

Universität Ulm, Abteilung Neurologie

Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. Albert Christian Ludolph

**Korrelate der Erkrankungsstadien bei Amyotropher Lateralsklerose in der intrinsischen funktionellen Konnektivitäts-Magnetresonanztomographie**

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin

der Medizinischen Fakultät der Universität Ulm

Ines Henriette Schulthess

Kirchheim unter Teck

2016

Amtierender Dekan: Prof. Dr. rer. nat. Thomas Wirth

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Jan Kassubek

2. Berichterstatter: Prof. Dr. phil. Georg Grön

Tag der Promotion: 28.04.2017

Meiner Familie.

## Inhaltsverzeichnis

<b>INHALTSVERZEICHNIS .....</b>	<b>I</b>
<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....</b>	<b>III</b>
<b>1 EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Amyotrophe Lateralsklerose .....</b>	<b>1</b>
1.1.1 Definition und Epidemiologie .....	1
1.1.2 Klinische Manifestation und Diagnose .....	2
1.1.3 Therapie und Prognose.....	3
<b>1.2 Neuropathologische Stadieneinteilung der ALS.....</b>	<b>4</b>
<b>1.3 Bildgebende Verfahren bei Amyotropher Lateralsklerose .....</b>	<b>6</b>
1.3.1 Strukturelle Bildgebung.....	6
1.3.2 Funktionelle Bildgebung .....	8
<b>1.4 Fragestellung und Zielsetzung .....</b>	<b>9</b>
<b>2 PATIENTEN UND METHODEN .....</b>	<b>10</b>
<b>2.1 Patienten- und Probandenkollektiv.....</b>	<b>10</b>
<b>2.2 Datenakquisition .....</b>	<b>11</b>
<b>2.3 Datenvorverarbeitung und -nachbearbeitung .....</b>	<b>12</b>
2.3.1 Datenvorverarbeitung .....	12
2.3.2 Berechnung der intrinsischen funktionellen Konnektivitätsnetzwerke.....	15
<b>3 ERGEBNISSE .....</b>	<b>17</b>
<b>3.1 Funktionelle Konnektivitätsnetzwerke und Gruppenvergleich im Querschnitt .....</b>	<b>17</b>
3.1.1 Motornetzwerk.....	17

3.1.2	Hirnstammnetzwerk .....	19
3.1.3	Frontoparietales Netzwerk .....	20
3.1.4	Basalgangliennetzwerk .....	21
3.1.5	Hippocampales Netzwerk .....	22
3.1.6	Visuelles Referenznetzwerk .....	24
<b>3.2</b>	<b>Funktionelle Konnektivitätsnetzwerke im Gruppenvergleich longitudinal .....</b>	<b>24</b>
3.2.1	Motornetzwerk longitudinal .....	25
3.2.2	Hirnstammnetzwerk longitudinal .....	27
3.2.3	Frontoparietales Netzwerk longitudinal .....	29
3.2.4	Basalgangliennetzwerk longitudinal .....	31
3.2.5	Hippocampales Netzwerk longitudinal .....	33
<b>4</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>35</b>
4.1	Regionale funktionelle Hyperkonnektivitäten bei der ALS .....	35
4.2	Wie sind die funktionellen Veränderungen mit strukturellen Veränderungen assoziiert ? .....	37
4.3	Funktionelle MRT als Biomarker bei ALS: Vorteile und Nachteile .....	38
4.4	<i>In-vivo</i> Staging der ALS mittels MRT .....	39
4.5	Limitationen der Studie .....	40
4.6	Ausblick .....	41
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>42</b>
<b>6</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>44</b>
<b>7</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>53</b>
<b>8</b>	<b>LEBENS LAUF .....</b>	<b>54</b>

**Abkürzungsverzeichnis**

AC	Anterior Commissure
ALS	Amyotrophe Lateralsklerose
ALS-FRS-R	ALS Functional Rating Scale Revised
BOLD	Blood-Oxygenation-Level Dependent
DTI	Diffusion Tensor Imaging
EPI	Echo Planar Imaging
FA	Fraktionale Anisotropie
FDR	False Discovery Rate
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie
FoV	Field of View
MNI	Montreal Neurological Institute
MPRAGE	Magnetization-Prepared Rapid Gradient Echo
MRT	Magnetresonanztomographie
PC	Posterior Commissure
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
pTDP-43	phosphorylated TAR DNA binding protein-43
rs-fMRT	resting state fMRT
TDP-43	TAR DNA binding protein-43
TE	Time to Echo
TIFT	Tensor Imaging and Fiber Tracking
TOI	Tract-Of-Interest
TR	Repetition Time
VBM	Voxel-basierte Morphometrie
VPC	Vertical Posterior Commissure Plane

