

# **TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN**

**Klinik und Poliklinik für  
Psychiatrie und Psychotherapie  
Klinikum rechts der Isar  
der Technischen Universität München  
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. J. Förstl)**

Der Zusammenhang zwischen klinischer Progression und PIB-PET als  
Marker der zerebralen Amyloid-Pathologie bei Patienten mit Alzheimer-  
Krankheit im zeitlichen Verlauf

Susanne Vera Tholen

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen  
Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines  
Doktors der Medizin genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.- Prof. Dr. D. Neumeier

Prüfer der Dissertation:

1. apl. Prof. Dr. A. Kurz
2. Univ.- Prof. Dr. A. Drzezga

Die Dissertation wurde am 04.07.2011 bei der Technischen Universität  
München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 26.10.2011  
angenommen.

Meinen Eltern

## Inhaltsverzeichnis

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. Einleitung</b> .....  | <b>5</b>  |
| 1.1 Pittsburgh Compound B.....  | 5         |
| 1.2 Histopathologie der Alzheimer-Krankheit.....  | 5         |
| 1.3 Zusammenhang zwischen Amyloid-Ablagerungen und klinischer<br>Symptomatik.....               | 6         |
| 1.4 ApoE-Genotyp.....   | 6         |
| 1.5 Anwendung bildgebender Verfahren zur Amyloid-Darstellung in Diagnostik<br>und Therapie..... | 7         |
| 1.6 Aktuelle Studienlage.....   | 8         |
| 1.7 Zielsetzung der vorliegenden Arbeit.....  | 9         |
| <b>2. Material und Methoden</b> .....   | <b>9</b>  |
| 2.1 Patienten, Ein- und Ausschlusskriterien.....  | 9         |
| 2.2 Klinische Untersuchung.....   | 13        |
| 2.3 Laboruntersuchung und Bestimmung des ApoE-Genotyps.....                                     | 15        |
| 2.4 Bildgebung des Gehirns.....   | 15        |
| 2.5 Statistische Analyse.....   | 17        |
| <b>3. Ergebnisse</b> .....  | <b>22</b> |
| 3.1 Patienten, Demographie und Klinik.....  | 22        |
| 3.2 Zunahme der zerebralen Amyloid-Ablagerungen im Verlauf.....                                 | 25        |
| 3.3 Regionale Unterschiede der PIB-Zunahme in verschiedenen<br>Hirnregionen.....                | 26        |
| 3.4 Zusammenhang zwischen PIB-Zunahme und klinischen Parametern.....                            | 31        |
| 3.5 Zusammenhang zwischen PIB-Zunahme und ApoE-Genotyp.....                                     | 49        |
| 3.6 Zusammenhang zwischen ApoE-Genotyp und klinischen Parametern.....                           | 56        |
| <b>4. Diskussion</b> .....  | <b>56</b> |
| 4.1 Zunahme der zerebralen Amyloid-Ablagerungen im Verlauf.....                                 | 56        |
| 4.2 Regionale Unterschiede der PIB-Zunahme in verschiedenen<br>Hirnregionen.....                | 58        |
| 4.3 Zusammenhang zwischen PIB-Zunahme und klinischen Parametern.....                            | 58        |
| 4.4 Zusammenhang zwischen PIB-Zunahme und ApoE-Genotyp.....                                     | 60        |
| 4.5 Grenzen der vorliegenden Arbeit.....  | 61        |
| <b>5. Zusammenfassung</b> .....   | <b>62</b> |
| <b>6. Literaturverzeichnis</b> .....  | <b>64</b> |

## Abkürzungsverzeichnis

A $\beta$ :  $\beta$ -Amyloid-Protein

ApoE: Apolipoprotein E

CDR: Clinical Dementia Rating

CDR-SOB: Clinical Dementia Rating, Sum Of Boxes

CERAD-NAB: Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease,  
Neuropsychological Assessment Battery

CT: Computertomographie

EU: Erstuntersuchung

FDG: F18-fluoro-deoxy-D-glucose

FDR: False Discovery Rate

L: links

MMST: Mini Mental Status Test

MRT: Magnetresonanztomographie

PET: Positronenemissionstomographie

PIB: Pittsburgh Compound B

R: rechts

SPM: Statistical Parametric Mapping

ZU: Zweituntersuchung

# 1. Einleitung

## 1.1 Pittsburgh Compound B

Pittsburgh Compound B steht für die chemische Verbindung 6-Hydroxybenzothiazol und wurde an der Universität Pittsburgh, U.S.A. entwickelt (und dementsprechend Pittsburgh Compound B, kurz PIB, genannt). Es stellt eine modifizierte Form des histopathologischen Farbstoffes Thioflavin T zur Darstellung von Amyloid-Ablagerungen dar. Durch Verbindung des 6-Hydroxybenzothiazols mit dem Radioisotop [11C]-Kohlenstoff gelang die Herstellung eines Radiopharmakons zur Darstellung von fibrillärem Amyloid mit Hilfe der Positronen-Emissions-Tomographie (PET).

Die spezifische Bindung von PIB an die  $\beta$ -Faltblattstruktur zerebraler Amyloid-Ablagerungen (d. h. seniler Plaques, nichtplaqueartiger parenchymaler Amyloid-Ablagerungen und Amyloid in Gefäßwänden) konnte zunächst in vitro gezeigt werden [23]. Die erste klinische Studie, in der die Amyloid-Darstellung mit Hilfe von PIB bei Patienten mit der klinischen Diagnose einer Alzheimer-Krankheit sowie bei gesunden Kontrollen erfolgte, wurde 2004 von Klunk et. al veröffentlicht [21]: Hirnareale, die bei Alzheimer-Patienten nachweislich vermehrt Amyloid-Ablagerungen aufweisen, zeigten eine signifikant höhere PIB-Aufnahme als bei den gesunden Kontrollen. Diese Ergebnisse konnten seither durch mehrere unabhängige Studien bestätigt werden [32, 9, 17, 20]. Desweiteren besteht eine hohe Korrelation zwischen der regionalen PIB-Aufnahme in vivo und der post mortem erhobenen Verteilung der Plaques in den entsprechenden Hirnarealen von Patienten mit Alzheimer Demenz [16].

## 1.2 Histopathologie der Alzheimer-Krankheit

Zu den histopathologischen Veränderungen der Alzheimer-Krankheit gehören die neurofibrillären Tangle, die aus hyperphosphoryliertem Tau-Protein bestehen, sowie die senilen Plaques, deren Hauptbestandteil das  $\beta$ -Amyloid-Protein ( $A\beta$ ) ist. Bereits in der präklinischen Phase der Alzheimer-Krankheit kommt es zu einer allmählichen Zunahme der Amyloid-Ablagerungen im Gehirn, die sich im weiteren Verlauf fortsetzt und letztendlich mit dem Verlust von Neuronen und Synapsen einhergeht [2]. Topographisch sind von den Amyloid-Ablagerungen zunächst Regionen des Neokortex betroffen, anschließend der Allokortex (v. a. entohirner Kortex und

Hippocampus) und schließlich subkortikale Regionen (v. a. Striatum und Thalamus), Kerngebiete des Hirnstamms sowie zuletzt das Kleinhirn [35]. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit kann also die histopathologisch bereits nachgewiesene Zunahme der Amyloid-Ablagerungen im Verlauf der Alzheimer-Krankheit sowie deren topographische Verteilung in vivo anhand von PIB-PET-Aufnahmen gezeigt werden.

### 1.3 Zusammenhang zwischen Amyloid-Ablagerungen und klinischer Symptomatik

Bisher wurde der Zusammenhang zwischen dem Schweregrad des dementiellen Syndroms bei Alzheimer-Krankheit und der Menge an Amyloid in bestimmten Hirnregionen anhand von histopathologischen Studien untersucht: In vielen Fällen ergab sich eine positive Korrelation zwischen klinischem Schweregrad und Quantität der Amyloid-Plaques, die allerdings meist nur schwach ausgeprägt war. In einer Arbeit von Gold et al. beispielsweise wurden 13% der Variabilität des klinischen Schweregrads (gemessen anhand der CDR) durch die Amyloid-Ablagerungen erklärt [13]. Ob und inwieweit die Menge an  $\beta$ -Amyloid im Gehirn die Ausprägung der klinischen Symptomatik der Alzheimer-Krankheit ursächlich beeinflusst, ist zum gegenwärtigen Zeitpunkt noch unklar. Ein entscheidender Faktor, der die Aussagekraft histopathologischer Untersuchungen deutlich einschränkt, ist das Intervall zwischen Todeszeitpunkt und letzter neuropsychologischer Testung. Ein Verfahren zur Darstellung der Amyloid-Ablagerungen in vivo hingegen bietet den entscheidenden Vorteil, Menge an Amyloid und klinische Symptomatik zu einem definierten Zeitpunkt zu vergleichen bzw. auch die Entwicklung beider Variablen im Längsschnitt zu beurteilen.

### 1.4 ApoE-Genotyp

Das einzige Gen, für das ein gesicherter Zusammenhang mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko für die sporadische Form der Alzheimer-Demenz besteht, ist das ApoE $\epsilon$ 4-Allel des Apolipoprotein E. Dabei spielt nicht nur das Vorhandensein sondern auch die Anzahl der  $\epsilon$ 4-Allele eine entscheidende Rolle für das Erkrankungsrisiko (Gendosis-Effekt) [1]. Der neurobiologische Mechanismus, durch den das ApoE $\epsilon$ 4-Allel zu einem erhöhten Erkrankungsrisiko für die Alzheimer-Demenz führt, ist noch nicht hinreichend geklärt.

Ein positiver ApoE $\epsilon$ 4-Allel-Status prädiponiert einerseits für einen früheren Beginn der Erkrankung, andererseits aber auch für eine raschere Progredienz der klinischen Symptomatik im Frühstadium der Alzheimer-Krankheit [5,6]. Desweiteren konnte gezeigt werden, dass das Vorhandensein eines oder zweier ApoE $\epsilon$ 4-Allele zu einer beschleunigten Atrophie im Bereich der hippocampalen Formation bei Patienten mit Alzheimer-Krankheit führt, wobei auch die Anzahl der ApoE $\epsilon$ 4-Allele im Sinne eines Gendosis-Effekts eine Rolle zu spielen scheint [29]. Neben dem Einfluss auf strukturmorphologische Veränderungen, scheint der ApoE-Genotyp auch mit Veränderungen der Hirnperfusion und des zerebralen Glucosemetabolismus vergesellschaftet zu sein [15, 22,10]: In mehreren Studien konnte eine Minderung der regionalen zerebralen Hirndurchblutung bei Trägern des ApoE $\epsilon$ 4-Allels vor allem im frontalen Assoziationskortex im Vergleich zu ApoE $\epsilon$ 4-negativen Patienten dargestellt werden [15]. Daneben weisen sowohl ApoE $\epsilon$ 4-positive als auch –negative Patienten ein Alzheimer-typisches Verteilungsmuster hypometaboler Hirnareale in der [F18]-FDG-PET-Bildgebung auf, wobei ApoE $\epsilon$ 4-positive Patienten eine signifikant geringere regionale, zerebrale Glucoseverbrauchsrate im temporalen und parietalen Kortex beidseits sowie im posterioren Cingulum haben [10]. Auch hinsichtlich eines Zusammenhanges mit der PIB-Aufnahme in der der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) wurde der ApoE-Genotyp untersucht: Eine signifikant höhere PIB-Aufnahme im Querschnitt konnte bei den ApoE $\epsilon$ 4-positiven Patienten im Bereich des präfrontalen und temporoparietalen Kortex beider Hemisphären gezeigt werden [8]. Ein Einfluss des ApoE-Genotyps bzw. der Anzahl der ApoE $\epsilon$ 4-Allele auf die PIB-Aufnahme im Längsschnitt scheint also sehr wahrscheinlich und wird im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersucht.

### 1.5 Anwendung bildgebender Verfahren zur Amyloid-Darstellung in Diagnostik und Therapie

Die eindeutige Diagnose der Alzheimer-Krankheit lässt sich nach wie vor nur aus der histopathologischen Untersuchung einer Hirnautopsie bzw. -biopsie stellen, wobei die Quantität der senilen Plaques in Abhängigkeit vom Patientenalter ein entscheidendes Kriterium der neuropathologischen Diagnose darstellt [19]. D. h. eine völlig sichere Diagnose intra vitam ist zur Zeit noch nicht möglich. Mit Hilfe von bildgebenden Verfahren zur Darstellung von zerebralem Amyloid kann nicht invasiv ein Hauptmerkmal der histopathologischen Veränderungen der Alzheimer-Krankheit

dargestellt werden. Damit bietet sich die Möglichkeit, die Diagnose der Alzheimer-Krankheit bereits zu Lebzeiten mit höherer Sicherheit zu stellen. Auch Frühstadien der Erkrankung, in denen die Patienten klinisch noch unauffällig sind, könnten anhand der Amyloid-Bildgebung identifiziert werden: In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass etwa 20% kognitiv gesunder älterer Personen eine PIB-Aufnahme aufweisen, so dass bei diesen Patienten eventuell von einem Frühstadium der Alzheimer-Krankheit auszugehen ist [31, 18, 33]. Desweiteren könnte die Untersuchung mit bildgebenden Verfahren zur Darstellung von Amyloid auch prognostischen Wert haben: Im Rahmen einer Längsschnittstudie wurden Patienten mit leichter kognitiver Störung untersucht, von denen etwa die Hälfte eine gesteigerte PIB-Aufnahme bei Erstuntersuchung aufwies. Im Verlauf ergab sich, dass bei diesen Patienten ein Fortschreiten zur Alzheimer-Krankheit signifikant häufiger war [30]. Die Anwendung solcher Verfahren im Längsschnitt ist auch hinsichtlich anderer Fragestellungen von Interesse: Patienten, für die aufgrund einer hohen zerebralen Amyloid-Anreicherung eine anti-amyloiderge Therapie in Betracht kommt, könnten für klinische Arzneimittelstudien identifiziert werden. Daneben könnten bildgebende Verfahren zur Amyloid-Darstellung auch für ein mögliches Therapiemonitoring zur Abschätzung der Wirksamkeit einer anti-amyloidergen Substanz eingesetzt werden.

## 1.6 Aktuelle Studienlage

Bisher durchgeführte Längsschnittstudien mit PIB führten zu uneinheitlichen Ergebnissen: Die erste, 2006 veröffentlichte Studie, die 15 Patienten mit leichtgradiger Alzheimer-Krankheit nach einem Intervall zwischen 1,5 und 2,5 Jahren nachuntersuchte, zeigte keine signifikante Änderung der PIB-Aufnahme in den untersuchten Hirnregionen über die Zeit [11]. Im Rahmen einer zweiten, aktuelleren Studie wurden 8 Patienten mit wahrscheinlicher Alzheimer-Krankheit innerhalb eines Zeitraumes von durchschnittlich 12 Monaten erneut mit dem PIB-PET-Verfahren untersucht, wobei sich eine geringfügige, aber nicht signifikante PIB-Zunahme von 4,2% ergab [18]. Bei 14 Patienten mit wahrscheinlicher Alzheimer-Krankheit, die 2009 von Scheinin et al. im Rahmen einer Längsschnittstudie mit PIB zweimalig untersucht wurden [33], kam es nach einem Intervall von durchschnittlich 2 Jahren zu einer signifikanten PIB-Zunahme im medialen frontalen Kortex, allerdings zeigte die gesunde Kontrollgruppe eine vergleichbar hohe PIB-Zunahme in derselben Region.



## 1.7 Zielsetzung der vorliegenden Arbeit

Zielsetzung der vorliegenden Arbeit war es,

1. Die Zunahme der Amyloid-Ablagerungen anhand der Entwicklung der PIB-Anreicherung bei 24 Patienten mit klinisch manifester, bei Erstuntersuchung leicht- bis mäßiggradiger Alzheimer-Demenz, nach einem Beobachtungszeitraum von zwei Jahren darzustellen
2. Unterschiede bezüglich der topographischen Verteilung der PIB-Zunahme in verschiedenen Hirnregionen und deren Übereinstimmung mit den bereits histopathologisch definierten Phasen der Amyloid-Ablagerung [35] festzustellen
3. Einen möglichen Zusammenhang zwischen PIB-Zunahme über die Zeit und Verschlechterung klinischer Parameter sowie einen möglichen Einfluss der antidementiven Medikation auf diesen Zusammenhang zu untersuchen
4. Einen möglichen Einfluss des ApoE-Genotyps bzw. der Anzahl der ApoE $\epsilon$ 4-Allele auf die PIB-Aufnahme im Längsschnitt zu identifizieren

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Patienten, Ein- und Ausschlusskriterien

Im Zeitraum von September 2004 bis Februar 2007 fand die Erstuntersuchung im Zentrum für kognitive Störungen der psychiatrischen Klinik des Klinikums Rechts der Isar der Technischen Universität München statt. Die Patienten waren zur weiteren diagnostischen Abklärung einer kognitiven Störung von Allgemeinärzten, Neurologen, Psychiatern und anderen Institutionen dorthin überwiesen worden. Das standardisierte diagnostische Vorgehen umfasste die Erhebung der Eigen- und Fremdanamnese (über einen Angehörigen bzw. eine Begleitperson), eine internistische, neurologische und psychiatrische Untersuchung, eine neuropsychologische Testung, sowie eine Routinelaboruntersuchung und die Bestimmung des ApoE-Genotyps. Neben einer MRT-Aufnahme des Schädels zum Ausschluss struktureller Hirnveränderungen, wurden eine [18F]FDG-PET-

Untersuchung zur Darstellung des zerebralen Glucosstoffwechsels sowie eine [11C]PIB-PET-Untersuchung zur Detektion von Amyloid-Plaques durchgeführt. Im Rahmen der Zweituntersuchung wurden sowohl die klinische Untersuchung als auch die drei bildgebenden Verfahren (siehe unten) innerhalb von drei Monaten wiederholt. Das Protokoll der vorliegenden Studie wurde sowohl von der Ethikkommission der Technischen Universität München als auch vom Bundesamt für Strahlenschutz genehmigt.

Alle Studienteilnehmer erfüllten die NINCDS-ADRDA-Diagnosekriterien für eine wahrscheinliche Alzheimer-Krankheit [26], die in Abbildung 1 aufgeführt sind.

Abbildung 1: NINCDS-ADRDA-Kriterien für die Diagnose der Alzheimer- Krankheit

I. Kriterien für die klinische Diagnose einer WAHRSCHEINLICHEN Alzheimer-Krankheit

- Demenz, festgestellt durch klinische Untersuchung und belegt durch den MMST, die Blessed Dementia Scale oder eine ähnliche Untersuchung und bestätigt durch neuropsychologische Tests
- Defizite in zwei oder mehr kognitiven Bereichen
- progrediente Verschlechterung des Gedächtnisses und anderer kognitiver Funktionen
- keine Bewusstseinsstörung
- Erkrankungsbeginn zwischen dem 40. und 90. Lebensjahr, am häufigsten nach dem 65. Lebensjahr und
- keine andere systemische oder zerebrale Grunderkrankung, die zu den progredienten Defiziten der Gedächtnisfunktion und anderer kognitiver Funktionen führen könnte

II. Die Diagnose einer WAHRSCHEINLICHEN Alzheimer-Krankheit wird unterstützt durch:

- progrediente Verschlechterung spezifischer kognitiver Funktionen wie Sprache (Aphasie), motorische Fähigkeiten (Apraxie) und

### Wahrnehmung (Agnosie)

- eingeschränkte Alltagsfunktion und Verhaltensauffälligkeiten
- ähnliche Erkrankungen in der Familienanamnese, vor allem wenn diese neuropathologisch bestätigt wurden und
- folgende Untersuchungsbefunde: Normalbefund bei der Lumbalpunktion, Normalbefund oder unspezifische Veränderungen im EEG und progrediente Hirnatrophie, nachgewiesen durch mehrere CT-Untersuchungen

### III. Andere klinische Zeichen einer WAHRSCHEINLICHEN Alzheimer-Krankheit, nach Ausschluss anderer Ursachen einer Demenz, sind:

- Plateaus während des progredienten Krankheitsverlaufs
- Begleitsymptome wie Depression, Schlaflosigkeit, Inkontinenz, Sinnestäuschungen, Wahnvorstellungen, Halluzinationen, katastrophale verbale, emotionale oder körperliche Ausbrüche, sexuelle Dysfunktion und Gewichtsverlust
- andere neurologische Auffälligkeiten, vor allem bei Patienten mit weit fortgeschrittener Erkrankung, sowie motorische Ausfälle (z.B. erhöhter Muskeltonus, Myoklonus oder Gangstörungen)
- Insulte bei fortgeschrittener Erkrankung und
- altersentsprechender CT-Befund

### IV. Befunde, die die klinische Diagnose einer WAHRSCHEINLICHEN Alzheimer-Krankheit, unwahrscheinlich machen:

- plötzlicher, apoplektiformer Beginn
- fokal-neurologische Ausfälle wie Hemiparese, Sensibilitätsausfälle, Gesichtsfelddefekte und Koordinationsstörungen im frühen Verlauf der Erkrankung und
- Insulte oder Gangstörungen, die schon zu Beginn oder sehr früh im Krankheitsverlauf auftreten

#### V. Kriterien für die klinische Diagnose einer MÖGLICHEN Alzheimer-Krankheit

- die Diagnose kann gestellt werden auf der Basis eines dementiellen Syndroms, in Abwesenheit anderer neurologischer, psychiatrischer oder systemischer Erkrankungen, die eine Demenz hervorrufen können, und bei Vorkommen von Abweichungen im Krankheitsbeginn, -verlauf und der klinischen Präsentation
- ebenfalls wenn zwar eine sekundäre zerebrale oder systemische Grunderkrankung vorliegt, die eine Demenz hervorrufen könnte, diese aber nicht als die Ursache angesehen wird
- und bei klinischen Studien, wenn ein einzelnes, allmählich fortschreitendes, schweres kognitives Defizit auftritt, ohne dass eine andere Erklärung dafür vorliegt

#### VI. Kriterien für die Diagnose einer DEFINITIVEN Alzheimer-Krankheit

- klinische Kriterien für eine wahrscheinliche Alzheimer-Krankheit und
- histopathologischer Nachweis durch Biopsie oder Autopsie

#### VII. Die Klassifikation der Alzheimer-Krankheit für Forschungszwecke sollte die Untergliederung in Subtypen beinhalten, z.B. nach folgenden Kriterien:

- familiäres Auftreten
- früher Beginn (vor dem 65. Lebensjahr)
- Trisomie 21
- andere relevante Erkrankungen wie Morbus Parkinson

Legende Abbildung 1: NINCDS-ADRDA: National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke – Alzheimer's Disease and Related Disorders Association, MMST: Mini Mental Status Test

Als weiteres Einschlusskriterium waren Alzheimer-typische Befunde in der FDG-PET-Bildgebung erforderlich. Das bedeutet im Wesentlichen eine verminderte [18F]FDG-Anreicherung im frontalen und temporoparietalen Kortex, sowie dem posterioren Cingulum/Precuneus, wobei primäre Hirnrindenareale wie der sensomotorische und der primär visuelle Kortex weitgehend ausgespart bleiben [27]. Die diagnostische Beurteilung der FDG-PET-Bilder wurde von einem erfahrenen Nuklearmediziner durchgeführt.

