankten in die Diagnosekriterien auf [44]. Dennoch orientieren sich aktuelle Studien weiterhin an den Graden der Diagnosesicherheit in *mögliche*, *wahrscheinliche* und *definitive* ALS nach der 1. Revision der El Escorial Kriterien aus dem Jahr 2000 (Abbildung 2).

definitive ALS	<ul style="list-style-type: none"> • LMN+UMN \geq 3 Regionen • LMN+/oder UMN \geq 1 Region + pathogene Genmutation (familiäre ALS)
wahrscheinliche ALS	<ul style="list-style-type: none"> • LMN+UMN \geq 2 Regionen, UMN-Zeichen rostral des LMN • UMN-Zeichen \geq 1 Region + LMN-Zeichen im EMG \geq 2 Regionen
mögliche ALS	<ul style="list-style-type: none"> • LMN+UMN 1 Region • UMN \geq 2 Regionen • LMN rostral UMN + wahrscheinliche ALS trifft nicht zu (EMG)

Abbildung 2: Die 1. Revision der El Escorial Kriterien nach Brooks et al. 2000

Anhand der revidierten Diagnosekriterien nach Brooks et al. [43] werden klinische Befunde, die auf eine Schädigung des oberen und/oder unteren Motoneurons hinweisen, mit laborchemischen Parametern kombiniert. Eine Region ist definiert als derselbe topographische Bereich bulbär, zervikal, thorakal oder lumobsakral.

Abkürzungen: LMN= unteres Motoneuron, UMN= oberes Motoneuron, EMG=Elektromyographie

Die motorische Schweregradskala ALSFRS-R (*Amyotrophic lateral sclerosis functional rating scale revised*) ermöglicht eine individuelle prognostische Aussage über die Abschätzung der Krankheitsprogression [45].

Zur Beurteilung des kognitiven Status von ALS-Erkrankten sind die Kriterien von Strong et al. etabliert. Diese Kriterien wurden 2009 definiert [46]. Darin werden klinische, elektrophysiologische, neuropsychologische, genetische und neuropathologische Merkmale berücksichtigt. In der ursprünglichen Version erfolgte eine Unterscheidung von Betroffenen mit rein motorischen Defiziten, mit Verhaltensbeeinträchtigungen (ALSbi), mit kognitiven Einschränkungen (ALSci), mit einer frontotemporalen Demenz (ALS-FTD) und einer Demenz, die nicht typisch für FTD ist (ALS-Demenz).

Da die Kriterien aber nicht ausreichend die Beeinträchtigung von sozialer Kognition, Sprache und Gedächtnisleistungen berücksichtigten, erfolgte 2017 eine Revision. Seither werden Formen der ALS mit Kognitions-/Verhaltensstörungen (unabhängig vom Ausmaß, d.h. mit und ohne Demenz) als ALS-Frontotemporale Spektrumsstörungen (ALS-FTSD) bezeichnet [47].

Zur beschleunigten Diagnosestellung und zur besseren Therapie- und Verlaufsbeurteilung ist es wichtig, die Pathogenese der ALS besser zu verstehen und neue Biomarker zu entwickeln [10,11,42].

Die Suche nach krankheitsspezifischen Biomarkern ist Gegenstand langjähriger Forschung. Phosphorylierte Neurofilamente gelten als vielversprechende Kandidaten [48]. Doch auch die schwere Kette der phosphorylierten Neurofilamente (p-NF-H) aus dem Liquor gewinnt ihre Sensitivität aus dem klinischen Kontext [49].

Die kraniale Routine-MRT zeigt bei der ALS keine spezifischen Auffälligkeiten, so dass eine MRT-Bildgebung nur zum Ausschluss anderer Ursachen der klinischen Symptome empfohlen wird [42].

Um Pathogenese, Diversität und Krankheitsprogression der ALS besser zu verstehen und beurteilen zu können, stellen erweiterte bildgebende Verfahren, neben der klinisch-chemischen Laboranalytik, einen vielversprechenden Ansatz dar. Dazu gehören die voxel- und oberflächenbasierte Morphometrie, die funktionelle MRT sowie nuklearmedizinische Untersuchungen. [50,51].

Therapie der ALS

Bis heute gibt es keine kurativen Behandlungsmöglichkeiten der ALS. Als einzige wirksame medikamentöse Therapie ist der Glutamat-Antagonist Riluzol in Deutschland zugelassen. Er verlängerte in zwei kontrollierten, randomisierten Studien die Überlebenszeit von Personen mit ALS um drei bis sechs Monate, führt jedoch nicht zu einer spürbar verbesserten Lebensqualität [52,53]. Daher stellt die symptomatische Therapie mit einer interdisziplinären Betreuung von Erkrankten und Familienangehörigen das bisher wichtigste Behandlungsstandbein dar. Dazu gehört die Überwachung der respiratorischen Funktion, die Sicherstellung und Erleichterung der Nahrungsaufnahme sowie eine palliativmedizinische Betreuung [54].

1.2 Bildgebende Verfahren in der ALS-Diagnostik

Eine Hyperintensität im kortikospinalen Trakt, eine Hypointensität im motorischen Kortex und eine generelle Hirnatrophie in T1- und T2-gewichteten Bildern sind häufige Veränderungen der kranialen Routine-MRT bei ALS-Erkrankten. Aufgrund einer geringen Sensitivität und Spezifität wird diese jedoch nicht zur definitiven Diagnosestellung empfohlen [55,56].

Im Forschungsbereich sind funktionelle und strukturelle bildgebende Verfahren etabliert und haben bereits zu einem besseren Krankheitsverständnis beigetragen [22]. Da für die vorliegende Studie eine strukturelle Bildgebung zur Anwendung kam, wird diese im Folgenden detaillierter erläutert.

Strukturelle Bildgebung

Mittels struktureller MRT-Techniken können Hirnvolumenunterschiede verschiedener Probanden oder Gruppen untersucht werden.

Die voxel-basierte Morphometrie (VBM) und die oberflächenbasierte Morphometrie (SBM) sind dabei die vorrangig verwendeten Verfahren.

Bei der VBM werden typischerweise T1-gewichtete Hirnbilder auf Voxel-Basis statistisch miteinander verglichen. So können Volumenunterschiede zwischen verschiedenen Gruppen erkannt und strukturelle Unterschiede, insbesondere bezüglich einer Hirnatrophie, dargestellt werden [57].

Die VBM wird zur Untersuchung verschiedener neurologischer Erkrankungen herangezogen, beispielsweise in der Diagnostik der Alzheimer-Krankheit [58], der Epilepsien [59] oder der

Schizophrenie [60]. VBM-Analysen liefern dabei einen Erkenntnisgewinn zu neuroanatomischen Unterschieden im Gruppenvergleich und können zu einem besseren Verständnis von Krankheitsentstehung und –Entwicklung beitragen. Eine direkte Übertragung des Verfahrens in den klinischen Alltag ist jedoch aufgrund einer fehlenden Aussagekraft für einzelne Individuen eingeschränkt [61]. Einzelfallstudien existieren zwar, zeigen bisher jedoch hohe falsch-positive Ergebnisse und sind nicht ausreichend validiert [62,63].

Eine verstärkte Hirnatrophie von ALS-Erkrankten gegenüber gesunden Kontrollen konnte mittels VBM mehrfach gezeigt werden. Dabei wurden verschiedene atrophe Hirnregionen identifiziert. Eine Metaanalyse mehrerer VBM-Studien kam zu dem Ergebnis, dass es bei der ALS häufig zu einer Atrophie der grauen Substanz des rechten Gyrus praecentralis kommt und dieser ein markantes Merkmal struktureller Veränderungen bei der ALS darstellt [64]. Im Gyrus praecentralis ist der primäre Motorkortex lokalisiert. Eine Atrophie in diesem Bereich ist Ausdruck der motorischen Funktionseinschränkung der klassischen ALS [65].

Außerdem wurden in verschiedenen Studien volumetrische Minderungen der grauen Substanz in Bereichen des frontotemporalen und parietalen Kortex, dem Gyrus cinguli sowie in subkortikalen Bereichen wie Thalamus und Hippocampus gefunden [65–68].

Zusätzlich konnte ein Zusammenhang zwischen kognitiven Beeinträchtigungen und einem Verlust an grauer Hirnsubstanz gezeigt werden. Beispielsweise wurde bei Personen mit ALS-FTD eine Beteiligung des Nucleus caudatus beschrieben [69] und Christidi et al. wiesen eine Hinvolumenminderung im Precuneus bei nicht dementen kognitiv beeinträchtigten ALS-Erkrankten nach [70].

Die oberflächenbasierte Morphometrie (SBM) basiert auf der Messung der kortikalen Dicke, also dem Abstand zwischen grauer Hirnsubstanz/korticospinaler Flüssigkeit und grauer Hirnsubstanz/weißer Hirnsubstanz in T1-gewichteten Sequenzen [71,72].

Bei ALS-Erkrankten hat die SBM eine Verminderung der kortikalen Dicke vorwiegend in primär-motorischen Kortexarealen gezeigt [73,74]. Insbesondere bei Betroffenen mit kognitiven Einschränkungen konnten außerdem extramotorische fronto-temporale Atrophiemuster mit der ALS in Verbindung gebracht werden [69,75]. Zusätzlich konnte eine über den Krankheitsverlauf zunehmende Hirnvolumenminderung im primär-motorischen Kortex festgestellt werden [76].

Eine vergleichende Studie der Verfahren „VBM“ und „SBM“ kommt zu dem Schluss, dass beide Methoden ergänzend verwendet werden sollten [77].

Ganzhirn-und regional-basierte Analysen

Um in einem Gruppenvergleich explorativ Hirnregionen zu identifizieren, die volumetrische Unterschiede aufweisen, wird ein Ganzhirn (whole-brain)-Ansatz gewählt. Im Gegensatz dazu werden bei regional-basierten Verfahren (ROI-Analysen) definierte Hirnbereiche untersucht, die zuvor ausgewählt wurden. Daher beruhen ROI-Analysen auf Hypothesen zu Hirnregionen, in denen Unterschiede erwartet werden.

ROIs können für einzelne Personen, basierend auf deren individueller Anatomie, definiert werden. Dieser Prozess ist jedoch sehr zeitaufwändig, weist große Unterschiede zwischen verschiedenen Untersucher*innen auf und ist für longitudinale Studien ungeeignet [78]. Daher gibt es auch die Möglichkeit der Atlas-basierten ROI-Analyse. Ein Atlas beruht auf anatomischen Gegebenheiten mehrerer Individuen, in denen ROIs manuell markiert wurden [79,80]. Solche Atlanten geben die Wahrscheinlichkeit an, mit der ein Voxel einer bestimmten Hirnregion zuzuordnen ist [79]. Einer der Atlanten ist der Harvard-Oxford Atlas, der in der vorliegenden Studie verwendet wurde. Er setzt sich aus 21 gesunden männlichen und 16 gesunden weiblichen Personen zusammen. Dabei werden 48 kortikale und 21 subkortikale Hirnbereiche definiert.

Der Vorteil der Ganzhirn- Analyse gegenüber den regional-basierten Verfahren ist die objektive (hypothesenfreie) Beurteilung des gesamten Gehirns ohne vorheriges Festlegen der Untersuchungsregionen [58]. Studien legen nahe, dass sich ROI- und VBM-Analysen ergänzen und demzufolge kombiniert werden sollten [81,82].

Längsschnittanalysen

Die Datenerhebung für Längsschnittstudien bei ALS-Erkrankten stellt aufgrund des schnellen Krankheitsverlaufs eine Herausforderung dar, da wiederholte Untersuchungen im Scanner insbesondere aufgrund rasch voranschreitender motorischer Defizite mit Atempumpenschwäche vielfach nicht mehr möglich sind [83]. In longitudinalen ALS-Studien dünne die Untersuchungskollektive gegen Ende des Beobachtungszeitraums daher aus (*attrition rate*; Schwundquote). Bei einer über sechsmonatigen Studiendauer liegt die Zahl der Studienausscheider*innen gewöhnlich bei über 50% [84].

Die bisher vorhandenen longitudinalen Studien zeigen ein heterogenes Bild. Progressive Hirnatrophien konnten im Bereich des prämotorischen Kortex und der Basalganglien [85], im frontotemporalen Kortex [68,86], in okzipitalen Kortexarealen und dem Gyrus cinguli [87] sowie der zerebellären grauen Hirnsubstanz und dem Gyrus praecentralis [88] nachgewiesen werden.

Dabei erfolgte ein Vergleich von ALS-Erkrankten mit gesunden Kontrollen ohne Stratifizierung kognitiver Einschränkungen. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass eine rasche Krankheitsprogression mit einem höheren Atrophiegrad der grauen Hirnsubstanz in präfrontalen und motorischen Arealen assoziiert ist [85].

Longitudinale Daten zu Veränderungen des Hirnvolumens in Abhängigkeit vom kognitiven Status lagen bis zur Durchführung dieser Arbeit nicht vor. Nachfolgend erschien 2020 eine Arbeit aus den Niederlanden, welche T1-gewichtete Veränderungen der grauen- und DWI-Veränderungen der weißen Substanz (longitudinal) in Abhängigkeit vom kognitiven Status untersuchte [89].

1.3 Untersuchungsziele und Hypothesen

In der hier vorgelegten Studie sollen an einer neuropsychologisch ausführlich untersuchten, großen ALS-Kohorte folgende Fragestellungen untersucht werden:

1. Welche Unterschiede in der grauen Hirnsubstanz weisen kognitiv beeinträchtigte und kognitiv nicht beeinträchtigte ALS-Erkrankte auf, bestimmt krosssektional mittels VBM?
2. Welche Unterschiede in der grauen Hirnsubstanz weisen kognitiv beeinträchtigte und kognitiv nicht beeinträchtigte ALS-Erkrankte auf, bestimmt longitudinal (über einen Beobachtungszeitraum von bis zu 18 Monaten) mittels VBM?
3. Können die Ergebnisse der Ganzhirn-VBM durch regional-basierte Analysen bestätigt werden?
4. Inwiefern lassen sich die Ergebnisse in die bestehende Literatur einordnen?

2 Material und Methoden

2.1 Studienkohorte und Studienaufbau

Für diese Studie wurden Daten verwendet, die im Rahmen des Intersite-Projektes „Cognition in Motor Neuron Disease“ des Deutschen Zentrums für Neurodegenerative Erkrankungen (DZNE) an den Standorten Rostock und Magdeburg erhoben worden waren. Zwischen 2011 und 2014 wurden 160 ALS-Erkrankten konsekutiv rekrutiert und longitudinal untersucht.

Dabei wurden neben wiederholten neuropsychologischen Tests und mehrfachen MRTs auch Blut-, Liquor- und molekulargenetische Analysen durchgeführt. Außerdem sollte eine neuropsychologische Testbatterie für den deutschsprachigen Raum validiert werden, bei der die motorischen Defizite der ALS-Erkrankten Berücksichtigung finden sollten. Einige Daten aus dem Projekt sind bereits publiziert worden [34,75,86,90].

Probanden und Probandinnen mit Hinweisen auf neuropsychiatrische Erkrankungen (Epilepsie, Psychosen u.a.) und/oder hirnstrukturelle Schädigungen (Schädelhirntraumata, neurovaskuläre Erkrankungen u.a.) wurden von der Studie ausgeschlossen. Alle Teilnehmenden wurden anhand der revidierten EL-Escorial-Kriterien diagnostiziert [43] und die Krankheitsprogression nach der revidierten ALS Functional Rating Scale (ALSFRS-R) ermittelt [45].

Die in der Studie eingeschlossenen Personen wurden zum Zeitpunkt *baseline* (t_0) neuropsychologisch untersucht und es wurde eine kraniale 3-Tesla-MRT durchgeführt. Danach wurden die Untersuchungen in einem Intervall von drei bis sechs Monaten wiederholt, bis maximal vier Erhebungen (t_0 , t_1 , t_2 , t_3) erfolgt waren. Es wurden weniger als drei Wiederholungen durchgeführt, wenn aufgrund der fortgeschrittenen Krankheitsschwere (meist Atempumpenschwäche) Untersuchungen im Scanner oder anstrengende neuropsychologische Testdiagnostiken nicht mehr möglich waren, oder die Teilnehmenden verstorben waren.

Zusätzlich wurden an beiden Standorten insgesamt 100 gesunde Kontrollpersonen über öffentliche Ausschreibungen rekrutiert. Sie wurden anhand des Screeningsverfahrens „Montreal Cognitive Assessment“ (MoCA) kognitiv beurteilt und nur Teilnehmende mit mindestens 26 von 30 Punkten berücksichtigt. Außerdem erhielten sie eine MRT-Bildgebung (zum Zeitpunkt t_0 und t_2). Für diese Studie wurde eine jeweils bezüglich Alter, Geschlecht und Bildungsgrad passende Stichprobe von ALS-Erkrankten und gesunden Kontrollpersonen (ALS N=64, gesunde

Kontrollen N=74) ausgewählt. Die Kontrollgruppe diente als Referenzstichprobe für die Einteilung der ALS-Erkrankten in die kognitive Gruppe. Für die weitere Datenanalyse wurde die Kontrollgruppe im Rahmen dieser Arbeit nicht berücksichtigt.

Alle Studienteilnehmenden haben nach Aufklärung über die Studie eine schriftliche Einwilligungserklärung abgegeben. Außerdem wurde die Studie von den Ethikkommissionen der medizinischen Fakultäten der Universitäten Magdeburg und Rostock gemäß der Deklaration von Helsinki genehmigt.