# 1 Einleitung

## 1.1 Amyotrophe Lateralsklerose

### 1.1.1 Definition und Epidemiologie

Die Amyotrophe Lateralsklerose (ALS) ist eine rasch progrediente degenerative Erkrankung des Nervensystems, deren Erstbeschreiber im Jahre 1869 der französische Neurologe Jean-Martin Charcot war (Charcot & Joffroy, 1869). Sie ist gekennzeichnet durch Degeneration des ersten und zweiten Motoneurons. Als erstes Motoneuron wird der motorische Cortex und der Tractus corticospinalis bezeichnet, als zweites Motoneuron die Hirnnervenkerne des Hirnstamms und das motorische Vorderhorn. Die ALS stellt die häufigste Entität der adulten Motoneuronenerkrankungen dar, des Weiteren gehören die spinale Muskelatrophie, die progressive Bulbärparalyse, die primäre Lateralsklerose und die hereditäre spastische Parese dazu (Phukan & Hardiman, 2009). Anhand des Krankheitsbeginns lässt sich die ALS in eine spinale Form mit Krankheitsbeginn an den Extremitäten und eine bulbäre Form, welche mit Sprech- und Schluckstörungen beginnt, einteilen. Man unterscheidet eine weitaus häufiger auftretende sporadische Form von einer familiären Form. Derzeit wird das C9ORF72 Gen als die häufigste Ursache einer genetisch bedingten ALS angesehen (Hübers et al. 2013), darüber hinaus spielen Mutationen im Zink- Superoxiddismutase- (SOD-1) Gen sowie in den RNA-Prozessierungs-Genen TAR DNA binding protein-43 (TDP-43) und fused in sarcoma (FUS) eine Rolle (Andersen & Al-Chalabi, 2011). TDP-43 Aggregationen sind sowohl bei der sporadischen als auch bei der nicht SOD-1 assoziierten ALS von großer Relevanz. Die Ätiologie der sporadischen ALS konnte bis heute nicht abschließend geklärt werden, und es existieren verschiedene Hypothesen, welche unter anderem die Lebensführung (Body Mass Index), Umweltfaktoren sowie chronische Entzündungsreaktionen als Risikofaktoren ansehen (Ingre et al. 2015). Des Weiteren besteht bei der ALS eine multisystemische extra-motorische Komponente, die durch eine klinisch-pathologische Überschneidung mit dem Krankheitsbild der frontotemporalen Demenz gekennzeichnet ist (Neumann et al. 2006).

Die Inzidenz ist regionenspezifisch unterschiedlich und liegt in Europa zwischen 1,2 und 4 pro 100 000 Einwohner pro Jahr (Gordon, 2013). Sie steigt mit zunehmendem Alter an und erreicht ihren Höhepunkt zwischen dem 70. und 80. Lebensjahr, Männer sind häufiger betroffen als Frauen (Alonso et al. 2009; Fang et al. 2009). In Süddeutschland (Schwaben) liegt die Inzidenz bei 2,6 pro 100 000 Einwohner pro Jahr, das Geschlechterverhältnis liegt bei 1,1:1 (Männer:Frauen) mit einem Erkrankungsgipfel bei 70 bis 74 Jahren (Uenal et al. 2014).

### 1.1.2 Klinische Manifestation und Diagnose

Klassisches Merkmal der ALS ist die Degeneration des ersten und zweiten Motoneurons. Zeichen einer Schädigung des ersten Motoneurons sind Spastik, gesteigerte Muskeleigenreflexe und Pyramidenbahnzeichen. Zeichen einer Schädigung des zweiten Motoneurons, die die des ersten häufig überdecken können, sind atrophische Paresen und Faszikulationen. Neuropsychologische Defizite manifestieren sich insbesondere als frontotemporale exekutive Dysfunktion: 15 % der ALS Patienten weisen eine frontotemporale Demenz auf, 50% werden im Rahmen neuropsychologischer Testung als kognitiv beeinträchtigt klassifiziert (Ling et al. 2013; Ringholz et al. 2005).