Die Patienten, bei denen die Diagnosekriterien einer anderen neurologischen oder psychiatrischen Erkrankung, wie Morbus Parkinson, Normaldruckhydrozephalus, progressive supranukleäre Paralyse oder Depression erfüllt waren, wurden nicht eingeschlossen. Auch Auffälligkeiten in der MRT-Bildgebung, wie Hirninfarkte, ausgedehnte Leukenzephalopathie, intrazerebrale Aneurysmen oder AV-Malformationen, führten zum Ausschluss der Patienten aus der Studie. Patienten, bei denen sich Hinweise auf eine andere Ursache der kognitiven Störung, wie psychotrope Medikation (z.B. Antidepressiva, Antipsychotika), Substanzmissbrauch oder Auffälligkeiten in der Routineblutuntersuchung fanden, wurden ebenfalls nicht in die Studie aufgenommen.

## 2.2 Klinische Untersuchung

Alle Patienten wurden bei Erst- und Zweituntersuchung mit der „Consortium to Establish a Registry for Alzheimer’s Disease Neuropsychological Assessment Battery“ (CERAD-NAB) und der „Clinical Dementia Rating“ (CDR) untersucht.

### 2.2.1 CERAD-NAB-Testbatterie

Die CERAD-NAB ist eine neuropsychologische Testbatterie [28] und besteht aus acht Subtests: Verbale Flüssigkeit, Boston Naming Test, Mini Mental Status Test, Wortliste Lernen (3 Durchgänge), Figuren Abzeichnen, Wortliste Abrufen, Wortliste Wiedererkennen (ja/nein) und Figuren Abrufen. Für jeden Patienten wurde anschließend aus diesen Kategorien, mit Ausnahme des MMST, der an sich schon einen globalen Test zur Beurteilung der kognitiven Leistungsfähigkeit darstellt und der Kategorie Figuren Abrufen, der sogenannte CERAD-NAB-Summenwert [4] anhand der Formel in Tabelle 1 berechnet:

Tabelle 1: Berechnung des CERAD-NAB-Summenwertes [4]

| <u>Subtest</u>                       | <u>maximal erreichbare Punktzahl</u> |
|--------------------------------------|--------------------------------------|
| verbale Flüssigkeit                  | 24                                   |
| Boston Naming Test                   | 15                                   |
| WL Lernen                            | 30                                   |
| konstruktive Praxis                  | 11                                   |
| WL Abrufen                           | 10                                   |
| WL Wiedererkennen Diskriminabilität* | 10                                   |
| <u>Summe</u>                         | <u>100</u>                           |

\*WL Wiedererkennen ja – 10 + WL Wiedererkennen nein

Legende Tabelle 1: CERAD-NAB: Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease, Neuropsychological Assessment Battery, WL: Wortliste

Die CERAD-NAB-Testbatterie dient im Wesentlichen der Beurteilung der kognitiven Leistungsfähigkeit in den Bereichen Gedächtnis, Lernen, Sprache und Praxie, der CERAD-NAB-Summenwert erlaubt durch Integration der Mehrzahl der einzelnen Subtests eine bessere Beurteilbarkeit des gesamten kognitiven Status des jeweiligen Patienten.

### 2.2.2. CDR

Die „Clinical Dementia Rating“ (CDR) ist ein international verwendetes Maß und wird für die klinische Einschätzung des Schweregrades einer Demenz verwendet. Durch Befragung einer Bezugsperson des Patienten werden dabei sechs kognitive und funktionelle Kategorien beurteilt: Gedächtnis, Orientierungsvermögen, Urteilsvermögen und Problemlösung, Leben in der Gemeinschaft, Haushalt und Hobbies und Körperpflege. Jede Kategorie wird anhand einer 5-Punkte-Skala mit 0 (keine Beeinträchtigung) über 0,5 (fragliche Beeinträchtigung), 1 (leichte Beeinträchtigung), 2 (mäßige Beeinträchtigung) bis 3 (schwere Beeinträchtigung) bewertet. Die Einzelwerte der sechs Kategorien werden addiert und der Gesamtwert wird in Form der „sum of boxes“ (CDR-SOB) angegeben. Neben der CDR-SOB wurde für jeden Patienten auch die CDR global jeweils bei Erst- und

Zweituntersuchung ermittelt. Anhand der CDR global lässt sich der Schweregrad der Demenz, ebenfalls anhand einer fünfstufigen Skala mit 0 (keine Demenz) bis 3 (schwere Demenz) einschätzen.

Die CDR wurde zur Bestimmung des klinischen Schweregrads der Erkrankung gewählt, da sie neben der Gedächtnisfunktion auch die generelle Leistungsfähigkeit des Patienten im Alltag erfasst, und damit eine umfassendere Aussage über die klinische Präsentation der Erkrankung zulässt als rein kognitive Testverfahren. Zudem hat sich gezeigt, dass die CDR als Maß für die kognitive Dysfunktion stark mit zahlreichen neuropathologischen Parametern korreliert [7].

### 2.3 Laboruntersuchung und Bestimmung des ApoE-Genotyps

Die im Rahmen der Erstuntersuchung durchgeführte Routineblutuntersuchung bestand neben der Bestimmung der Elektrolyte, der Leber- und Nierenwerte, sowie der Entzündungsparameter aus einem großen Blutbild, der Messung des Blutzuckers und der Bestimmung der Vitamin B12- und Folsäurespiegel sowie der Schilddrüsenhormonwerte. Daneben wurden serologische Tests auf Syphilis und Lyme-Borreliose durchgeführt. Ziel war es, selteneren Ursachen einer kognitiven Beeinträchtigung, wie Elektrolyt- und Stoffwechselstörungen, sowie Infektionskrankheiten oder Vitaminmangelerkrankungen auszuschließen.

Bei 40 der 42 Patienten wurde im Rahmen der Erstuntersuchung der ApoE-Genotyp nach einem standardisierten Protokoll bestimmt. Die Desoxyribonukleinsäure (DNS) wurde durch die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) amplifiziert und anschließend durch zwei verschiedene Restriktionsenzyme an der Allel-spezifischen Nukleotidsequenz des ApoE-Gens geschnitten. Anhand der Schnittstelle bzw. der resultierenden Länge der Fragmente, die mit Hilfe der Elektrophorese aufgetrennt wurden, ließen sich diese einem Genotyp zuordnen [40].

### 2.4 Bildgebung des Gehirns

Alle Patienten hatten nach erfolgter Aufklärung schriftlich eingewilligt, an den folgenden bildgebenden Untersuchungsverfahren bei Erst- und Zweituntersuchung teilzunehmen:

#### 2.4.1 MRT:

Zur Untersuchung der Patienten wurde ein Siemens 1.5 Tesla Magnetom Symphony verwendet. Das standardisierte Protokoll bestand aus einem 3D-T1-Datensatz (TR 1520ms, TE 3.93 ms, 256x256 Matrix, Flip-Winkel 15°, 1mm Schichten), axialen T2-gewichteten Turbo-Spin-Echo-Sequenzen (TR 4510ms, TE 104ms, 19 Schichten, Voxelabmessung 0.6 x 0.5 x 6.0 mm), koronaren T1-gewichtete Spin-Echo-Sequenzen (TR 527ms, TE 17ms, 19 Schichten, Voxelabmessung 0.9 x 0.9 x 6.0mm) und T2-gewichteten Gradient-Echo-Sequenzen (TR 725ms, TE 29ms, 19 Schichten, Voxelabmessung 0.7 x 0.7 x 6.0mm). Zunächst erfolgte die visuelle Beurteilung der Bilder durch einen unabhängigen Neuroradiologen. Daraufhin wurden die MRT-Daten jedes Patienten mit der SPM8-Software [12], einer statistischen Auswertungssoftware für Bildgebungsdaten (Statistical Parametric Mapping, SPM), automatisch räumlich auf die MRT-Matrize des „Montreal Neurological Institute“ (MNI-Matrize) normalisiert, um Verzerrungsparameter für die spätere Normalisierung der jeweiligen PIB-PET-Daten zu erhalten (siehe unten).

#### 2.4.2 [18F]FDG-PET:

Die Patienten mussten mindestens vier Stunden vor der Untersuchung nüchtern bleiben. Vor Applikation des [18F]FDG wurde eine Messung des Blutzuckerspiegels durchgeführt. Anschließend erhielten die Patienten einen intravenösen Bolus von 370 MBq [18F]FDG in einem sensorisch weitgehend abgeschirmten Raum. Zur Anreicherung des Radiopharmakons im Gehirn verblieben die Patienten nun 30 Minuten unter Ruhebedingungen in diesem Raum, wobei die Augen geschlossen bleiben und Aktivitäten wie Reden o.ä. möglichst vermieden werden sollten. Zur Durchführung der Aufnahmen wurde der Kopf des Patienten innerhalb des Gesichtsfelds des Tomographen gelagert, wobei der Kopf parallel zur orbito-meatalen Linie innerhalb des Tomographen ausgerichtet und leicht fixiert wurde. Die Aufnahmen wurden unter standardisierten Ruhebedingungen (geschlossene Augen, abgedunkelter Raum) mit einem Siemens ECAT HR+ PET Aufnahmegerät (CTI, Knoxville, Tenn., USA) durchgeführt. Eine Sequenz mit zwei fünfminütigen und einer zehnminütigen Einzelmessung wurde gefahren, die später fusioniert wurden. Die Datenakquisition erfolgte im 3D-Modus mit einem axialen Gesichtsfeld von insgesamt 15,5cm. Nach Beendigung der Emissionsmessung, wurde eine Transmissionsmessung zur Schwächungskorrektur durchgeführt.



### 2.4.3 [11C]PIB-PET

Dieser Teil der Untersuchung wurde mit demselben Tomographen nach einem standardisierten Protokoll durchgeführt [25]. Zunächst erfolgte wiederum die Injektion des Radiopharmakons unter Ruhebedingungen, wobei eine Aktivität von 370MBq [11C]PIB appliziert wurde. Nach 30 Minuten wurden die Patienten möglichst exakt im Gesichtsfeld des Tomographen gelagert, nach 40 Minuten wurde schließlich mit den Aufnahmen begonnen. Die Datenakquisition erfolgte im 3D-Modus, wobei drei zehninütige Einzelmessungen durchgeführt wurden, die später zu einer Einzelmessung von 40-70 Minuten aufsummiert wurden. Anschließend erfolgte ebenfalls eine Transmissionsmessung zur Schwächungskorrektur. Nach der Bildrekonstruktion, der Totzeitkorrektur, der Schwächungs- und Streuungskorrektur und der Bestimmung der SUV (Standard Uptake Values), wurde mit Hilfe der SPM8-Software die räumliche Normalisierung durchgeführt. Die [11C]PIB-Daten wurden zunächst mit dem jeweiligen volumetrischen MRT des Patienten koregistriert und dann automatisch in SPM8 auf die T1-MRT MNI-Matrize normalisiert, wobei die Verzerrungsparameter verwendet wurden, die man aus der vorangehenden MRT-Normalisierung abgeleitet hatte. Dass dieses Verfahren auf PIB-PET-Daten anwendbar ist, wurde kürzlich u.a. von Ziolko et al. gezeigt [38].

## 2.5 Statistische Analyse

### 2.5.1 Zunahme der zerebralen Amyloid-Ablagerungen im Verlauf

Der erste Ansatz zur Analyse der erhobenen Daten zielte darauf ab, festzustellen, ob über dem gesamten Großhirn eine PIB-Zunahme über die Zeit stattgefunden hat. Dazu wurden zwei anatomische Zielregionen aus einer etablierten, vorgefertigten Matrize [37] verwendet: Die erste Zielregion beinhaltet die graue Substanz des gesamten Großhirns, die zweite den Kleinhirnwurm als Referenzregion. In den so definierten Regionen wurde jeweils die durchschnittliche Aufnahme des Radiopharmakons für die 95% der Volumenpunkte mit der größten Aktivität berechnet [24] und der Quotient aus zerebralem und zerebellärem Mittelwert für jeden Patienten bestimmt, also ein Cerebrum/cerebellärer Vermis (C/cv) Quotient ermittelt. Dieser Vermis-korrigierte Mittelwert dient dazu, Artefakte möglichst gering zu halten, die durch die interindividuell stark schwankende Aufnahme des Radiopharmakons zustande kommen [25]. Daraufhin wurden die Differenz zwischen der PIB-Aufnahme bei Erst- und Zweituntersuchung ermittelt (PIB-Differenz) sowie

die relative PIB-Zunahme anhand des Quotienten dieser Differenz und der PIB-Aufnahme bei Erstuntersuchung. Die Formel, die zur Berechnung der relativen PIB-Zunahme verwendet wurden, ist in Abbildung 2 nochmals dargestellt:

Abbildung 2:

$$\text{Relative PIB-Zunahme} = \frac{\text{PIB-Aufnahme ZU} - \text{PIB-Aufnahme EU}}{\text{PIB-Aufnahme ZU}}$$

Legende Abbildung 2: PIB: Pittsburgh Compound B, EU: Erstuntersuchung, ZU: Zweituntersuchung

Ob diese Zunahme über die Zeit signifikant ist, wurde anhand eines Mittelwertvergleichs (Wilcoxon-Test) zwischen der PIB-Aufnahme bei Erst- und Zweituntersuchung mit Hilfe der PASW Statistics 18.0-Software ([www.spss.com](http://www.spss.com)) überprüft. Das genannte Programm wurde ebenfalls für alle folgenden Analysen verwendet.

### 2.5.2 Regionale Unterschiede der PIB-Zunahme in verschiedenen Hirnregionen

Die topographische Verteilung der PIB-Zunahme in verschiedenen Hirnregionen wurde anhand eines Zielregionen- und eines voxel-basierten Ansatzes untersucht:

#### a) Zielregionen-basierter Ansatz

Um explorativ die regionale Verteilung der PIB-Auf- bzw. -Zunahme in einzelnen Anteilen des Kortex und der subkortikalen grauen Substanz zu untersuchen, wurden 90 anatomisch definierte Zielregionen unter zu Hilfenahme der genannten Matrize [37] festgelegt und anschließend die Vermis-korrigierten Mittelwerte berechnet. Anschließend wurde ein Mittelwertvergleich in jeder Zielregion zwischen Erst- und Zweituntersuchung mittels Wilcoxon-Test durchgeführt.

Aufgrund der Tatsache, dass in der vorhergehenden Analyse besonders phylogenetisch jüngere Hirnareale eine signifikante PIB-Zunahme über die Zeit aufwiesen, wurde eine weitere Zielregion definiert, die ausschließlich Regionen des Neokortex umfasst. Diese neu generierte Zielregion wird im Folgenden als

„Zielregion Neokortex“ in Abgrenzung zur „Zielregion Großhirn“ bezeichnet. Phylogenetisch ältere Regionen des Archikortex wurden als „Zielregion Archikortex“ zusammengefasst.

#### b) Voxel-basierter Ansatz

Zur Bestätigung der Zielregionen-basierten Analyse wurde die regionale Verteilung der PIB-Zunahme zusätzlich durch einen Mittelwertvergleich (t-Test) der PIB-Aufnahme zwischen Erst- und Zweituntersuchung unter Verwendung der SPM8-Software untersucht. Dazu wurden die Pixelwerte des [11C]PIB 40-70min-Summenbildes jedes Patienten auf die Vermis normalisiert [37] [24], und die Bilddaten wurden in einem zweiten Schritt geglättet (Gauß-Glockenkurve von 10×10×10mm). Bei dieser und allen nachfolgenden SPM-Analysen wurde jeweils das gesamte Gehirn untersucht. Desweiteren wurden alle Analysen auf multiples Testen mit der FDR (False Discovery Rate, FDR) [39] überprüft, Signifikanzniveau war für alle Analysen 0,05, außer bei den Korrelationsanalysen, für die ein nicht für multiples Testen korrigierter p-Wert < 0,01 verwendet wurde.

Für alle SPM-Analysen wurde jeweils eine Kontrollanalyse durchgeführt, in der im Gegenzug überprüft wurde, ob es Hirnregionen gibt, in denen nach dem Untersuchungsintervall von zwei Jahren eine signifikante PIB-Abnahme stattgefunden hat.

### 2.5.3 Zusammenhang zwischen PIB-Zunahme und klinischen Parametern

#### a) globale PIB-Zunahme

Zur Beurteilung eines möglichen Zusammenhangs zwischen der globalen Zunahme von PIB und klinischen Parametern wurden zunächst acht lineare Regressionsanalysen durchgeführt. Die PIB-Zunahme (errechnet anhand der Werte der Zielregion Neokortex) wurde als abhängige Variable, Geschlecht, Alter, Intervall, PIB-Aufnahme und CDR global bei Erstuntersuchung, sowie MMST-, CDR-SOB- und CERAD-NAB-Summenwert-Differenz wurden in konsekutiven Analysen als unabhängige Variablen verwendet. Das korrigierte R-Quadrat wurde als Maß für die Qualität des Regressionsmodells herangezogen.

Anschließend wurde für die Variablen Alter, CDR global und MMST bei Erstuntersuchung eine Dichotomisierung der Stichprobe durchgeführt, um mögliche Unterschiede der PIB-Auf- bzw. PIB-Zunahme zwischen den gebildeten Subgruppen aufzudecken: Für die Aufteilung wurde jeweils der Median verwendet, daraufhin wurden die zwei Subgruppen getrennt mit einem Mittelwertvergleich (Wilcoxon-Test) mit den Werten der Zielregion Neokortex hinsichtlich der PIB-Zunahme im Verlauf und der PIB-Aufnahme zum Zeitpunkt der Erst- und Zweituntersuchung untersucht. Explorativ erfolgte anhand der CDR-SOB-Differenzwerte die Aufteilung der Stichprobe in zwei Subgruppen, wobei eine Zunahme der klinischen Symptomatik von mindestens 2 Punkten im Bereich des CDR-SOB-Wertes zur Zuordnung in die „progrediente“ Subgruppe führte. Patienten, die einen CDR-SOB-Wert unterhalb dieses Grenzwertes aufwiesen, wurden der klinisch „stabilen“ Subgruppe zugeordnet. Die beiden Subgruppen wurden anschließend anhand eines Mittelwertvergleichs (Wilcoxon-Test) mit den Werten der Zielregion Neokortex auf einen Unterschied der PIB-Zunahme im Verlauf untersucht.

#### b) regionale PIB-Zunahme

Um mögliche regionale Unterschiede eines Zusammenhangs zwischen PIB-Zunahme und klinischen Parametern zu untersuchen, wurden die Subgruppen, die für Alter, CDR global und MMST bei Erstuntersuchung anhand des Medians gebildet worden waren, mit Hilfe von SPM untersucht. Es erfolgte ein Mittelwertvergleich (t-Test) der PIB-Zunahme. Zusätzlich wurde ein Mittelwertvergleich (t-Test) der PIB-Aufnahme zum Zeitpunkt der Erst- bzw. Zweituntersuchung in den genannten Subgruppen durchgeführt.

Genauer wurde der Zusammenhang von regionaler Verteilung der PIB-Zunahme mit der Progredienz der klinischen Symptomatik mit Hilfe einer Regressionsanalyse in SPM untersucht: Dazu wurden die Differenzwerte zwischen Erst- und Zweituntersuchung von CDR-SOB, MMST und CERAD-NAB-Summenwert als unabhängige Variable und die SPM-Differenzbilder zwischen Erst- und Zweituntersuchung (siehe 2.5.2b) als abhängige Variable verwendet. Regionen mit signifikanter Korrelation der PIB-Zunahme mit der CDR-SOB-Zunahme sowie MMST-Abnahme wurden ermittelt.

### c) Einfluss der antidementiven Medikation auf diesen Zusammenhang

Ein möglicher Einfluss der antidementiven Medikation bei Zweituntersuchung auf die Progredienz der klinischen Symptomatik wurde mit Hilfe von zwei statistischen Tests untersucht. Der Mittelwertvergleich (Wilcoxon-Test) für Patienten mit Medikation und Patienten ohne Medikation zum Zeitpunkt der Verlaufsuntersuchung wurde für folgende Parameter durchgeführt: CDR-SOB-Wert bei Zweituntersuchung, CDR-SOB-Differenz zwischen Erst- und Zweituntersuchung, sowie MMST-Wert bei Zweituntersuchung und MMST-Differenz zwischen Erst- und Zweituntersuchung. In die danach durchgeführte Regressionsanalyse wurden die Medikation zum Zeitpunkt der Verlaufsuntersuchung als abhängige Variable und der CDR-SOB-Wert bei Zweituntersuchung, die CDR-SOB-Zunahme im Verlauf, sowie der MMST-Wert bei Zweituntersuchung und die MMST-Abnahme im Verlauf als unabhängige Variablen eingeschlossen.

Ein dritter Test, die bivariate Korrelation (nach Pearson), wurde für die CDR-SOB- und MMST-Differenzwerte und die Medikation bei Zweituntersuchung durchgeführt.