2.2 Neuropsychologische Untersuchungen und Gruppenzuteilung

Die neuropsychologische Untersuchung sowie Einteilung der ALS-Erkrankten in dieser Studie basiert auf den Ergebnissen der Arbeit von Kasper [91]. Da motorische Einschränkungen typische Krankheitsmerkmale der ALS sind (darunter nicht sprechen und nicht schreiben können), hat Kasper die Testbatterie modifiziert. Dadurch konnten auch fein- bzw. sprechmotorisch beeinträchtigte ALS-Erkrankte an der Studie teilnehmen. So wurden nonverbale oder geschwindigkeitsunabhängige Verfahren entwickelt bzw. einzelne bereits für die ALS-Diagnostik etablierte Methoden verwendet. Trotz der vorgenommenen Adaptionen entsprechen die Tests dem internationalen Standard [91]. Die etwa 90-minütige Testbatterie wurde von zwei Psychologinnen aus Rostock und Magdeburg durchgeführt. Dabei wurden verschiedene kognitive Funktionsbereiche wie Sprache, Gedächtnis, Aufmerksamkeit, Exekutivfunktion und visuell-räumliche Fertigkeiten in die Testung eingeschlossen [34,91].

Die Kategorisierung der Teilnehmenden wurde anhand ihrer jeweiligen Ergebnisse nach jeder Testung mittels adaptierter Kriterien von Strong et al. und Phukan et al. vorgenommen [12,46]. Durch die neuropsychologischen Untersuchungen wurden die Gruppen *kognitiv beeinträchtigt (cognitive impaired (ALSci))*, *kognitiv nicht beeinträchtigt (non-cognitive impaired (ALSni))* und mit Zeichen der *frontotemporalen Demenz (ALS-FTD)* gebildet. Als Referenzwert für die Gruppenzuordnung dienten die Ergebnisse der Kontrollgruppe: Alle Teilnehmenden mit zwei Standardabweichungen oder mehr unter dem Mittelwert der gesunden Kontrollpersonen in mindestens zwei verschiedenen Unterfunktionen einer kognitiven Domäne wurden als kognitiv beeinträchtigt betrachtet und der Gruppe ALSci zugeordnet, die anderen der Gruppe ALSni. Wurden die Diagnosekriterien einer frontotemporalen Demenz erfüllt, erfolgte die Zuordnung zu der Gruppe ALS-FTD.

In einigen Fällen (N=12) kam es im Rahmen der longitudinalen Untersuchung bei der neuropsychologischen Gruppenzuteilung zu klinisch nicht plausiblen Resultaten. Zum Beispiel kam es vor, dass eine Person zu den Zeitpunkten t_0 und t_1 der Gruppe ALSci zugeteilt wurde, zum Zeitpunkt t_2 dann aber der Gruppe ALSni. Daher erfolgte eine Angleichung der Gruppenzuordnung².

Es wurden nur Datensätze berücksichtigt, bei denen longitudinale Untersuchungen zur Verfügung standen. Die Gruppe ALS-FTD wurde aufgrund der zu geringen Stichprobengröße (N=9) und nicht vorhandener longitudinaler Daten von dieser Studie ausgeschlossen.

Somit konnte für den ersten Erhebungszeitpunkt eine Gesamtzahl von 64 Teilnehmenden in die Studie eingeschlossen werden. Diese wurden in den Gruppen ALSni und ALSci über einen Beobachtungszeitraum von bis zu 18 Monaten untersucht.

	Messbasis, (N 64)	ALSni, (N 54)	ALSci, (N 10)
Studienpopulation ($t_0+t_1/t_2/t_3$)	64	54/37/12	10/5/3
N (m/f)	40/24	33/21	7/3
Alter (SD)^a	59,0 (10,9)	57,4 (10,3)	67,4 (10,3)
Händigkeit (r/l)	60/3	50/3	10/0
Bildungsjahre (SD)^a	34,4 (7,2)	13,1 (2,5)	11,2 (1,6)
ALSFRS-R Score (SD)	12,8 (2,5)	34,4 (7,5)	34,4 (5,7)
Diagnostizierte El Escorial Kategorie (n.a./possible/probable/definite)	12/21/14/17	9/19/13/13	2/2/1/4

Tabelle 1: Demographische Charakterisierung der Studienkohorte

Falls nicht anders bezeichnet, handelt es sich um absolute Häufigkeiten; ^a Einheit: Jahre

Abkürzungen: ALSni= ALS-Erkrankte nicht kognitiv beeinträchtigt, ALSci=ALS-Erkrankte kognitiv beeinträchtigt, N=Anzahl Teilnehmende, SD=Standartabweichung, m=maskulin, f=feminin, r=rechts, l=links, n.a.= nicht anwendbar (not applicable), t_{0-3} =Messzeitpunkte

² Ausführlichere Informationen zum Gruppenwechsel sind im Anhang aufgeführt

2.3 Voxel-basierte Morphometrie

Um lokale Unterschiede der grauen Hirnsubstanz zwischen ALS-Erkrankten mit- und ohne kognitiver Beeinträchtigung erkennen zu können, wurde die Voxel-basierte Morphometrie (VBM) verwendet.

Die dafür notwendigen MRT-Daten wurden in Rostock und Magdeburg an einem Siemens 3-Tesla MAGNETOM Verio Scanner unter Verwendung einer 32-Kanal-Spule (Siemens, Erlangen, Deutschland) aufgezeichnet (Software-Paket: Syngo, Version MR B17). Das Protokoll enthielt eine hochaufgelöste sagittale T1-gewichtete Sequenz (T1-MPRAGE); Echozeit (TE) = 4,82 ms, Repetitionszeit (TR) = 2500 ms, Inversionszeit (TI) = 1100 ms, flip angle = 7°, Bandbreite = 140 Hz, Matrix = 256x256x192, isometrische Voxelgröße = 1.0 mm³. An beiden Standorten wurden identische Scansequenzen und standardisierte Arbeitsabläufe verwendet.

Die VBM ist ein Analyseverfahren, bei dem eine Voxel-weise Untersuchung regionaler Unterschiede der einzelnen Kompartimente im Hirn erfolgt (in der Regel nur graue Substanz). Dabei werden die Volumenunterschiede zweier Gruppen statistisch miteinander verglichen oder Volumenwerte mit Drittvariablen korreliert, z.B. der kognitiven Leistung.

Für diese Studie erfolgte zunächst eine visuelle Qualitätskontrolle aller MRTs, um Daten mit schlechter Bildqualität, Artefakten oder auffälligen Befunden von der Studie ausschließen zu können. Um die einzelnen T1-gewichteten MRT-Bilder auswerten zu können, sind im Vorfeld einige Bearbeitungsschritte notwendig, die die Daten zur Analyse aufbereiten und die einzelnen Scans untereinander statistisch vergleichbar machen:

1. Segmentierung (*segmentation*)
2. Räumliche Normalisierung (*normalization*)
3. Modulation (*modulation*)
4. Glättung (*smoothing*)
5. Statistische Auswertung

Diese Schritte sind in Abbildung 3 zusammengefasst und werden im Folgenden näher erläutert.

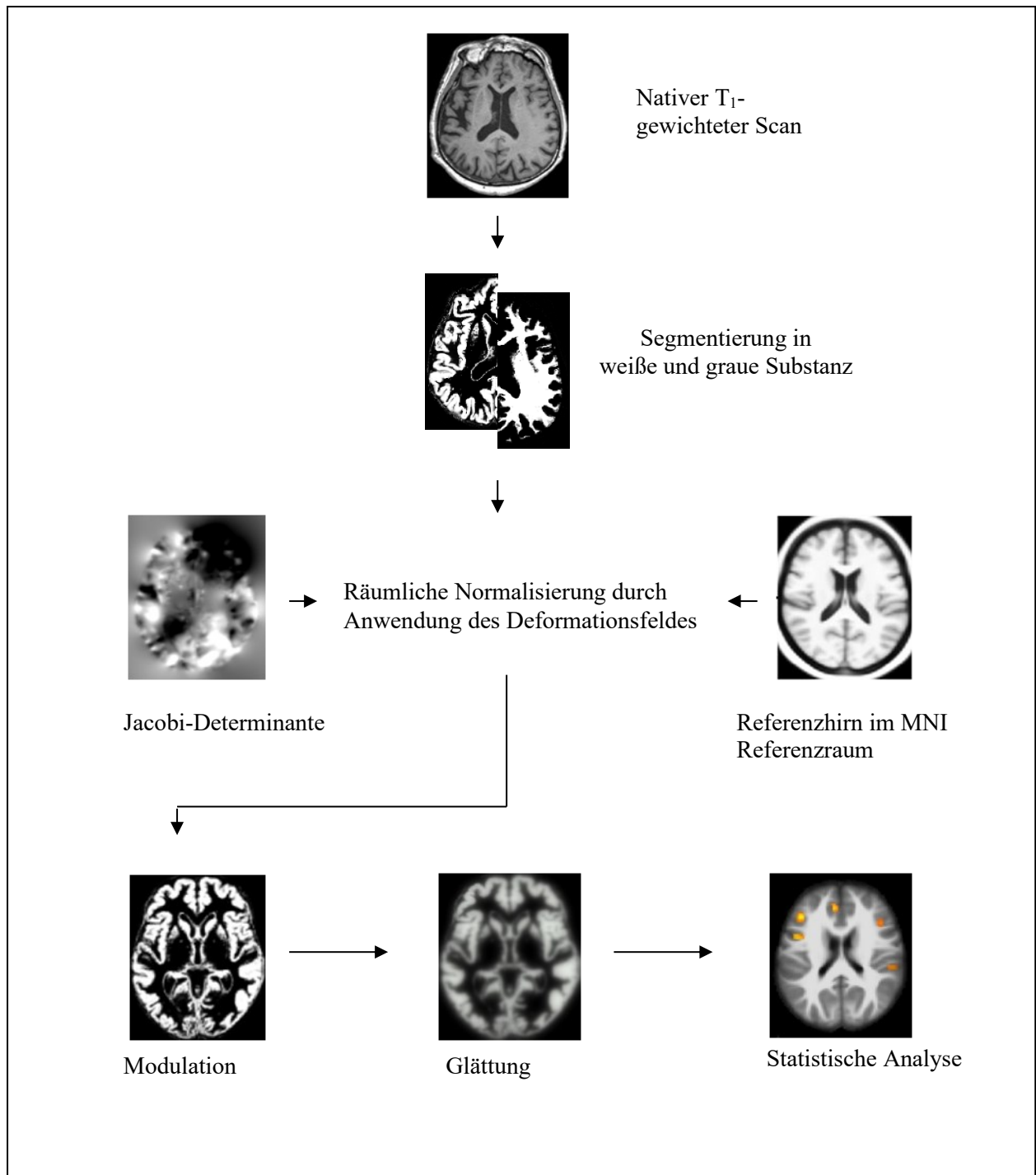


Abbildung 3: Schritte zur Vorverarbeitung mit VBM8

Die T₁-gewichteten MRT-Bilder werden zunächst in ihre Hauptkomponenten, u.a. graue und weiße Substanz, aufgeteilt. Mittels eines Referenzhirns wird dann im MNI-Referenzraum das Deformationsfeld zur räumlichen Normalisierung unter Einbezug der Jacobi-Determinante berechnet. Die letzten Schritte bestehen aus der Modulation, der Glättung und der statistischen Auswertung (Eigene Grafik, Einzelbilder aus [133]).

Segmentierung

Der Arbeitsablauf bei einer VBM-Analyse beginnt standardisiert mit der Aufteilung des Gehirns in seine drei Hauptkomponenten: Die graue Hirnsubstanz, die weiße Hirnsubstanz sowie die zerebrospinale Flüssigkeit. Zusätzlich erfolgt noch die Abgrenzung von nicht zum Gehirn gehörenden Gewebearten wie Dura, Schädel und Hintergrund [92].

Die Segmentierung beruht auf Intensitätsunterschieden der einzelnen Gewebearten in dem aufgenommenen Bild. Dafür wird die Lokalisation der verschiedenen Bereiche anhand eines Gaußschen Mischverteilungsmodells (*Gaussian mixture model*) ermittelt [57]. Damit kann der Anteil eines bestimmten Gewebetyps für jedes Voxel ermittelt werden.

Da ein Voxel aber auch verschiedene Gewebearten enthalten kann, kommt es insbesondere im Übergangsbereich verschiedener Gewebe zu Überschneidungen mit ungenauer Zuordnung. Daher werden Vorinformationen über die anatomische Lokalisation der einzelnen Komponenten herangezogen, sogenannte *Gewebewahrscheinlichkeitskarten* (*Tissue probability maps*). Diese geben die Wahrscheinlichkeit an, mit der bestimmte Gewebetypen an jedem Ort des Bildes gefunden werden [93]. Die Kombination beider Informationen erfolgt über einen Bayes-Schätzer. Der Prozess wird über mehrere Iterationen wiederholt, bis sich das Ergebnis nicht mehr entscheidend verändert [94].

Räumliche Normalisierung

Das Gehirn jedes Menschen weist eine individuelle Ausprägung auf. Damit sich die Hirnstrukturen verschiedener Personen besser in ihrer Lage entsprechen und vergleichbar sind, werden die Bilddaten so transformiert, dass sie sich im selben stereotaktischen Raum befinden. Das bedeutet, dass die einzelnen Hirnbilder zunächst anhand definierter anatomischer Landmarken so ausgerichtet werden, dass sie in einem standardisierten Raum bzw. Koordinatensystem statistisch verglichen werden können. Dies wird im ersten Schritt durch Rotation, Translation, Skalierung oder Scherung erreicht und stellt eine lineare Transformation dar. Da die Neuausrichtung dreidimensional erfolgt (x, y, z) werden dazu zwölf Parameter verwendet.

In einem zweiten Schritt wird mittels eines nichtlinearen Modells jedes individuelle Bild auf ein Referenzhirn projiziert und so deformiert, dass auch kleinere, lokale Unterschiede angepasst werden können. Dafür wird eine Karte erstellt, das sogenannte Deformationsfeld. In diesem ist festgelegt, wie weit ein Voxel des nativen T1-Bildes wandern muss, um dem passenden Voxel im Referenzhirn zu entsprechen.

Diese Informationen können dann als Jacobi-Determinante aus dem Deformationsfeld abgeleitet werden. Dadurch wird es möglich, die einzelnen Hirnbilder Voxel für Voxel miteinander zu vergleichen [57,92,95]. Beim Normalisierungsverfahren werden initial jedoch nicht die Intensitätswerte der einzelnen Voxel verändert [57].

Für diese Studie wurde der *Diffeomorphic Anatomical Registration Through Exponentiated Lie Algebra* (DARTEL)-Algorithmus verwendet. Als Referenzhirn wurde auf das Mustergehirn im *Montreal Neurological Institute* (MNI) Referenzraum zurückgegriffen, welches aus einer Stichprobe von 550 gesunden Personen erstellt ist und dem verwendeten Programm zugrunde lag³.

Modulation

Die Modulation ist ein optionaler Schritt, der jedoch für die Vergleichbarkeit von Volumina wichtig ist. Während der nicht-linearen Normalisierung werden einige Bildbereiche gedehnt, während andere gestaucht werden. Die daraus resultierenden lokalen Volumenänderungen können mit Hilfe der Jacobi-Determinante ausgeglichen werden, die während der Normalisierung aus dem generierten Deformationsfelde abgeleitet wird. Dazu werden die segmentierten Bild-daten mit dieser Jacobi-Determinante multipliziert [57].

Glättung

Im letzten Schritt werden die Daten geglättet. Dafür wird mittels eines Gaußkerns der gewichtete Mittelwert eines Voxels unter Einbezug der gewichteten Mittelwerte aller benachbarten Voxel berechnet. Dabei bestimmt die gewählte Größe des Gaußkerns, welche Nachbarvoxel in der Berechnung berücksichtigt werden [57,96]. Die Glättung geht zwar mit einem Verlust der räumlichen Auflösung einher, ist aber dennoch von Vorteil, da hierdurch bei der Voxelweisen Analyse regionale Unterschiede besser dargestellt werden können. Mit Hilfe des zentralen Grenzwertsatzes werden die Daten durch die Glättung außerdem besser an die Normalverteilung angenähert, wodurch die Validität parametrischer Tests gesteigert wird [61]. Zusätzlich dient die Glättung dem Ausgleich von Ungenauigkeiten bei der Normalisierung und der Rauschreduktion.

³ <http://dbm.neuro.uni-jena.de/vbm8/>

Statistische Analyse

Die Datenauswertung erfolgte unter Verwendung der Software *Statistical Parametric Mapping* (SPM8; Wellcome Centre for Human Neuroimaging⁴, University College London, United Kingdom) sowie *Voxel-Based Morphometry* (VBM8; Structural Brain Mapping Group, Kliniken für Psychiatrie und Neurologie der Universität Jena⁵), die in Matlab (MathWorks) implementiert wurden. Die Zuordnung der gefundenen Volumenunterschiede zu einzelnen Hirnregionen erfolgte mit Hilfe des in SPM integrierten *Automated Anatomical Labeling* (AAL)-Atlas⁶.

Das Analyseverfahren bei Querschnittsstudien

Zur statistischen Auswertung der Daten wurden *Verallgemeinerte lineare Modelle* verwendet. Diese entsprechen multiplen Regressionsmodellen, die unabhängig für jedes Voxel berechnet werden. Die Ergebnisse sind statistische Parameterkarten für jeden Modellkoeffizienten. Daraus lassen sich Hirnbereiche visualisieren, in denen signifikante Gruppenunterschiede aufgetreten sind [57,95].

Mit dem allgemeinen linearen Modell können verschiedene statistische Tests wie t-Tests oder F-Tests durchgeführt werden. Außerdem können Gruppenunterschiede auch unter Berücksichtigung verschiedener Kovariaten berechnet werden [57]. Kovariaten sind Variablen wie Alter oder Geschlecht, die einen bekannten Einfluss auf das Hirnvolumen haben und daher im Modell integriert werden sollten. Da die statistische Auswertung eine sehr große Anzahl an Voxel berücksichtigt, kann es zum Problem des multiplen Testens kommen. Dies entsteht, da bei der häufigen Testung das angestrebte Signifikanzniveau α inflationiert wird und die Nullhypothese zu häufig zurückgewiesen wird.