Mit 74% ist die häufigste Erstmanifestation eine asymmetrische, oft distal betonte Schwäche der Extremitäten, die zu 40%-50% die oberen Extremitäten betreffen. Dies entspricht einer spinalen Verlaufsform. Bei 17% liegt primär eine bulbäre Erstmanifestation vor, welche sich in Dysarthrie, Dysphonie, Dysphagie, Zungenparese und- faszikulationen äußert. Affektlabilität wie pathologisches Lachen oder Weinen finden sich bei bulbärer Affektion. Bei 8% der Patienten bestehen zu Beginn sowohl spinale als auch bulbäre Symptome (Williams et al. 2013). Im Rahmen des progressiven Verlaufs breiten sich Schwäche und Atrophien typischerweise von distal nach proximal aus und beziehen weitere Extremitäten, die Gegenseite sowie die bulbäre Muskulatur mit ein. Charakteristisch ist, dass nach Beginn an einer Extremität oder der bulbären Region in angrenzenden Körperregionen Folgesymptome auftreten, so dass sich auch klinisch ein Ausbreitungsmuster im Verlauf der Erkrankung nachvollziehen lässt. Die Degeneration der Motoneurone ist ein fokaler Prozess, der sich fortlaufend im Sinne eines „Spreadings“ ausbreitet (Ravits & La Spada, 2009). Im Endstadium liegt eine meist generalisierte

Lähmung mit respiratorischer Insuffizienz vor, die durch die Mitbeteiligung der Atemmuskulatur bedingt ist.

Der im Folgenden aufgeführte diagnostische Algorithmus der ALS ist in den Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie festgelegt (Ludolph et al. 2014): Die Diagnosestellung der ALS erfolgt primär anhand klinischer Kriterien. Hier zeigt sich das gleichzeitige Vorliegen von Zeichen einer Schädigung des ersten und zweiten Motoneurons. Die revidierten El-Escorial Kriterien beschreiben die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens einer ALS anhand der Schädigungszeichen des ersten und zweiten Motoneurons (Brooks et al. 2000). Durch die in den letzten 20 Jahren vor allem durch genetische Studien gewonnenen neuen Erkenntnisse insbesondere über die enge Beziehung der ALS und der frontotemporalen Demenz kam das Bestreben auf, die El Escorial Kriterien zu aktualisieren und anzupassen (Agosta et al. 2014). Nach einer 2015 veröffentlichten Überarbeitung dieser Kriterien soll zur Diagnosestellung der ALS mindestens einer der folgenden Punkte erfüllt sein: 1. Progressive Schädigung des ersten und zweiten Motoneurons an mindestens einer Extremität oder in mindestens einer Region (bulbär, thorakal), oder 2. Identifizierung einer Schädigung des zweiten Motoneurons im Rahmen der klinischen Untersuchung (eine Region) und/oder im Rahmen der Elektromyographie in zwei Körperregionen (definiert als bulbär, cervikal, thorakal, lumbosacral) im Sinne von neurogenen Potentialen, Fibrillationen und/oder scharfen Wellen (Ludolph et al. 2015). Zur Diagnosestellung wesentlich sind folgende Untersuchungen: klinisch-neurologische Untersuchung, klinisch-neuropsychologische Befunderhebung, Elektromyographie und -neurographie, craniale und spinale MRT Bildgebung, Bestimmung der Vitalkapazität, Dokumentation des Körpergewichts, Basislabor-diagnostik. Fakultativ sind folgende Untersuchungen: Liquoruntersuchung, Muskelbiopsie, neuropsychologische Testung, erweiterte Labordiagnostik, Fiberendoskopische Evaluation des Schluckens, Hals-Nasen-Ohren-ärztliche Untersuchung. Bei Hinweisen auf eine familiäre Form ist auf Wunsch des Patienten eine humangenetische Diagnostik möglich (Ludolph et al. 2014).