### 2.5.4 Zusammenhang zwischen PIB-Zunahme und ApoE-Genotyp

#### a) Globale PIB-Zunahme

Zur Beurteilung eines möglichen Zusammenhangs zwischen der globalen Zunahme von PIB und dem ApoE-Genotyp wurde zunächst eine lineare Regression durchgeführt. Die PIB-Zunahme (errechnet anhand der Werte der Zielregion Neokortex) wurde als abhängige Variable, der ApoE-Genotyp als unabhängige Variable verwendet.

Anschließend wurden die Patienten in eine ApoE $\epsilon$ 4-positive und eine -negative Subgruppe unterteilt. Die PIB-Zunahme im Längsschnitt sowie die PIB-Aufnahme im Querschnitt, also zum Zeitpunkt der Erst- und Zweituntersuchung, wurden für die beiden Subgruppen getrennt anhand eines Mittelwertvergleichs (Wilcoxon-Test) mit den Werten der Zielregion Neokortex bestimmt.

Ein Zusammenhang zwischen Anzahl an ApoE $\epsilon$ 4-Allelen und PIB-Zunahme über die Zeit wurde zunächst mit Hilfe einer Korrelationsanalyse untersucht. Zusätzlich wurden die Patienten in drei Subgruppen (mit keinem, einem und zwei ApoE $\epsilon$ 4-

Allelen) eingeteilt und ein Mittelwertvergleich (Wilcoxon-Test) der PIB-Zunahme der drei Subgruppen mit den Werten der Zielregion Neokortex durchgeführt.

#### b) Regionale PIB-Zunahme

Die PIB-Zunahme im Längsschnitt und die PIB-Aufnahme im Querschnitt wurden zwischen der ApoE $\epsilon$ 4-positiven und -negativen Subgruppen mit Hilfe eines Mittelwertvergleichs (t-Test) in SPM untersucht, um mögliche regionale Unterschiede aufzudecken.

Weiterhin wurde anhand einer SPM-Regressionsanalyse untersucht, inwieweit regionale Unterschiede des Zusammenhangs zwischen der PIB-Zunahme und der Anzahl der ApoE $\epsilon$ 4-Allele bestehen.

#### 2.5.5 Zusammenhang zwischen ApoE-Genotyp und klinischen Parametern

Um einen möglichen Zusammenhang zwischen der Anzahl an ApoE $\epsilon$ 4-Allelen und der Progredienz der klinischen Symptomatik zu untersuchen, wurde eine lineare Regression durchgeführt. Die Anzahl an ApoE $\epsilon$ 4-Allelen wurde als unabhängige Variable und CDR-SOB-, MMST- und CERAD-NAB-Summenwert-Differenz als abhängige Variablen verwendet.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Patienten, Demographie und Klinik

Es wurden 42 Patienten mit leicht- bis mittelgradiger Demenz bei Alzheimer-Krankheit in die Studie aufgenommen. Ihre demographischen und klinischen Charakteristika sind Tabelle 2 zu entnehmen:

Tabelle 2: Demographische und klinische Parameter bei Erstuntersuchung

|                               |                                     |
|-------------------------------|-------------------------------------|
| Anzahl                        | 42                                  |
| Männlich : weiblich           | 22 : 20                             |
| Alter in Jahren               | 67,4 $\pm$ 8,24 (Spannweite: 51-84) |
| Mittelwert/Standardabweichung |                                     |

|   |                                   |
|---|-----------------------------------|
| ApoEε4 Allele: 0 : 1 : 2                              | 17 : 14 : 9                       |
| MMST<br>Mittelwert/Standardabweichung                 | 22,8 ± 4,66 (Spannweite: 8-30)    |
| CDR-SOB<br>Mittelwert/Standardabweichung              | 4,39 ± 2,950 (Spannweite: 0,5-14) |
| CERAD-NAB-Summenwert<br>Mittelwert/Standardabweichung | 56,0 ± 13,41 (Spannweite: 33-82)  |

Legende Tabelle 2: ApoE: Apolipoprotein E; MMST: Mini-Mental-Status-Test; CDR-SOB: Clinical Dementia Rating, Sum Of Boxes; CERAD-NAB: Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease, Neuropsychological Assessment Battery

Nach einem Intervall von im Mittel 26,6 Monaten konnten 24 dieser Patienten für eine Verlaufsuntersuchung gewonnen werden. Tabelle 3 zeigt die entsprechenden Parameter dieser Patienten bei Erstuntersuchung und deren Veränderung im Verlauf. Alle erhobenen klinischen Testparameter (MMST, CDR-SOB und CERAD-NAB-Summenwert) weisen eine signifikante Verschlechterung (entspricht einer Abnahme des MMST und CERAD-NAB-Summenwerts bzw. Zunahme der CDR-SOB) über die Zeit auf.

Tabelle 3: Demographische und klinische Parameter bei Zweituntersuchung

| Anzahl   | 24                                       | Wilcoxon-Test, p-Wert EU:ZU |
|--|--|-----------------------------|
| Männlich : weiblich  | 15 : 9                                   |                             |
| Alter EU in Jahren<br>Mittelwert/Standardabweichung                | 66,1 ± 7,22<br>(Spannweite: 52 – 77)     |                             |
| Untersuchungsintervall in Monaten<br>Mittelwert/Standardabweichung | 26,55 ± 2,561<br>(Spannweite: 22,1-32,7) |                             |
| ApoEε4 Allele: 0 : 1 : 2   | 9 : 10 : 5                               |                             |
| MMST EU<br>Mittelwert/Standardabweichung                           | 23,8 ± 3,94<br>(Spannweite: 15-30)       |                             |
| MMST ZU  | 19,0 ± 9,24                              |                             |

|                                |                        |       |
|--------------------------------|------------------------|-------|
| Mittelwert/Standardabweichung  | (Spannweite: 0-30)     |       |
| MMST Differenz                 | -4,8 ± 5,91            | 0,002 |
| Mittelwert/Standardabweichung  | (Spannweite: -15- +5)  |       |
| CDR-SOB EU                     | 3,75 ± 1,978           |       |
| Mittelwert/Standardabweichung  | (Spannweite: 0,5-9)    |       |
| CDR-SOB ZU                     | 6,88 ± 3,995           |       |
| Mittelwert/Standardabweichung  | (Spannweite: 2,0-16,0) |       |
| CDR-SOB Differenz              | 3,13 ± 2,990           | 0,000 |
| Mittelwert/Standardabweichung  | (Spannweite: -2- +7,5) |       |
| CERAD-NAB-Summenwert EU        | 57,2 ± 14,64           |       |
| Mittelwert/Standardabweichung  | (Spannweite: 31-82)    |       |
| CERAD-NAB-Summenwert ZU        | 45,4 ± 20,52           |       |
| Mittelwert/Standardabweichung  | (Spannweite: 16-82)    |       |
| CERAD-NAB-Summenwert Differenz | -11,3 ± 13,26          | 0,001 |
| Mittelwert/Standardabweichung  | (Spannweite: -32- +15) |       |

Legende Tabelle 3: ApoE: Apolipoprotein E; MMST: Mini-Mental-Status-Test; CDR-SOB: Clinical Dementia Rating, Sum Of Boxes; CERAD-NAB: Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease, Neuropsychological Assessment Battery, EU: Erstuntersuchung, ZU: Zweituntersuchung

Von den 18 nicht-nachuntersuchten Patienten waren 4 im Intervall verstorben, 9 Patienten bzw. deren Angehörige lehnten die Teilnahme an der Verlaufsuntersuchung ab. Bei 5 Patienten war die Teilnahme an der vollständigen Verlaufsuntersuchung aufgrund des fortgeschrittenen Stadiums der Erkrankung nicht mehr möglich.

Nachdem von den insgesamt 42 Patienten der Erstuntersuchung nur 24 Patienten nachuntersucht wurden, sind fast 50% der Patienten aus der Studie ausgeschieden. Dementsprechend wurde durch eine statistische Analyse (Wilcoxon-Test) eine systematische Auslese des nachuntersuchten Patientenguts ausgeschlossen: Die beiden Kollektive unterscheiden sich bei Erstuntersuchung nicht signifikant hinsichtlich Geschlecht, Alter, CDR-SOB, MMST und CERAD-NAB-Summenwert, was in Tabelle 4 gezeigt ist.



Tabelle 4: Vergleich der Patientenkollektive der Erst- und Zweituntersuchung

|                      | Wilcoxon-Test, p-Wert für Vergleich der Patientenkollektive bei EU |
|----------------------|--|
| Geschlecht           | 0,429  |
| Alter                | 0,598  |
| CDR-SOB              | 0,732  |
| MMST                 | 0,457  |
| CERAD-NAB-Summenwert | 0,451  |

Legende Tabelle 4: CDR-SOB: Clinical Dementia Rating, Sum Of Boxes, MMST: Mini-Mental-Status-Test, CERAD-NAB: Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease, Neuropsychological Assessment Battery, EU: Erstuntersuchung

### 3.2 Zunahme der zerebralen Amyloid-Ablagerungen im Verlauf

Zunächst wurde die PIB-Zunahme im gesamten Großhirn nach dem Untersuchungsintervall von zwei Jahren untersucht. Der Vergleich der Mittelwerte ergab einen signifikanten Unterschied zwischen der PIB-Aufnahme zu den beiden Untersuchungszeitpunkten. Die relative PIB-Zunahme betrug 8,7%, Tabelle 5 zeigt diese Ergebnisse.

Tabelle 5: PIB-Aufnahme bei Erst- und Zweituntersuchung

|                                   | Mittelwert/Standardabweichung Cerebrum |
|-----------------------------------|--|
| Relative PIB-Aufnahme EU          | 1,679 ± 0,3160                         |
| Relative PIB-Aufnahme ZU          | 1,817 ± 0,3489                         |
| Wilcoxon Test, p-Wert EU:ZU       | 0,001                                  |
| PIB-Differenz (ZU – EU)           | +0,138 ± 0,1770                        |
| Relative PIB-Zunahme (ZU – EU/EU) | +0,087 ± 0,1431                        |

Legende Tabelle 5: PIB: Pittsburgh Compound B, EU: Erstuntersuchung, ZU: Zweituntersuchung

### 3.3 Regionale Unterschiede der PIB-Zunahme in verschiedenen Hirnregionen

#### a) Zielregionen-basierter Ansatz

Für jede Zielregion wurden die PIB-Aufnahme zum Zeitpunkt der Erst- und Zweituntersuchung, sowie die PIB-Differenz und die relative PIB-Zunahme berechnet.

Tabelle 6 zeigt die Ergebnisse:

Tabelle 6: Mittlere PIB-Aufnahme bei Erst- und Zweituntersuchung in den 90 Zielregionen

| Zielregion            | Mittelwert<br>PIB-<br>Aufnahme<br>bei EU | Mittelwert<br>PIB-<br>Aufnahme<br>bei ZU | Mittelwert<br>PIB-<br>Differenz<br>(ZU – EU) | Wilcoxon<br>Test, p-<br>Wert für<br>PIB-<br>Differenz | Mittelwert<br>relative<br>PIB-<br>Zunahme<br>(ZU - EU/<br>EU) |
|-----------------------|--|--|--|---|---|
| Precentral L          | 1,55                                     | 1,75                                     | +0,20  | 0,000   | +0,17   |
| Precentral R          | 1,42                                     | 1,54                                     | +0,13  | 0,006   | +0,12   |
| Frontal Sup L         | 1,58                                     | 1,86                                     | +0,29  | 0,000   | +0,26   |
| Frontal Sup R         | 1,51                                     | 1,74                                     | +0,23  | 0,000   | +0,22   |
| Frontal Sup Orb L     | 1,79                                     | 1,97                                     | +0,17  | 0,000   | +0,01   |
| Fontal Sup Orb R      | 1,65                                     | 1,81                                     | +0,16  | 0,002   | +0,10   |
| Frontal Mid L         | 1,71                                     | 2,02                                     | +0,31  | 0,000   | +0,23   |
| Fontal Mid R          | 1,55                                     | 1,77                                     | +0,22  | 0,000   | +0,19   |
| Frontal Mid Orb L     | 1,74                                     | 1,93                                     | +0,19  | 0,002   | +0,12   |
| Frontal Mid Orb R     | 1,46                                     | 1,57                                     | +0,11  | 0,110   | +0,08   |
| Frontal Inf Oper L    | 1,76                                     | 1,89                                     | +0,14  | 0,001   | +0,08   |
| Frontal Inf Oper<br>R | 1,61                                     | 1,71                                     | +0,10  | 0,008   | +0,06   |
| Frontal Inf Tri L     | 1,84                                     | 2,03                                     | +0,20  | 0,000   | +0,12   |
| Frontal Inf Tri R     | 1,53                                     | 1,67                                     | +0,13  | 0,001   | +0,10   |

|                      |      |      |       |       |       |
|----------------------|------|------|-------|-------|-------|
| Frontal Inf Orb L    | 1,75 | 1,82 | +0,08 | 0,019 | +0,04 |
| Frontal Inf Orb R    | 1,59 | 1,63 | +0,04 | 0,145 | +0,02 |
| Rolandic Oper L      | 1,76 | 1,85 | +0,08 | 0,008 | +0,05 |
| Rolandic Oper R      | 1,69 | 1,81 | +0,12 | 0,001 | +0,07 |
| Supp Motor Area L    | 1,64 | 1,82 | +0,18 | 0,001 | +0,20 |
| Supp Motor Area R    | 1,63 | 1,83 | +0,20 | 0,000 | +0,17 |
| Olfactory L          | 1,53 | 1,59 | +0,06 | 0,076 | +0,04 |
| Olfactory R          | 1,65 | 1,74 | +0,09 | 0,011 | +0,06 |
| Frontal Sup Medial L | 1,53 | 1,75 | +0,21 | 0,000 | +0,17 |
| Frontal Sup Medial R | 1,57 | 1,83 | +0,26 | 0,000 | +0,24 |
| Frontal Mid Orb L    | 1,83 | 2,03 | +0,20 | 0 000 | +0,11 |
| Frontal Mid Orb R    | 1,88 | 2,07 | +0,19 | 0,000 | +0,10 |
| Rectus L             | 1,81 | 1,93 | +0,12 | 0,007 | +0,07 |
| Rectus R             | 1,84 | 1,96 | +0,12 | 0,006 | +0,07 |
| Insula L             | 1,84 | 1,92 | +0,08 | 0,026 | +0,05 |
| Insula R             | 1,73 | 1,82 | +0,09 | 0,011 | +0,05 |
| Cingulum Ant L       | 1,89 | 1,98 | +0,09 | 0,006 | +0,04 |
| Cingulum Ant R       | 1,99 | 2,11 | +0,12 | 0,004 | +0,06 |
| Cingulum Mid L       | 1,98 | 2,09 | +0,12 | 0,014 | +0,06 |
| Cingulum Mid R       | 2,00 | 2,11 | +0,10 | 0,043 | +0,05 |
| Cingulum Post L      | 2,00 | 2,09 | +0,09 | 0,059 | +0,05 |
| Cingulum Post R      | 1,78 | 1,77 | -0,01 | 0,648 | -0,01 |
| Hippocampus L        | 1,26 | 1,21 | -0,05 | 0,067 | -0,05 |
| Hippocampus R        | 1,39 | 1,32 | -0,07 | 0,040 | -0,05 |
| ParaHippocampal L    | 1,25 | 1,25 | -0,01 | 0,909 | -0,00 |
| ParaHippocampal R    | 1,29 | 1,28 | -0,01 | 0,587 | -0,01 |
| Amygdala L           | 1,39 | 1,39 | 0,00  | 0,932 | 0,00  |

|                 |      |      |       |       |       |
|-----------------|------|------|-------|-------|-------|
| Amygdala R      | 1,46 | 1,48 | +0,02 | 0,511 | +0,01 |
| Calcarine L     | 1,65 | 1,76 | +0,11 | 0,001 | +0,07 |
| Calcarine R     | 1,69 | 1,77 | +0,08 | 0,030 | +0,04 |
| Cuneus L        | 1,58 | 1,70 | +0,12 | 0,002 | +0,09 |
| Cuneus R        | 1,75 | 1,88 | +0,12 | 0,002 | +0,10 |
| Lingual L       | 1,54 | 1,63 | +0,09 | 0,009 | +0,06 |
| Lingual R       | 1,58 | 1,65 | +0,07 | 0,034 | +0,04 |
| Occipital Sup L | 1,55 | 1,69 | +0,15 | 0,000 | +0,13 |
| Occipital Sup R | 1,69 | 1,82 | +0,13 | 0,004 | +0,12 |
| Occipital Mid L | 1,71 | 1,86 | +0,15 | 0,000 | +0,11 |
| Occipital Mid R | 1,81 | 1,98 | +0,17 | 0,004 | +0,14 |
| Occipital Inf L | 1,81 | 1,96 | +0,15 | 0,002 | +0,09 |
| Occipital Inf R | 1,72 | 1,86 | +0,14 | 0,004 | +0,08 |
| Fusiform L      | 1,65 | 1,70 | +0,06 | 0,103 | +0,03 |
| Fusiform R      | 1,63 | 1,70 | +0,07 | 0,072 | +0,04 |
| Postcentral L   | 1,52 | 1,70 | +0,19 | 0,000 | +0,15 |
| Postcentral R   | 1,38 | 1,54 | +0,16 | 0,000 | +0,15 |
| Parietal Sup L  | 1,64 | 1,82 | +0,18 | 0,001 | +0,20 |
| Parietal Sup R  | 1,49 | 1,64 | +0,16 | 0,008 | +0,23 |
| Parietal Inf L  | 1,82 | 2,00 | +0,18 | 0,009 | +0,15 |
| Parietal Inf R  | 1,65 | 1,82 | +0,17 | 0,004 | +0,16 |
| SupraMarginal L | 1,92 | 2,08 | +0,16 | 0,005 | +0,09 |
| SupraMarginal R | 1,70 | 1,88 | +0,19 | 0,001 | +0,11 |
| Angular L       | 2,00 | 2,15 | +0,15 | 0,016 | +0,11 |
| Angular R       | 1,87 | 2,03 | +0,16 | 0,009 | +0,12 |
| Precuneus L     | 1,90 | 2,01 | +0,12 | 0,026 | +0,08 |
| Precuneus R     | 1,89 | 2,02 | +0,13 | 0,030 | +0,08 |
| Paracentral L   | 1,45 | 1,60 | +0,14 | 0,003 | +0,16 |
| Paracentral R   | 1,52 | 1,69 | +0,17 | 0,000 | +0,17 |
| Caudate L       | 1,20 | 1,09 | -0,11 | 0,010 | -0,09 |
| Caudate R       | 1,27 | 1,23 | -0,05 | 0,391 | -0,03 |
| Putamen L       | 1,97 | 2,09 | +0,12 | 0,004 | +0,06 |
| Putamen R       | 1,96 | 2,07 | +0,11 | 0,001 | +0,06 |

|                        |      |      |       |       |       |
|------------------------|------|------|-------|-------|-------|
| Pallidum L             | 1,80 | 1,88 | +0,08 | 0,010 | +0,04 |
| Pallidum R             | 1,82 | 1,92 | +0,10 | 0,026 | +0,05 |
| Thalamus L             | 1,43 | 1,40 | -0,03 | 0,219 | -0,01 |
| Thalamus R             | 1,49 | 1,52 | +0,03 | 0,797 | +0,03 |
| Heschl L               | 1,67 | 1,74 | +0,07 | 0,067 | +0,05 |
| Heschl R               | 1,58 | 1,66 | +0,07 | 0,043 | +0,05 |
| Temporal Sup L         | 1,81 | 1,93 | +0,11 | 0,005 | +0,06 |
| Temporal Sup R         | 1,65 | 1,75 | +0,10 | 0,004 | +0,05 |
| Temporal Pole<br>Sup L | 1,31 | 1,36 | +0,05 | 0,130 | +0,04 |
| Temporal Pole<br>Sup R | 1,18 | 1,21 | +0,03 | 0,304 | +0,03 |
| Temporal Mid L         | 1,97 | 2,08 | +0,11 | 0,007 | +0,06 |
| Temporal Mid R         | 1,89 | 2,01 | +0,12 | 0,004 | +0,06 |
| Temporal Pole<br>Mid L | 1,42 | 1,46 | +0,03 | 0,265 | +0,02 |
| Temporal Pole<br>Mid R | 1,27 | 1,31 | +0,04 | 0,219 | +0,02 |
| Temporal Inf L         | 1,85 | 1,93 | +0,08 | 0,046 | +0,04 |
| Temporal Inf R         | 1,82 | 1,92 | +0,10 | 0,019 | +0,05 |

Legende Tabelle 6: PIB: Pittsburgh Compound B, EU: Erstuntersuchung, ZU: Zweituntersuchung, L: Links, R: Rechts, **Markierung**: Zielregionen des Neocortex, **Markierung**: Zielregionen des Palleo- und Archikortex

Die Daten der Tabelle zeigen, dass eine PIB-Zunahme hauptsächlich in phylogenetisch jüngeren Hirnarealen (gelbe Markierung) stattfindet. Regionen entwicklungsgeschichtlich älterer Hirnanteile (rote Markierung), wie das limbische System und Teile der Basalganglien, bleiben relativ ausgespart.