Typischerweise wird zur Berichtigung dieses Fehlers die Bonferroni-Korrektur verwendet. Diese ist jedoch aufgrund der hohen Anzahl an durchgeführten Tests (>100.000) zu konservativ. Alternativ bietet sich die Korrektur nach Benjamini-Hochberg an, die auch *false discovery rate* (FDR)-Korrektur genannt wird. Bei der FDR-Korrektur werden anhand einer Schätzmethode basierend auf der Verteilung der p-Werte einige falsch-positive Ergebnisse zugelassen, wenn deren Gesamtzahl gemessen an allen positiven Ergebnissen gering bleibt. Als Signifikanzgrenze wird üblicher Weise eine FDR von $p < 0.05$ gewählt.

⁴<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>

⁵ <http://dbm.neuro.uni-jena.de/vbm8/>

⁶ <http://www.gin.cnrs.fr/AAL>

Das Analyseverfahren bei longitudinalen Studien

Die VBM-Analyse longitudinaler Daten erfolgt im Wesentlichen wie die bei Querschnittsanalysen. Allerdings müssen bei der Datenauswertung intraindividuelle Unterschiede innerhalb der longitudinalen MRT-Daten berücksichtigt werden. Während der räumlichen Normalisierung kann es vorkommen, dass Unterschiede im zeitlichen Verlauf ausgeglichen werden. Da diese Unterschiede aber Untersuchungsziel sind, gibt es für die Analyse longitudinaler Daten folgende Methodik: Nach einer initialen Neuausrichtung aller MRT-Daten wird der Mittelwert aller Bilder einer Person ermittelt und daraus ein Referenzbild generiert. Die räumliche Normalisierung und Segmentierung erfolgen dann jeweils unter Berücksichtigung des Referenzbildes. Die einzelnen Schritte sind in Abbildung 4 dargestellt.

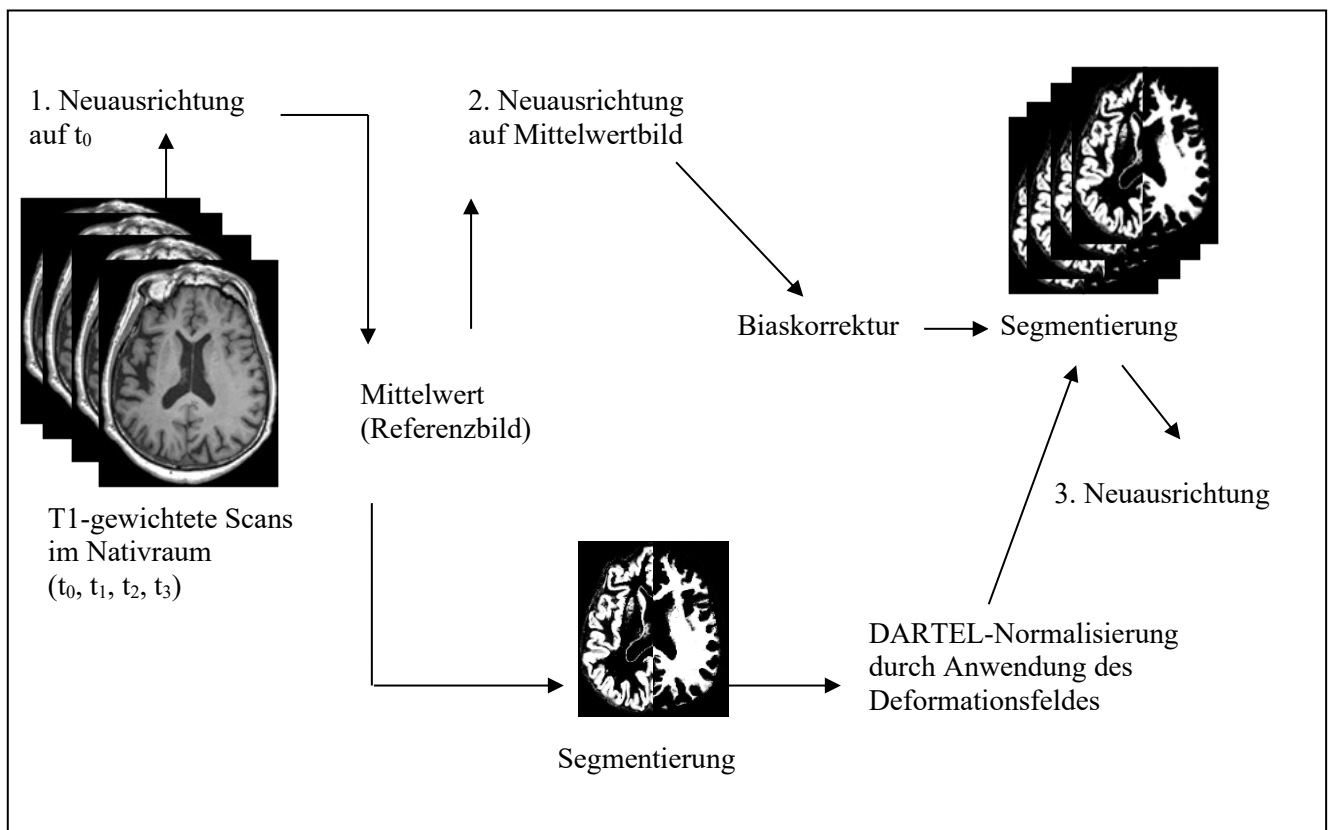


Abbildung 4: Schritte zur Bilddatenvorverarbeitung longitudinaler Datenanalysen mit VBM8

Für alle nativen T₁-gewichteten MRT-Scans wird nach einer initialen Neuausrichtung der Mittelwert aller Scans berechnet. Dieser bildet dann das *Referenzbild* (Baselinebild oder mean image). Unter Berücksichtigung des Referenzbildes erfolgt dann eine zweite Neuausrichtung, gefolgt von einer Korrektur möglicher entstandener Verzerrung. Die Segmentierung in graue und weiße Substanz erfolgt sowohl für das Referenzbild als auch für die korrigierten Einzelscans. Die Normalisierung erfolgt dann nur am Referenzbild durch Anwendung des Deformationsfeldes. Die Ergebnisse werden auf die segmentierten Einzelscans übertragen und diese erneut neu ausgerichtet (Eigene Grafik, Einzelbilder aus [133]).

2.4 Statistische Auswertung

In einem ersten Schritt wurden die Gruppen ALSni und ALSci des ersten Messzeitpunktes in einem Querschnittsdesign miteinander verglichen. Für die statistische Auswertung mittels SPM wurde ein Zweistichproben t-Test für ungepaarte Stichproben durchgeführt. Damit sollten potenzielle Gruppenunterschiede der Ausgangsdaten zum Zeitpunkt der ersten Untersuchung dargestellt werden, wobei das Hirnvolumen die abhängige Variable der Untersuchung darstellte. Während der Analyse wurden folgende Kovariaten berücksichtigt: Geschlecht, Alter, Testort und totales intrakranielles Volumen (TIV).

In einem zweiten Schritt wurde die Hirnvolumenänderung der Gruppen ALSni und ALSci longitudinal untersucht. Dabei wurden die Daten des letzten Messzeitpunktes (t_{\max}) mit denen des ersten Messzeitpunktes (t_0) verglichen. Es wurden dieselben Kovariaten wie in der Querschnittsstudie einbezogen. Zusätzlich wurde die Zeitspanne zwischen dem ersten und letzten Testzeitpunkt als Kovariate berücksichtigt.

2.5 Regional-basierte Analyse

Um die Ergebnisse der VBM-Analyse zu verifizieren und zu ergänzen, wurde in einem zweiten Schritt eine regional-basierte Analyse durchgeführt. Dafür wurde die vorhandene Stichprobe ebenfalls in einem Querschnitts- und Längsschnittsdesign untersucht. Als anatomische Grundlage wurden die entsprechenden Annotationen des Harvard-Oxford Atlas verwendet (bereitgestellt über das FSL software package; <http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/>). Zur Untersuchung der Hirnvolumenänderung erfolgte die statistische Analyse mit Hilfe des Statistikprogramms R.

Ein möglicherweise vermindertes Hirnvolumen bei der Gruppe ALSci im Vergleich zur Gruppe ALSni wurde zunächst explorativ, datengetrieben für alle Regionen untersucht. Damit sollten Hirnregionen ermittelt werden, bei denen ein statistisch signifikanter Gruppenunterschied besteht. Dafür wurde eine lineare Regressionsanalyse durchgeführt, wobei die Variablen Zeitspanne zwischen t_0 und t_{\max} , Geschlecht, Alter, Testort und TIV sowie die Gruppenzuordnung (ALSci/ALSni) als Kovariaten in das Modell integriert wurden. Es wurde ein Signifikanzniveau von $p < 0.05$ gewählt.

Zur spezifischen Analyse wurden exemplarisch Hirnregionen ausgewählt, die in der VBM bzw. der explorativen Untersuchung signifikante Ergebnisse gezeigt hatten und in der Literatur als

für die ALS relevante Hirnregionen eingestuft werden. Die ausgewählten ROIs sind in Tabelle 2 dargestellt.

Um einen Überblick der Größenverteilung der Hirnvolumina in den einzelnen ROIs zu erhalten und Gruppenunterschiede feststellen zu können, wurden der Median, das untere- und obere Quartil sowie Minimum und Maximum bestimmt und die Ergebnisse graphisch mittels Box-Whisker-Plots dargestellt.

Zusätzlich wurde die Trennungsgüte des gemessenen regionalen Volumens zwischen den Gruppen ALSni und ALSci untersucht. Aufgrund der Stichprobengröße wurde hierbei auf eine umfangreichere Validierung mittels Einteilung in gesonderte Trainings-/Testdaten verzichtet. Grenzwertoptimierungskurven (*Receiver Operating Characteristic*, ROC) gelten als geeignetes Mittel, um zu überprüfen, bei welchem Grenzwert ein diagnostisches System am effektivsten zwischen zwei Gruppen unterscheiden kann. Dafür werden die Sensitivität und Spezifität der Daten anhand eines gleitenden Schwellwerts ermittelt und können graphisch dargestellt werden [98].

Die Diskriminationsfähigkeit der einzelnen Kurven kann mittels der Berechnung der resultierenden Fläche unter der Kurve (*Area under the curve*, AUC) quantifiziert werden. Ein idealer Test hat eine AUC von 1, ein Zufallsergebnis eine AUC von 0,5. Im letztgenannten Fall bildet die Kurve eine Diagonale [97]. Je näher die Kurve der oberen, linken Ecke kommt, desto besser ist die Diskriminationsfähigkeit. Die ROC-Kurven wurden in R mittels des Zusatzpaketes „pROC“ erstellt [98].

Rechts:	Links:
Hippocampus	Hippocampus
	Gyrus frontalis inferior, Pars triangularis
	Lateraler okzipitaler Kortex
	Gyrus frontalis medialis
	Gyrus praecentralis

Tabelle 2: ausgewählte ROIs zur spezifischeren Untersuchung

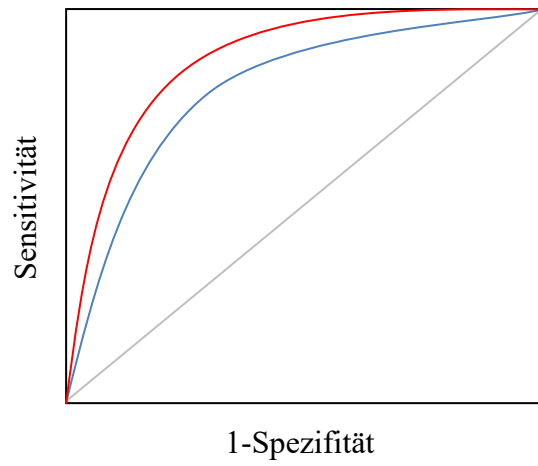


Abbildung 5: Diskriminationsfähigkeit anhand von ROC-Kurven
Test **A** zeigt eine bessere Diskriminationsfähigkeit als Test **B**

3 Ergebnisse

Nach der visuellen Qualitätskontrolle und der neuropsychologischen Einteilung konnten insgesamt 64 Teilnehmende mit mindestens zwei Messzeitpunkten in die Studie eingeschlossen werden. Davon wurden anhand der Ergebnisse der neuropsychologischen Beurteilung 54 ALS-Erkrankte (84,4%) der Gruppe ALSni und 10 ALS-Erkrankte (15,6%) der Gruppe ALSci zugeteilt.

Bei 15 Teilnehmenden gelang eine Datenakquirierung über den gesamten Erhebungszeitraum, also über vier Messzeitpunkte. Bei weiteren 27 Teilnehmenden konnten drei Datenerhebungen und bei 22 Teilnehmenden zwei Datenerhebungen durchgeführt werden. Zum letzten Untersuchungszeitpunkt (t_3) waren zwölf ALS-Erkrankte der Gruppe ALSni und drei ALS-Erkrankte der Gruppe ALSci zugeteilt.

3.1 Ergebnisse der voxel-basierten Morphometrie

In der Querschnittsanalyse konnte eine Volumenminderung der grauen Hirnsubstanz in der Gruppe ALSci gegenüber der Gruppe ALSni im Hippocampus und Lobus frontalis beidseits, im linken Lobus okzipitalis, der linken Amygdala und dem linken anterioren Cingulum sowie im Gyrus postcentralis rechts und Thalamus rechts gefunden werden. Die Ergebnisse sind in Abbildung 6 und Tabelle 3 dargestellt. Diese sind alle für $p < 0.001$ unkorrigiert für multiple Vergleiche, sowie für eine FDR von $p < 0.05$ signifikant.

In der Längsschnittanalyse konnten progressive volumetrische Minderungen im Zerebellum beidseits sowie in frontotemporalen Gyri rechts, im Lobus okzipitalis links und im Gyrus praecentralis links festgestellt werden. Die Ergebnisse waren für $p < 0.001$ (unkorrigiert) signifikant, nach der FDR-Korrektur zeigten sich jedoch keine signifikanten Ergebnisse mehr. Die Ergebnisse der longitudinalen Analyse sind in Abbildung 7 und Tabelle 4 dargestellt.

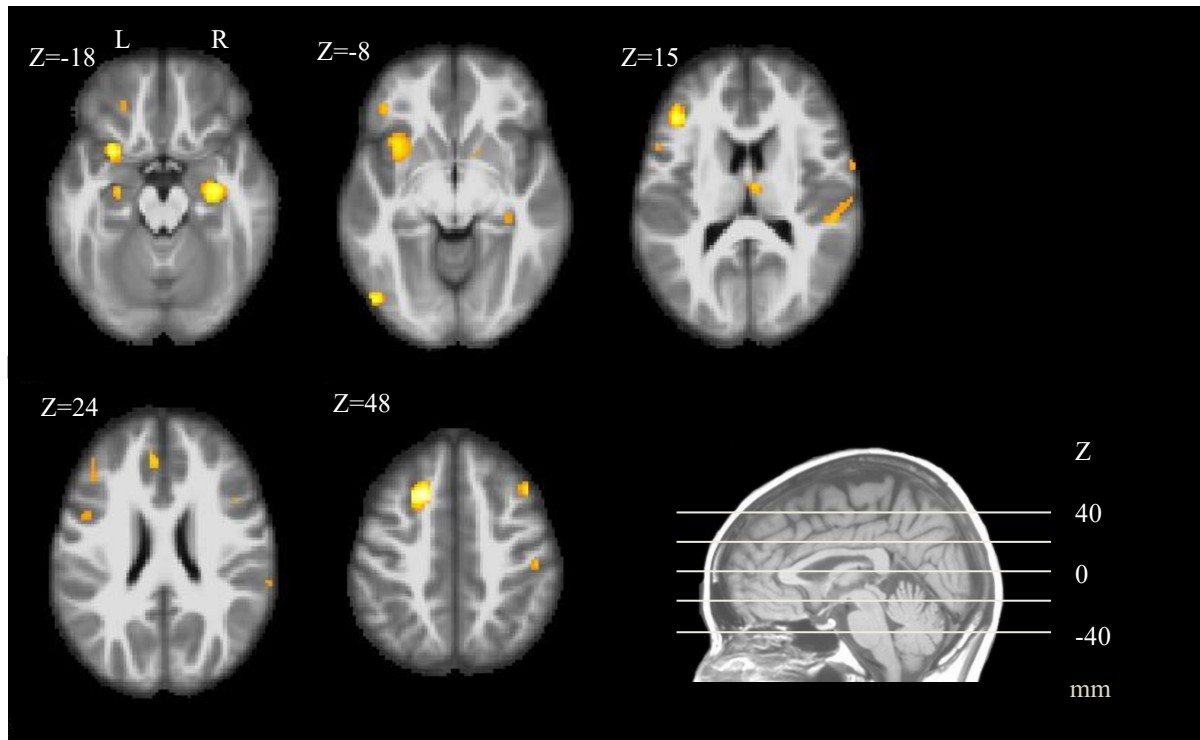


Abbildung 6: VBM-Analyse, Hirnregionen mit vermindertem Hirnvolumen, Querschnitt
Vergleich der Gruppe ALSci gegenüber der Gruppe ALSni bei einer FDR $p < 0.05$; Abkürzungen: L=links, R=rechts

	Hirnregion	Hemisphäre	MNI Koordinaten x, y, z	Anzahl der Voxel pro Cluster	t-Wert
Lobus frontalis	Gyrus frontalis medialis	L	-20, 18, 49	447	5.58
	Gyrus frontalis inferior¹	R	45, 21, 48	152	4.29
	Gyrus frontalis inferior ¹	L	-50, 3, 19	81	3.69
	Gyrus frontalis inferior ²	L	-44, 36, -8	101	3.67
	Gyrus frontalis inferior ³	R	45, 15, 24	18	3.51
	Gyrus frontalis inferior³	L	-45, 30, 18	378	4.88
	Gyrus cinguli anterior	L	-6, 39, 24	84	3.94
Lobus parietalis	Gyrus postcentralis	R	50, -24, 51	85	4.30
	Gyrus postcentralis/ Gyrus temporalis superior	R	64, 2, 10	504	4.28
Lobus temporalis	Amygdala	L	-33, 11, -17	725	5.30
	Hippocampus	R	32, -13, -18	718	4.79
	Hippocampus	L	-27, -18, -14	154	4.16
	Gyrus parahippocampalis	L	-20 -18 -27	44	3.72
	Gyrus supramarginalis	R	66, -34, 25	25	3.57
Lobus occipitalis	Gyrus occipitalis inferior/medialis	L	-51, -78, -3	273	5.4
Thalamus		R	4, -12, 15	60	3.79