### 1.1.3 Therapie und Prognose

Es existiert derzeit keine kausale Therapie der ALS. Die aktuell einzig zugelassene medikamentöse Therapieoption ist der Glutamat-Antagonist Riluzol, für welchen eine

Lebenszeitverlängerung von etwa 2 Monaten im Vergleich zu Placebo und eine Verlängerung der Phase relativ geringer Behinderung nachgewiesen werden konnte (Miller et al. 2003). Therapieschwerpunkte sind somit symptomatische medikamentöse und nicht medikamentöse Maßnahmen mit dem Ziel der Verbesserung der Lebensqualität und Verlängerung der Überlebenszeit (Miller et al. 2009). Diese erfolgen in Form von medikamentöser Therapie der Muskelkrämpfe, Spastik und Sialorrhoe sowie Physiotherapie, Ergotherapie und Logopädie. Bei fortgeschrittener Ateminsuffizienz sollte die Anpassung einer nicht-invasiven intermittierenden Maskenbeatmung erfolgen, bei fortgeschrittener Dysarthrie die Versorgung mit Kommunikationshilfen. Bei Ernährungsdefiziten und Dysphagie besteht die Möglichkeit der Anlage einer Ernährungssonde (perkutane enterale Gastrostomie). Nicht außer Acht gelassen werden sollte außerdem die psychosoziale Betreuung des Patienten und der Angehörigen.

Die mittlere Überlebenszeit ab Symptombeginn liegt bei 20-48 Monaten, allerdings besteht hier eine starke Variabilität, da bei 10-20% der Patienten eine Überlebenszeit >10 Jahre beschrieben ist (Chiò et al. 2009). Meist versterben die Patienten an einer durch progrediente respiratorische Insuffizienz verursachten Kohlendioxid-Narkose. Prognostisch ungünstige Faktoren sind ein bulbärer Beginn, weibliches Geschlecht, später Erkrankungsbeginn und ein kurzes Intervall zwischen Erstsymptomen und Diagnosestellung (del Aguila et al. 2003).

## **1.2 Neuropathologische Stadieneinteilung der ALS**

Im Jahre 2013 definierten Brettschneider und Kollegen vier neuropathologische Stadien der ALS basierend auf dem spezifischen Verteilungsmuster von phosphoryliertem TDP-43 (pTDP-43) (Brettschneider et al. 2013). pTDP-43 ist ein hoch konserviertes und weit verbreitetes RNA-Bindungs-Protein und gehört zur Familie der Ribonukleoproteine (Lee et al. 2012). Histopathologisch ist die ALS durch das Auftreten von pTDP-43 Einschlüssen in ausgewählten Nerven- und Gliazellen des zentralen Nervensystems definiert (Kwong et al. 2007). Postmortem wurden die Gehirne von 76 ALS Patienten untersucht und ein sequentielles, regionales Ausbreitungsmuster der pTDP-43 Einschlüsse identifiziert. Somit konnten anhand dieses sequentiellen Musters folgende, sich sukzessive ausbreitende, Stadien definiert werden:

- Stadium 1: Agranulärer Motorcortex, motorische Kerne im Hirnstamm der Hirnnerven V, VII und XII,  $\alpha$ -Motoneurone des Rückenmarks.
- Stadium 2: Präfrontaler Neocortex (Gyrus frontalis medialis), Formatio reticularis des Hirnstamms, präcerebelläre Kerne, Nucleus ruber.
- Stadium 3: Präfrontaler (Gyrus rectus, Gyrus orbitalis) und postcentraler Neocortex, Striatum
- Stadium 4: Anteromedialer Anteil des Temporallappens einschließlich der hippocampalen Formation.

Es wird angenommen, dass das Fortschreiten vieler neurodegenerativer Erkrankungen durch fehlgefaltete unlösliche Proteinaggregationen bedingt ist. Für das Krankheitsbild der ALS sind pTDP-43 Aggregationen charakteristisch (Brettschneider et al. 2015). Die Art des Ausbreitungsmusters ist konsistent mit der Verteilung der pTDP-43 Pathologie, ausgehend von corticofugalen Neuronen via axonalen Transports über synaptische Kontakte zum Rückenmark und anderen Regionen des Gehirns (Braak et al. 2013).