Tabelle 7 zeigt die Werte der PIB-Aufnahme für das gesamte Großhirn (Zielregion Großhirn), für die Zielregion Neocortex und die Zielregion Archikortex (siehe 2.5.2):

Tabelle 7: PIB-Aufnahme bei Erst- und Zweituntersuchung in den Zielregionen Großhirn, Neokortex und Archikortex

|  | Mittelwert/<br>Standard-<br>abweichung<br>Zielregion<br>Großhirn | Mittelwert/<br>Standard-<br>abweichung<br>Zielregion<br>Neokortex | Wilcoxon<br>Test, p-<br>Wert für<br>PIB-<br>Differenz<br>und<br>relative<br>PIB-<br>Zunahme | Mittelwert/<br>Standard-<br>abweichung<br>Zielregion<br>Archikortex |
|--|--|---|---|---|
| Relative PIB-<br>Aufnahme EU             | 1,679 ± 0,3160   | 1,685 ± 0,3186  |   | 1,191 ± 0,1199  |
| Relative PIB-<br>Aufnahme ZU             | 1,817 ± 0,3489   | 1,829 ± 0,3522  |   | 1,175 ± 0,1350  |
| Wilcoxon Test, p-<br>Wert EU:ZU          | 0,001  | 0,001   |   | 0,241   |
| PIB-Differenz (ZU –<br>EU)               | +0,138 ± 0,1770  | +0,144 ± 0,1820   | < 0,001   | -0,020 ± 0,0650   |
| Relative PIB-<br>Zunahme (ZU –<br>EU/EU) | +0,087 ± 0,1431  | +0,091 ± 0,1485   | < 0,001   | -0,014 ± 0,0548   |

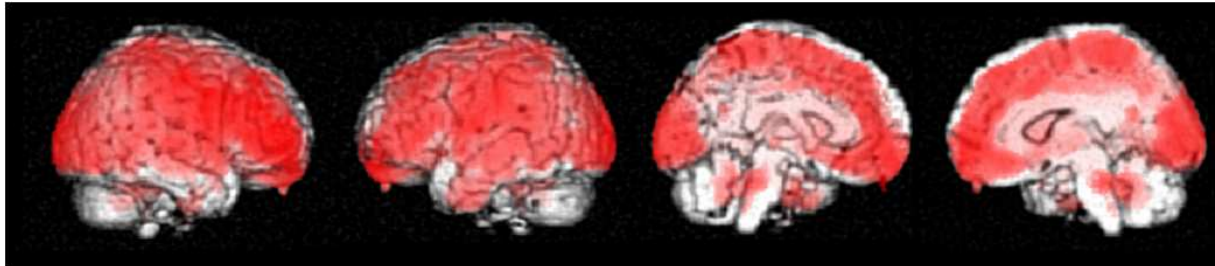
Legende Tabelle 7: PIB: Pittsburgh Compound B, EU: Erstuntersuchung, ZU: Zweituntersuchung

Über dem Großhirn findet sich zwischen Erst- und Zweituntersuchung eine signifikante ( $p = 0,001$ ) PIB-Zunahme um 8,7% (Zielregion Großhirn). Während im Archipallium keine Zunahme zu beobachten ist (Zielregion Archikortex), findet sich im Neopallium eine PIB-Zunahme von 9,1% (Zielregion Neokortex).

b) Voxel-basierter Ansatz

Das Ergebnis des regionalen Mittelwertvergleichs der PIB-Aufnahme zwischen Erst- und Zweituntersuchung mittels SPM ist in Abbildung 3 gezeigt: Die rot gefärbten Areale in der mesialen und lateralen Ansicht der rechten und linken Hemisphäre entsprechen einer signifikanten PIB-Zunahme über den gesamten Kortex, mit der höchsten Intensität im Bereich des rechten Frontallappens.

Abbildung 3: SPM-Analyse, PIB-Zunahme im Verlauf



Legende Abbildung 3:  $p < 0,05$  (FDR-korrigiert), rote Markierung: signifikante PIB-Zunahme, Ansichten: lateral rechts/links, mesial rechts/links, SPM: Statistical Parametric Mapping, PIB: Pittsburgh Compound B, FDR: False Discovery Rate

### 3.4 Zusammenhang zwischen PIB-Zunahme und klinischen Parametern

#### a) Globale PIB-Zunahme

Die Ergebnisse der acht Regressionsanalysen zwischen der PIB-Differenz und den Variablen Alter, Geschlecht, Intervall, PIB-Aufnahme und CDR global-Wert bei Erstuntersuchung sowie Zunahme der CDR-SOB bzw. Abnahme des MMST und CERAD-NAB-Summenwertes im Intervall sind in Tabelle 8 dargestellt:

Tabelle 8: lineare Regressionen, abhängige Variable: PIB-Differenz (ZU – EU)

| Unabhängige Variablen  | Korrigiertes R-Quadrat | p-Wert |
|------------------------|------------------------|--------|
| Geschlecht             | -0,036                 | 0,666  |
| Alter                  | 0,016                  | 0,254  |
| Intervall (in Monaten) | -0,005                 | 0,354  |
| PIB-Aufnahme bei EU    | -0,037                 | 0,671  |
| Globale CDR bei EU     | -0,022                 | 0,488  |
| MMST-Differenz (ZU-EU) | -0,008                 | 0,374  |

|  |        |       |
|--|--------|-------|
| CDR-SOB-Differenz (ZU-EU)              | -0,035 | 0,639 |
| CERAD-NAB-Summenwert-Differenz (ZU-EU) | -0,045 | 0,904 |

Legende Tabelle 8: EU: Erstuntersuchung, ZU: Zweituntersuchung, PIB: Pittsburgh Compound B, MMST: Mini-Mental-Status-Test, CDR-SOB: Clinical Dementia Rating, Sum Of Boxes, CERAD-NAB: Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease, Neuropsychological Assessment Battery

Für keinen der klinischen Parameter konnte ein signifikanter Zusammenhang mit der PIB-Differenz gezeigt werden.

Tabelle 9 zeigt die Ergebnisse der Regressionsanalysen für die relative PIB-Zunahme, es ergaben sich ebenfalls keine signifikanten Korrelationen.

Tabelle 9: lineare Regressionen, abhängige Variable: relative PIB-Zunahme (EU – ZU/EU)

| Unabhängige Variablen                  | Korrigiertes R-Quadrat | p-Wert |
|--|------------------------|--------|
| Geschlecht                             | -0,045                 | 0,933  |
| Alter                                  | 0,027                  | 0,214  |
| Intervall (in Monaten)                 | 0,039                  | 0,179  |
| PIB-Aufnahme bei EU                    | -0,005                 | 0,358  |
| Globale CDR bei EU                     | -0,013                 | 0,408  |
| MMST-Differenz (ZU-EU)                 | -0,000                 | 0,327  |
| CDR-SOB-Differenz (ZU-EU)              | -0,030                 | 0,570  |
| CERAD-NAB-Summenwert-Differenz (ZU-EU) | -0,042                 | 0,797  |

Legende Tabelle 9: EU: Erstuntersuchung, ZU: Zweituntersuchung, PIB: Pittsburgh Compound B, MMST: Mini-Mental-Status-Test, CDR-SOB: Clinical Dementia Rating,



Sum Of Boxes, CERAD-NAB: Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease, Neuropsychological Assessment Battery

Im Rahmen von Subgruppenanalysen wurde geprüft, inwieweit diese Zunahme der PIB-Aufnahme mit klinischen Parametern bzw. deren Veränderung im Verlauf in Zusammenhang steht:

#### 3.4.1 Alter

Die Patienten wurden zunächst anhand ihres Alters in eine jüngere ( $\leq 67$  Jahren) und eine ältere ( $\geq 68$  Jahre) Gruppe eingeteilt. Der Mittelwertvergleich ergab eine signifikante PIB-Zunahme über die Zeit in beiden Subgruppen (p-Wert: 0,006 für die ältere und 0,028 für die jüngere Subgruppe), ein Gruppenunterschied hinsichtlich der PIB-Aufnahme ließ sich für beide Subgruppen weder zur Erst- noch zur Zweituntersuchung feststellen.

#### 3.4.2 CDR global bei Erstuntersuchung

Anhand der CDR global-Werte zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung wurde die untersuchte Stichprobe in zwei Subgruppen aufgeteilt. Patienten, die bei Erstuntersuchung Werte von 0,5 oder darunter erreichten, wurden der Gruppe „sehr leichtgradige/beginnende Alzheimer-Demenz“ zugeteilt. Patienten mit Werten von 1 oder darüber wurden in der Gruppe „leicht- bis mittelgradige Alzheimer Demenz“ zusammengefasst. Ein Vergleich der Mittelwerte ist in Tabelle 10 dargestellt.

Im Querschnitt ergibt sich bei Erstuntersuchung anhand des Mittelwertvergleichs (Wilcoxon-Test) ein signifikanter Unterschied zwischen der CDR global  $\leq 0,5$ - und der CDR global  $\geq 1$ -Gruppe. Zum Zeitpunkt der Zweituntersuchung lässt sich anhand des Mittelwertvergleichs kein signifikanter Unterschied der PIB-Aufnahme zwischen beiden Gruppen nachweisen. Diese Ergebnisse sind in Tabelle 10 wiedergegeben.

Tabelle 10: PIB-Auf- und -Zunahme gruppiert nach CDR global bei Erstuntersuchung

|                                | Patienten mit<br>CDR global $\leq 0,5$<br>(n = 12) | Patienten mit<br>CDR global $\geq 1$<br>(n = 10) | Wilcoxon Test, p-<br>Wert |
|--------------------------------|--|--|---------------------------|
| PIB-Aufnahme EU<br>Mittelwert/ | 1,51 $\pm$ 0,325                                   | 1,82 $\pm$ 0,142                                 | 0,028                     |

|   |              |              |       |
|---|--------------|--------------|-------|
| Standardabweichung  |              |              |       |
| PIB-Aufnahme ZU<br>Mittelwert/<br>Standardabweichung                          | 1,69 ± 0,413 | 1,95 ± 0,193 | 0,074 |
| PIB-Differenz (ZU –<br>EU)<br>Mittelwert/<br>Standardabweichung               | 0,18 ± 0,233 | 0,13 ± 0,102 | 0,721 |
| Wilcoxon Test, p-<br>Wert für PIB-<br>Differenz                               | 0,015        | 0,013        |       |
| relative PIB-<br>Zunahme (ZU –<br>EU/EU)<br>Mittelwert/<br>Standardabweichung | 0,12 ± 0,200 | 0,07 ± 0,058 | 0,646 |

Legende Tabelle 10: PIB: Pittsburgh Compound B, CDR: Clinical Dementia Rating, EU: Erstuntersuchung, ZU: Zweituntersuchung

Auch wenn der Gruppenunterschied der PIB-Zunahme im Längsschnitt nicht statistisch signifikant ist, weisen zumindest die Werte der relativen PIB-Zunahme daraufhin, dass die PIB-Zunahme in der CDR global  $\leq 0,5$ -Gruppe wesentlich größer ist als in der CDR global  $\geq 1$ -Gruppe (12%- versus 7%-Zunahme).

### 3.4.3 MMST bei Erstuntersuchung

Die Patienten wurden auch anhand ihres MMST-Wertes bei Erstuntersuchung in zwei Subgruppen (MMST  $\leq 25$  bzw. MMST  $\geq 26$ ) eingeteilt. Der Mittelwertvergleich der PIB-Zunahme über die Zeit war in beiden Gruppen signifikant (Tabelle 11).

Der Vergleich der Mittelwerte im Querschnitt zwischen den beiden MMST-Subgruppen war nicht signifikant (Tabelle 11).

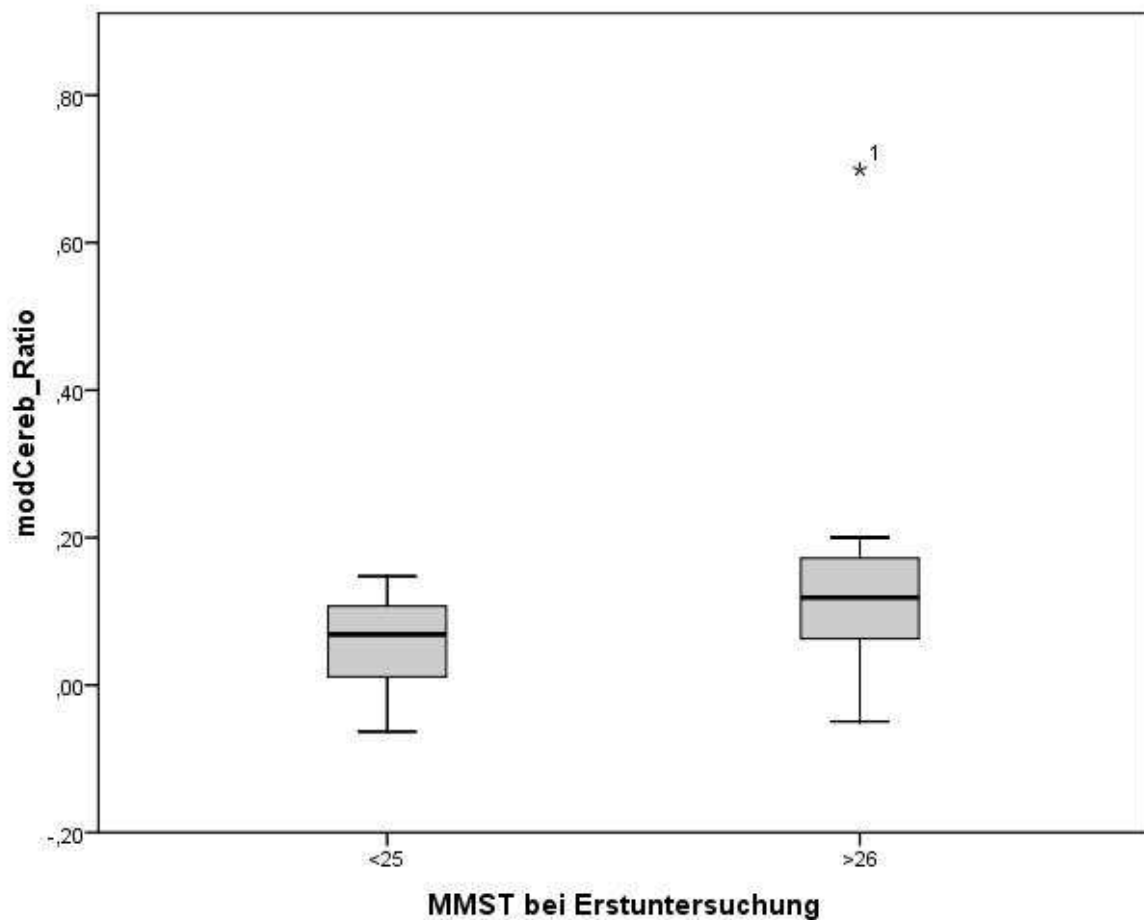
Tabelle 11: PIB-Auf- und -Zunahme gruppiert nach MMST bei Erstuntersuchung

|   | Patienten mit<br>MMST $\leq$ 25<br>(n = 12) | Patienten mit<br>MMST $\geq$ 26<br>(n = 10) | Wilcoxon Test, p-<br>Wert |
|---|---|---|---------------------------|
| PIB-Aufnahme EU<br>Mittelwert/<br>Standardabweichung                          | 1,69 $\pm$ 0,277                            | 1,60 $\pm$ 0,333                            | 0,575                     |
| PIB-Aufnahme ZU<br>Mittelwert/<br>Standardabweichung                          | 1,79 $\pm$ 0,335                            | 1,83 $\pm$ 0,388                            | 0,445                     |
| PIB-Differenz (ZU –<br>EU)<br>Mittelwert/<br>Standardabweichung               | 0,10 $\pm$ 0,103                            | 0,23 $\pm$ 0,236                            | 0,203                     |
| Wilcoxon Test, p-<br>Wert für PIB-<br>Differenz                               | 0,015                                       | 0,013                                       |                           |
| relative PIB-<br>Zunahme (ZU –<br>EU/EU)<br>Mittelwert/<br>Standardabweichung | 0,06 $\pm$ 0,063                            | 0,15 $\pm$ 0,208                            | 0,203                     |

Legende Tabelle 11: PIB: Pittsburgh Compound B, MMST: Mini Mental Status Test, EU: Erstuntersuchung, ZU: Zweituntersuchung

Die Veränderung der relativen PIB-Zunahme ist in der MMST  $\geq$  26-Subgruppe numerisch höher als in der MMST  $\leq$  25-Subgruppe (15%- versus 6%-Zunahme), dargestellt in dem Boxplot-Diagramm in Abbildung 4. Dieser Unterschied ist statistisch nicht signifikant.

Abbildung 4: relative PIB-Zunahme gruppiert nach MMST bei Erstuntersuchung



Legende Abbildung 4: modCereb\_Ratio: relative PIB-Zunahme der Zielregion Neokortex, MMST: Mini Mental Status Test

#### 3.4.4 CDR-SOB-Differenz

Eine Dichotomisierung der Stichprobe anhand der CDR-SOB-Differenzwerte resultierte in eine klinisch stabile Subgruppe (CDR-SOB-Differenz  $\leq 2$ ) und eine progrediente Subgruppe (CDR-SOB-Differenz  $> 2$ ). Klinisch stabile Patienten ( $n = 8$ ) und progrediente Patienten ( $n = 16$ ) unterschieden sich nicht signifikant hinsichtlich der PIB-Differenz bzw. der relativen PIB-Zunahme.

#### b) regionale PIB-Zunahme

Zunächst wurden die für die Variablen Alter, CDR global und MMST bei Erstuntersuchung gebildeten Subgruppen auf regionale Unterschiede der PIB-Zunahme im Verlauf untersucht:

### 3.4.5 Alter

Der Mittelwertvergleich in SPM ergab eine signifikante PIB-Zunahme über die Zeit in beiden Subgruppen, wobei in der jüngeren Subgruppe vor allem der frontoparietale Kortex rechts betroffen ist. In der älteren Subgruppe ist die PIB-Zunahme deutlich stärker ausgeprägt und über den gesamten Kortex verteilt, ebenfalls mit Betonung frontoparietal rechts. Diese Ergebnisse sind in Abbildung 5 und Abbildung 6 gezeigt.

Abbildung 5: SPM-Mittelwertvergleich, PIB-Zunahme bei Patienten  $\leq 67$  Jahre bei Erstuntersuchung

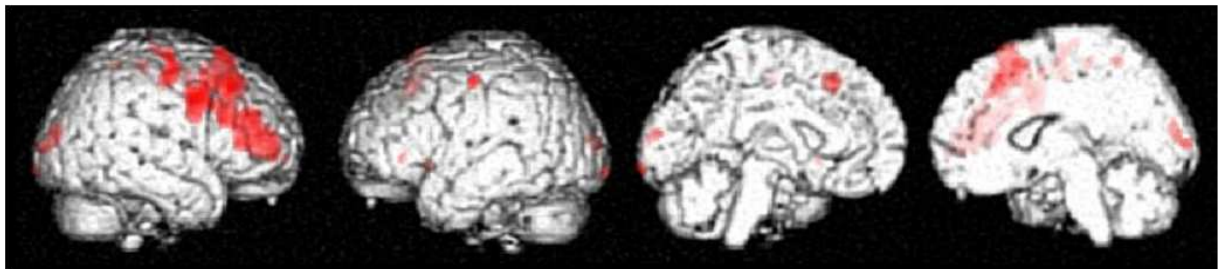
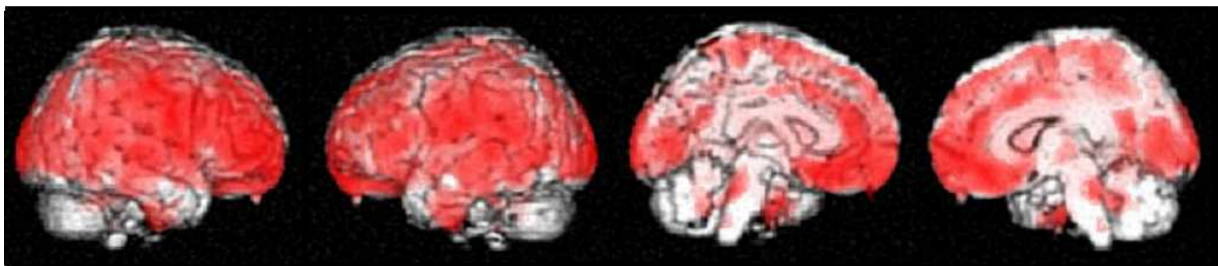


Abbildung 6: SPM-Mittelwertvergleich, PIB-Zunahme bei Patienten  $\geq 68$  Jahre bei Erstuntersuchung



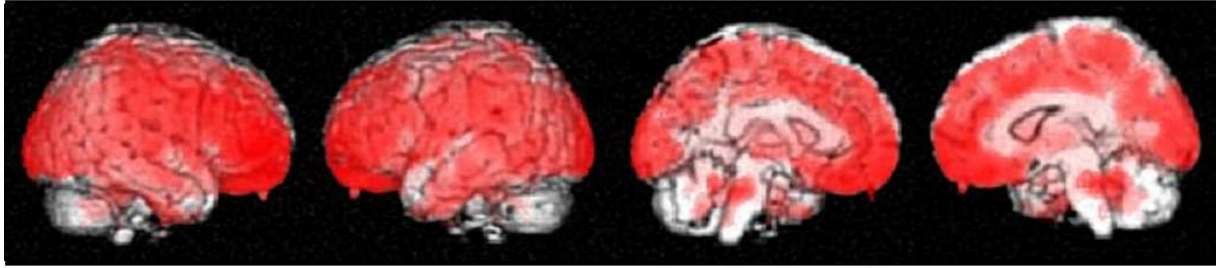
Legende Abbildung 5 und 6:  $p < 0,05$  (FDR-korrigiert), rote Markierung: signifikante PIB-Zunahme, Ansichten: lateral rechts/links, mesial rechts/links, SPM: Statistical Parametric Mapping, PIB: Pittsburgh Compound B, FDR: False Discovery Rate

Ein signifikanter Gruppenunterschied hinsichtlich der PIB-Aufnahme ließ sich für beide Subgruppen weder zur Erst- noch zur Zweituntersuchung feststellen.

### 3.4.6 CDR global bei Erstuntersuchung

Der Mittelwertvergleich in SPM ergab eine signifikante PIB-Zunahme über die Zeit in der CDR global  $\leq 0,5$ -Gruppe (Abbildung 7), wohingegen sich in der CDR global  $\geq 1$ -Gruppe keine signifikante PIB-Zunahme nachweisen ließ.