Tabelle 3: VBM-Analyse, signifikante Volumenminderung der grauen Hirnsubstanz, Querschnitt

Die MNI Koordinaten geben die Lokalisation der Höchstwerte gefundener Unterschiede zwischen den Gruppen ALSci und ALSni an. Die Größe der jeweils betroffenen Hirnregion wird durch die Anzahl der Voxel angegeben. L=Links, R=Rechts, 1= Pars opercularis, 2=Pars orbitalis, 3=Pars triangularis (Broca-Zentrum), $p < 0.001$ unkorrigiert, **Schriftdicke**= korrigiert für FDR $p < 0.05$, erwartete Voxel pro Cluster $k=87.05$

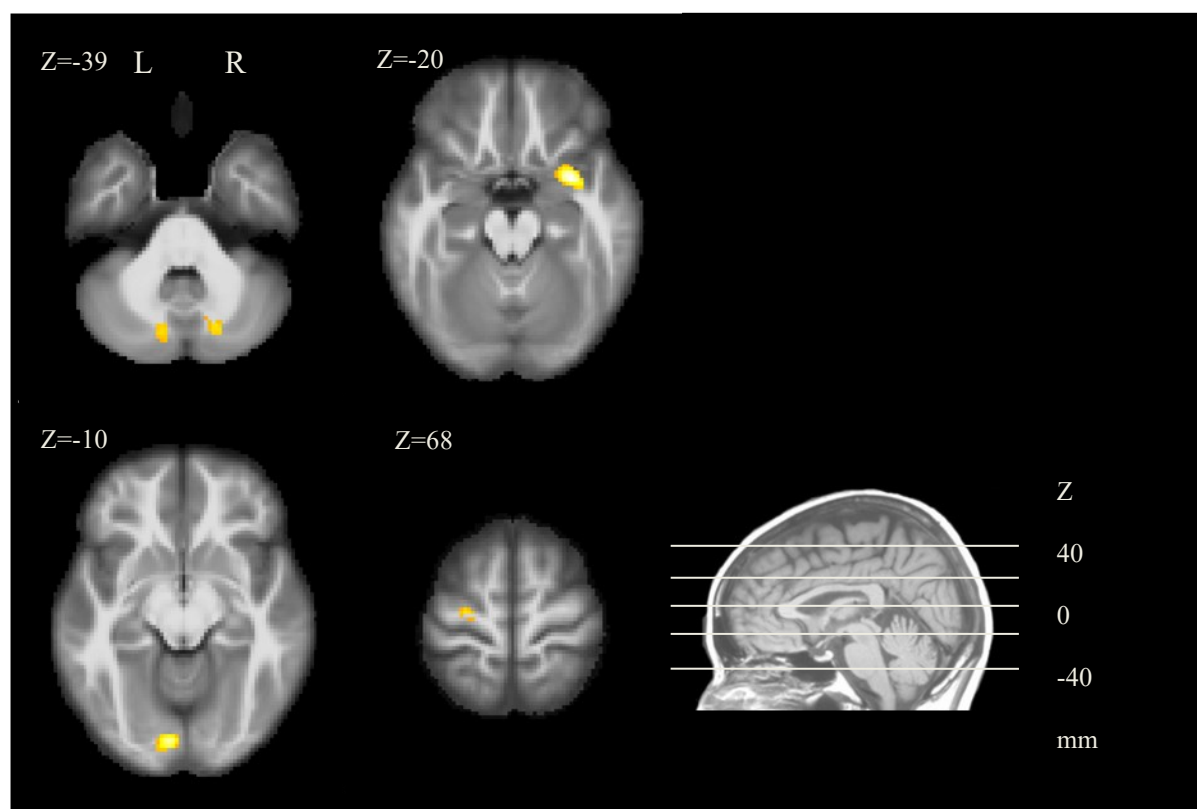


Abbildung 7: VBM-Analyse, Hirnregionen mit vermindertem Hirnvolumen, Längsschnitt

Vergleich Gruppe ALSci gegenüber der Gruppe ALSni für $p < 0.001$ unkorrigiert

Abkürzungen: L=links, R=rechts, Z= MNI-Koordinate

Hirnregion		Hemisphäre	MNI Koordinaten x, y, z	Anzahl der Voxel pro Cluster	t-Wert
Lobus frontalis	Gyrus praecentralis	L	-26, -18, 67	61	3.64
	Gyrus frontalis inferior ² / Temporalpol medial/superior	R	32, 4, -20	461	5.06
Lobus occipitalis	Gyrus occipitalis medialis	L	-9, -88, -11	201	4.72
Cerebellum		R	18, -76, -39	186	3.62
Cerebellum		L	-10, -75, -35	251	3.73

Tabelle 4: VBM-Analyse, signifikante Volumenminderung der grauen Hirnsubstanz, Längsschnitt

Die MNI Koordinaten geben die Lokalisation der Höchstwerte gefundener Unterschiede zwischen den Gruppen ALSci und ALSni an. Die Größe der jeweils betroffenen Hirnregion wird durch die Anzahl der Voxel angegeben. L=Links, R=Rechts, 2=Pars orbitalis, $p < 0.001$ unkorrigiert, erwartete Voxel pro Cluster $k=68.084$

3.2 Ergebnisse der regional-basierten Analyse

Bei der regional-basierten Analyse wurde dasselbe Untersuchungskollektiv wie bei der VBM untersucht.

In der explorativen (datengetriebenen) krosssektionalen Analyse zeigten die in Tabelle 5 dargestellten Hirnregionen der ALSci-Gruppe ein signifikant geringeres Hirnvolumen im Vergleich mit der ALSni-Gruppe. In der longitudinalen Untersuchung zeigten die in Tabelle 6 dargestellten Hirnregionen eine progrediente Minderung der grauen Hirnsubstanz.

Insbesondere frontale Hirnbereiche sowie der Hippocampus zeigten Übereinstimmungen mit den Ergebnissen der VBM-Analyse bei der Querschnittsuntersuchung. Im longitudinalen Bereich konnte lediglich für den Gyrus praecentralis und den Gyrus frontalis inferior eine Übereinstimmung mit der VBM-Analyse gefunden werden.

	Hirnbereich	Hemisphäre	t-Wert	p-Wert	Volumenreduktion in ml
Zerebraler Cortex		L	-3,06	0,003	10,81
Zerebraler Cortex		R	-2,13	0,038	7,489
Lobus frontalis	Frontalpol	R	-2,69	0,009	1,457
	Frontalpol	L	-2,90	0,005	0,563
	Gyrus frontalis superior	L	-2,58	0,013	0,886
	Gyrus frontalis medialis	R	-2,76	0,008	0,998
	Gyrus frontalis medialis*	L	-2,37	0,021	0,763
	Gyrus frontalis inferior^{3*}	L	-3,37	0,001	0,335
	Gyrus frontalis inferior^{1*}	L	-2,72	0,009	0,333
	fronto-orbitaler Cortex	L	-3,02	0,004	0,766
	fronto-orbitaler Cortex	R	-2,13	0,037	0,497
	Paracingulum*	L	-2,01	0,049	0,333
Lobus temporalis	Planum Temporale	R	-2,78	0,007	0,216
	Gyrus temporalis transversus	R	-3,26	0,002	0,157
	Hippocampus*	R	-4,37	0,000	0,523
	Hippocampus*	L	-3,43	0,001	0,388
	Gyrus parahippocampalis anterior*	R	-2,35	0,022	0,371
	Gyrus parahippocampalis anterior	L	-2,29	0,026	0,35
	Gyrus parahippocampalis posterior*	R	-2,91	0,005	0,162
	Amygdala	R	-2,56	0,013	0,175
Lobus occipitalis	lateraler occipitaler Cortex*	L	-2,87	0,006	0,817
Lobus insularis		L	-2,82	0,007	0,515
Subkortikale Kerne	Accumbens	L	-2,92	0,005	0,089
	Accumbens	R	-2,29	0,026	0,062

Tabelle 5: ROI-Analyse, Signifikante Hirnregionen, Querschnitt

* ebenfalls in der Querschnittsanalyse der VBM signifikante Hirnregion

1=Pars Opercularis; 3=Pars Triangularis

	Hirnbereich	Hemisphäre	t-Wert	p-Wert	Volumenreduktion in ml
Lobus frontalis	Gyrus frontalis medialis	L	-2,25	0,028	0,387
	Gyrus frontalis inferior ^{3*}	R	-2,06	0,044	0,077
	fronto-orbitaler Cortex	L	-2,47	0,016	0,282
	Gyrus Praecentralis*	L	-2,47	0,017	0,759
	Gyrus Praecentralis	R	-2,02	0,048	0,644
Lobus parietalis	Gyrus Postcentralis	L	-2,22	0,030	0,567
Lobus temporalis	Gyrus supramarginalis	R	-2,03	0,047	0,107

Tabelle 6: ROI-Analyse, Signifikante Hirnregionen, Längsschnitt

* ebenfalls in der longitudinalen VBM-Analyse signifikante Hirnregion; 3=Pars Triangularis

Die Boxplot-Analyse zeigt, dass das Hirnvolumen der Gruppe ALSci in den einzelnen ROIs in der Querschnittsanalyse tendenziell kleiner ist, als dass der Gruppe ALSni.

Die Gruppentrennung zeigt sich am deutlichsten am rechten Hippocampus, wo der Median der Gruppe ALSci gegenüber der Gruppe ALSni ein etwa 600 mm³ (0.6ml) geringeres Volumen bei annähernder Normalverteilung zeigt. Auch beim linken Gyrus frontalis inferior ist das Volumen um etwa 500mm³ (0.5ml) verringert (Abbildung 8).

Die Überprüfung der Trennschärfe zwischen beiden Gruppen mittels ROC-Kurven zeigt eine AUC von 0.86 im rechten Hippocampus und von 0.84 im Gyrus frontalis inferior. Für die anderen Hirnregionen ergaben sich AUC-Werte <0.8 (Abbildung 9).

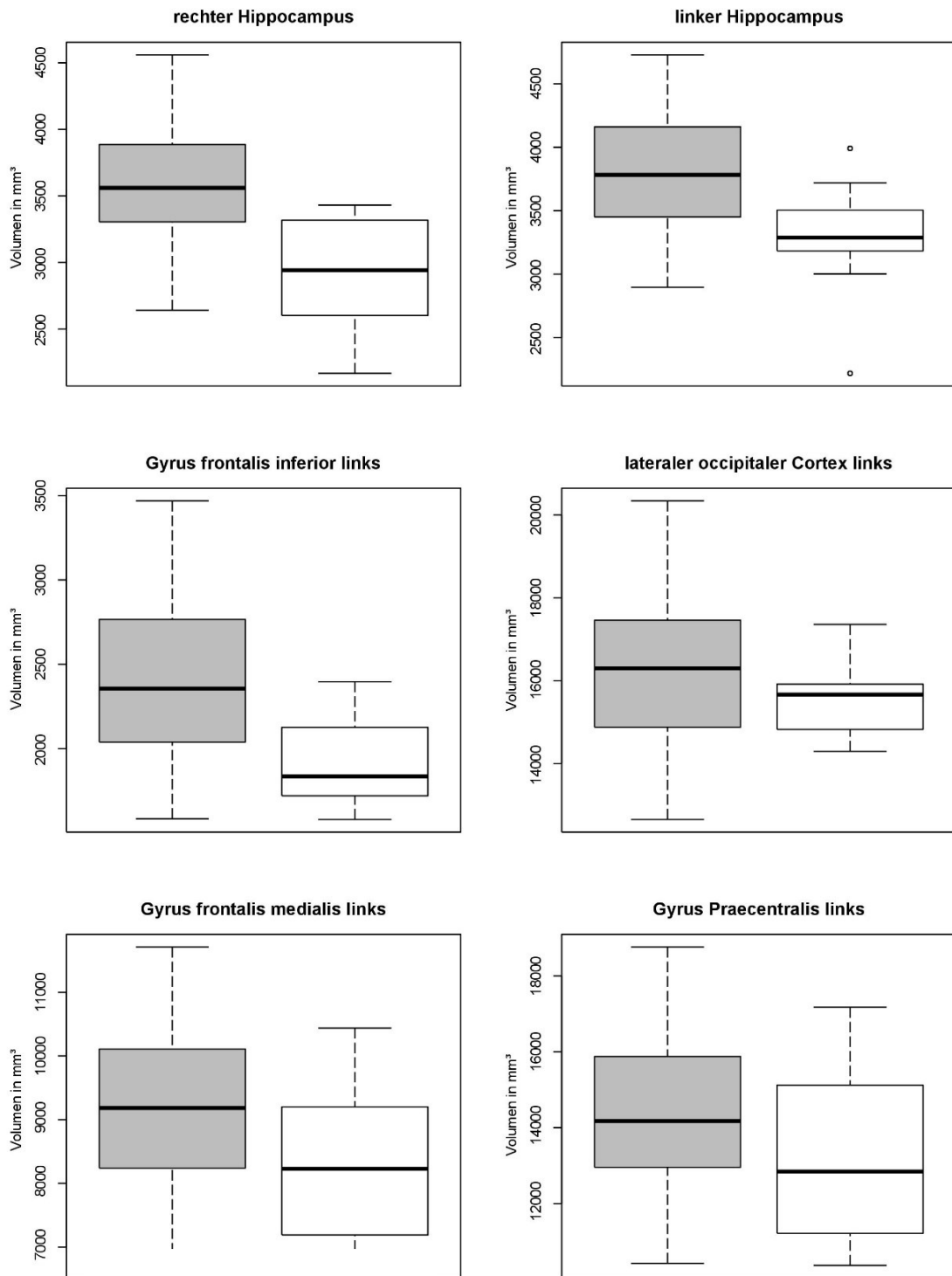


Abbildung 8: Boxplot-Analyse ausgewählter Hirnregionen

=ALSni =ALSci

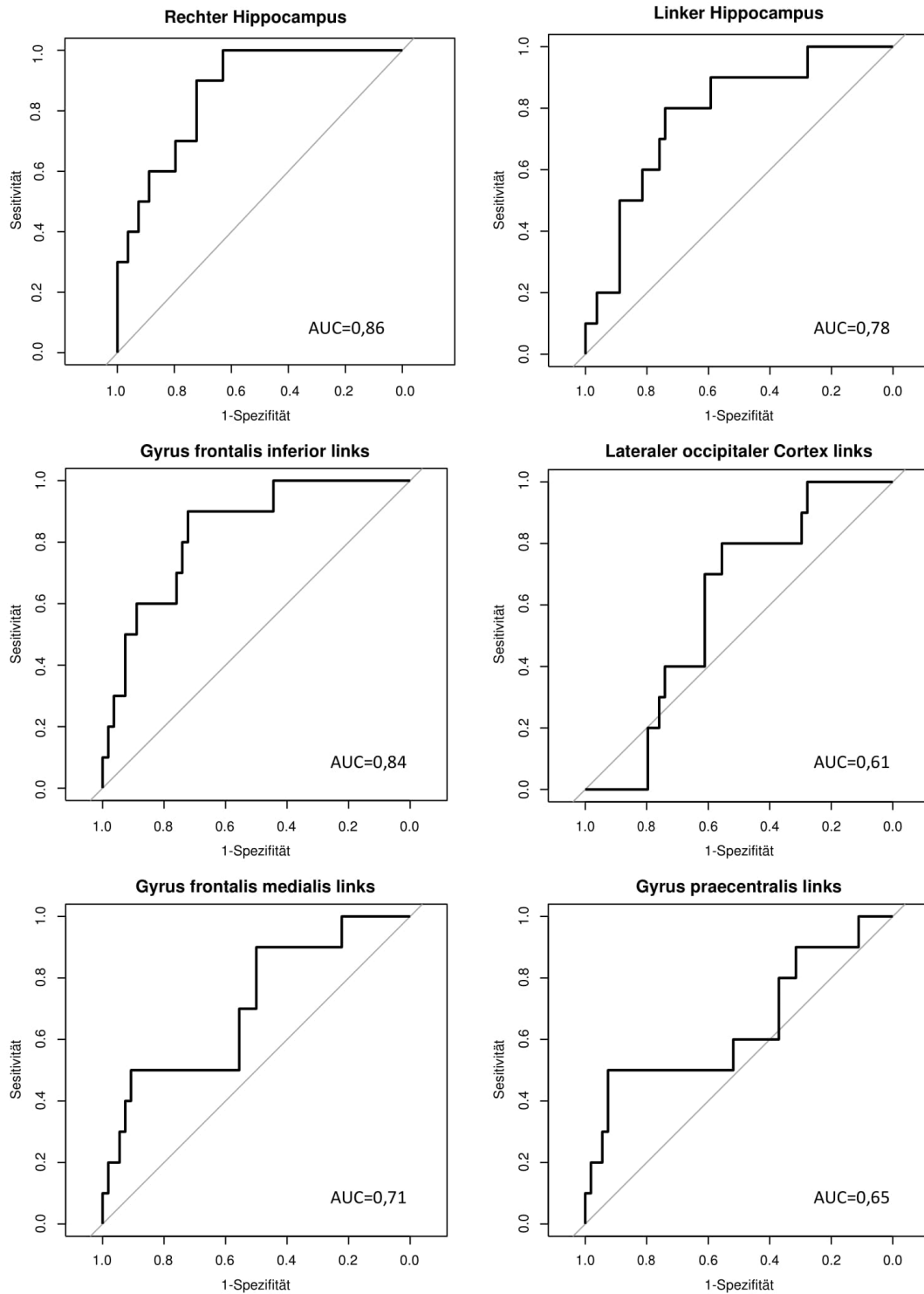


Abbildung 9: ROC-Kurven inklusive Berechnung der AUC

4 Diskussion

Ziel dieser longitudinalen Studie war es, T1-gewichtete strukturelle MRT-Veränderungen der grauen Substanz von ALS-Erkrankten in Abhängigkeit vom kognitiven Status mittels Voxel-basierter Morphometrie (VBM) zu untersuchen. Dies erfolgte anhand eines Ganzhirn- und eines regional-basierten Ansatzes. Dabei interessierte die Frage, ob der kognitive Status einen Einfluss auf die Hirnvolumenabnahme ausübt.