Es konnte mittels DTI ein *in vivo* Transfer der neuropathologischen Stadieneinteilung gezeigt werden (Kassubek et al. 2014). Bei 111 ALS Patienten wurde hierbei eine DTI-basiertes fiber tracking durchgeführt und mittels einer tract-of-interest (TOI) basierten Methode untersucht. Die beteiligten Faserbahnen der weißen Substanz, korrespondierend zu dem autoptisch im Rahmen des Stagings identifizierten spezifischen Verteilungsmuster von pTDP-43, wurden analysiert. So wurde entsprechend dem neuropathologischen Stadium 1 der corticospinale Trakt, entsprechend dem neuropathologischen Stadium 2 der corticorubrale und corticopontine Trakt, entsprechend dem neuropathologischen Stadium 3 der corticostriatale Trakt und entsprechend dem neuropathologischen Stadium 4 der proximale Anteil des Perforanttraktes untersucht. Das sequentielle Ausbreitungsmuster der TDP-43 Pathologie konnte so anhand der Abnahme der FA in den den einzelnen Stadien zugeordneten Faserbahnen dargestellt werden. Es konnte eine signifikante Korrelation der individuellen Stadien mit der Krankheitsdauer sowie dem klinischen Schweregrad (ALS Functional Rating Scale Revised, ALS-FRS-R) gezeigt werden (Kassubek et al. 2014). Mittels dieser TOI-basierten Auswertungsmethode ist eine individuelle Analyse der vordefinierten

Traktstrukturen möglich, so dass das Krankheitsstadium der ALS abgebildet werden kann und eine individuelle *in vivo* Kategorisierung möglich ist.

### **1.3 Bildgebende Verfahren bei Amyotropher Lateralsklerose**

Derzeit liegt der größte Stellenwert der Magnetresonanztomographie im diagnostischen Algorithmus der ALS darin, symptomatische Ursachen der Beschwerden auszuschließen (Kiernan et al. 2011). Dazu zählen vor allem cervikale Myelopathien, deren Symptome einer beginnenden ALS ähnlich sein können. Obwohl der Nachweis von Hyperintensitäten des Tractus corticospinalis in der konventionellen MRT Bildgebung und ein T2 hypointenser Rand des Gyrus präcentralis den Verdacht des Vorliegens einer Motoneuronenerkrankung stützen können, ist dies nicht ausreichend zur Diagnosesicherung (Filippi et al. 2010). Aktuell haben strukturelle und funktionelle Bildgebungstechniken noch keinen Stellenwert in der klinischen Diagnosestellung oder Verlaufskontrolle von Motoneuronenerkrankungen. Jedoch sollten die Erkenntnisse, welche durch diese Techniken gewonnen werden, in klinische Studien integriert werden, um weitere Einblicke in die Pathophysiologie der Erkrankung zu bekommen (Filippi et al. 2010). Insgesamt kann aber heute durch multiparametrische Anwendungsmöglichkeiten der MRT eine größere Rolle zugeschrieben werden, insbesondere in Bezug auf extramotorische Beteiligung. Die MRT Bildgebung stellte einen potentiellen diagnostischen, prognostischen und therapeutischen Biomarker dar (Turner & Modo, 2010).

Zu den derzeit vielversprechendsten Techniken der strukturellen und funktionellen Bildgebung zählen Diffusion Tensor Imaging (DTI), Voxel-Based Morphometrie (VBM) und funktionelles resting state MRT (rs-fMRT) (Filippi et al. 2015; Turner et al. 2011)

#### **1.3.1 Strukturelle Bildgebung**

Mittels struktureller Bildgebung lässt sich auf Grundlage der unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften verschiedener Gewebearten wie grauer Substanz, weißer Substanz oder cerebrospinaler Flüssigkeit ein statisches Bild der physikalischen Struktur des Gehirns abbilden.

### Voxel-basierte Morphometrie (VBM)

Die VBM dient zur Darstellung und Analyse neuroanatomischer Unterschiede des Gehirns, indem das gesamte Hirnvolumen auf Voxel-Ebene auf Anteile von grauer und weißer Substanz überprüft wird. Bei ALS Patienten konnten mittels VBM Volumenänderungen sowohl in klassischen motorischen Arealen (primär motorischer Cortex, corticospinaler Trakt) als auch in nicht-motorischen Arealen, wie dem Temporallappen und präfrontalen Regionen (Filippini et al. 2010; Grosskreutz et al. 2006; Kassubek et al. 2005) dargestellt werden. Des Weiteren zeigen ALS Patienten mit Merkmalen einer frontotemporalen Lobärdegeneration oft eine deutliche frontotemporale Atrophie (Chang et al. 2005).