Abbildung 7: SPM-Mittelwertvergleich, PIB-Zunahme bei Patienten mit CDR global  $\leq$  0,5 bei Erstuntersuchung



Legende Abbildung 7:  $p < 0,05$  (FDR-korrigiert), rote Markierung: signifikante PIB-Zunahme, Ansichten: lateral rechts/links, mesial rechts/links, SPM: Statistical Parametric Mapping, PIB: Pittsburgh Compound B, CDR: Clinical Dementia Rating, FDR: False Discovery Rate

Der SPM-Mittelwertvergleich der PIB-Aufnahme für beide Untersuchungszeitpunkte ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen der CDR global  $\leq$  0,5- und der CDR global  $\geq$  1-Gruppe.

### 3.4.7 MMST bei Erstuntersuchung

Der SPM-Mittelwertvergleich ergab in beiden Gruppen eine signifikante PIB-Zunahme, unregelmäßig über den gesamten Kortex verteilt, mit Betonung rechts frontoparietal. Die Ergebnisse sind in Abbildung 8 und Abbildung 9 dargestellt.

Abbildung 8: SPM-Mittelwertvergleich, PIB-Zunahme bei Patienten mit MMST  $\leq$  25

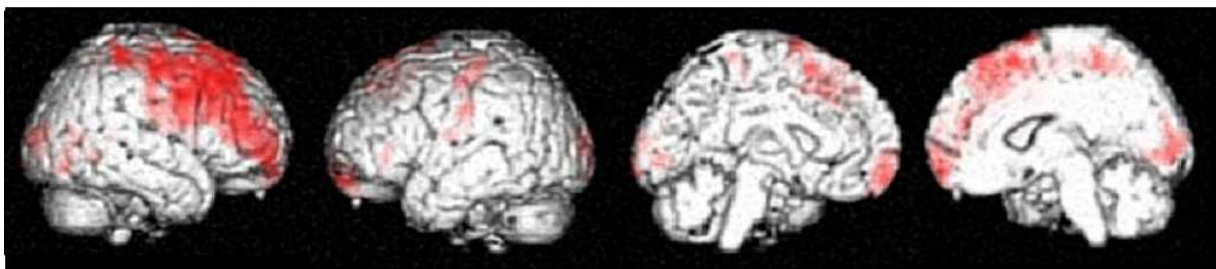
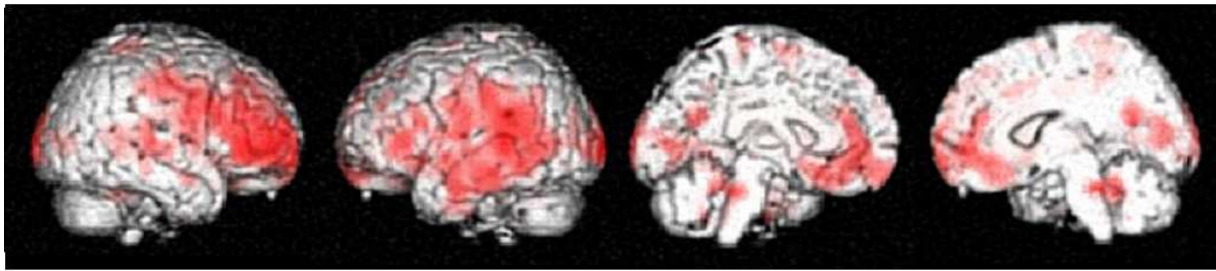


Abbildung 9: SPM-Mittelwertvergleich, PIB-Zunahme bei Patienten mit MMST  $\geq 26$



Legende Abbildung 8 und 9:  $p < 0,05$  (FDR-korrigiert), rote Markierung: signifikante PIB-Zunahme, Ansichten: lateral rechts/links, mesial rechts/links, SPM: Statistical Parametric Mapping, PIB: Pittsburgh Compound B, MMST: Mini-Mental-Status-Test, FDR: False Discovery Rate

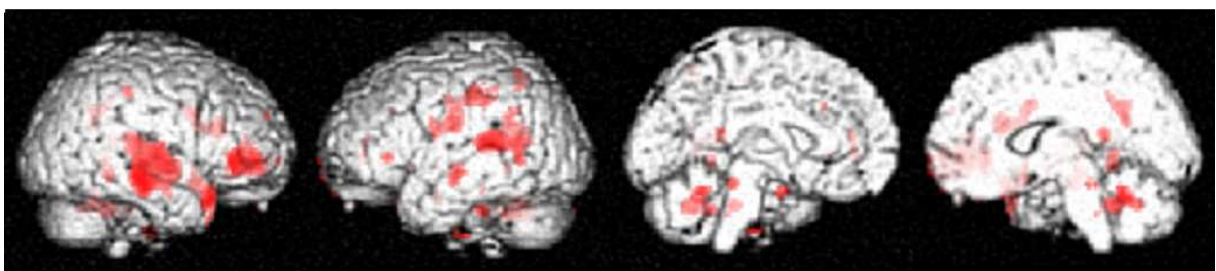
Der Mittelwertvergleich der beiden MMST-Subgruppen zum Zeitpunkt der Erst- und Zweituntersuchung mit Hilfe von SPM lieferte keinen signifikanten Gruppenunterschied.

Desweiteren wurde der Zusammenhang zwischen regionaler Verteilung der PIB-Zunahme und Progredienz der klinischen Symptomatik untersucht:

#### 3.4.8 CDR-SOB-Differenz

In der SPM-Regressionsanalyse zwischen der PIB-Zunahme und der CDR-SOB-Zunahme nach dem Untersuchungsintervall von zwei Jahren, fand sich ein statistisch signifikanter Zusammenhang. In Abbildung 10 sind die Ergebnisse dieser SPM-Regressionsanalyse gezeigt. Besonders frontal und temporoparietal links besteht eine Zunahme der PIB-Aufnahme bei gleichzeitiger Verschlechterung der CDR-SOB-Werte:

Abbildung 10: SPM-Regressionsanalyse, Korrelation der PIB-Zunahme mit der CDR-SOB-Zunahme



Legende Abbildung 10: p-Wert < 0,01 (unkorrigiert), rote Markierung: signifikante PIB-Zunahme, Ansichten: lateral rechts/links, mesial rechts/links, SPM: Statistical Parametric Mapping, PIB: Pittsburgh Compound B, CDR-SOB: Clinical Dementia Rating, Sum Of Boxes

Alle Regionen für die sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen PIB-Zunahme und CDR-SOB-Zunahme über die Zeit fand, sind in Tabelle 12 dargestellt:

Tabelle 12: SPM-Analyse, Regionen mit signifikanter Korrelation zwischen PIB-Zunahme und CDR-SOB-Zunahme

| X   | y   | z   | t-Wert | Region              | p-Wert |
|-----|-----|-----|--------|---------------------|--------|
| -64 | -26 | 46  | 4,41   | Postcentral_L       | <0,001 |
|     |     |     |        | SupraMarginal_L     |        |
| 74  | -8  | -8  | 4,13   | Temporal_Sup_R      | <0,001 |
|     |     |     |        | Temporal_Mid_R      |        |
|     |     |     |        | Temporal_Inf_R      |        |
| 18  | -48 | -32 | 3,98   | Vermis_4_5          | <0,001 |
|     |     |     |        | Vermis_8            |        |
|     |     |     |        | Cerebelum_8_L       |        |
|     |     |     |        | Vermis_6            |        |
|     |     |     |        | Cerebelum_6_R       |        |
|     |     |     |        | Cerebelum_6_L       |        |
|     |     |     |        | Cerebelum_4_5_L     |        |
|     |     |     |        | Vermis_10           |        |
|     |     |     |        | Vermis_9            |        |
|     |     |     |        | Cereblum_4_5_R      |        |
| 60  | 48  | 8   | 3,82   | Frontal_Inf_Tri_R   | <0,001 |
|     |     |     |        | Frontal_Inf_Orb_R   |        |
|     |     |     |        | Frontal_Mid_R       |        |
|     |     |     |        | Frontal_Mid_Orb_R   |        |
| -8  | -2  | -22 | 3,79   | ParaHippocampal_L   | 0,001  |
| 50  | 20  | -26 | 3,77   | Temporal_Pole_Sup_R | 0,001  |
|     |     |     |        | Temporal_Pole_Mid_R |        |
| 40  | 76  | -4  | 3,74   | Frontal_Mid_R       | 0,001  |
|     |     |     |        | Frontal_Sup_R       |        |
|     |     |     |        | Frontal_Mid_Orb_R   |        |
|     |     |     |        | Frontal_Sup_Orb_R   |        |
| -18 | -32 | -30 | 3,63   | Cerebelum_4_5_L     | 0,001  |
| -64 | -36 | 14  | 3,44   | Temporal_Sup_L      | 0,001  |
|     |     |     |        | Temporal_Mid_L      |        |
| -72 | -14 | -6  | 3,38   | Temporal_Mid_L      | 0,001  |
| 42  | 10  | -14 | 3,22   | Insula_R            | 0,002  |
|     |     |     |        | Temporal_Pole_Sup_R |        |
| 30  | 22  | 20  | 3,19   | Frontal_Inf_Oper_R  | 0,002  |
|     |     |     |        | Frontal_Inf_Tri_R   |        |
|     |     |     |        | Frontal_Mid_R       |        |
| -2  | -34 | -18 | 3,1    | Vermis_1_2          | 0,003  |



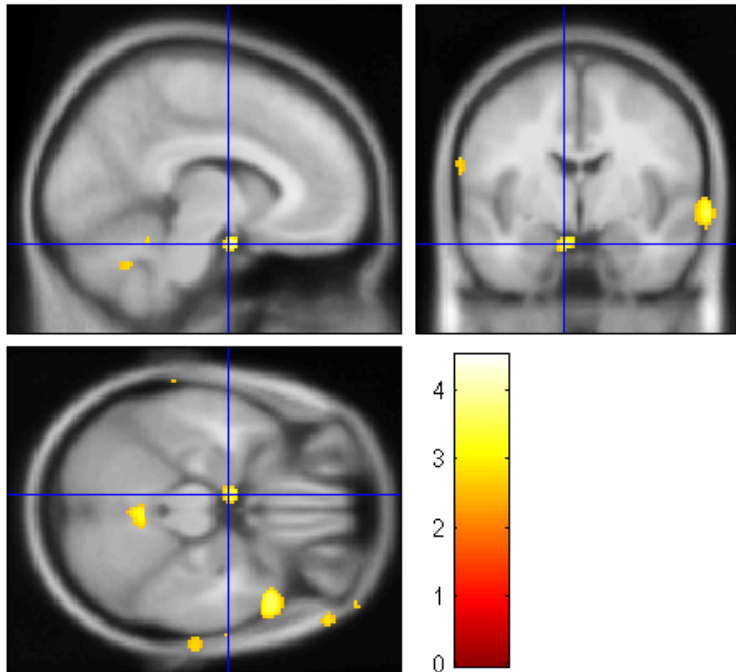
|            |            |            |             |                   |              |
|------------|------------|------------|-------------|-------------------|--------------|
| <b>22</b>  | <b>-54</b> | <b>32</b>  | <b>3,08</b> | Precuneus_R       | <b>0,003</b> |
|            |            |            |             | Cuneus_R          |              |
| <b>-52</b> | <b>28</b>  | <b>2</b>   | <b>2,98</b> | Frontal_Inf_Tri_L | <b>0,003</b> |
| <b>20</b>  | <b>-48</b> | <b>-4</b>  | <b>2,96</b> | Lingual_R         | <b>0,004</b> |
|            |            |            |             | Precuneus_R       |              |
|            |            |            |             | Calcarine_R       |              |
|            |            |            |             | ParaHippocampal_R |              |
| <b>-22</b> | <b>-48</b> | <b>-4</b>  | <b>2,94</b> | Lingual_L         | <b>0,004</b> |
|            |            |            |             | Precuneus_L       |              |
| <b>12</b>  | <b>-42</b> | <b>14</b>  | <b>2,89</b> | Cingulum_Post_R   | <b>0,004</b> |
|            |            |            |             | Precuneus_R       |              |
| <b>-48</b> | <b>-58</b> | <b>58</b>  | <b>2,85</b> | Parietal_Inf_L    | <b>0,005</b> |
| <b>62</b>  | <b>-46</b> | <b>-10</b> | <b>2,69</b> | Temporal_Mid_R    | <b>0,007</b> |
|            |            |            |             | Temporal_Inf_R    |              |

Legende Tabelle 12: SPM: Statistical Parametric Mapping, PIB: Pittsburgh Compound B, CDR-SOB: Clinical Dementia Rating, Sum Of Boxes, [x, y, z]: Talairach-Koordinaten, L: links, R: rechts

Bei einer explorativen Analyse der Areale mit ausgeprägter PIB-Zunahme fielen zudem der linke Gyrus parahippocampalis und der rechte Precuneus als Regionen mit signifikanter PIB-Zunahme auf. Diese zwei Regionen wurden auf MRT-Bilder überlagert dargestellt und zusätzlich Streudiagramme dieses Zusammenhangs erstellt.

Die Darstellung im MRT-Schnittbild dient der räumlichen Zuordnung der Areale, wo ein signifikanter Zusammenhang der PIB-Zunahme mit der CDR-SOB-Zunahme besteht. In Abbildung 11 ist dieser Zusammenhang in der sagittalen, frontalen und transversalen Ansicht des linken Gyrus parahippocampalis dargestellt.

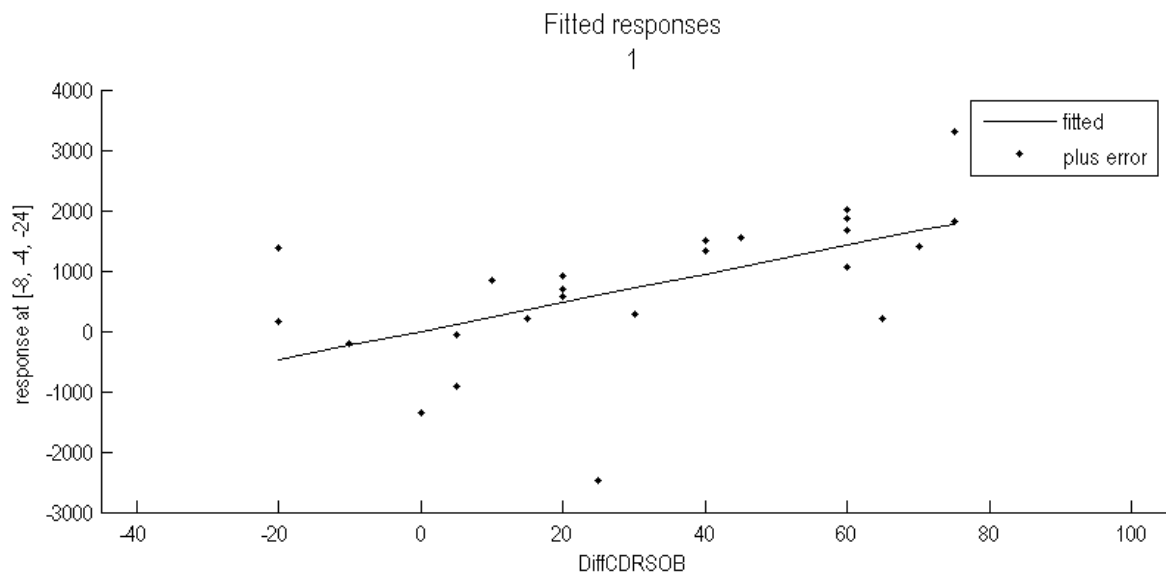
Abbildung 11: SPM-Analyse, Korrelation der PIB-Zunahme mit der CDR-SOB-Zunahme, Gyrus parahippocampalis links



Legende Abbildung 11:  $p$ -Wert  $< 0,01$ , gelbe Markierung mit blauem Kreuz: signifikanter Zusammenhang zwischen PIB-Zunahme und CDR-SOB-Zunahme an den Koordinaten des linken Gyrus parahippocampalis, Ansichten: sagittale, frontale, transversale MRT-Schnittbilder, rot-gelber Balken: z-Werte, SPM: Statistical Parametric Mapping, PIB: Pittsburgh Compound B, CDR-SOB: Clinical Dementia Rating, Sum Of Boxes

Das Streudiagramm in Abbildung 12 stellt den Zusammenhang zwischen PIB-Zunahme und CDR-SOB-Zunahme im Bereich des linken Gyrus parahippocampalis dar. Der unkorrigierte  $p$ -Wert an dieser Stelle liegt bei 0,001.

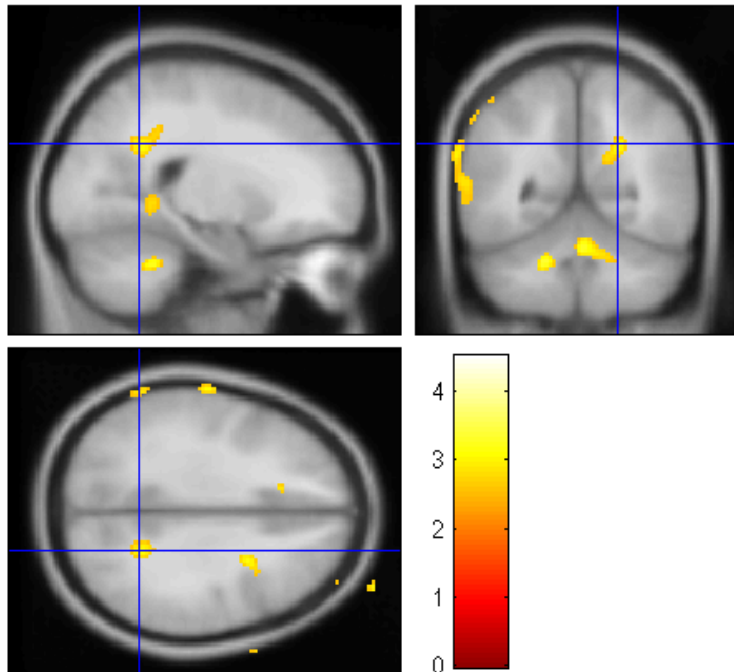
Abbildung 12: SPM-Analyse, Korrelation der PIB-Zunahme mit der CDR-SOB-Zunahme, Gyrus parahippocampalis links



Legende Abbildung 12: p-Wert < 0,01, y-Achse: PIB-Aufnahme an den Talairach-Koordinaten [x, y, z], x-Achse: CDR-SOB-Differenz-Werte multipliziert mit 10

Auch für den rechten Precuneus wurde der statistisch signifikante Zusammenhang zwischen PIB-Zunahme und CDR-SOB-Zunahme an den entsprechenden Koordinaten anhand der MRT-Schnittbilder visualisiert, die in Abbildung 13 dargestellt sind.

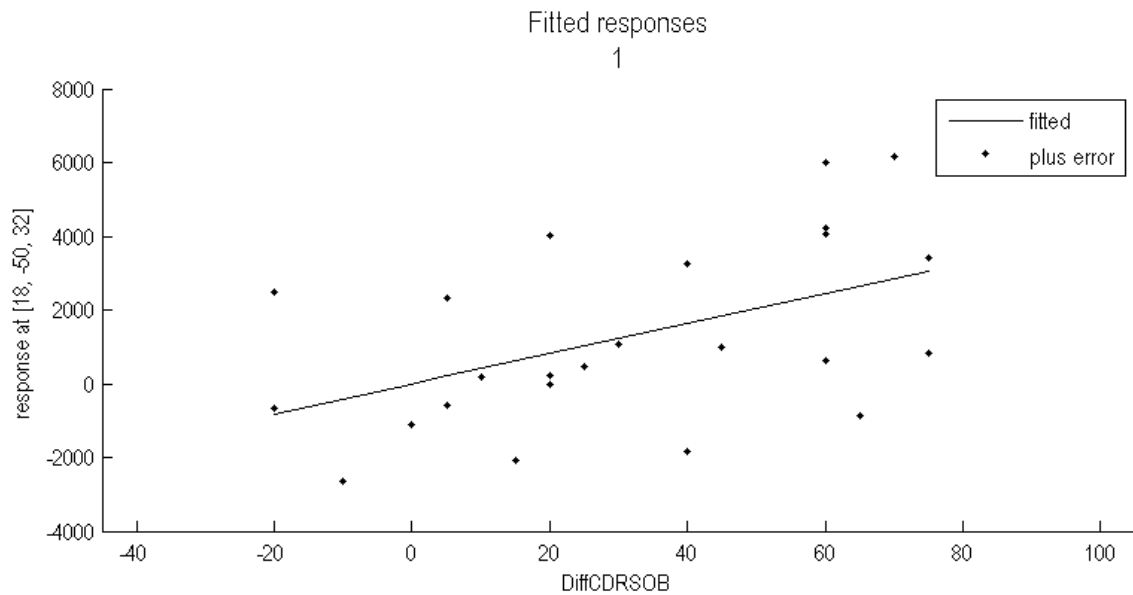
Abbildung 13: SPM-Analyse, Korrelation der PIB-Zunahme mit der CDR-SOB-Zunahme, Precuneus rechts



Legende Abbildung 13: p-Wert < 0,01, gelbe Markierung mit blauem Kreuz: signifikanter Zusammenhang zwischen PIB-Zunahme und CDR-SOB-Zunahme an den Koordinaten des rechten Precuneus, Ansichten: sagittale, frontale, transversale MRT-Schnittbilder, rot-gelber Balken: z-Werte, SPM: Statistical Parametric Mapping, PIB: Pittsburgh Compound B, CDR-SOB: Clinical Dementia Rating, Sum Of Boxes

Abbildung 14 zeigt das Streudiagramm für den Zusammenhang zwischen PIB-Zunahme und CDR-SOB-Zunahme im Bereich des rechten Precuneus ( $p = 0,003$ , unkorrigiert).