Die Querschnittsanalyse ergab, dass es in der ALSci-Gruppe verglichen mit der ALSni-Gruppe bi-fronto-temporal, im Gyrus postcentralis rechts und im Gyrus okzipitalis inferior medialis links zu signifikanten Hirnvolumenminderungen kam. Außerdem konnte eine Hirnatrophie in subkortikalen Bereichen und in Teilen des limbischen Systems nachgewiesen werden. Dazu zählen der links-anteriore Gyrus cinguli, die linke Amygdala, die Hippocampi und der rechte Thalamus. Die longitudinale Analyse zeigte nach der FDR-Korrektur eine nicht signifikante Hirnatrophien im Gyrus praecentralis links, dem Gyrus frontalis inferior rechts, im Gyrus okzipitalis medialis links sowie bilateral im Zerebellum.

4.1 Diskussion der Studienpopulation

In der zugrundeliegenden Studienpopulation sind mehr Männer (62.5%) als Frauen (37.5%) eingeschlossen. Dies ist mit Ergebnissen in der Literatur vergleichbar [99].

Das Alter ist in der kognitiv beeinträchtigten Gruppe signifikant höher ($p=0.007$). Diese Tendenz wurde bereits in anderen Studien beschrieben [12,17]. Das Alter gilt als wichtiger Vorhersagewert für kognitive Funktionen (u.a. Exekutivfunktionen und Verarbeitungsgeschwindigkeit) [100]. Um einen möglichen Einfluss des Alters auf unsere Studienergebnisse zu minimieren, erfolgte die Integration der Variable „Alter“ als Kovariate sowohl in der VBM-Analyse als auch in der ROI-Analyse.

Die Prävalenz der kognitiv beeinträchtigten ALS-Erkrankten lag in dieser Studie bei 15.6%. Andere Studien geben die Prävalenz für kognitive Einschränkungen mehrheitlich mit über 30% an [12,13]. Die zur Literatur abweichenden Ergebnisse sind möglicherweise auf die durch Kasper et al. entwickelten neuropsychologischen Testverfahren zurückzuführen, die auch in dieser Studie Grundlage der Gruppenzuordnung waren [91]. Diese enthielten Adaptionen, die speziell

an Einschränkungen bei ALS-Erkrankten angepasst wurden. Die Adaptionen hatten zum Ziel, Fehlklassifikationen der ALS-Gruppe aufgrund motorischer Einschränkungen zu vermeiden. Kasper et al. konnten in ihrer Studie vergleichsweise niedrige Prävalenzen für kognitive Einschränkungen feststellen. Da sie eine niedrige Rate „falsch positiver“ (1%) durch die Gruppenzuordnung mit den adaptierten Tests fanden, gingen sie von einem realistischen Abbild der Prävalenz aus [91]. Die kognitiven Beeinträchtigungen ALS-Erkrankter scheinen durch die Adaptionen wirklichkeitsgetreuer abgebildet werden zu können als in bisher verwendeten Verfahren. Diese Erkenntnisse sind auf die vorliegende Studie übertragbar.

Die Gruppenzuordnung nach kognitivem Status war im zeitlichen Verlauf weitestgehend konsistent. Dementsprechend kam es -bis auf wenige Ausnahmen- über den gesamten Erhebungszeitraum von bis zu 18 Monaten zu keinem Wechsel zwischen den beiden Gruppen ALSi und ALSn⁷. Dies ist kongruent mit den Ergebnissen der meisten longitudinalen Studien zu kognitiven Funktionen bei ALS-Erkrankten [23,32,34].

4.2 Diskussion der Ergebnisse der VBM-Analyse

Es gibt bisher nur wenige bildgebende Studien an ALS-Erkrankten mit krossektionalem und longitudinalem Ansatz [83,88,89,101,102].

Der dieser Studie zugrundeliegende Datensatz wurde bereits durch Schuster et al. mittels SBM krossektional [75], sowie – bezogen auf LMN- und UMN-ALS-Varianten (Subgruppen) – longitudinal [86] untersucht. Die Ergebnisse der hier vorgelegten Studie erweitern die Untersuchungen von Schuster et al. insofern, als die longitudinale Analyse der Hirnvolumenänderungen jetzt nach dem kognitiven Status stratifiziert wurde.

Dies erfolgte unter Betrachtung der grauen Substanz des gesamten Gehirns (*whole brain Analysis*). Eine vergleichbare Untersuchung erfolgte nach unserem Wissen bisher erst in einer weiteren Studie mittels Messung der kortikalen Dicke [89].

Die gefundenen hirnvolumetrischen Veränderungen können mit krankheitstypischen Merkmalen in Verbindung gebracht werden und sind weitestgehend vergleichbar mit bisherigen Studienergebnissen.

⁷ Ausführliche Informationen zum Gruppenwechsel sind im Anhang aufgeführt

Unter Berücksichtigung des kognitiven Status wurde eine Beteiligung nicht motorischer frontaler, temporaler und parietaler Regionen in krossektionalen Studien bereits mehrfach gezeigt [66,83,89,103].

In der vorliegenden Studie konnten Hirnvolumenminderungen frontotemporal unter Einschluss des Broca-Areals (Gyrus frontalis inferior, links-hemisphärisch) festgestellt werden.

Über diese dürften sich, nach heutigem Kenntnisstand, sowohl die exekutiven als auch die sprachsystematischen (aphasischen) Funktionsstörungen bei ALS-Erkrankten erklären lassen [12,13,17]. Cerami et al. konnten in ihrer Querschnittsstudie an Personen mit ALS eine Assoziation herstellen zwischen emotionaler Labilität und einer Atrophie im rechten Gyrus frontalis inferior [104]. Wir fanden in der Querschnittsanalyse bihemisphärisch und in der Längsschnittanalyse (unkorrigiert) rechts eine Volumenminderung des Gyrus frontalis inferior.

Die Beteiligung frontotemporaler Hirnareale, insbesondere des linkshemisphärischen Gyrus frontalis inferior, werden durch die ROI-Analyse bestätigt. Durch die Boxplot-Analyse konnte ein um etwa 0.6 ml vermindertes Hirnvolumen in diesem Bereich festgestellt werden, wobei die Gruppe ALSni eine sehr große Varianz aufweist. Die AUC (0.84) spricht für eine gute Gruppentrennbarkeit. Die longitudinale ROI-Analyse ergab eine Hirnvolumenminderung im rechten Gyrus frontalis inferior, vergleichbar der longitudinalen VBM-Analyse. Da diese Hirnregion nach der FDR-Korrektur in der longitudinalen VBM-Analyse jedoch nicht mehr signifikant war, kann eine progrediente Volumenminderung in diesem Bereich nicht sicher festgestellt werden.

Der Gyrus postcentralis ist verantwortlich für die Integration sensorischer Informationen [83]. Eine Beeinträchtigung sensorischer Funktionen bei der ALS wurde bereits diskutiert und kann eine Form der nicht-motorischen Krankheitsmanifestation darstellen [105]. Eine Hirnvolumenminderung im Gyrus postcentralis wurde bei kognitiv beeinträchtigten ALS-Erkrankten bereits beschrieben [106]. Sheng et al. konnten in einer Metaanalyse von VBM-Studien eine Involvierung des Gyrus postcentralis feststellen und diese mit der Dauer der Erkrankung und dem Erkrankungsalter in Zusammenhang bringen, jedoch nicht mit der Krankheitsschwere [107]. In der vorliegenden Studie wurde nach Alter adjustiert, nicht jedoch nach Erkrankungsdauer, so dass ein Einfluss dieser Variable auf unseren Befund einer Volumenminderung im Gyrus postcentralis nicht ausgeschlossen werden kann.

Interessanter Weise fanden wir eine Volumenminderung okzipitaler Kortexareale sowohl im Querschnitt als auch im Längsschnitt und beschreiben erstmals - soweit bekannt - eine okzipitale Beteiligung bei kognitiv beeinträchtigten ALS-Erkrankten. Üblicherweise ist der okzipitale Kortex bei der ALS ausgespart [108]. Schuster et al. konnten bei ALS-Erkrankten, im Vergleich

mit gesunden Kontrollpersonen, eine Minderung der kortikalen Dicke im okzipitalen Kortex sowohl krosssektional als auch longitudinal feststellen [86]. Die in okzipitalen Hirnregionen in der VBM- Querschnittsanalyse gesehenen volumenmindernden Effekte fanden ihre Bestätigung in der ROI-Analyse. Hier zeigte diese Hirnregion jedoch keine Progredienz.

Insgesamt scheint die von uns gefundene okzipitale Beteiligung bei kognitiv beeinträchtigten ALS-Erkrankten auf eine weitreichendere zerebrale Schädigung als bisher angenommen hinzuweisen und ist dem Multisystemcharakter der Erkrankung zuzuschreiben.

Daneben fanden wir in der krosssektionalen Analyse subkortikale Regionen, die ebenfalls bereits mit kognitiven Einschränkungen bei ALS-Erkrankten in Verbindung gebracht wurden.

Zu diesen gehören der Gyrus cinguli, der Gyrus parahippocampalis, der Hippocampus und die Amygdala. Diese Strukturen des limbischen Systems werden funktionell mit Gedächtnis und Emotionen (Trieb- und Affektverhalten) in Verbindung gebracht [109].

Es bestehen Schaltkreise zwischen präfrontalem Kortex und Gyrus cinguli zu subkortikalen Strukturen, u.a. zum Thalamus [110]. Eine Läsion fronto-subkortikaler Schleifen wird mit exekutiver Dysfunktion, Apathie und Störungen der sozialen Kognition in Verbindung gebracht. Diese Kognitions- und Verhaltensauffälligkeiten werden typischerweise bei der ALS gefunden [111–113].

Der Hippocampus nimmt eine wichtige Funktion in der Gedächtniskonsolidierung ein [111,114]. Die von uns nachgewiesene Hippocampusatrophie steht im Einklang mit hirnvolumetrischen und neuropsychologischen Ergebnissen anderer Studien [12,111,114,115].

Raaphorst et al. stellten 2014 in einer VBM-Analyse an nicht-dementen ALS-Erkrankten den Zusammenhang zwischen Hippocampusatrophie und mnestischen Defiziten her [116]. Hierzu existieren auch histopathologische Daten [117,118]. Eine longitudinale Studie wies die progrediente Volumenminderung in Teilen des Hippocampus nach [119]. Auch für den Hippocampus erwies sich in den Querschnittsuntersuchungen die ROI-Analyse als konkordant zu den Ergebnissen der VBM-Analyse. Eine progrediente Hippocampusatrophie können wir mittels ROI nicht bestätigen.

Bei kognitiv beeinträchtigten Personen mit ALS wurde eine Volumenminderung der Amygdala - soweit bekannt - noch nicht beschrieben. Wir wiesen eine Atrophie der links-hemisphärischen Amygdala nach. Die Amygdala nimmt eine wichtige Rolle bei höheren kognitiven Leistungen ein. Dazu gehört die Verknüpfung von Empfindungen mit emotionalen Erinnerungen und die Verarbeitung emotionaler Informationen in einem sozialen Kontext [120,121].

Defizite in der sozialen und emotionalen Kognition sind typische Merkmale kognitiver Beeinträchtigung bei ALS-Erkrankten. Insbesondere die soziale Kognition scheint dabei mit exekutiven Dysfunktionen assoziiert zu sein [122,123]. Exekutive Funktionen werden maßgeblich im präfrontalen Kortex gebildet. Die Amygdala ist mit dem präfrontalen Kortex reziprok verschaltet. Außerdem nimmt die Amygdala eine wichtige Rolle innerhalb des limbischen Systems ein. Eine Volumenminderung mehrerer Bereiche des limbischen Systems unter Einschluss der Amygdala wäre daher klinisch und funktionell plausibel.

Einschränkend muss erwähnt werden, dass die linkshemisphärische Amygdala in der regionalbasierten Analyse nicht signifikant vermindert war, sodass ein Zufallsbefund nicht ausgeschlossen werden kann.

In der longitudinalen Analyse konnte im Vergleich ALS_{NI} gegenüber ALS_{CI} nach der FDR-Korrektur kein Signifikanzniveau mehr erreicht werden. Dennoch konnten einzelne Hirnregionen mit einer Signifikanz von $p < 0.001$ unkorrigiert identifiziert werden, bei denen es zu einer progredienten Hirnvolumenabnahme kam. Dieses Signifikanzniveau dient in einigen longitudinalen Studien als Grundlage [70,124], in anderen jedoch nicht [83]. Diese Uneinheitlichkeit schränkt die Vergleichbarkeit der Studien ein.

Der bereits näher erläuterte Gyrus frontalis inferior rechts und Gyrus okzipitalis medialis links wies volumenmindernde Effekte sowohl im Querschnitt- als auch im Längsschnitt auf.

Zusätzlich konnte in der Längsschnittanalyse eine Volumenminderung im Gyrus praecentralis links sowie im Zerebellum beidseits nachgewiesen werden.

Zum Gyrus praecentralis gehört der primär-motorische Kortex. Dieser ist typischer Weise bei Personen mit UMN-Zeichen (klassische ALS, UMN-Varianten) involviert. Eine Volumenminderung in diesem Bereich wird daher in den meisten Studien beschrieben [64,125].

Da in unserer Querschnittserhebung nur ALS-Erkrankte untereinander verglichen wurden, nicht aber mit gesunden Kontrollen, ergab sich erwartungsgemäß kein Unterschied in Hinblick auf das Volumen des Gyrus praecentralis. Bezogen auf kognitiv beeinträchtigte ALS-Erkrankte konnten Cerami et al. beim Vergleich mit gesunden Kontrollen in einer Querschnittsstudie ebenfalls keine Hirnvolumenminderungen im Gyrus praecentralis feststellen [104]. Ungeachtet dessen wäre im Verlauf ein Unterschied zwischen den kognitiven Gruppen denkbar. Demzufolge sind weitere longitudinale Studien notwendig, um die Dynamik der Atrophie im Gyrus praecentralis innerhalb von kognitiven Subgruppen bei der ALS besser verstehen zu können.

Das Zerebellum ist für die Zielsteuerung, Koordination und Feinmotorik verantwortlich und ist außerdem ebenfalls mit kognitiven Funktionen assoziiert [126,127].

Eine signifikante Atrophie der grauen Hirnsubstanz im Zerebellum bei ALS-Erkrankten mit kognitiven Einschränkungen wurde bereits beschrieben [128]. In diesem Kontext könnte die auch von uns gefundene progrediente zerebelläre Volumenminderung bei der ALS mit kognitiven Einschränkungen im Zusammenhang stehen.

Longitudinale Studien an ALS-Kollektiven ohne Stratifizierung der kognitiven Subgruppen stellten mehrheitlich, im Vergleich mit gesunden Kontrollen, eine progrediente Hirnvolumenabnahme in motorischen und extramotorischen Arealen fest [83,85,88]. Analog dazu wäre eine progrediente Hirnatrophie auch bei kognitiv beeinträchtigten ALS-Erkrankten für bestimmte Regionen zu erwarten gewesen. Insbesondere in den bereits eingangs erwähnten Bereichen der Exekutivfunktion wäre eine progrediente Hirnvolumenminderung denkbar gewesen. Überraschenderweise zeigte die longitudinale Analyse jedoch keine signifikante Hirnvolumenminderung.

Unsere Ergebnisse legen nahe, dass kognitive Beeinträchtigungen im zeitlichen Verlauf nur in geringem Maße mit einer Abnahme des Hirnvolumens korrelieren. Dies ist kongruent zu den Ergebnissen einer longitudinalen Studie von van der Burgh et al. welche 2020 publiziert wurden. Sowohl die Kohorte der kognitiv gesunden (N=101), als auch die der kognitiv beeinträchtigten ALS-Erkrankten (N=16) wiesen in dieser Untersuchung nach im Mittel von 5,3 Monaten (Standardabweichung 4,2 - 6,2) keine strukturellen MRT-Veränderungen der grauen und weißen Substanz auf [89].

Die geringe Hirnvolumenminderung mag mit klinischen Beobachtungen einhergehen, nach denen sich kognitive Funktionen im zeitlichen Verlauf nicht oder nur in geringem Maße verschlechtern [129]. Auch die kleine Studienpopulation und der geringe Beobachtungszeitraum können dazu geführt haben, dass eine progrediente Hirnatrophie nicht nachweisbar war.

Die klinische Heterogenität und der Multisystemcharakter sind krankheitstypische Merkmale der ALS [6,27]. Daher mögen auch interindividuelle Krankheitsverläufe eine Rolle spielen, sodass bei einer progredienten Hirnvolumenminderung der Studienteilnehmenden in unterschiedlichen Hirnregionen das Signifikanzniveau nicht mehr erreicht wurde.

Zuletzt können Divergenzen in den Ergebnissen der Querschnitts- und Längsschnittanalysen auch methodisch erklärt werden: Während bei der Querschnittsuntersuchung ein Vergleich der Mittelwerte definierter Hirnbereiche zwischen den beiden Gruppen stattfand, wurde in der lon-

itudinalen Analyse ein Mittelwertvergleich über die Zeit und damit die Volumenänderung untersucht. Daher können zum Zeitpunkt t_0 Hirnregionen signifikante Ergebnisse zeigen, bei denen es jedoch nicht zu progredienten Volumenminderungen kommt. Genauso können im Verlauf Hirnregionen mit verstärkter Atrophie auftreten, die zum Anfangszeitpunkt noch keine Veränderungen zeigten.