### Diffusion Tensor Imaging (DTI)

Eine robuste Methode der (mikro-)strukturellen Bildgebung zur *in vivo* Analyse der weißen Substanz ist die DTI (Müller et al. 2011). Diese Technik basiert auf Diffusionsbewegungen von Wassermolekülen, welche durch lokale Gewebeeigenschaften beeinflusst werden. Anhand der Richtungsabhängigkeit (Anisotropie) der Wassermoleküle werden Faserbahnen und somit Informationen über die strukturelle Konnektivität sichtbar. Als Fraktionelle Anisotropie (FA) wird die Integration aller Eigenvektoren bezeichnet. Sie ist in geschädigtem neuronalen Gewebe reduziert (Müller & Kassubek, 2013). Vor über 10 Jahren wurde DTI bei ALS Patienten das erste Mal angewandt (Ellis et al. 1999). Am weitest häufigsten erfolgte bisher *in vivo* Darstellung des Tractus corticospinalis (Kassubek et al. 2012; Turner & Modo, 2010). Es wurde gezeigt, dass ALS Patienten von gesunden Kontrollpersonen auf Basis einer Veränderung der FA unterschieden werden können (Grosskreutz et al. 2008). Auch eine Beteiligung des Corpus callosum konnte dargestellt werden (Bartels et al. 2008; Sach et al. 2004). Insbesondere stellen sich im Motorsegment des Corpus callosum Motoneuronenerkrankung-assoziierte Veränderungen dar (Filippini et al. 2010; Müller & Kassubek, 2013). Darüber hinaus scheint das Corpus callosum eine Schlüsselstruktur des regionalen Degenerationsmusters bei Motoneuronenerkrankungen zu sein, welche insbesondere das erste Motoneuron (hereditäre spastische Parese, primäre Lateralsklerose) betreffen (Kassubek et al. 2007; Unrath et al. 2010).

### 1.3.2 Funktionelle Bildgebung

Um 1970 wurden Methoden (Positronen-Emissions-Tomographie, Single-Photon Emission Computer Tomographie) entwickelt, welche die Messung der Stoffwechselaktivität des Gehirns ermöglichen. Änderungen der Stoffwechselaktivität treten als Folge des Energieverbrauchs im Rahmen neuronaler Aktivität auf. Mittels der in Neunzigerjahren entwickelten funktionellen MRT (fMRT) können physiologische Veränderungen nicht nur anhand der Stoffwechselaktivität, sondern auch anhand des Blutflusses gemessen werden. Die Veränderungen des Blutflusses spiegeln sich im BOLD-Effekt (Blood-Oxygenation-Level-Dependent) wider (Kwong et al. 1992). So konnte in verschiedenen auf motorischen Aufgaben basierenden Studien gezeigt werden, dass im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen bei ALS Patienten eine verstärkte neuronale Aktivierung auftritt. Eine verstärkte prämotorische, supplementärmotorische und cerebelläre Aktivität wurde im Rahmen aufgabenbasierter Studien mit Fingerbeugung und sequentiellm Fingertippen beobachtet (Han & Ma, 2006; Konrad et al. 2002). Wurden ALS Patienten aufgefordert, sich Bewegungen vorzustellen, zeigte sich im Vergleich zu Gesunden eine verstärkte Aktivierung höherer bewegungsassoziierter kognitiver Areale, insbesondere Areale der Bewegungskontrolle und motorischen Vorstellung (Lulé et al. 2007). Zusammenfassend zeigt sich in funktionellen, auf motorischen Aufgaben basierenden MRT Studien eine Ausbreitung der Aktivität auf prämotorische Areale sowie auf übergeordnete motorische Regionen (Turner et al. 2012).