Abbildung 14: SPM-Analyse, Korrelation der PIB-Zunahme mit der CDR-SOB-Zunahme, Precuneus rechts

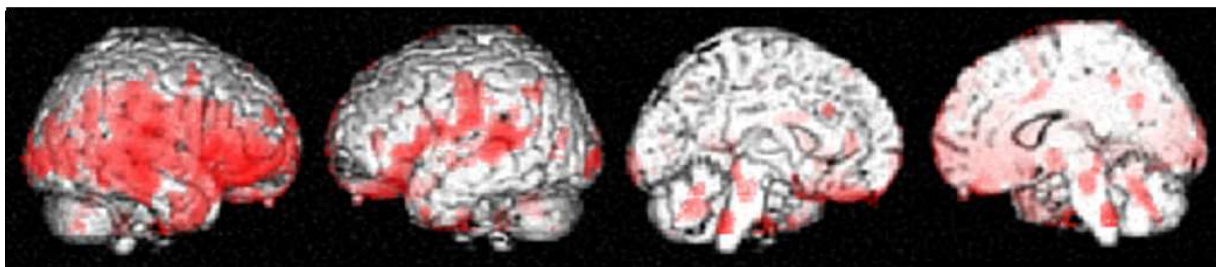


Legende Abbildung 14: p-Wert < 0,01, y-Achse: PIB-Aufnahme an den Talairach-Koordinaten [x, y, z], x-Achse: CDR-SOB-Differenz-Werte multipliziert mit 10

### 3.4.9 MMST-Differenz

Die MMST-Differenzwerte zeigten einen signifikanten Zusammenhang mit der PIB-Zunahme in der SPM-Regressionsanalyse, wobei sich diese relativ homogen über den gesamten Kortex (mit leichter Betonung rechts frontal und temporoparietal) findet, was in Abbildung 15 dargestellt ist.

Abbildung 15: SPM-Regressionsanalyse, Zusammenhang zwischen PIB-Zunahme und MMST-Abnahme



Legende Abbildung 15: p-Wert < 0,01 (unkorrigiert), rote Markierung: signifikante PIB-Zunahme, Ansichten: lateral rechts/links, mesial rechts/links, SPM: Statistical Parametric Mapping, PIB: Pittsburgh Compound B, MMST: Mini Mental Status Test

Tabelle 13 gibt einen Überblick über die einzelnen Regionen, für die ein signifikanter Zusammenhang zwischen PIB-Zunahme und MMST-Abnahme im Längsschnitt gezeigt werden konnte.

Tabelle 13: SPM-Analyse, Regionen mit signifikanter Korrelation zwischen PIB-Zunahme und MMST-Abnahme

| X          | y          | z        | t-Wert      | Label                | p-Wert           |
|------------|------------|----------|-------------|----------------------|------------------|
| <b>56</b>  | <b>46</b>  | <b>2</b> | <b>5,69</b> | Temporal_Mid_R       | <b>&lt;0,001</b> |
|            |            |          |             | Frontal_Inf_Orb_R    |                  |
|            |            |          |             | Temporal_Sup_R       |                  |
|            |            |          |             | Frontal_Inf_Tri_R    |                  |
|            |            |          |             | Temporal_Inf_R       |                  |
|            |            |          |             | SupraMarginal_R      |                  |
|            |            |          |             | Temporal_Pole_Sup_R  |                  |
|            |            |          |             | Frontal_Mid_Orb_R    |                  |
|            |            |          |             | Postcentral_R        |                  |
|            |            |          |             | Frontal_Inf_Oper_R   |                  |
|            |            |          |             | Insula_R             |                  |
|            |            |          |             | Temporal_Pole_Mid_R  |                  |
|            |            |          |             | Rolandic_Oper_R      |                  |
|            |            |          |             | Frontal_Mid_R        |                  |
|            |            |          |             | Occipital_Mid_R      |                  |
|            |            |          |             | Occipital_Inf_R      |                  |
|            |            |          |             | Precentral_R         |                  |
|            |            |          |             | Angular_R            |                  |
|            |            |          |             | Frontal_Sup_R        |                  |
|            |            |          |             | Fusiform_R           |                  |
|            |            |          |             | Occipital_Sup_R      |                  |
|            |            |          |             | Frontal_Sup_Orb_R    |                  |
|            |            |          |             | Parietal_Inf_R       |                  |
|            |            |          |             | Cuneus_R             |                  |
|            |            |          |             | Calcarine_R          |                  |
|            |            |          |             | Olfactory_R          |                  |
|            |            |          |             | Heschl_R             |                  |
|            |            |          |             | Frontal_Sup_Medial_R |                  |
|            |            |          |             | Putamen_R            |                  |
| <b>-76</b> | <b>-18</b> | <b>4</b> | <b>5,57</b> | Frontal_Inf_Orb_L    | <b>&lt;0,001</b> |
|            |            |          |             | Temporal_Mid_L       |                  |
|            |            |          |             | Postcentral_L        |                  |
|            |            |          |             | Temporal_Sup_L       |                  |
|            |            |          |             | Frontal_Inf_Tri_L    |                  |
|            |            |          |             | Frontal_Inf_Oper_L   |                  |
|            |            |          |             | Temporal_Pole_Sup_L  |                  |
|            |            |          |             | Frontal_Sup_Orb_L    |                  |
|            |            |          |             | SupraMarginal_L      |                  |
|            |            |          |             | Insula_L             |                  |
|            |            |          |             | Frontal_Mid_Orb_L    |                  |
|            |            |          |             | Rectus_L             |                  |
|            |            |          |             | Rolandic_Oper_L      |                  |
|            |            |          |             | Olfactory_L          |                  |

|            |             |            |             |                      |                  |
|------------|-------------|------------|-------------|----------------------|------------------|
|            |             |            |             | ParaHippocampal_L    |                  |
|            |             |            |             | Amygdala_L           |                  |
|            |             |            |             | Parietal_Inf_L       |                  |
|            |             |            |             | Precentral_L         |                  |
|            |             |            |             | Temporal_Pole_Mid_L  |                  |
|            |             |            |             | Putamen_L            |                  |
| <b>4</b>   | <b>-42</b>  | <b>42</b>  | <b>5,22</b> | Vermis_10            | <b>&lt;0,001</b> |
|            |             |            |             | Cerebelum_9_R        |                  |
| <b>-24</b> | <b>-18</b>  | <b>-42</b> | <b>4,26</b> | Fusiform_L           | <b>&lt;0,001</b> |
|            |             |            |             | Temporal_Inf_L       |                  |
| <b>-32</b> | <b>-100</b> | <b>-6</b>  | <b>4,19</b> | Occipital_Mid_L      | <b>&lt;0,001</b> |
|            |             |            |             | Occipital_Inf_L      |                  |
| <b>-26</b> | <b>40</b>   | <b>10</b>  | <b>4,17</b> | Frontal_Mid_L        | <b>&lt;0,001</b> |
|            |             |            |             | Frontal_Inf_Tri_L    |                  |
| <b>-16</b> | <b>-58</b>  | <b>-34</b> | <b>3,84</b> | Cerebelum_8_L        | <b>&lt;0,001</b> |
|            |             |            |             | Cerebelum_6_L        |                  |
|            |             |            |             | Cerebelum_Crus1_L    |                  |
| <b>42</b>  | <b>56</b>   | <b>28</b>  | <b>3,71</b> | Frontal_Mid_R        | <b>0,001</b>     |
| <b>-60</b> | <b>-78</b>  | <b>6</b>   | <b>3,61</b> | Occipital_Mid_L      | <b>0,001</b>     |
| <b>2</b>   | <b>76</b>   | <b>0</b>   | <b>3,56</b> | Frontal_Med_Orb_R    | <b>0,001</b>     |
|            |             |            |             | Rectus_R             |                  |
|            |             |            |             | Frontal_Med_Orb_L    |                  |
| <b>56</b>  | <b>-6</b>   | <b>78</b>  | <b>3,55</b> | Precentral_R         | <b>0,001</b>     |
|            |             |            |             | Frontal_Mid_R        |                  |
| <b>-10</b> | <b>26</b>   | <b>36</b>  | <b>3,52</b> | Cingulum_Ant_L       | <b>0,001</b>     |
|            |             |            |             | Cingulum_Mid_L       |                  |
|            |             |            |             | Frontal_Sup_Medial_L |                  |
| <b>8</b>   | <b>-64</b>  | <b>-30</b> | <b>3,36</b> | Cerebelum_8_R        | <b>0,001</b>     |
|            |             |            |             | Vermis_8             |                  |
|            |             |            |             | Cerebelum_6_R        |                  |
|            |             |            |             | Vermis_6             |                  |
|            |             |            |             | Vermis_4_5           |                  |
|            |             |            |             | Cerebelum_4_5_R      |                  |
|            |             |            |             | Cerebelum_Crus1_R    |                  |
|            |             |            |             | Vermis_7             |                  |
|            |             |            |             | Vermis_9             |                  |
|            |             |            |             | Cerebelum_7b_R       |                  |
|            |             |            |             | Cerebelum_Crus2_R    |                  |
| <b>10</b>  | <b>-26</b>  | <b>-20</b> | <b>3,27</b> | Vermis_3             | <b>0,002</b>     |
| <b>-54</b> | <b>10</b>   | <b>-40</b> | <b>3,21</b> | Temporal_Pole_Mid_L  | <b>0,002</b>     |
|            |             |            |             | Temporal_Inf_L       |                  |
| <b>16</b>  | <b>-4</b>   | <b>-4</b>  | <b>3,21</b> | Hippocampus_R        | <b>0,002</b>     |
|            |             |            |             | Pallidum_R           |                  |
|            |             |            |             | Thalamus_R           |                  |
|            |             |            |             | Amygdala_R           |                  |
|            |             |            |             | ParaHippocampal_R    |                  |
| <b>20</b>  | <b>-60</b>  | <b>32</b>  | <b>3,11</b> | Precuneus_R          | <b>0,003</b>     |
|            |             |            |             | Cuneus_R             |                  |
|            |             |            |             | Occipital_Sup_R      |                  |
|            |             |            |             | Calcarine_R          |                  |
| <b>20</b>  | <b>-44</b>  | <b>46</b>  | <b>3,08</b> | Precuneus_R          | <b>0,003</b>     |
|            |             |            |             | Postcentral_R        |                  |
| <b>54</b>  | <b>-66</b>  | <b>-44</b> | <b>3,05</b> | Cerebelum_Crus2_R    | <b>0,003</b>     |

|     |     |     |      |                    |       |
|-----|-----|-----|------|--------------------|-------|
| -32 | -2  | 24  | 3,02 | Frontal_Inf_Oper_L | 0,003 |
|     |     |     |      | Frontal_Inf_Tri_L  |       |
| 40  | -40 | -20 | 2,95 | Temporal_Inf_R     | 0,004 |
| -52 | -64 | 44  | 2,89 | Angular_L          | 0,004 |
|     |     |     |      | Parietal_Inf_L     |       |
| 20  | 48  | -26 | 2,76 | Frontal_Sup_Orb_R  | 0,006 |
|     |     |     |      | Rectus_R           |       |

Legende Tabelle 13: SPM: Statistical Parametric Mapping, PIB: Pittsburgh Compound B, MMST: Mini Mental Status Test, [x, y, z]: Talairach-Koordinaten

### 3.4.10 CERAD-NAB-Summenwert-Differenz

In der SPM-Regressionsanalyse zwischen PIB-Zunahme und CERAD-NAB-Summenwert-Zunahme über die Zeit fand sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang.

c) Einfluss der antidementiven Medikation auf diesen Zusammenhang

Die antidementive Medikation hatte keinen Einfluss auf die erhobenen klinischen Parameter im Verlauf.

Tabelle 14 zeigt die antidementive Begleitmedikation des untersuchten Patientenkollektivs bzw. deren Veränderung im Intervall:

Tabelle 14: antidementive Medikation

|                                  | Anzahl der Patienten bei Erstuntersuchung | Anzahl der Patienten bei Zweituntersuchung | Beginn der Medikation im Intervall | Ende der Medikation im Intervall |
|----------------------------------|---|--|------------------------------------|----------------------------------|
| Donepezil                        | 2   | 10   | 8                                  | 0                                |
| Galantamin                       | 4   | 7  | 3                                  | 0                                |
| Rivastigmin                      | 0   | 1  | 1                                  | 0                                |
| Memantine                        | 0   | 2  | 2                                  | 0                                |
| Antidementive Medikation (Summe) | 6   | 20   | 14                                 | 0                                |



Ein Mittelwertvergleich für Patienten mit Medikation (n = 20) und Patienten ohne Medikation (n = 4) zum Zeitpunkt der Verlaufsuntersuchung ergab keinen statistisch signifikanten Unterschied bezüglich der Parameter CDR-SOB-Wert bei Zweituntersuchung, CDR-SOB-Differenz zwischen Erst- und Zweituntersuchung, MMST-Wert bei Zweituntersuchung und MMST-Differenz zwischen Erst- und Zweituntersuchung.

Die Regressionsanalyse mit der Medikation zum Zeitpunkt der Verlaufsuntersuchung als abhängiger Variable und dem CDR-SOB-Wert bei Zweituntersuchung, der CDR-SOB-Zunahme im Verlauf, sowie dem MMST-Wert bei Zweituntersuchung und der MMST-Abnahme im Verlauf als unabhängigen Variablen, führte nicht zu einem statistisch signifikanten Ergebnis.

Die bivariaten Korrelationen (nach Pearson) zwischen den CDR-SOB- und MMST-Differenzwerten und der Medikation bei Zweituntersuchung ergaben keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Medikation und den beiden untersuchten Variablen.

### 3.5 Zusammenhang zwischen PIB-Zunahme und ApoE-Genotyp

#### a) globale PIB-Zunahme

Im Rahmen der linearen Regression mit der PIB-Zunahme als abhängiger Variable und der Anzahl der  $\epsilon 4$ -Alle des ApoE als unabhängiger Variable ergab sich nur für die PIB-Differenz ein signifikanter Zusammenhang ( $p = 0,034$ ): Der ApoE-Genotyp erklärt 15,2% der Variabilität der PIB-Differenz, was in Tabelle 15 gezeigt ist.

Tabelle 15: lineare Regression, unabhängige Variable: ApoE-Genotyp

| Abhängige Variable              | Korrigiertes R-Quadrat | p-Wert |
|---------------------------------|------------------------|--------|
| PIB-Differenz (ZU-EU)           | 0,152                  | 0,034  |
| Relative PIB-Zunahme (EU-ZU/EU) | 0,076                  | 0,103  |

Legende Tabelle 15: EU: Erstuntersuchung, ZU: Zweituntersuchung, ApoE:

Apolipoprotein E, PIB: Pittsburgh Compound B

Anhand des ApoE-Genotyps erfolgte die Einteilung der Patienten in eine ApoE $\epsilon$ 4-positive (ein- oder zwei ApoE $\epsilon$ 4-Allele) und eine ApoE $\epsilon$ 4-negative (kein ApoE $\epsilon$ 4-Allel) Subgruppe. Der Mittelwertvergleich der PIB-Aufnahme-Werte bei Erst- und Zweituntersuchung zeigte eine signifikante PIB-Zunahme bei den ApoE $\epsilon$ 4-positiven Patienten. In der Gruppe der ApoE $\epsilon$ 4-negativen Patienten fand sich keine signifikante PIB-Zunahme über die Zeit (siehe Tabelle 16).

Die Ergebnisse des Mittelwertvergleichs der PIB-Aufnahme zum Zeitpunkt der Erst- und Zweituntersuchung sind in Tabelle 16 wiedergegeben, es fand sich kein signifikanter Gruppenunterschied zwischen den ApoE $\epsilon$ 4-positiven und –negativen Patienten:

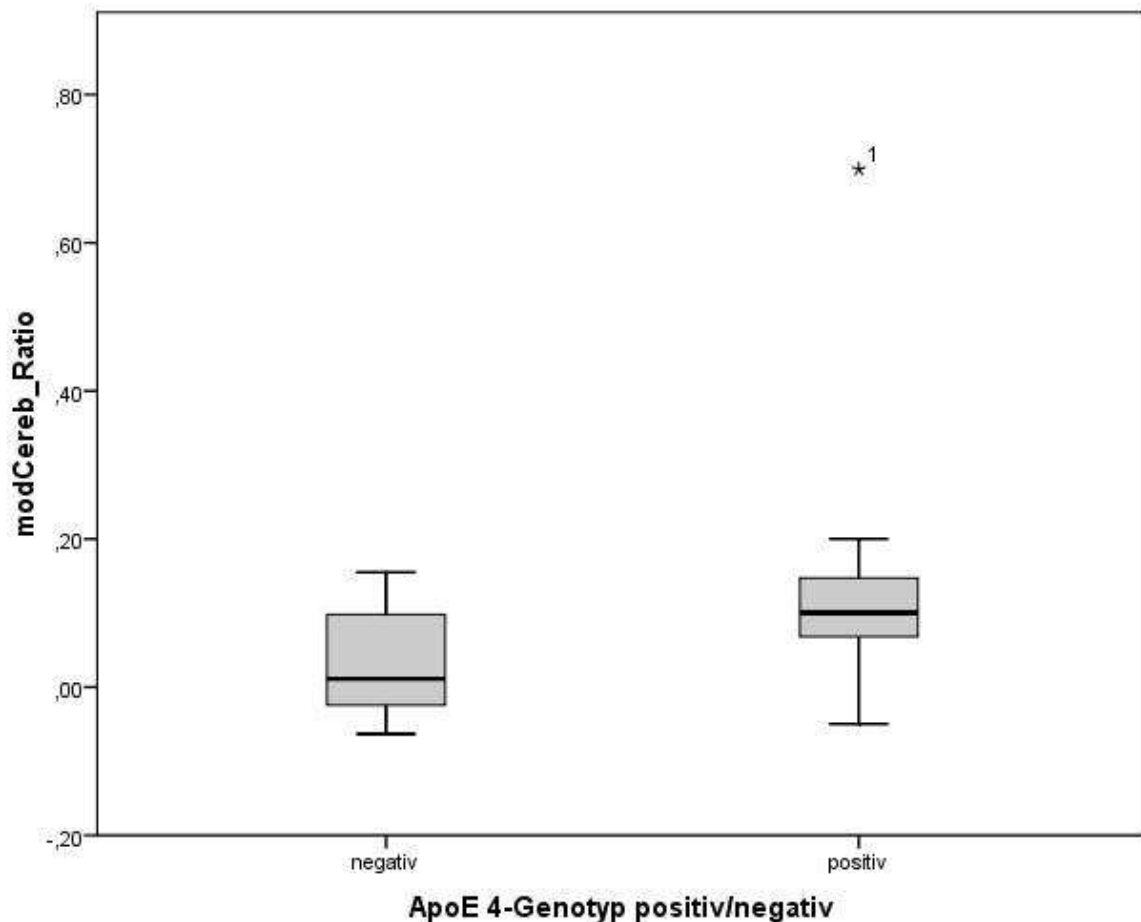
Tabelle 16: Zusammenhang zwischen PIB-Zunahme und ApoE-Genotyp

|  | ApoE $\epsilon$ 4-positive Patienten (n = 14) | ApoE $\epsilon$ 4-negative Patienten (n = 8) | Wilcoxon Test, p-Wert |
|--|---|--|-----------------------|
| PIB-Aufnahme EU<br>Mittelwert/<br>Standardabweichung                   | 1,73 $\pm$ 0,316                              | 1,55 $\pm$ 0,236                             | 0,594                 |
| PIB-Aufnahme ZU<br>Mittelwert/<br>Standardabweichung                   | 1,95 $\pm$ 0,318                              | 1,59 $\pm$ 0,272                             | 0,139                 |
| PIB-Differenz (ZU – EU)<br>Mittelwert/<br>Standardabweichung           | 0,22 $\pm$ 0,192                              | 0,04 $\pm$ 0,112                             | 0,051                 |
| Wilcoxon Test, p-Wert für PIB-Differenz                                | 0,002   | 0,441  |                       |
| relative PIB-Zunahme (ZU – EU/EU)<br>Mittelwert/<br>Standardabweichung | 0,14 $\pm$ 0,173                              | 0,03 $\pm$ 0,074                             | 0,066                 |

Legende Tabelle 16: PIB: Pittsburgh Compound B, ApoE: Apolipoprotein E, EU: Erstuntersuchung, ZU: Zweituntersuchung

In Abbildung 16 wird die PIB-Zunahme in Abhängigkeit vom ApoE-Genotyp gezeigt.