Neben den auch von uns nachgewiesenen fokalen Hirnvolumenminderungen existieren in der Literatur noch weitere Regionen, die bei der ALS involviert sein könnten. Von besonderem Interesse sind dabei die Ergebnisse der Querschnittsuntersuchung von Schuster et al. Im Vergleich ALS_{ni} zu ALS_{ci} zeigten sich kortikale Dickeminderungen u.a. im Gyrus fusiformis und im Precuneus inferior, jeweils linkshemisphärisch [75].

Ebenso wie Schuster konnten auch Christidi et al. bei kognitiv beeinträchtigten nicht-dementen ALS-Erkrankten eine Hirnvolumenminderung im Precuneus nachweisen [70]. Consonni et al. fanden beim Vergleich kognitiv beeinträchtigter und kognitiv nicht beeinträchtigter ALS-Erkrankten in einer Querschnittsstudie lediglich eine Verminderung der kortikalen Dicke des rechten Gyrus temporalis inferior [103]. Das Untersuchungskollektiv gleicht dem der vorliegenden Studie, da es ebenfalls alle ALS-Subgruppen enthielt (N=48), darunter 21 mit kognitiver Beeinträchtigung.

Mioshi et al. [106] fanden beim Vergleich von ALS-Erkrankten mit und ohne kognitiver Einschränkungen in einer VBM-Studie (N=22, davon kognitiv beeinträchtigt N=8) Hirnvolumenminderungen in somatosensorischen und motorischen Hirnregionen, im Gyrus frontalis superior, im Gyrus parietalis superior und im linken Planum temporale. Eine parietale und temporale Beteiligung fanden wir nicht.

Insgesamt bestätigt sich in den diversen involvierten Hirnregionen und den unterschiedlichen Ergebnissen der einzelnen Studien der Multisystemcharakter der ALS.

Zusätzlich mögen die unterschiedlichen Untersuchungsmethoden (VBM vs. kortikale Dicke) zu den inkonsistenten Ergebnissen verschiedener Studien beitragen. Eine überlegene Untersuchungsmethode wurde nach unserem Wissen bisher nicht identifiziert. Diesbezüglich sind daher weitere Studien notwendig. Auch die unterschiedliche Stichprobengröße der einzelnen Studien mag einen Einfluss auf die statistische Aussagekraft haben.

Schließlich fällt in der Zusammenschau der Ergebnisse auf, dass eine Hemisphärenasymmetrie der betroffenen Hirnregionen vorliegt. Lediglich beim Hippocampus, beim Gyrus frontalis inferior und in der longitudinalen Studie beim Zerebellum wurden Atrophien in beiden Hemisphären gefunden. Solche Asymmetrien sind auch in anderen Studien beschrieben worden.

Diese Befunde wurden unter anderem auf die Hemisphärendominanz der Betroffenen zurückgeführt [65], aber auch mit klinischen Befunden einer asymmetrischen Krankheitsmanifestation motorischer Defizite in Verbindung gebracht [130]. Eine asymmetrische Krankheitsmanifestation kognitiver Defizite wäre analog denkbar. Dennoch ist die Pathophysiologie dieses Phänomens noch nicht vollständig verstanden, da die heterogenen Untersuchungsgruppen die jeweilige Hemisphärendominanz beeinflussen [65].

4.3 Diskussion der Ergebnisse der regional-basierten Analyse

In der ROI-Analyse ergaben sich für die Querschnittsuntersuchung signifikante Gruppenunterschiede zwischen ALSni und ALSci in frontotemporalen Kortexarealen, im lateralen okzipitalen Kortex, dem Gyrus postcentralis, dem Lobus insularis, im Hippocampus und Parahippocampus, dem Nucleus accumbens sowie der Amygdala.

Die Boxplot-Analysen und AUC sprechen weitestgehend für eine gute Gruppentrennung und untermauern die Ergebnisse der VBM-Analyse.

Einige Ergebnisse der ROI-Analyse deckten sich nicht mit denen der VBM-Analyse. Von besonderer Bedeutung ist dabei der Inselkortex, der bereits in früheren ALS-VBM-Studien mit kognitiver Beeinträchtigung in Verbindung gebracht worden war [103,104], u.a. der links-hemisphärische Inselkortex mit Aphasie [103].

Die teilweise voneinander abweichenden Ergebnisse der VBM und ROI-Analysen lassen sich auf die unterschiedlichen Analyseverfahren zurückführen. Bei der VBM findet ein Vergleich von Voxeln statt, bei der ROI ein Vergleich von Volumina einzelner Hirnregionen. Wenn eine Hirnregion eine signifikante Hirnvolumenminderung in beiden Verfahren zeigt, verringert dies die Wahrscheinlichkeit eines Zufallsbefundes. Dennoch zeigen die teilweise voneinander abweichenden Ergebnisse der beiden Verfahren, dass weitere Untersuchungen notwendig sind, um den Umgang mit beiden Methoden zu optimieren.

4.4 Methodische Limitationen

Die Ergebnisse sowohl im Querschnitt als auch in longitudinalen Untersuchungen und der Vergleich mit anderen Studien offenbaren ein heterogenes Bild. Ursächlich dafür kommen mehrere methodische Gründe in Betracht.

Eine der wichtigsten Limitationen sind die unterschiedlichen Intervalle der Messzeitpunkte, die zwischen drei und sechs Monaten schwankten. Der Grund für diese Unregelmäßigkeit ist praktischer Natur und hängt wesentlich mit der Gebrechlichkeit der ALS-Erkrankten zusammen.

Dies ist auch der wesentliche Grund für kleine Studienpopulationen der meisten Studien.

Diese Studie weist zwar mit N=64 eine vergleichsweise große Studienpopulation auf, die Gruppe der kognitiv beeinträchtigten ALS-Erkrankten ist jedoch mit N=10 sehr klein. Sie ist verbunden mit einer geringen statistischen Trennschärfe und schränkt die Generalisierbarkeit der Ergebnisse ein. Bedingt durch die schnelle Krankheitsprogression ergab sich eine hohe Schwundquote (*attrition rate*) innerhalb des Beobachtungszeitraums. Lediglich 15 Teilnehmende konnten über die gesamte Erhebungsdauer von maximal 18 Monaten untersucht werden. Dies kann einen Grund für die geringen Gruppenunterschiede in der longitudinalen Analyse im Vergleich zur Querschnittsanalyse darstellen.

Zuletzt ergibt sich aus dem raschen Fortschritt der Erkrankung ein relativ kurzer Erhebungszeitraum. Die schnelle klinische Krankheitsprogression lässt schnell abnehmende hirnstrukturelle Veränderungen vermuten, sodass ein kurzer Erhebungszeitraum ausreichend sein sollte, um signifikante Veränderungen festzustellen. Dennoch gibt es bisher keine verlässlichen Aussagen dazu, welche Zeitspanne erforderlich ist, um hirnstrukturelle Veränderungen bei ALS-Erkrankten longitudinal feststellen zu können. Erschwerend kommt hinzu, dass Krankheitsprogression und Überlebensdauer einer großen Varianz innerhalb des ALS-Spektrums unterliegen.

Wir haben ein Studiendesign gewählt, bei dem die jeweils letzte verfügbare MRT für die Längsschnittanalyse verwendet wurde. Dadurch ergeben sich interindividuell unterschiedliche Erhebungszeiträume, welche ebenfalls einen Einfluss auf die Studienergebnisse haben mögen. Sollten jedoch -wie von uns angenommen- einzelne Hirnregionen eine progrediente Volumenminderung aufweisen, dürfte dieser Einfluss gering gewesen sein.

Eine weitere Limitation ergibt sich aus dem Krankheitsverlauf bei Betroffenen mit kognitiven Einschränkungen. In mehreren Studien wurde gezeigt, dass kognitiv beeinträchtigte ALS-Erkrankte eine kürzere Überlebensdauer haben bzw. dass eine Kognitionsstörung ein negativer Prädiktor im Hinblick auf das Überleben ist [14,23,131]. Dementsprechend kann es durch die

Einteilung der Teilnehmenden in die Gruppen ALS_{Sci} und ALS_{Ni} zu einem Selektionsbias gekommen sein: Betroffene aus der Gruppe ALS_{Sci} waren früher testunfähig und konnten daher nicht mehr in der Datenanalyse berücksichtigt werden. Daher ist diese Gruppe unterrepräsentiert und die Personen, die noch in die Studie eingeschlossen werden konnten, waren tendenziell gesünder. Die Schwere der Erkrankung ist eine Einflussgröße, die in dieser Studie nicht berücksichtigt wurde und die Ergebnisse beeinflusst haben könnte.

Außerdem werden gerade bei longitudinalen Studien insbesondere die Personen berücksichtigt, die eine lange Überlebenszeit haben und weniger Einschränkungen aufweisen, sodass eine Untersuchung im Scanner in flacher Rückenlage möglich ist. Auch dies kann zu einem Selektionsbias zugunsten der Gesünderen beigetragen haben.

Die Vergleichbarkeit verschiedener Studien unterliegt ebenfalls methodischen Limitationen. In den hier berücksichtigten Studien wurden unterschiedliche Erhebungszeiträume zugrunde gelegt und die Teilnehmenden wurden in verschiedenen Krankheitsstadien in die Studien eingeschlossen. Einzelne Hirnregionen sind jedoch, abhängig vom *site of onset* und von der Erkrankungsdauer, unterschiedlich schwer betroffen [83,117]. Eine heterogene Studienpopulation wirkt sich nachteilig auf die Ergebnisse aus, weswegen es in Abhängigkeit vom Stichprobenumfang sinnvoll erscheint, klinische ALS-Studien an möglichst homogenen Gruppen von ALS-Erkrankten durchzuführen.

Die Daten zur Kognition bei der ALS, einschließlich der Zuordnung der Teilnehmenden zu kognitiven Gruppen, basieren in den bisher publizierten Studien nicht auf einheitlichen neuropsychologischen Testverfahren. Auch dies könnte einen Einfluss auf die Vergleichbarkeit unserer Daten mit anderen Studien haben. Außerdem wurden in anderen Studien zur Einschätzung des kognitiven Status häufig nur Exekutivfunktionen getestet. Kognitive Bereiche wie Sprache, Gedächtnis oder Aufmerksamkeit wurden nur selten berücksichtigt [35,75,103]. Die neuropsychologische Testdiagnostik der hier vorgelegten Studie umfasste alle kognitiven Domänen (mit Ausnahme der sozialen Kognition), sodass von einer exakten Einschätzung der Unterscheidung zwischen „kognitiv unbeeinträchtigt“ und „kognitiv beeinträchtigt“ ausgegangen werden kann. Die Testverfahren waren zudem angepasst an die motorische Beeinträchtigung der ALS-Erkrankten und auch dann durchführbar, wenn die Teilnehmenden aufgrund ihrer bulbären Symptomatik nicht mehr sprechen oder aufgrund ihrer Handlähmung nicht mehr schreiben konnten. Bei geschwindigkeitsabhängigen Tests, wie z.B. der Wortflüssigkeit, die aufgrund einer Anarthrie schriftlich ausgeführt werden mussten, kamen geschwindigkeitskorrigierende Verfahren (Quotientenbildungen) zum Einsatz.

Die Datenerhebung dieser Studie erfolgte auf Basis der 2009 publizierten Strong-Kriterien, welche mittlerweile revidiert wurden [47]. Dies ist der Grund dafür, dass die soziale Kognition in unserem Datensatz noch keine Berücksichtigung fand.

Wenn es einen Zusammenhang gibt zwischen dem kognitiven Status und dem Hirnvolumen, wäre zu erwarten, dass es parallel zu einem kognitiven Niedergang auch zu einer Volumenminderung kommt. Drei Teilnehmende zeigten paradoxerweise im Verlauf eine Verbesserung ihres kognitiven Status. Daher wurde bei diesen drei Personen ein Gruppenangleich vorgenommen, d.h. sie wurden weiter als der Gruppe ALSci zugehörig geführt und nicht als ALSni. Bei weiteren neun ALS-Erkrankten wurde unter der Annahme einer falsch-zu-schlechten Tagesform die Klassifizierung ALSni beibehalten, wenn zu einem einzelnen Erhebungszeitpunkt Auffälligkeiten in einem Test der Exekutivfunktionen oder des Gedächtnisses bestanden. Um durch diesen Vorgang eine Verzerrung zu vermeiden, wurde beispielhaft am Volumen des rechten Hippocampus die Gruppenzuordnung untersucht⁸. Die Ergebnisse dieser zusätzlichen Analyse zeigten, dass das Volumen des rechten Hippocampus in der ALSci-Gruppe kleiner war als in der ALSni-Gruppe, so dass, bezogen nur auf diesen einen Parameter, eine Plausibilität der Gruppenangleichung gegeben zu sein schien.

4.5 Schlussfolgerungen und Ausblick

Unsere MRT-Untersuchungen des Hirnvolumens mittels VBM im Vergleich zweier kognitiver Gruppen ergaben, dass zum Zeitpunkt t_0 die Gruppe mit kognitiven Einschränkungen (ALSci) ein geringeres Hirnvolumen aufwies als die Gruppe ohne kognitive Einschränkungen (ALSni). Die Annahme, dass es in der Gruppe ALSci auch über die Zeit zu einer verstärkten Hirnvolumenabnahme kommen würde, bestätigte sich jedoch nicht. Zwar zeigte sich in der ALSci-Gruppe tendenziell eine Volumenabnahme über die Zeit, doch erwies sich diese nach FDR-Korrektur als statistisch nicht signifikant. Somit reichte der Beobachtungszeitraum von maximal 18 Monaten nicht aus, um mit dem von uns gewählten Studiendesign eine Abnahme des Hirnvolumens bei kognitiv beeinträchtigten, nicht-dementen ALS-Erkrankten nachzuweisen. Da der Gyrus frontalis inferior und -medialis beide mit ALS-typischen kognitiven Funktionen

⁸ Ausführliche Informationen zum Gruppenwechsel sind im Anhang aufgeführt

(exekutiven Funktionen) assoziiert sind, dürfte ihnen für nachfolgende Untersuchungen eine besondere Bedeutung zukommen.

Neben dem longitudinalen Studiendesign an sich sind die umfangreiche neuropsychologische Testdiagnostik und die exakte Zuordnung der ALS-Erkrankten zu den beiden kognitiven Gruppen die Stärken dieser Studie. Erfasst wurden neben ALS-typischen (exekutiv, Sprache) auch ALS-nicht-typische kognitive Domänen (Aufmerksamkeit, Gedächtnis, visuell-räumlich). Die Testverfahren waren zudem an die motorische Behinderung adaptiert.

Zusammenfassend zeigte sich in Abhängigkeit vom kognitiven Status, der sich über den Beobachtungszeitraum von maximal 18 Monaten nicht änderte, in der hier vorgelegten longitudinalen MRT-Studie an 64 ALS-Erkrankten keine Abnahme des Hirnvolumens. Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden kognitiven Gruppen (ALSni, ALSci) festgestellt werden, wohl aber ein Unterschied in der Querschnittserhebung zum Zeitpunkt "baseline" (t_0). Dort wiesen die kognitiv-beeinträchtigten ALS-Erkrankten (ALSci) sowohl in der Ganzhirnanalyse als auch im regionalbasierten (ROI)-Ansatz ein signifikant geringeres Hirnvolumen auf.

Wir beschreiben erstmalig eine okzipitale Beteiligung kognitiv beeinträchtigter ALS-Erkrankter und bestätigen analog zu vorangegangenen Studien eine zerebrale Multisystemdegeneration der Erkrankung.

Es bedarf weiterer Studien mit einem größeren Stichprobenumfang und einer längeren Beobachtungszeit, um den Krankheitsverlauf der unterschiedlichen kognitiven Gruppen der ALS besser einschätzen zu können.

5 Literaturverzeichnis

1. Logroscino G, Traynor BJ, Hardiman O et al. Incidence of amyotrophic lateral sclerosis in Europe. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2010; 81: 385–90. DOI: 10.1136/jnnp.2009.183525.
2. O'Toole O, Traynor BJ, Brennan P et al. Epidemiology and clinical features of amyotrophic lateral sclerosis in Ireland between 1995 and 2004. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008; 79: 30–2. DOI: 10.1136/jnnp.2007.117788.
3. Longinetti E, Fang F. Epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: an update of recent literature. *Curr Opin Neurol*. 2019; 32: 771–6. DOI: 10.1097/WCO.0000000000000730.
4. Chiò A, Logroscino G, Traynor BJ et al. Global epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review of the published literature. *Neuroepidemiology*. 2013; 41: 118–30. DOI: 10.1159/000351153.
5. Turner MR, Swash M. The expanding syndrome of amyotrophic lateral sclerosis: a clinical and molecular odyssey. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2015; 86: 667–73. DOI: 10.1136/jnnp-2014-308946.
6. Hardiman O, Al-Chalabi A, Chio A et al. Amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Rev Dis Primers*. 2017; 3: 17071. DOI: 10.1038/nrdp.2017.71.
7. Al-Chalabi A, Hardiman O. The epidemiology of ALS: a conspiracy of genes, environment and time. *Nat Rev Neurol*. 2013; 9: 617–28. DOI: 10.1038/nrneurol.2013.203.
8. van Es MA, Hardiman O, Chio A et al. Amyotrophic lateral sclerosis. *The Lancet* 2017; 390: 2084–98. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)31287-4.
9. Zarei S, Carr K, Reiley L et al. A comprehensive review of amyotrophic lateral sclerosis. *Surg Neurol Int*. 2015; 6: 171. DOI: 10.4103/2152-7806.169561.
10. Wijesekera LC, Leigh PN. Amyotrophic lateral sclerosis. *Orphanet J Rare Dis*. 2009; 4: 3. DOI: 10.1186/1750-1172-4-3.
11. Kiernan MC, Vucic S, Cheah BC et al. Amyotrophic lateral sclerosis. *The Lancet* 2011; 377: 942–55. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61156-7.
12. Phukan J, Elamin M, Bede P et al. The syndrome of cognitive impairment in amyotrophic lateral sclerosis: a population-based study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2012; 83: 102–8. DOI: 10.1136/jnnp-2011-300188.
13. Ringholz GM, Appel SH, Bradshaw M, Cooke NA, Mosnik DM, Schulz PE. Prevalence and patterns of cognitive impairment in sporadic ALS. *Neurology*. 2005; 65: 586–90. DOI: 10.1212/01.wnl.0000172911.39167.b6.
14. Elamin M, Bede P, Byrne S et al. Cognitive changes predict functional decline in ALS: a population-based longitudinal study. *Neurology*. 2013; 80: 1590–7. DOI: 10.1212/WNL.0b013e31828f18ac.