Eine weitere Methode der funktionellen Bildgebung ist die aufgabenunabhängige „resting state“ fMRT (rs-fMRT). Mittels rs-fMRT konnte eine zeitliche Korrelation der niedrigfrequenten ( $<0,1$  Hz) spontanen BOLD Fluktuationen gezeigt werden (Biswal et al. 1995), deren Korrelationsstärke als Maß für die funktionelle Konnektivität interpretiert wird. Die Analyse der funktionellen Konnektivität im Ruhezustand des Gehirns ermöglichte große Fortschritte hinsichtlich des Verständnisses der komplexen Interaktionen innerhalb neuronaler Netzwerke. Funktionelle Veränderungen werden in einem größeren Umfang dargestellt und somit die Abbildung der ALS Pathogenese als Modell ermöglicht (Turner et al. 2011). In einer ersten rs-fMRT Studie bei ALS zeigte sich eine Abnahme der funktionellen Konnektivität innerhalb des default-mode und sensomotorischen Netzwerks (Mohammadi et al. 2009). In einer darauffolgenden region-of-interest basierten Studie stellte sich eine funktionelle Abkopplung korrespondierender

Bereiche des linken und rechten primärmotorischen Cortex dar (Jelsone-Swain et al. 2010). Da eine funktionelle Konnektivitätsreduktion in folgenden Studien nicht gezeigt wurde, wird dies kontrovers diskutiert. Insbesondere methodische Ansätze bezüglich der rs-fMRT Datenanalyse werden hierfür als ursächlich angesehen (Agosta et al. 2011). In weiteren Studien zeigte sich eine Zunahme der funktionellen Konnektivität vor allem im Bereich des primären sensomotorischen und prämotorischen Kortex, sowie im anterioren und motorischen Bereich des Cingulums und paracingulären Gebieten, im frontalen und zentralen Operculum, im inferioren Parietallappen, im Thalamus, im frontalen Augenfeld und dorsolateralen präfrontalen Cortex (Agosta et al. 2011; Douaud et al. 2011).

#### **1.4 Fragestellung und Zielsetzung**

Das sequentielle Ausbreitungsmuster der TDP-43 Pathologie konnte postmortem in 4 Stadien eingeteilt werden (Brettschneider et al. 2013). Derartige Staging Protokolle können unser Verständnis der Krankheitsprogression der ALS verbessern (Braak et al. 2013). Ein Transfer dieser neuropathologischen Erkenntnisse auf *in vivo* Techniken ist notwendig, da somit ein *in vivo* Monitoring des Krankheitsverlaufes ermöglicht werden kann (Kassubek et al. 2014) und anhand bildmorphologischer Veränderungen die Möglichkeit einer Patientenkategorisierung gegeben ist. Ein großes Potential hierfür liegt in den verschiedenen nicht invasiven Bildgebungstechniken. Mittels DTI konnte dieser *in vivo* Transfer bereits gezeigt werden (Kassubek et al. 2014).

Ziel dieser Arbeit ist es, die funktionelle Konnektivität innerhalb intrinsischer funktioneller Konnektivitätsnetzwerke zu untersuchen. Des Weiteren soll untersucht werden, wie sich die intrinsische funktionelle Konnektivität im longitudinalen Studiendesign verhält. Hierzu wurde ein Kollektiv von 71 ALS Patienten und 28 gesunden Kontrollpersonen (Querschnittsdesign (n=99): 71 Patienten, 28 Probanden; Longitudinaldesign (n= 42): 14 Patienten, 28 Probanden) untersucht.

## **2 Patienten und Methoden**

### **2.1 Patienten- und Probandenkollektiv**

Tabelle 1 zeigt klinische und demographische Daten von 71 ALS Patienten und 28 gesunden Kontrollpersonen, die in die Studie eingeschlossen wurden. Bei 71 ALS Patienten mit sporadischer Form einer klinisch definitiven oder wahrscheinlichen ALS entsprechend der revidierten El Escorial Kriterien, welche sich im Zeitraum von 8/2012 bis 8/2014 in stationärer oder ambulanter Behandlung der Neurologischen Universitätsklinik Ulm befanden, erfolgte eine initiale (baseline) MRT Bildgebung. Das Durchschnittsalter betrug 58 Jahre. Die Krankheitsdauer lag zum Zeitpunkt der Untersuchung bei 19 Monaten, der ALS-FRS-R bei 40. Bei 14 Patienten dieses Kollektivs wurde nach 5 Monaten eine zweite Messung (follow-up) durchgeführt. In dieser Subgruppe lag das Durchschnittsalter zum Zeitpunkt der ersten Messung bei 61 Jahren, zum Zeitpunkt der zweiten Messung bei 61 Jahren. Die Krankheitsdauer betrug zum Zeitpunkt der ersten Untersuchung 30 Monate, zum Zeitpunkt der zweiten Untersuchung 35 Monate. Der durchschnittliche ALS-FRS-R lag bei der ersten Messung bei 39, bei der zweiten Messung bei 36 (vgl. Tabelle 2).