Abbildung 16: relative PIB-Zunahme, gruppiert nach Vorliegen eines ApoE $\epsilon$ 4 - Allels



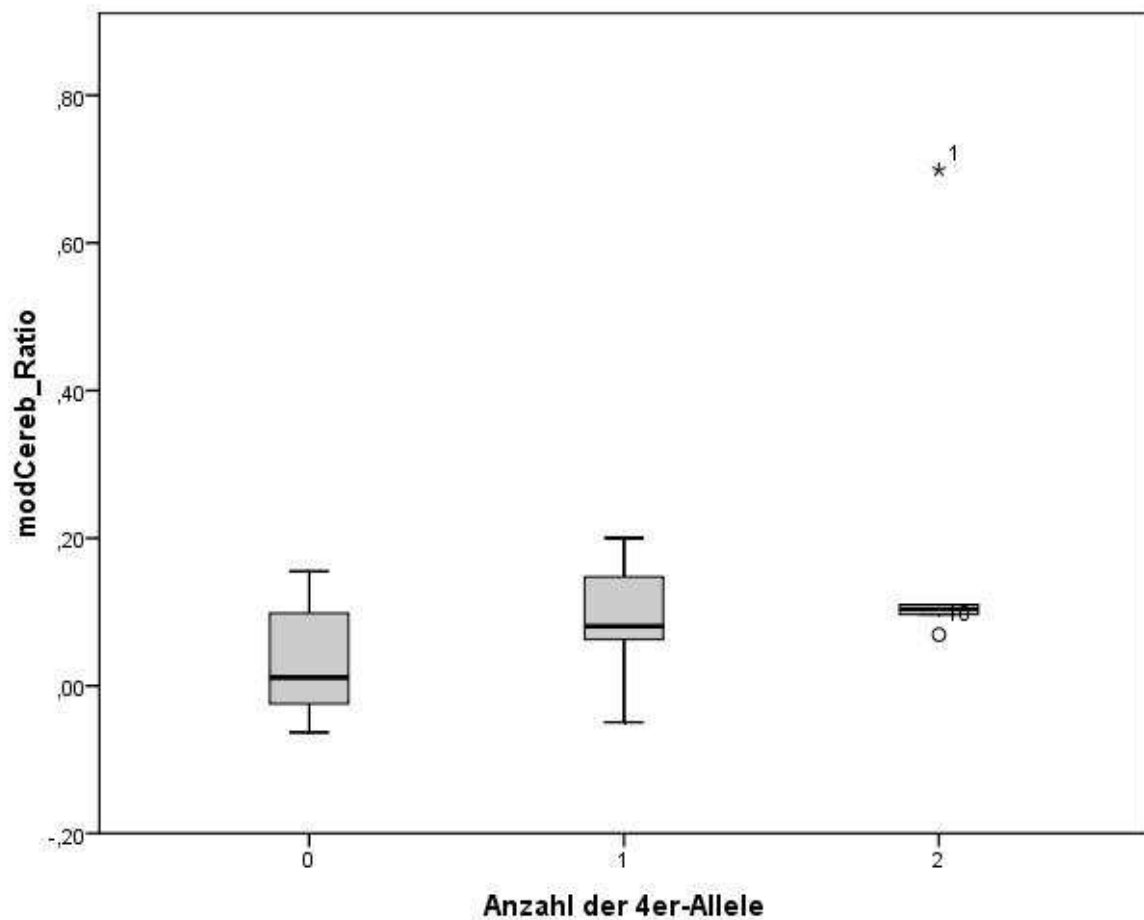
Legende Abbildung 16: modCereb\_Ratio: relative PIB-Zunahme der Zielregion Neokortex, ApoE: Apolipoprotein E

Das Boxplot-Diagramm (Abbildung 16) weist einen Ausreißer auf (gekennzeichnet mit \*<sup>1</sup>), der bereits im Rahmen der Zielregionen-Analyse aufgefallen war: Bei einem der nachuntersuchten Patienten war die PIB-Zunahme überdurchschnittlich hoch (z.T. lag die relative PIB-Zunahme > 0,2 bzw. 20%). Die Daten dieses Patienten wurden noch einmal visuell und durch Wiederholung des Normalisierungsverfahrens (siehe 2.4.3) auf ihre Qualität überprüft. Nachdem sich die hohe PIB-Zunahme bestätigte, wurde geprüft, ob der Effekt innerhalb der Gruppe eventuell durch den

genannten Fall nur vorgetäuscht wurde, d.h. ob die Gesamtzunahme innerhalb des untersuchten Patientenkollektivs hauptsächlich durch die Werte des einen Patienten hervorgerufen wurde. Zu diesem Zweck wurde der Wilcoxon-Test ohne die Daten dieses Patienten wiederholt (Validitätsprüfung), was aber im Wesentlichen die gleichen Ergebnisse lieferte: 7,1% relative PIB-Zunahme ohne die Werte des Patienten versus 9,1% relative PIB-Zunahme mit den Werten des Patienten (ermittelt anhand der Zielregion Neokortex).

Zusätzlich wurde eine Korrelationsanalyse durchgeführt mit der Fragestellung, ob die Anzahl der ApoE $\epsilon$ 4-Allele mit der PIB-Differenz bzw. mit der relativen PIB-Zunahme in Zusammenhang steht. Die bivariate Korrelation (nach Pearson) ergab: Für die Werte der Zielregion Neokortex besteht ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer höheren Anzahl an ApoE $\epsilon$ 4-Allelen und der PIB-Zunahme über die Zeit (p-Werte: 0,012 für die PIB-Differenz und 0,035 für die relative PIB-Zunahme). Für die relative PIB-Zunahme ist dieses Ergebnis in einem Boxplot-Diagramm in Abbildung 17 dargestellt:

Abbildung 17: relative PIB-Zunahme gruppiert nach Anzahl der ApoE $\epsilon$ 4-Allele



Legende Abbildung 17: modCereb\_Ratio: relative PIB-Zunahme der Zielregion Neokortex, PIB: Pittsburgh Compound B, ApoE: Apolipoprotein E

Der Mittelwertvergleich zwischen den drei Patientengruppen (mit keinem, einem oder zwei ApoE $\epsilon$ 4-Allelen) ergab eine signifikante PIB-Differenz für die Patienten mit einem und zwei ApoE $\epsilon$ 4-Allelen. Die relative PIB-Zunahme in diesen beiden Subgruppen beträgt 10% (ein ApoE $\epsilon$ 4-Allel) bzw. 22% (zwei ApoE $\epsilon$ 4-Allele), Patienten ohne ein ApoE $\epsilon$ 4-Allel weisen eine relative PIB-Zunahme von 3% auf. In Tabelle 17 sind diese Ergebnisse zusammengefasst.

Tabelle 17: Zusammenhang zwischen PIB-Zunahme und Anzahl der ApoE $\epsilon$ 4-Allele

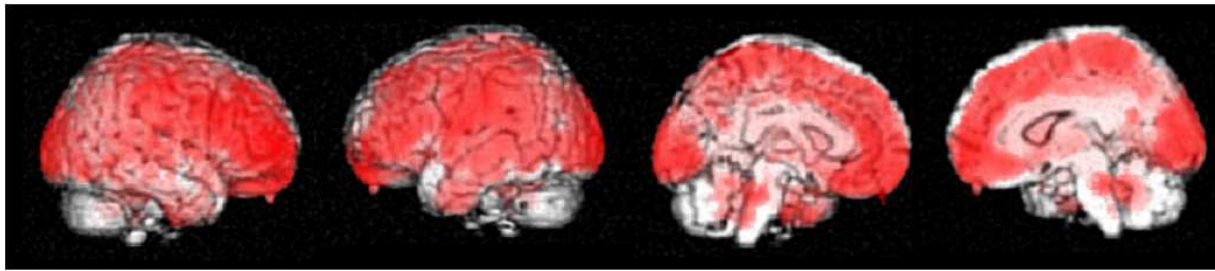
|  | Patienten mit keinem ApoE $\epsilon$ 4-Allel (n = 8) | Patienten mit einem ApoE $\epsilon$ 4-Allel (n = 9) | Patienten mit zwei ApoE $\epsilon$ 4-Allelen (n = 5) |
|--|--|---|--|
| PIB-Aufnahme EU<br>Mittelwert/<br>Standardabweichung                   | 1,51 $\pm$ 0,226                                     | 1,70 $\pm$ 0,299                                    | 1,79 $\pm$ 0,373                                     |
| PIB-Aufnahme ZU<br>Mittelwert/<br>Standardabweichung                   | 1,57 $\pm$ 0,280                                     | 1,87 $\pm$ 0,371                                    | 2,09 $\pm$ 0,111                                     |
| PIB-Differenz (ZU – EU)<br>Mittelwert/<br>Standardabweichung           | 0,05 $\pm$ 0,115                                     | 0,17 $\pm$ 0,122                                    | 0,31 $\pm$ 0,273                                     |
| Wilcoxon Test, p-Wert für PIB-Differenz                                | 0,327  | 0,015   | 0,043  |
| relative PIB-Zunahme (ZU – EU/EU)<br>Mittelwert/<br>Standardabweichung | 0,03 $\pm$ 0,077                                     | 0,10 $\pm$ 0,078                                    | 0,22 $\pm$ 0,271                                     |

Legende Tabelle 17: PIB: Pittsburgh Compound B, ApoE: Apolipoprotein E, EU: Erstuntersuchung, ZU: Zweituntersuchung

b) regionale PIB-Zunahme

Der Mittelwertvergleich in SPM ergab eine signifikante Zunahme der PIB-Aufnahme bei den ApoE $\epsilon$ 4-positiven Patienten über den gesamten Kortex, mit leichter Betonung rechts frontal (Abbildung 18):

Abbildung 18: SPM-Mittelwertvergleich, PIB-Zunahme bei ApoE $\epsilon$ 4-positiven Patienten

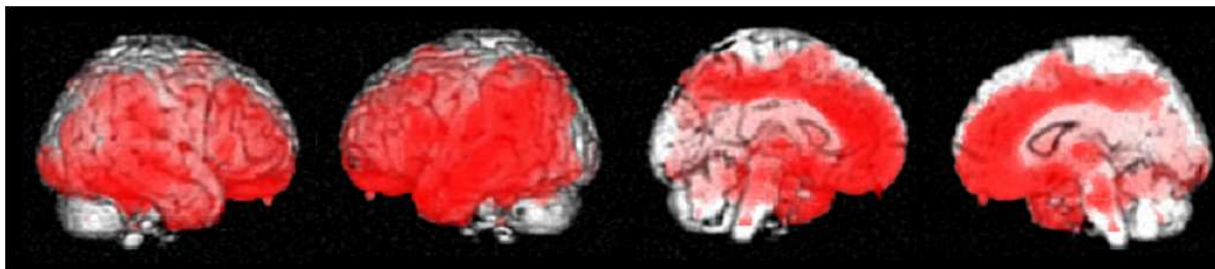


Legende Abbildung 18:  $p < 0,05$  (FDR-korrigiert), rote Markierung: signifikante PIB-Zunahme, Ansichten: lateral rechts/links, mesial rechts/links, SPM: Statistical Parametric Mapping, PIB: Pittsburgh Compound B, ApoE: Apolipoprotein E, FDR: False Discovery Rate

In der Gruppe der ApoE $\epsilon$ 4-negativen Patienten fand sich im Rahmen des SPM-Mittelwertvergleichs keine signifikante PIB-Zunahme über die Zeit.

Im Querschnitt ergab der Mittelwertvergleich in SPM, dargestellt in Abbildung 19, nur zum Zeitpunkt der Zweituntersuchung, eine signifikant höhere PIB-Aufnahme bei den ApoE $\epsilon$ 4-positiven im Vergleich zu den ApoE $\epsilon$ 4-negativen Patienten.

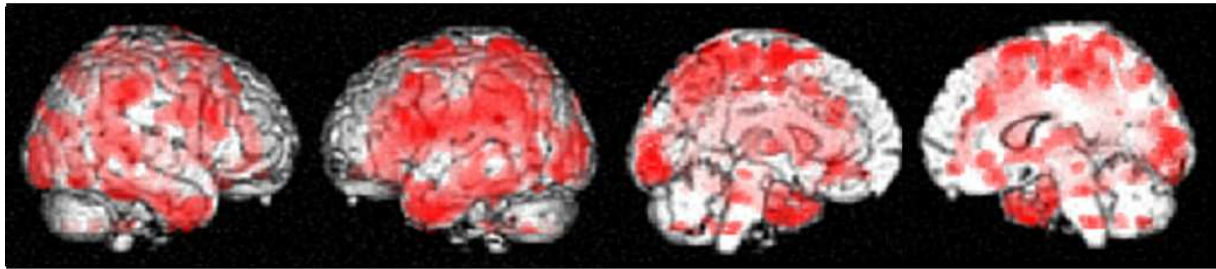
Abbildung 19: SPM-Mittelwertvergleich, PIB-Aufnahme der ApoE $\epsilon$ 4-positiven Patienten verglichen mit den ApoE $\epsilon$ 4-negativen Patienten bei Zweituntersuchung



Legende Abbildung 19:  $p < 0,05$  (FDR-korrigiert), rote Markierung: signifikante PIB-Zunahme, Ansichten: lateral rechts/links, mesial rechts/links, SPM: Statistical Parametric Mapping, PIB: Pittsburgh Compound B, ApoE: Apolipoprotein E, FDR: False Discovery Rate

Die Ergebnisse der SPM-Regressionsanalyse, die den Zusammenhang zwischen Anzahl an ApoE $\epsilon$ 4-Allelen und der PIB-Zunahme im Intervall untersucht, sind in Abbildung 20 dargestellt. Es findet sich eine signifikante PIB-Zunahme, unregelmäßig über den gesamten Kortex verteilt, die im präfrontalen Kortex etwas geringer ausgeprägt ist.

Abbildung 20: SPM-Regressionsanalyse, Zusammenhang zwischen Anzahl der ApoE $\epsilon$ 4-Allele und PIB-Zunahme



Legende Abbildung 20:  $p < 0,05$  (FDR-korrigiert), rote Markierung: signifikante PIB-Zunahme, Ansichten: lateral rechts/links, mesial rechts/links, SPM: Statistical Parametric Mapping, PIB: Pittsburgh Compound B, ApoE: Apolipoprotein E, FDR: False Discovery Rate

### 3.6 Zusammenhang zwischen ApoE-Genotyp und klinischen Parametern

Zusätzlich wurde eine lineare Regression mit der Fragestellung durchgeführt, ob ein Zusammenhang zwischen Anzahl an ApoE $\epsilon$ 4-Allelen und der Progredienz der erhobenen klinischen Parameter besteht. Als unabhängige Variable wurde die Anzahl der ApoE $\epsilon$ 4-Allele, als abhängige Variablen die Differenzwerte von CDR-SOB, MMST und CERAD-NAB-Summenwert herangezogen. Für keine der in die Analyse aufgenommenen Variablen fand sich ein signifikanter Zusammenhang, für die CERAD-NAB-Summenwert-Differenz ließ sich anhand des korrigierten R-Quadrat von 0,121 ( $p$ -Wert = 0,063) eine Tendenz diesbezüglich feststellen.

## 4. Diskussion

### 4.1 Zunahme der zerebralen Amyloid-Ablagerungen im Verlauf

Hauptziel der vorliegenden Arbeit war es, die Veränderung der [11C]PIB-Aufnahme bei 24 Patienten mit Demenz bei wahrscheinlicher Alzheimer-Krankheit im Längsschnitt nach zwei Jahren zu untersuchen. Das Radiopharmakon [11C]PIB wurde zur in-vivo-Darstellung zerebraler Amyloid-Ablagerungen verwendet. Nach einem durchschnittlichen Intervall von 26,6 Monaten zeigte sich eine statistisch signifikante Zunahme der zerebralen Amyloid-Ablagerungen im Mittel um 8,7% bezogen auf die Erstuntersuchung.



Dieses Ergebnis steht in Diskrepanz zu drei bisher durchgeführten Längsschnittstudien mit PIB: In der ersten Arbeit zu diesem Thema, die 2006 von Engler et al. veröffentlicht wurde [11], ließ sich keine statistisch signifikante Änderung der PIB-Aufnahme im Gehirn über die Zeit nachweisen. Numerisch fand sich in einzelnen Regionen eine Zunahme (frontaler, parietaler, okzipitaler Kortex sowie Striatum und Pons), in anderen eine Abnahme (posteriores Cingulum und subkortikale weiße Substanz), in anderen Zielregionen blieb die PIB-Aufnahme unverändert (temporaler Kortex und Kleinhirn). Bei vergleichbarem Untersuchungsintervall von 1,5 – 2,5 Jahren und ähnlichem Patientenkollektiv (Patienten mit Demenz bei leichtgradiger Alzheimer-Krankheit) ist dieser Umstand eventuell durch die geringere Patientenzahl ( $n = 15$ ) zu erklären. Daneben könnten auch die gewählten Grenzen bzw. die Ausdehnung der untersuchten Zielregionen Einfluss auf die ermittelte PIB-Zunahme über die Zeit gehabt haben.

In einer zweiten aktuelleren Studie mit dieser Fragestellung [18], die neben Alzheimer-Patienten, auch Patienten mit leichter kognitiver Störung sowie gesunde Kontrollen einschloss, wurde bei der Subgruppe der 8 Patienten mit Alzheimer-Demenz eine PIB-Zunahme von 4,2% pro Jahr festgestellt. Dies ist interessanterweise der jährlichen relativen PIB-Zunahme der vorliegenden Arbeit vergleichbar. Diese Zunahme war allerdings statistisch nicht signifikant, was auf den geringen Stichprobenumfang sowie Unterschiede des Patientenkollektivs hinsichtlich der ApoE $\epsilon$ 4-Allel-Frequenz, aber auch auf das deutlich kürzere Untersuchungsintervall zurückzuführen sein könnte.

Die dritte Arbeit von Scheinin et al. [33], die sich mit PIB-Zunahme im Längsschnitt befasst, ist sowohl wegen der Auswahl der Patienten (14 Patienten mit wahrscheinlicher Alzheimer-Krankheit), aber auch dem Untersuchungsintervall (ca. zwei Jahre) und der Analyse der Daten (Zielregionen-basierter Ansatz) mit der vorliegenden Arbeit vergleichbar. In der Gruppe der Alzheimer-Patienten fand sich eine statistisch signifikante PIB-Zunahme von 4,3% allerdings lediglich im Bereich des medialen frontalen Kortex nach dem Untersuchungsintervall, im gesamten Kortex variierte die PIB-Zunahme jedoch sehr stark (-3,2 – 4,3%). Eine mögliche Erklärung ist wiederum die deutliche geringere Anzahl an untersuchten Alzheimer-Patienten. Die Abnahme von Amyloid, die sich in der Gruppe der Alzheimer-Patienten im temporalen und okzipitalen Kortex sowie am deutlichsten ausgeprägt im Hippocampus zeigte, könnte aufgrund der Hirnatrophie in diesen Regionen zu

erklären sein. Besonders im Bereich der beiden Hippocampi fand sich eine signifikante Abnahme der Hirnsubstanz, die eine geringere PIB-Aufnahme nach dem untersuchten Intervall vortäuschen könnte.

Die vierte und gleichzeitig aktuellste Studie wurde 2010 von Villemagne et al., wenige Monate nach der Vor-Veröffentlichung von Teil-Ergebnissen dieser Arbeit, veröffentlicht. Neben gesunden Kontrollen und Patienten mit leichter kognitiver Störung, wurden 33 Patienten mit Demenz bei Alzheimer-Krankheit nach einem Intervall zwischen 20 und 23 Monaten mit Hilfe von PIB nachuntersucht [38]. Es konnte in der Gruppe der Alzheimer-Patienten eine signifikante jährliche Zunahme von 3,4% nachgewiesen werden, die gesamte PIB-Zunahme nach dem untersuchten Intervall lag bei 5,7%, was das Ergebnis der vorliegenden Arbeit im wesentlichen bestätigt. Die etwas geringere PIB-Zunahme (5,7% versus 8,7%) könnte durch die Tatsache zu erklären sein, dass bereits bei Erstuntersuchung wesentlich höhere PIB-Aufnahme-Werte in dem von Villemagne et al. untersuchten Patientenkollektiv vorlagen (2,3 versus 1,7 in der vorliegenden Arbeit).

#### 4.2 Regionale Unterschiede der PIB-Zunahme

Die Zunahme von [11C]PIB im Verlauf war nicht in allen zerebralen Regionen gleich ausgeprägt, vorrangig neokortikale Hirnregionen waren betroffen. Der Allokokortex (v.a. entorhinaler Kortex und Hippocampus) sowie subkortikale Hirnregionen zeigten nur eine geringe PIB-Aufnahme bei Erstuntersuchung und keine –Zunahme im Verlauf. Vergleicht man dieses Muster mit histopathologisch definierten Phasen der Amyloid-Ablagerung [35], wobei frontaler, parietaler, temporaler und okzipitaler Kortex als erstes in Phase 1 befallen werden, gefolgt vom Archikortex, subkortikalen Regionen (v. a. Striatum und Thalamus) und schließlich den Kerngebieten des Zwischenhirns und dem Kleinhirn, befinden sich die Patienten der vorliegenden Studie also am ehesten in frühen Phasen der Amyloid-Ablagerung.

#### 4.3 Zusammenhang zwischen PIB-Zunahme und klinischen Parametern

Die in der vorliegenden Arbeit erhobenen, klinischen Testparameter CDR-SOB, CERAD-NAB-Summenwert und MMST weisen eine signifikante Verschlechterung, also Zu- bzw.- Abnahme, über die Zeit auf. In der SPM-Regression fand sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der PIB-Zunahme und der CDR-SOB-

Zunahme. Besonders im Bereich des frontalen und temporoparietalen Kortex zeigte sich eine stärkere Zunahme der Amyloid-Ablagerungen bei Verschlechterung des CDR-SOB-Wertes. In analoger Weise konnte dieser Zusammenhang auch für die Abnahme des MMST-Wertes im Verlauf nachgewiesen werden. Dies weist daraufhin, dass ein Zusammenhang zwischen PIB-Zunahme und Verschlechterung der klinischen Symptomatik vorrangig in solchen Hirnregionen besteht, die im Rahmen früherer funktioneller MRT- und PET-Studien mit kognitiven Leistungen, insbesondere der Gedächtnisfunktion, assoziiert wurden [3].

Der Zusammenhang zwischen PIB-Zunahme und klinischer Verschlechterung im Längsschnitt lässt sich auch mit den Ergebnissen einer Studie, die den Zusammenhang zwischen PIB-Aufnahme und klinischem Schweregrad der Alzheimer-Krankheit im Querschnitt untersucht, in Übereinstimmung bringen [14]: Bei 32 Patienten mit leicht- bis mittelgradiger Demenz bei Alzheimer-Krankheit wurden die relative PIB-Aufnahme sowie der CDR-SOB-Wert bestimmt. In der linearen Regression wurden 12-23% der Variabilität der PIB-Aufnahme durch die CDR-SOB erklärt. Desweiteren fand sich eine signifikante, positive Korrelation zwischen relativer PIB-Aufnahme und CDR-SOB beidseits im lateralen präfrontalen Kortex, in beiden Temporallappen, in den Basalganglien (Putamen) und im gesamten Cingulum. Auch in einer histopathologischen Querschnittstudie konnte ein Zusammenhang zwischen zerebralen Amyloid-Ablagerungen und dem klinischen Schweregrad gezeigt werden [13]: die Gehirne von 153 Patienten, die innerhalb von drei Monaten vor ihrem Tod jeweils mit der CDR untersucht wurden, wurden hinsichtlich der histopathologischen NFT- bzw. A $\beta$ -Stadien untersucht. Es ergab sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen klinischem Schweregrad, erhoben anhand der CDR, und dem Ausmaß der Amyloid-Ablagerung, wobei 13% der Variabilität des klinischen Schweregrads anhand der  $\beta$ -Amyloid-Ablagerungen erklärt werden konnte.