15. Ling S-C, Polymenidou M, Cleveland DW. Converging mechanisms in ALS and FTD: disrupted RNA and protein homeostasis. *Neuron*. 2013; 79: 416–38. DOI: 10.1016/j.neuron.2013.07.033.
16. Abrahams S, Leigh PN, Goldstein LH. Cognitive change in ALS: a prospective study. *Neurology*. 2005; 64: 1222–6. DOI: 10.1212/01.WNL.0000156519.41681.27.
17. Montuschi A, Iazzolino B, Calvo A et al. Cognitive correlates in amyotrophic lateral sclerosis: a population-based study in Italy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2015; 86: 168–73. DOI: 10.1136/jnnp-2013-307223.
18. Murphy J, Henry R, Lomen-Hoerth C. Establishing subtypes of the continuum of frontal lobe impairment in amyotrophic lateral sclerosis. *Arch Neurol*. 2007; 64: 330–4. DOI: 10.1001/archneur.64.3.330.
19. Sereno AB, Babin SL, Hood AJ, Jeter CB. Executive Functions: Eye Movements and Neuropsychiatric Disorders. In: *Encyclopedia of Neuroscience*: Elsevier; 2009. p. 117–22.
20. Abrahams S, Leigh PN, Kew J, Goldstein LH, Lloyd C, Brooks DJ. A positron emission tomography study of frontal lobe function (verbal fluency) in amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences* 1995; 129: 44–6. DOI: 10.1016/0022-510x(95)00060-f.
21. Abrahams S, Leigh P, Harvey A, Vythelingum G, Gris e D, Goldstein L. Verbal fluency and executive dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *Neuropsychologia* 2000; 38: 734–47. DOI: 10.1016/s0028-3932(99)00146-3.
22. Tsermentseli S, Leigh PN, Goldstein LH. The anatomy of cognitive impairment in amyotrophic lateral sclerosis: more than frontal lobe dysfunction. *Cortex*. 2012; 48: 166–82. DOI: 10.1016/j.cortex.2011.02.004.
23. Elamin M, Phukan J, Bede P et al. Executive dysfunction is a negative prognostic indicator in patients with ALS without dementia. *Neurology*. 2011; 76: 1263–9. DOI: 10.1212/WNL.0b013e318214359f.
24. Passamonti L, Fera F, Tessitore A et al. Dysfunctions within limbic-motor networks in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Aging*. 2013; 34: 2499–509. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2013.05.016.
25. Davidson RJ. Darwin and the neural bases of emotion and affective style. *Ann N Y Acad Sci*. 2003; 1000: 316–36. DOI: 10.1196/annals.1280.014.
26. Rajmohan V, Mohandas E. The limbic system. *Indian J Psychiatry*. 2007; 49: 132–9. DOI: 10.4103/0019-5545.33264.
27. Masrori P, van Damme P. Amyotrophic lateral sclerosis: a clinical review. *Eur J Neurol*. 2020; 27: 1918–29. DOI: 10.1111/ene.14393.
28. Burrell JR, Kiernan MC, Vucic S, Hodges JR. Motor neuron dysfunction in frontotemporal dementia. *Brain*. 2011; 134: 2582–94. DOI: 10.1093/brain/awr195.
29. Robinson KM, Lacey SC, Grugan P, Glosser G, Grossman M, McCluskey LF. Cognitive functioning in sporadic amyotrophic lateral sclerosis: a six month longitudinal study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2006; 77: 668–70. DOI: 10.1136/jnnp.2005.073403.

30. Crockford C, Newton J, Lonergan K et al. ALS-specific cognitive and behavior changes associated with advancing disease stage in ALS. *Neurology*. 2018; 91: e1370-e1380. DOI: 10.1212/WNL.00000000000006317.
31. Bock M, Duong Y-N, Kim A, Allen I, Murphy J, Lomen-Hoerth C. Progression and effect of cognitive-behavioral changes in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Neurol Clin Pract*. 2017; 7: 488–98. DOI: 10.1212/CPJ.0000000000000397.
32. Schreiber H, Gaigalat T, Wiedemuth-Catrinescu U et al. Cognitive function in bulbar- and spinal-onset amyotrophic lateral sclerosis. A longitudinal study in 52 patients. *J Neurol*. 2005; 252: 772–81. DOI: 10.1007/s00415-005-0739-6.
33. Bersano E, Sarnelli MF, Solara V et al. Decline of cognitive and behavioral functions in amyotrophic lateral sclerosis: a longitudinal study. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*. 2020; 21: 373–9. DOI: 10.1080/21678421.2020.1771732.
34. Kasper E, Zydatiss K, Schuster C et al. No Change in Executive Performance in ALS Patients: A Longitudinal Neuropsychological Study. *Neurodegener Dis*. 2016; 16: 184–91. DOI: 10.1159/000440957.
35. Mioshi E, Caga J, Lillo P et al. Neuropsychiatric changes precede classic motor symptoms in ALS and do not affect survival. *Neurology*. 2014; 82: 149–55. DOI: 10.1212/WNL.0000000000000023.
36. Neumann M, Sampathu DM, Kwong LK et al. Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science*. 2006; 314: 130–3. DOI: 10.1126/science.1134108.
37. Christidi F, Karavasilis E, Rentzos M, Kelekis N, Evdokimidis I, Bede P. Clinical and Radiological Markers of Extra-Motor Deficits in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Front Neurol*. 2018; 9: 1005. DOI: 10.3389/fneur.2018.01005.
38. Bott NT, Radke A, Stephens ML, Kramer JH. Frontotemporal dementia: diagnosis, deficits and management. *Neurodegener Dis Manag*. 2014; 4: 439–54. DOI: 10.2217/nmt.14.34.
39. Chiò A. ISIS Survey: an international study on the diagnostic process and its implications in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol*. 1999; 246 Suppl 3: III1-5. DOI: 10.1007/BF03161081.
40. Paganoni S, Macklin EA, Lee A et al. Diagnostic timelines and delays in diagnosing amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*. 2014; 15: 453–6. DOI: 10.3109/21678421.2014.903974.
41. Srinivasan J, Scala S, Jones HR, Saleh F, Russell JA. Inappropriate surgeries resulting from misdiagnosis of early amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve*. 2006; 34: 359–60. DOI: 10.1002/mus.20555.
42. Turner MR, Bowser R, Bruijn L et al. Mechanisms, models and biomarkers in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*. 2013; 14 Suppl 1: 19–32. DOI: 10.3109/21678421.2013.778554.
43. Brooks BR, Miller RG, Swash M, Munsat TL. El Escorial revisited: revised criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord*. 2000; 1: 293–9. DOI: 10.1080/146608200300079536.

44. Ludolph A, Drory V, Hardiman O et al. A revision of the El Escorial criteria - 2015. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener.* 2015; 16: 291–2. DOI: 10.3109/21678421.2015.1049183.
45. Cedarbaum JM, Stambler N, Malta E et al. The ALSFRS-R: a revised ALS functional rating scale that incorporates assessments of respiratory function. *Journal of the Neurological Sciences* 1999; 169: 13–21. DOI: 10.1016/s0022-510x(99)00210-5.
46. Strong MJ, Grace GM, Freedman M et al. Consensus criteria for the diagnosis of frontotemporal cognitive and behavioural syndromes in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler.* 2009; 10: 131–46. DOI: 10.1080/17482960802654364.
47. Strong MJ, Abrahams S, Goldstein LH et al. Amyotrophic lateral sclerosis - frontotemporal spectrum disorder (ALS-FTSD): Revised diagnostic criteria. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener.* 2017; 18: 153–74. DOI: 10.1080/21678421.2016.1267768.
48. Poesen K, van Damme P. Diagnostic and Prognostic Performance of Neurofilaments in ALS. *Front Neurol.* 2018; 9: 1167. DOI: 10.3389/fneur.2018.01167.
49. Steinacker P, Feneberg E, Weishaupt J et al. Neurofilaments in the diagnosis of motoneuron diseases: a prospective study on 455 patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2016; 87: 12–20. DOI: 10.1136/jnnp-2015-311387.
50. Turner MR, Agosta F, Bede P, Govind V, Lulé D, Verstraete E. Neuroimaging in amyotrophic lateral sclerosis. *Biomark Med.* 2012; 6: 319–37. DOI: 10.2217/bmm.12.26.
51. Foerster BR, Welsh RC, Feldman EL. 25 years of neuroimaging in amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Rev Neurol.* 2013; 9: 513–24. DOI: 10.1038/nrneurol.2013.153.
52. Lacomblez L, Bensimon G, Leigh PN et al. A confirmatory dose-ranging study of riluzole in ALS. *ALS/Riluzole Study Group-II. Neurology.* 1996; 47: S242-50. DOI: 10.1212/wnl.47.6_suppl_4.242s.
53. Bensimon G, Lacomblez L, Meininger V. A controlled trial of riluzole in amyotrophic lateral sclerosis. *ALS/Riluzole Study Group. N Engl J Med.* 1994; 330: 585–91. DOI: 10.1056/NEJM199403033300901.
54. Gordon PH. Amyotrophic Lateral Sclerosis: An update for 2013 Clinical Features, Pathophysiology, Management and Therapeutic Trials. *Aging Dis.* 2013; 4: 295–310. DOI: 10.14336/AD.2013.0400295.
55. Filippi M, Rocca MA, Arnold DL et al. EFNS guidelines on the use of neuroimaging in the management of multiple sclerosis. *Eur J Neurol.* 2006; 13: 313–25. DOI: 10.1111/j.1468-1331.2006.01543.x.
56. Wang S, Melhem ER, Poptani H, Woo JH. Neuroimaging in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurotherapeutics.* 2011; 8: 63–71. DOI: 10.1007/s13311-010-0011-3.
57. Ashburner J, Friston KJ. Voxel-based morphometry--the methods. *Neuroimage.* 2000; 11: 805–21. DOI: 10.1006/nimg.2000.0582.
58. Whitwell JL, Jack CR. Comparisons between Alzheimer disease, frontotemporal lobar degeneration, and normal aging with brain mapping. *Top Magn Reson Imaging.* 2005; 16: 409–25. DOI: 10.1097/01.rmr.0000245457.98029.e1.

59. Keller SS, Roberts N. Voxel-based morphometry of temporal lobe epilepsy: an introduction and review of the literature. *Epilepsia*. 2008; 49: 741–57. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2007.01485.x.
60. Williams LM. Voxel-based morphometry in schizophrenia: implications for neurodevelopmental connectivity models, cognition and affect. *Expert Rev Neurother*. 2008; 8: 1049–65. DOI: 10.1586/14737175.8.7.1049.
61. Scarpazza C, Simone M de. Voxel-based morphometry: current perspectives. *NAN 2016*; Volume 5: 19–35. DOI: 10.2147/NAN.S66439.
62. Scarpazza C, Sartori G, Simone MS de, Mechelli A. When the single matters more than the group: very high false positive rates in single case Voxel Based Morphometry. *Neuroimage*. 2013; 70: 175–88. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2012.12.045.
63. Whitwell JL. Voxel-based morphometry: an automated technique for assessing structural changes in the brain. *J Neurosci*. 2009; 29: 9661–4. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2160-09.2009.
64. Chen Z, Ma L. Grey matter volume changes over the whole brain in amyotrophic lateral sclerosis: A voxel-wise meta-analysis of voxel based morphometry studies. *Amyotroph Lateral Scler*. 2010; 11: 549–54. DOI: 10.3109/17482968.2010.516265.
65. Shen D, Cui L, Fang J, Cui B, Li D, Tai H. Voxel-Wise Meta-Analysis of Gray Matter Changes in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Front Aging Neurosci*. 2016; 8: 64. DOI: 10.3389/fnagi.2016.00064.
66. Chang JL, Lomen-Hoerth C, Murphy J et al. A voxel-based morphometry study of patterns of brain atrophy in ALS and ALS/FTLD. *Neurology*. 2005; 65: 75–80. DOI: 10.1212/01.wnl.0000167602.38643.29.
67. Grosskreutz J, Kaufmann J, Frädrieh J, Dengler R, Heinze H-J, Peschel T. Widespread sensorimotor and frontal cortical atrophy in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *BMC Neurol*. 2006; 6: 17. DOI: 10.1186/1471-2377-6-17.
68. Senda J, Kato S, Kaga T et al. Progressive and widespread brain damage in ALS: MRI voxel-based morphometry and diffusion tensor imaging study. *Amyotroph Lateral Scler*. 2011; 12: 59–69. DOI: 10.3109/17482968.2010.517850.
69. Agosta F, Ferraro PM, Riva N et al. Structural brain correlates of cognitive and behavioral impairment in MND. *Hum Brain Mapp*. 2016; 37: 1614–26. DOI: 10.1002/hbm.23124.
70. Christidi F, Karavasilis E, Riederer F et al. 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*. 2018; 12: 547–63. DOI: 10.1007/s11682-017-9722-y.
71. Agosta F, Spinelli EG, Filippi M. Neuroimaging in amyotrophic lateral sclerosis: current and emerging uses. *Expert Rev Neurother*. 2018; 18: 395–406. DOI: 10.1080/14737175.2018.1463160.
72. Dahnke R, Yotter RA, Gaser C. Cortical thickness and central surface estimation. *Neuroimage*. 2013; 65: 336–48. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2012.09.050.

73. Verstraete E, van den Heuvel MP, Veldink JH et al. Motor network degeneration in amyotrophic lateral sclerosis: a structural and functional connectivity study. *PLoS One*. 2010; 5: e13664. DOI: 10.1371/journal.pone.0013664.
74. Agosta F, Valsasina P, Riva N et al. The cortical signature of amyotrophic lateral sclerosis. *PLoS One*. 2012; 7: e42816. DOI: 10.1371/journal.pone.0042816.
75. Schuster C, Kasper E, Dyrba M et al. Cortical thinning and its relation to cognition in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Aging*. 2014; 35: 240–6. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2013.07.020.
76. Kwan JY, Meoded A, Danielian LE, Wu T, Floeter MK. Structural imaging differences and longitudinal changes in primary lateral sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis. *Neuroimage Clin*. 2012; 2: 151–60. DOI: 10.1016/j.nicl.2012.12.003.
77. Hutton C, Draganski B, Ashburner J, Weiskopf N. A comparison between voxel-based cortical thickness and voxel-based morphometry in normal aging. *Neuroimage*. 2009; 48: 371–80. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2009.06.043.
78. Astrakas LG, Argyropoulou MI. Shifting from region of interest (ROI) to voxel-based analysis in human brain mapping. *Pediatr Radiol*. 2010; 40: 1857–67. DOI: 10.1007/s00247-010-1677-8.
79. Bohland JW, Bokil H, Allen CB, Mitra PP. The brain atlas concordance problem: quantitative comparison of anatomical parcellations. *PLoS One*. 2009; 4: e7200. DOI: 10.1371/journal.pone.0007200.
80. Poldrack RA. Region of interest analysis for fMRI. *Soc Cogn Affect Neurosci*. 2007; 2: 67–70. DOI: 10.1093/scan/nsm006.
81. Giuliani NR, Calhoun VD, Pearlson GD, Francis A, Buchanan RW. Voxel-based morphometry versus region of interest: a comparison of two methods for analyzing gray matter differences in schizophrenia. *Schizophr Res*. 2005; 74: 135–47. DOI: 10.1016/j.schres.2004.08.019.
82. Testa C, Laakso MP, Sabbatoli F et al. A comparison between the accuracy of voxel-based morphometry and hippocampal volumetry in Alzheimer's disease. *J Magn Reson Imaging*. 2004; 19: 274–82. DOI: 10.1002/jmri.20001.
83. Menke RAL, Körner S, Filippini N et al. Widespread grey matter pathology dominates the longitudinal cerebral MRI and clinical landscape of amyotrophic lateral sclerosis. *Brain*. 2014; 137: 2546–55. DOI: 10.1093/brain/awu162.
84. Grolez G, Moreau C, Danel-Brunaud V et al. The value of magnetic resonance imaging as a biomarker for amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review. *BMC Neurol*. 2016; 16: 155. DOI: 10.1186/s12883-016-0672-6.
85. Agosta F, Gorno-Tempini ML, Pagani E et al. Longitudinal assessment of grey matter contraction in amyotrophic lateral sclerosis: A tensor based morphometry study. *Amyotroph Lateral Scler*. 2009; 10: 168–74. DOI: 10.1080/17482960802603841.
86. Schuster C, Kasper E, Machts J et al. Longitudinal course of cortical thickness decline in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol*. 2014; 261: 1871–80. DOI: 10.1007/s00415-014-7426-4.

87. Verstraete E, Veldink JH, Hendrikse J, Schelhaas HJ, van den Heuvel MP, van den Berg LH. Structural MRI reveals cortical thinning in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2012; 83: 383–8. DOI: 10.1136/jnnp-2011-300909.
88. Bede P, Hardiman O. Longitudinal structural changes in ALS: a three time-point imaging study of white and gray matter degeneration. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*. 2018; 19: 232–41. DOI: 10.1080/21678421.2017.1407795.
89. van der Burgh HK, Westeneng H-J, Walhout R et al. Multimodal longitudinal study of structural brain involvement in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology*. 2020; 94: e2592-e2604. DOI: 10.1212/WNL.0000000000009498.
90. Kasper E, Schuster C, Machts J et al. Microstructural white matter changes underlying cognitive and behavioural impairment in ALS--an in vivo study using DTI. *PLoS One*. 2014; 9: e114543. DOI: 10.1371/journal.pone.0114543.
91. Kaspar E. Kognition bei Motoneuronerkrankungen – Evidenz aus Neuropsychologie und struktureller Bildgebung [Dissertation]. Greifswald: Ernst-Moritz-Arndt-Universität; 2016. [Online im Internet:] URL: <https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:gbv:9-002392-3> [Stand: 30.01.2023, 15:00].
92. Kurth F, Gaser C, Luders E. A 12-step user guide for analyzing voxel-wise gray matter asymmetries in statistical parametric mapping (SPM). *Nat Protoc*. 2015; 10: 293–304. DOI: 10.1038/nprot.2015.014.
93. Ashburner J, Friston KJ. Unified segmentation. *Neuroimage*. 2005; 26: 839–51. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2005.02.018.
94. Ashburner J, Friston K. Multimodal image coregistration and partitioning--a unified framework. *Neuroimage*. 1997; 6: 209–17. DOI: 10.1006/nimg.1997.0290.
95. Walter H, editor. Funktionelle Bildgebung in Psychiatrie und Psychotherapie: Methodische Grundlagen und klinische Anwendungen ; mit 11 Tabellen. Stuttgart, New York, Seiten 89-104: Schattauer; 2004. 411 p.
96. Good CD, Johnsrude IS, Ashburner J, Henson RN, Friston KJ, Frackowiak RS. A voxel-based morphometric study of ageing in 465 normal adult human brains. *Neuroimage*. 2001; 14: 21–36. DOI: 10.1006/nimg.2001.0786.
97. Bewick V, Cheek L, Ball J. Statistics review 13: receiver operating characteristic curves. *Crit Care*. 2004; 8: 508–12. DOI: 10.1186/cc3000.
98. Robin X, Turck N, Hainard A et al. pROC: an open-source package for R and S+ to analyze and compare ROC curves. *BMC Bioinformatics*. 2011; 12: 77. DOI: 10.1186/1471-2105-12-77.
99. Manjaly ZR, Scott KM, Abhinav K et al. The sex ratio in amyotrophic lateral sclerosis: A population based study. *Amyotroph Lateral Scler*. 2010; 11: 439–42. DOI: 10.3109/17482961003610853.
100. Kaplan RF, Cohen RA, Moscufo N et al. Demographic and biological influences on cognitive reserve. *J Clin Exp Neuropsychol*. 2009; 31: 868–76. DOI: 10.1080/13803390802635174.

101. Albuquerque M de, Branco LMT, Rezende TJR, Andrade HMT de, Nucci A, França MC. Longitudinal evaluation of cerebral and spinal cord damage in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neuroimage Clin.* 2017; 14: 269–76. DOI: 10.1016/j.nicl.2017.01.024.
102. Cardenas-Blanco A, Machts J, Acosta-Cabronero J et al. Structural and diffusion imaging versus clinical assessment to monitor amyotrophic lateral sclerosis. *Neuroimage Clin.* 2016; 11: 408–14. DOI: 10.1016/j.nicl.2016.03.011.
103. Consonni M, Contarino VE, Catricalà E et al. Cortical markers of cognitive syndromes in amyotrophic lateral sclerosis. *Neuroimage Clin.* 2018; 19: 675–82. DOI: 10.1016/j.nicl.2018.05.020.
104. Cerami C, Dodich A, Canessa N et al. Emotional empathy in amyotrophic lateral sclerosis: a behavioural and voxel-based morphometry study. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener.* 2014; 15: 21–9. DOI: 10.3109/21678421.2013.785568.
105. Iglesias C, Sangari S, El Mendili M-M, Benali H, Marchand-Pauvert V, Pradat P-F. Electrophysiological and spinal imaging evidences for sensory dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis. *BMJ Open.* 2015; 5: e007659. DOI: 10.1136/bmjopen-2015-007659.
106. Mioshi E, Lillo P, Yew B et al. Cortical atrophy in ALS is critically associated with neuropsychiatric and cognitive changes. *Neurology.* 2013; 80: 1117–23. DOI: 10.1212/WNL.0b013e31828869da.
107. Sheng L, Ma H, Zhong J, Shang H, Shi H, Pan P. Motor and extra-motor gray matter atrophy in amyotrophic lateral sclerosis: quantitative meta-analyses of voxel-based morphometry studies. *Neurobiol Aging.* 2015; 36: 3288–99. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2015.08.018.
108. Bede P, Iyer PM, Schuster C et al. The selective anatomical vulnerability of ALS: 'disease-defining' and 'disease-defying' brain regions. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener.* 2016; 17: 561–70. DOI: 10.3109/21678421.2016.1173702.
109. Roxo MR, Franceschini PR, Zubarán C, Kleber FD, Sander JW. The limbic system conception and its historical evolution. *ScientificWorldJournal.* 2011; 11: 2428–41. DOI: 10.1100/2011/157150.
110. Kischka U, Spitzer M, Kammer T. Frontal-subkortikale neuronale Schaltkreise [Frontal-subcortical neuronal circuits]. *Fortschr Neurol Psychiatr* 1997; 65: 221–31. ger. DOI: 10.1055/s-2007-996325.
111. Bede P, Elamin M, Byrne S et al. Basal ganglia involvement in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology.* 2013; 81: 2107–15. DOI: 10.1212/01.wnl.0000437313.80913.2c.
112. Cavallo M, Adenzato M, Macpherson SE, Karwig G, Enrici I, Abrahams S. Evidence of social understanding impairment in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *PLoS One.* 2011; 6: e25948. DOI: 10.1371/journal.pone.0025948.
113. Grossman AB, Woolley-Levine S, Bradley WG, Miller RG. Detecting neurobehavioral changes in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler.* 2007; 8: 56–61. DOI: 10.1080/17482960601044106.
114. Abdulla S, Machts J, Kaufmann J et al. Hippocampal degeneration in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Aging.* 2014; 35: 2639–45. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2014.05.035.

115. Machts J, Bittner V, Kasper E et al. Memory deficits in amyotrophic lateral sclerosis are not exclusively caused by executive dysfunction: a comparative neuropsychological study of amnesic mild cognitive impairment. *BMC Neurosci.* 2014; 15: 83. DOI: 10.1186/1471-2202-15-83.
116. Raaphorst J, van Tol MJ, Visser M de et al. Prose memory impairment in amyotrophic lateral sclerosis patients is related to hippocampus volume. *Eur J Neurol.* 2015; 22: 547–54. DOI: 10.1111/ene.12615.
117. Brettschneider J, Del Tredici K, Toledo JB et al. Stages of pTDP-43 pathology in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol.* 2013; 74: 20–38. DOI: 10.1002/ana.23937.
118. Christidi F, Karavasilis E, Velonakis G et al. The Clinical and Radiological Spectrum of Hippocampal Pathology in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Front Neurol.* 2018; 9: 523. DOI: 10.3389/fneur.2018.00523.
119. Westeneng H-J, Verstraete E, Walhout R et al. Subcortical structures in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Aging.* 2015; 36: 1075–82. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2014.09.002.
120. van Rijn S, Aleman A, Swaab H, Kahn RS. Neurobiology of emotion and high risk for schizophrenia: role of the amygdala and the X-chromosome. *Neurosci Biobehav Rev.* 2005; 29: 385–97. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2004.11.005.
121. Pinkhardt EH, van Elst LT, Ludolph AC, Kassubek J. Amygdala size in amyotrophic lateral sclerosis without dementia: an in vivo study using MRI volumetry. *BMC Neurol.* 2006; 6: 48. DOI: 10.1186/1471-2377-6-48.
122. Phukan J, Pender NP, Hardiman O. Cognitive impairment in amyotrophic lateral sclerosis. *The Lancet Neurology* 2007; 6: 994–1003. DOI: 10.1016/S1474-4422(07)70265-X.
123. Bora E. Meta-analysis of social cognition in amyotrophic lateral sclerosis. *Cortex.* 2017; 88: 1–7. DOI: 10.1016/j.cortex.2016.11.012.
124. Mezzapesa DM, Ceccarelli A, Dicuonzo F et al. Whole-Brain and Regional Brain Atrophy in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2007; 28: 255–9.
125. Schuster C, Kasper E, Machts J et al. Focal thinning of the motor cortex mirrors clinical features of amyotrophic lateral sclerosis and their phenotypes: a neuroimaging study. *J Neurol.* 2013; 260: 2856–64. DOI: 10.1007/s00415-013-7083-z.
126. van Overwalle F, D'aes T, Mariën P. Social cognition and the cerebellum: A meta-analytic connectivity analysis. *Hum Brain Mapp.* 2015; 36: 5137–54. DOI: 10.1002/hbm.23002.
127. Buckner RL. The cerebellum and cognitive function: 25 years of insight from anatomy and neuroimaging. *Neuron.* 2013; 80: 807–15. DOI: 10.1016/j.neuron.2013.10.044.
128. Tan RH, Devenney E, Dobson-Stone C et al. Cerebellar integrity in the amyotrophic lateral sclerosis-frontotemporal dementia continuum. *PLoS One.* 2014; 9: e105632. DOI: 10.1371/journal.pone.0105632.
129. Benbrika S, Desgranges B, Eustache F, Viader F. Cognitive, Emotional and Psychological Manifestations in Amyotrophic Lateral Sclerosis at Baseline and Overtime: A Review. *Front Neurosci.* 2019; 13: 951. DOI: 10.3389/fnins.2019.00951.
130. Zhang Q, Mao C, Jin J et al. Side of limb-onset predicts laterality of gray matter loss in amyotrophic lateral sclerosis. *Biomed Res Int.* 2014; 2014: 473250. DOI: 10.1155/2014/473250.

131. Xu Z, Alruwaili ARS, Henderson RD, McCombe PA. Screening for cognitive and behavioural impairment in amyotrophic lateral sclerosis: Frequency of abnormality and effect on survival. *Journal of the Neurological Sciences*. 2017; 376: 16–23. DOI: 10.1016/j.jns.2017.02.061.
132. Hyman BT, Phelps CH, Beach TG et al. National Institute on Aging-Alzheimer's Association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2012; 8: 1–13. DOI: 10.1016/j.jalz.2011.10.007.
133. Douglas N. Greve, Martinos, “An Absolute Beginner’s Guide to Surface- and Voxelbased Morphometric Analysis”, Center for Biomedical Imaging, Massachusetts General Hospital Harvard Medical School. 2011 [Online im Internet:] URL: <https://cds.ismrm.org/protected/11MProceedings/PDFfiles/ISMRM2011-8410.pdf> [Stand: 30.01.2023, 15:00].

6 Anhang

6.1 Neuropathologische Veränderungen

Zehn Teilnehmende aus unserer Stichprobe wurden im Rahmen des DZNE BrainBankings autopsiert und erhielten eine ausführliche neuropathologische Diagnostik einschließlich Immunhistochemie (Prof. Dr. M. Neumann, Institut für Neuropathologie, Universität Tübingen). Neben der TDP-43 Pathologie wurde auch eine etwaige Alzheimer Pathologie erfasst. Anhand des ABC-Scores des „National Institute on Aging“ (NIA) [132] wurde bei fünf ALS-Erkrankten eine geringgradige zusätzliche Alzheimer-Pathologie nachgewiesen. Obwohl das Ergebnis dieser kleinen Stichprobe den Schluss nahelegt, die Hälfte unserer ALS-Erkrankten könnte eine duale Pathologie haben (TDP-43 plus A β /Tau) mit Auswirkungen auf die Kognition bzw. die Zuordnung zur Gruppe ALSci, dürfte diese Sorge unberechtigt sein, aufgrund des geringen Ausmaßes der Alzheimer-Kopathologie und aufgrund der unterschiedlichen kognitiven Profile von ALS und Alzheimer-Krankheit.

	ALS	Alzheimer	
Kognitiver Status	Neuropathologische Ergebnisse	ABC-Score	Level neuropathologischer Veränderungen
ALSci	ALS-TDP	A1,B1,C0	1
ALSci	ALS-TDP	A2,B1,C1	1
ALSni	ALS-TDP	A0,B2,C0	0
ALSni	ALS-TDP	A1,B1,C0	1
ALSni	ALS-TDP	A0,B2,C0	0
ALSni	ALS-TDP	A0,B1,C0	0
ALSni	FTD-TDP, ALS-TDP	A1,B1,C0	1
ALSni	ALS-TDP	A0,B1,C0	0
ALSci	ALS-TDP	A0,B1,C0	0
ALSni	FTD-TDP-B, ALS-TDP	A1,B1,C0	1

Tabelle 7: Autopsiebefunde und Alzheimerkomorbidität

Der ABC-Score nach dem „National institute on aging“ dient der Einschätzung neuropathologischer Veränderungen bei der Alzheimer-Erkrankung. Er bezieht sich auf das Vorhandensein von A= β -Amyloid-Plaques, B=NFT („neurofibrillary tangles“), C=Neuritic plaque score. 0-3 gibt den Schweregrad der Veränderungen an, wobei 0 jeweils keine Veränderungen bedeutet. Aus der Einteilung anhand des ABC-Scores ergibt sich das Level der neuropathologischen Veränderungen: 0=keine Veränderungen, 1=leichte Veränderungen, 2=mittlere Veränderungen, 3=schwere Veränderungen [132].

Abkürzungen: ALS-TDP= ALS mit TDP-43-Nachweis, FTD-TDP=Frontotemporale Demenz mit TDP-43-Nachweis

6.2 Gruppenwechsel

Insgesamt wurde bei zwölf Personen ein Wechsel der Gruppenzugehörigkeit vorgenommen. Da es bei drei Teilnehmenden zu nicht plausiblen (paradoxen) Wechseln im zeitlichen Verlauf von ALSci zu ALSni kam, erfolgte bei diesen ein Angleich der Gruppe, sodass sie weiterhin als kognitiv beeinträchtigt (ci) betrachtet wurden. Das bedeutet, dass die scheinbare Verbesserung kognitiver Defizite auf Übungseffekte zurückgeführt wurde.

Bei weiteren sechs Studienteilnehmenden erfolgte ein Gruppenangleich von ALSci zu ALSni, wenn zum Zeitpunkt t_0 ein Test der Exekutivfunktion oder des Gedächtnisses auffällig war (nicht in beiden Bereichen), diese jedoch im weiteren Studienverlauf keine kognitiven Einschränkungen mehr zeigten. In diesen Fällen wurde also von einer falsch-zu-schlechten Tagesform zum Erhebungszeitpunkt ausgegangen. Drei Teilnehmende zeigten zum Erhebungszeitpunkt t_1 oder t_2 Auffälligkeiten in einem Test der Exekutivfunktion oder des Gedächtnisses, zu allen anderen Zeitpunkten jedoch keine kognitiven Einschränkungen und wurden ebenfalls unter der Annahme einer falsch-zu-schlechten Tagesform als ALSni klassifiziert. Um einordnen zu können, ob dieser Gruppenangleich plausibel ist, wurde beispielhaft das rechte Hippocampusvolumen jedes Teilnehmenden abgebildet (Abbildung 10).

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne unzulässige Hilfe Dritter angefertigt habe. Ich habe keine anderen, als die angegebenen Hilfsmittel verwendet. Alle aus anderen Quellen übernommenen Schlussfolgerungen und Konzepte wurden gekennzeichnet.

Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland einer anderen Prüfungskommission vorgelegt.

Bremen, 07.02.2023

Lea Kalina Gimbel

Untersuchungsziele und Hypothesen

1. Welche Unterschiede in der grauen Hirnsubstanz weisen kognitiv beeinträchtigte und kognitiv nicht beeinträchtigte ALS-Erkrankte auf, bestimmt krosssektional mittels VBM?
2. Welche Unterschiede in der grauen Hirnsubstanz weisen kognitiv beeinträchtigte und kognitiv nicht beeinträchtigte ALS-Erkrankte auf, bestimmt longitudinal (über einen Beobachtungszeitraum von bis zu 18 Monaten) mittels VBM?
3. Können die Ergebnisse der Ganzhirn-VBM durch regional-basierte Analysen bestätigt werden?
4. Inwiefern lassen sich die Ergebnisse in die bestehende Literatur einordnen?

Lebenslauf

Lea Kalina Gimbel

* 07.11.1991 in Bremen

✉ leagimbel@web.de

☎ 015751415828

Ausbildung

Seit 04.2022	Assistenzärztin Elisabeth-Kinderkrankenhaus im Klinikum Oldenburg, Kinderintensivstation
06. 2019-03.2022	Assistenzärztin Kinder- und Jugendmedizin Bremen Nord
10.2012-12.2018	Studium der Humanmedizin an der Universität Rostock Abschluss: Staatsexamen, Note: 2,16
1998-2011	Freie Waldorfschule Oldenburg, Allgemeine Hochschulreife, Note: 1,9

Promotion

Seit 06.2016	Titel: „Volumenveränderungen der grauen Substanz bei nicht-dementen ALS-Erkrankten in Abhängigkeit vom kognitiven Status - eine longitudinale voxel-basierte morphometrische MRT-Studie“
--------------	--

Praktische Erfahrungen

11.2017-10.2018	Praktisches Jahr 1. Tertial Pädiatrie, Prof.-Hess-Kinderklinik Bremen 2. Tertial Chirurgie, Klinikum Bremen-Mitte 3. Tertial Innere, Kantonsspital Baselland, Laufen, Schweiz
2015-2017	Studentische Hilfskraft am Klinikum Südstadt Rostock (Übernahme einfacher ärztlicher Tätigkeiten wie Blutentnahmen oder Verabreichung intravenöser Medikamente)
2015-2017	Studentische Hilfskraft an der Universität Rostock als Tutorin für die Skillslab-Kurse „Sonographie“ und „Venöse Punktion“

Auslandsaufenthalt

26.07.2016-24.08.2016	Nha Trang, Vietnam Auslandsfamulatur in der Notaufnahme
08.2011-08.2012	Jerusalem, Israel Freiwilligendienst in der Pflege im Hospiz „St. Louis French Hospital“

Lea Kalina Gimbel
Bremen, 07.02.2023