Sechs Patienten erhielten bei Erstuntersuchung eine antidementive Medikation. Bei weiteren 14 Patienten wurde während des Untersuchungsintervalls mit einer antidementiven Medikation begonnen, so dass zum Zeitpunkt der Zweituntersuchung 20 der 24 Studienteilnehmer mit einem Acetylcholinesterase-Hemmer oder NMDA-Rezeptor-Antagonisten behandelt wurden. Zwischen den beiden Patientengruppen mit bzw. ohne Medikation ergab sich für die klinischen Verlaufsparemeter weder zum Zeitpunkt der Zweituntersuchung noch im Verlauf ein statistisch signifikanter

Unterschied. Desweiteren ergab sich kein statistisch signifikanter Einfluss der Medikation bei Zweituntersuchung auf die klinische Progression der Patienten bzw. die Werte der CDR-SOB und des MMST bei Zweituntersuchung. Dies könnte einerseits durch das Zeitintervall zwischen den beiden Untersuchungen zu erklären sein, das zu lang ist, um einen Effekt der antidementiven Medikation zumindest auf die Symptomatik der Alzheimer-Krankheit zu erfassen. Andererseits könnte auch die untersuchte Stichprobe zu gering sein, um subtile Effekte der Medikation auf die Gedächtnisleistung zu erfassen.

#### 4.4 Zusammenhang zwischen PIB-Zunahme und ApoE-Genotyp

In der vorliegenden Arbeit konnte erstmalig gezeigt werden, dass die PIB-Zunahme über die Zeit abhängig ist von der Anzahl der ApoE $\epsilon$ 4-Allele. Patienten mit zwei ApoE $\epsilon$ 4-Allelen zeigten durchschnittlich eine relative PIB-Zunahme von 22%, Patienten mit einem ApoE $\epsilon$ 4-Allel eine Zunahme von 10%, Patienten mit keinem ApoE $\epsilon$ 4-Allel lediglich eine 3%ige Zunahme. D.h. also, dass auch die ApoE $\epsilon$ 4-Gen-Dosis die Entwicklung der Amyloid-Ablagerungen im Gehirn wesentlich zu bestimmen scheint. Eine histopathologische Studie von Tiraboschi et al. bestätigt dies: In allen Regionen des Neokortex zeigte sich bei Patienten mit homozygotem ApoE $\epsilon$ 4-Genotyp ein signifikant größere Menge an Amyloid-Plaques (und neurofibrillären Tangles) als in Hirngewebsproben von Alzheimer-Patienten mit einem oder keinem ApoE $\epsilon$ 4-Allel [36].

Dieses Ergebnis stimmt auch mit folgenden Erkenntnissen aus früheren Studien überein: Ein positiver ApoE $\epsilon$ 4-Allel-Status ist neben einem höheren Erkrankungsrisiko mit einem früheren Beginn der Alzheimer-Krankheit [1] und mit einer rascheren klinischen Progression assoziiert [5,6]. Desweiteren ist die Anzahl der  $\epsilon$ 4-Allele bei Patienten mit Alzheimer-Krankheit im Rahmen eines Gendosis-Effekts entscheidend für eine höhere hippocampale Atrophierate [29]. ApoE $\epsilon$ 4-positive Patienten weisen zudem auch eine geringere regionale zerebrale Durchblutung [15,22] sowie einen ausgeprägteren Hypometabolismus in den typischerweise bei der Alzheimer-Krankheit betroffenen Hirnarealen auf [10]. Der ApoE $\epsilon$ 4-Genotyp erklärt in der untersuchten Stichprobe 15,2% der Variabilität der PIB-Zunahme. Die Zunahme erfolgt dabei homogen im gesamten Gehirn. In einer früheren Arbeit konnte bereits eine Assoziation zwischen ApoE-Genotyp und PIB-Aufnahme im Querschnitt gefunden werden [8], was in der vorliegenden Arbeit

zum Zeitpunkt der Zweituntersuchung ebenfalls der Fall war. In der entsprechenden Arbeit von Drzezga et al., die 18 ApoE $\epsilon$ 4-positive und 14  $\epsilon$ -negative Patienten mit Alzheimer-Krankheit hinsichtlich der PIB-Aufnahme im Vergleich untersuchte, fand sich eine signifikant höhere PIB-Aufnahme bei den ApoE $\epsilon$ 4-positiven Patienten im Bereich des präfrontalen und temporoparietalen Kortex beider Hemisphären.

#### 4.5 Grenzen der vorliegenden Arbeit

Verschiedene mögliche Einflüsse auf die gezeigten statistischen Zusammenhänge müssen bei der Bewertung der vorliegenden Arbeit berücksichtigt werden:

Die erste wesentliche Einschränkung ergibt sich aus der Tatsache, dass die Diagnose der wahrscheinlichen Alzheimer-Krankheit bei den eingeschlossenen Patienten jeweils nur klinisch gestellt wurde und bisher in keinem der Fälle histopathologisch durch Hirnbiopsie oder  $\epsilon$ -autopsie gesichert wurde.

Dementsprechend wäre ein Einfluss von fälschlicherweise eingeschlossenen Patienten auf die gezeigten Zusammenhänge denkbar. Allerdings wurden nur Patienten eingeschlossen, die in der FDG-PET ein Alzheimer-typisches Verteilungsmuster aufwiesen, wodurch eine Fehlklassifizierung der Patienten zumindest weniger wahrscheinlich wird [34].

Desweiteren stellt der geringe Stichprobenumfang einen limitierenden Faktor dar, weitere Studien mit größeren Fallzahlen sind sicherlich notwendig, um weitere Faktoren, die die PIB-Zunahme im Längsschnitt beeinflussen, identifizieren zu können.

In die vorliegende Studie wurden nur Patienten mit leicht- bis mittelgradiger Demenz eingeschlossen, Patienten mit weit fortgeschrittener klinischer Symptomatik bereits bei Erstuntersuchung ausgeschlossen. Einerseits erfolgte diese Auswahl, da die Durchführung einer Zweituntersuchung bei Patienten mit Alzheimer-Krankheit in fortgeschrittenen Stadien nach zwei Jahren zunehmend unwahrscheinlich wird. Andererseits ist auch eine Einverständniserklärung durch den Patienten selbst in der Regel zu diesem Zeitpunkt nicht mehr möglich. Desweiteren stellen die durchgeführten Untersuchungen aufgrund ihrer Dauer bzw. den Umgebungsbedingungen eine hohe Belastung vor allem für schwer kranke Patienten dar, so dass diese im fortgeschrittenen Stadium der Alzheimer-Krankheit ethisch nicht mehr vertretbar sind. Dementsprechend sind die vorliegenden Ergebnisse

allerdings auch nicht auf die fortgeschrittenen Stadien der Alzheimer-Demenz anwendbar.

Eine vierte Einschränkung ergibt sich aus der Verwendung des Vermis als Referenzregion: Einflüsse von Amyloid-Ablagerungen im Bereich des Kleinhirnwurms werden möglicherweise nicht abgebildet. Allerdings wurde in histopathologischen Studien bereits gezeigt, dass der Vermis erst in den weit fortgeschrittenen Stadien der Alzheimer-Krankheit Amyloid-Ablagerungen aufweist [35]. Wie bereits erwähnt wurden diese Patienten allerdings nicht in die Studie eingeschlossen.

Auch das gewählte Untersuchungsintervall von ca. zwei Jahren zwischen Erst- und Zweituntersuchung könnte unter Umständen zu kurz gewesen sein und die Stärke der statistischen Zusammenhänge beeinflussen. Die Durchführung weiterer Studien mit einem längeren Untersuchungsintervalls zur Detektion weiterer Einflussvariablen wäre daher wünschenswert.

## 5. Zusammenfassung

Zielsetzung der vorliegenden Arbeit war es, die Entwicklung der PIB-Aufnahme bei 24 Patienten mit leicht- bis mittelgradiger Alzheimer-Demenz, nach einem Beobachtungszeitraum von 26,6 Monaten zu untersuchen. Es konnte eine signifikante PIB-Zunahme im Gesamthirn von durchschnittlich 8.7% gezeigt werden, bei allerdings erheblichen interindividuellen Schwankungen. Dieses Ergebnis bestätigt einerseits die Bedeutung von [11C]-PIB als in-vivo-Marker der Krankheitsprogression bei Patienten mit Alzheimer-Demenz. Andererseits scheint [11C]-PIB damit auch als Verlaufsparemeter im Rahmen klinischer Studien zur Untersuchung anti-amyloiderger Therapieansätze bzw. für die Auswahl der geeigneten Patienten für solche Therapieansätze anwendbar zu sein.

Die Untersuchung der regionalen Verteilung der PIB-Zunahme in unterschiedlichen Hirnregionen ergab, dass die Zunahme vorrangig in Regionen des Neokortex stattfindet, was mit den Ergebnissen histopathologischer Studien, die eine bestimmten Sequenz der Amyloidablagerungen beginnend im Neokortex, gezeigt hatten, übereinstimmt.

Als wesentliche Variable, die die Ablagerung von  $\beta$ -Amyloid und damit die PIB-Aufnahme im Verlauf entscheidend beeinflusst, wurde der ApoE-Genotyp identifiziert. Erstmals konnte gezeigt werden, dass die PIB-Zunahme auch von der Anzahl der ApoE $\epsilon$ 4-Allele im Sinne eines Gen-Dosis-Effekts beeinflusst wird. Auch diese Tatsache könnte für Dosierung und Wirksamkeit anti-amyloiderger Medikation in klinischen Studien in Zukunft von Interesse sein.

Ein Zusammenhang zwischen PIB-Zunahme über die Zeit und Verschlechterung klinischer Verlaufsparemeter ließ sich nur in bestimmten Hirnregionen nachweisen, was allerdings durchaus in Einklang zu bringen ist mit den Ergebnissen früherer Studien, die einen Zusammenhang zwischen Amyloid-Ablagerung im gesamten Gehirn und dem klinischen Schweregrad nachweisen konnten.

## 6. Literaturverzeichnis

[1] Ashford JW

APOE genotype effects on Alzheimer's disease onset and epidemiology

J Mol Neurosci 23 (2004) 157-165

[2] Braak H, Braak E

Neuropathological staging of Alzheimer-related changes

Acta Neuropathol 82 (1991) 239-259

[3] Cabeza R, Nyberg L

Imaging cognition II: An empirical review of 275 PET and fMRI studies

J Cogn Neurosci 12 (2000) 1-47

[4] Chandler MJ, Lacritz LH, Hynan LS, Barnard HD, Allen G, Deschner M, Weiner MF, Cullum CM

A total score for the CERAD neuropsychological battery

Neurol 65 (2005) 102-106

[5] Cosentino S, Scarmeas N, Helzner E, Glymour MM, Brandt J, Albert M, Blacker D, Stern Y

APOE epsilon 4 allele predicts faster cognitive decline in mild Alzheimer disease

Neurol 70 (2008) 1842-1849

[6] Craft S, Teri L, Edland SD, Kukull WA, Schellenberg G, McCormick WC, Bowen JD, Larson EB

Accelerated decline in apolipoprotein E-epsilon4 homozygotes with Alzheimer's disease

Neurol 51 (1998) 149-153

[7] Cummings BJ, Pike CJ, Shankle R, Cotman CW

$\beta$ -Amyloid Deposition and other measures of Neuropathology predict cognitive status in Alzheimer's Disease

Neurobiol Aging 17 (1996) 921-933



- [8] Drzezga A, Grimmer T, Henrikson G, Mühlau M, Perneczky R, Miederer I, Sorg C, Wohlschläger A, Riemenschneider M, Wester HJ, Foerstl H, Schwaiger M, Kurz A  
Effect of APOE genotype on amyloid plaque load and gray matter volume in Alzheimer disease  
Neurol 72 (2009) 1487-1494
- [9] Drzezga A, Grimmer T, Henrikson G, Stangier I, Perneczky R, Diehl-Schmid J, Mathis CA, Klunk WE, Price J, DeKosky S, Wester HJ, Schwaiger M, Kurz A  
Imaging of amyloid plaques and cerebral glucose metabolism in semantic dementia and Alzheimer's disease  
Neuroimage 39 (2008) 619-633
- [10] Drzezga A, Riemenschneider M, Strassner B, Grimmer T, Peller M, Knoll A, Wagenpfeil S, Minoshima S, Schwaiger M, Kurz A  
Cerebral glucose metabolism in patients with AD and different APOE genotypes  
Neurol 64 (2005) 102-107
- [11] Engler H, Forsberg A, Almkvist O, Blomquist G, Larsson E, Savitcheva I, Wall A, Ringheim A, Langström B, Nordberg A  
Two-year follow-up of amyloid deposition in patients with Alzheimer's disease  
Brain 129 (2006) 2856-2866
- [12] Friston KJ, Holmes AP, Worsley KJ  
Statistical Parametric Mapping in Functional Imaging: A General Linear Approach  
Hum Brain Mapp 2 (1995) 189-210
- [13] Gold G, Kövari E, Corte G, Herrmann FR, Canuto A, Bussiere T, Hof PR, Bouras C, Giannakopoulos P  
Clinical validity of A $\beta$ -protein deposition staging in brain aging and Alzheimer disease  
J Neuropath Exp Neurol 60 (2001) 946-952

- [14] Grimmer T, Henriksen G, Wester HJ, Förstl H, Klunk WE, Mathis CA, Kurz A, Drzezga A  
Clinical severity of Alzheimer's disease is associated with PIB uptake in PET  
Neurobiol Aging 30 (2009) 1902–09
- [15] Hogh P, Knudsen GM, Kjaer KH, Jorgensen OS, Paulson OB, Waldemar G  
Single photon emission computed tomography and apolipoprotein E in Alzheimer's disease: impact of the epsilon4 allele on regional cerebral blood flow  
Geriatr Psychiatry Neurol 14 (2001) 42-51
- [16] Ikonomic MD, Klunk WE, Abrahamson EE, Mathis CA, Price JC, Tsopelas ND, Lopresti BJ, Ziolkowski S, Bi W, Paljug WR, Debnath ML, Hope CE, Isanski BA, Hamilton RL, DeKosky ST  
Post-mortem correlates of in vivo PiB-PET amyloid-imaging in a typical case of Alzheimer's disease  
Brain 131 (2008) 1630-1645
- [17] Jack CR, Lowe VJ, Senjem ML, Weigand SD, Kemp BJ, Shiung MM, Knopman DS, Boeve BF, Klunk WE, Mathis CA, Petersen RC  
11 C PiB and structural MRI provide complementary information in imaging of Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment  
Brain 131 (2008) 665-680
- [18] Jack CR, Lowe VJ, Weigand SD, Wiste HJ, Senjem ML, Knopman DS, Shiung MM, Gunter JL, Boeve BF, Kemp BJ, Weiner M, Petersen RC and the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative  
Serial PIB and MRI in normal, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: implications for sequence of pathological events in Alzheimer's disease  
Brain 132 (2009) 1355-1365
- [19] Jellinger KA  
Criteria for the neuropathological diagnosis of dementing disorders: routes out of

the swamp?

Acta Neuropathol 117 (2009) 101-110

[20] Kempainen NM, Aalto S, Wilson IA, Någren K, Helin S, Brück A, Oikonen V, Kailajärvi M, Scheinin M, Viitanen M, Parkkola R, Rinne JO

Voxel-based analyses of PET amyloid ligand [<sup>11</sup>C]PIB uptake in Alzheimer's disease

Neurol 67 (2006) 1575-1580

[21] Klunk WE, Engler H, Nordberg A, Wang Y, Blomqvist G, Holt DP, Bergström M, Savitcheva I, Huang Gf, Estrada S, Ausén B, Debnath ML, Barletta J, Price JC, Sandell J, Lopresti BJ, Wall A, Koivisto P, Antoni G, Mathis CA, Långström B  
Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B

Ann Neurol 55 (2004) 306-319

[22] Lehtovirta M, Kuikka J, Helisalmi S, Hartikainen P, Manermaa A, Ryyanen M, Riekkinen PSr, Soininen H

Longitudinal SPECT study in Alzheimer's disease: Relation to apolipoprotein E polymorphism

J Neurol Neurosurg Psychiatry 64 (1998) 742-746

[23] Lockhart A, Lamb JR, Osredkar T, Sue LI, Joyce JN, Ye L, Libri V, Leppert D, Beach TG

PIB is a non-specific imaging marker of amyloid-beta (A $\beta$ ) peptide-related cerebral amyloidosis

Brain 130 (2007) 2607-2615

[24] Loening AM, Gambhir SS

AMIDE: a free software tool for multimodality medical image analysis

Mol Imaging 2 (2003) 131-137

[25] Lopresti BJ, Klunk WE, Mathis CA, Hoge JA, Ziolkowski SK, Lu X, Meltzer CC, Schimmel K, Tsopelas ND, DeKosky ST, Price JC

Simplified quantification of Pittsburgh Compound B amyloid imaging PET

studies: A comparative analysis  
J Nucl Med 46 (2005) 1959-1972

- [26] McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM  
Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work  
Group under the auspices of Department of Health and Human Services  
Task Force on Alzheimer's Disease  
Neurol 34 (1984) 939-944
- [27] Minoshima S  
Imaging Alzheimer's disease: clinical applications  
Neuroimaging Clin N Am 13 (2003) 169-780
- [28] Morris JC, Heyman A, Mohs RC, Hughes JP, van Belle G, Fillenbaum G, Mellits  
ED, Clark C  
The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). Part I.  
Clinical and neuropsychological assessment of Alzheimer's disease  
Neurol 39 (1989) 1159-1165
- [29] Mori E, Lee K, Yasuda M, Hashimoto M, Kazui H, Hirano N, Matsui M  
Accelerated hippocampal atrophy in Alzheimer's disease with apolipoprotein E  
epsilon 4 allele  
Ann Neurol 51 (2002) 209-214
- [30] Okello A, Koivunen J, Edison P, Archer HA, Turkheimer FE, Nagren K,  
Bullock R, Walker Z, Kennedy A, Fox NC, Rossor MN, Rinne JO, Brooks DJ  
Conversion of amyloid positive and negative MCI to AD over 3 years: an 11C-  
PIB PET study  
Neurol 73 (2009) 754-760
- [31] Pike KE, Savage G, Villemagne VL, Ng S, Moss SA, Maruff P, Mathis CA,  
Klunk WE, Masters CL, Rowe CC  
Beta-amyloid imaging and memory in non-demented individuals: evidence for  
preclinical Alzheimer's disease

Brain 130 (2007) 2837-2844

- [32] Rowe CC, Ng S, Ackermann U, Gong SJ, Pike K, Savage G, Cowie TF, Dickinson KL, Maruff P, Darby D, Smith C, Woodward M, Merory J, Tochon-Danguy H, O'Keefe G, Klunk WE, Mathis CA, Price JC, Masters CL, Villemagne VL  
Imaging beta-amyloid burden in aging and dementia  
Neurol 68 (2007) 1718-1725
- [33] Scheinin NM, Aalto S, Koikkalainen J, Lötjönen J, Karrasch M, Kemppainen N, Viitanen M, Nagren K, Helin S, Scheinin M, Rinne JO  
Follow-up of [<sup>11</sup>C]PIB uptake and brain volume in patients with Alzheimer disease and controls  
Neurol 73 (2009) 1186-1192
- [34] Silverman DH, Cummings JL, Small GW, Gambhir SS, Chen W, Czernin J, Phelps ME  
Added clinical benefit of incorporating 2-deoxy-2-<sup>18</sup>F-fluoro-D-glucose with positron emission tomography into the clinical evaluation of patients with cognitive impairment  
Mol Imaging Biol 4 (2002) 283-293
- [35] Thal DR, Rüb U, Orantes M, Braak H  
Phases of A $\beta$ -deposition in the human brain and its relevance for the development of AD  
Neurol 58 (2002) 1791-1800
- [36] Tiraboschi P, Hansen LA, Masliah E, Alford M, Thal LJ, Corey-Bloom J  
Impact of APOE genotype on neuropathologic and neurochemical markers of Alzheimer disease  
Neurol 62 (2004) 1977-1983.
- [37] Tzourio-Mazoyer N, Landeau B, Papathanassiou D, Crivello F, Etard O,

Delcroix N, Mazoyer B, Joliot M

Automated anatomical labeling of activations in SPM using a macroscopic anatomical parcellation of the MNI MRI single-subject brain

Neuroimage 15 (2002) 273-289

- [38] Villemagne VL, Pike KE, Chételat G, Ellis KA, Mulligan RS, Bourgeat P, Ackermann U, Jones G, Szoeke C, Salvado O, Martins R, O'Keefe G, Mathis CA, Klunk WE, Ames D, Masters CL, Rowe CC  
Longitudinal assessment of A $\beta$  and cognition in aging and Alzheimer Disease  
Ann Neurol 69 (2011) 181-192

- [39] Ziolkowski SK, Weissfeld LA, Klunk WE, Mathis CA, Hoge JA, Lopresti BJ, DeKosky ST, Price JC  
Evaluation of voxel-based methods for the statistical analysis of PIB-PET amyloid imaging studies in Alzheimer's disease  
Neuroimage 33 (2006) 94-102

- [40] Zivelin A, Rosenberg N, Peretz H, Amit Y, Kornbrot N, Seligsohn U  
Improved Method for Genotyping Apolipoprotein E Polymorphisms by a PCR-Based Assay Simultaneously Utilizing Two Distinct Restriction Enzymes  
Clin Chem 43 (1997) 1657-1659

## Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Alexander Kurz für die Überlassung des Themas und das in mich gesetzte Vertrauen.

Außerdem möchte ich mich von Herzen bei meinem Betreuer Dr. Timo Grimmer bedanken, von dem ich fachlich und persönlich während der Entstehung dieser Arbeit jederzeit unterstützt wurde. Immer wieder hat er mich durch seine Anregungen und Kritik motiviert und sein Engagement und seine Geduld haben diese Arbeit letztendlich ermöglicht.

Bedanken möchte ich mich außerdem bei allen Mitarbeitern des Zentrums für kognitive Störungen und der nuklearmedizinischen Klinik für die entgegengebrachte Freundlichkeit und Hilfsbereitschaft.

Allen Patienten und ihren Angehörigen möchte ich für die Teilnahme an den Untersuchungen bzw. für die Bereitstellung ihrer Daten danken.