Zum Vergleich diente eine Gruppe von 28 gesunden Probanden. Das Durchschnittsalter lag bei 55 Jahren. Ausschlusskriterien waren das Vorliegen anderer neurodegenerativer Erkrankungen, psychiatrische Vorerkrankungen sowie vaskuläre, entzündliche oder neoplastische Veränderungen des Gehirns.

Patienten und Probanden gaben nach ausführlicher Aufklärung über den Untersuchungsablauf einschließlich MRT ihr schriftliches Einverständnis. Die Studie wurde genehmigt durch die Ethikkommission der Universität Ulm (Referenz Ethikantrag Nummer 19/12).

**Tabelle 1: Übersicht Patienten- und Probandenkollektiv (n=99). Dargestellt sind Mittelwerte ( $\pm$  Standardabweichungen). Abkürzungen: N/A, Not Applicable, ALS-FRS-R, ALS Functional Rating Scale Revised.**

Gesamtkollektiv	Patienten	Probanden
Anzahl, n	71	28
Geschlecht, (weiblich/männlich)	32/39	13/15
Alter, Jahre	58 ( $\pm$ 13)	54 ( $\pm$ 12)
Krankheitsdauer, Monate	19 ( $\pm$ 15)	N/A
ALS-FRS-R	39 ( $\pm$ 6)	N/A

**Tabelle 2: Übersicht Patientensubkollektiv (n=42). Dargestellt sind Mittelwerte ( $\pm$  Standardabweichungen). Abkürzungen: N/A, Not Applicable, ALS-FRS-R, ALS Functional Rating Scale Revised.**

Subkollektiv	Patienten, 1.Messung	Patienten, 2. Messung	Probanden
Anzahl, n	14	14	28
Geschlecht, (weiblich/männlich)	6/8	6/8	13/15
Alter, Jahre	61 ( $\pm$ 7)	61 ( $\pm$ 7)	54 ( $\pm$ 12)
Krankheitsdauer, Monate	30 ( $\pm$ 23)	35 ( $\pm$ 22)	N/A
ALS-FRS-R	39 ( $\pm$ 6)	36 ( $\pm$ 6)	N/A
Zeitraum bis follow-up, Monate	N/A	5 ( $\pm$ 1)	N/A

## 2.2 Datenakquisition

Die MRT Untersuchungen wurden an einem 3.0 Tesla Magnetresonanztomographen (Magnetom Allegra SyngoMR A30, Siemens, Erlangen, Germany) durchgeführt. Die Untersuchung erfolgte nach einem standardisierten Messprotokoll, welches in Tabelle 3 aufgeführt ist. Es beinhaltete eine BOLD sensitive MRT Sequenz (T2\*) sowie eine T1-gewichtete 3D ‚magnetization prepared gradient echo image‘ Sequenz (MPRAGE). Die Patienten und Probanden wurden aufgefordert, sich nicht zu bewegen, die Augen geschlossen zu halten ohne einzuschlafen.

**Tabelle 3: Magnetresonanztomographie (MRT) Protokolle. Abkürzungen: rs-fMRT, resting state fMRT; MPRAGE, Magnetization –Prepared Gradient Echo Image; EP, Echo Planar Imaging; BOLD, Blood-Oxygenation-Level Dependent; TR, Time Repetition; TE, Time to Echo; FoV, Field of View**

	rs-fMRT	MPRAGE
<b>Sequenz</b>	EPI BOLD ( $T_2^*$ )	$T_1$
<b>Orientierung</b>	transversal	sagittal
<b>Schichten, n</b>	30	176
<b>Distanzfaktor / %</b>	25	50
<b>Schichtdicke / mm</b>	4	1
<b>Flipwinkel / °</b>	90	9
<b>Voxelgröße / mm</b>	3,0 x 3,0 x 4,0	1,0 x 1,0 x 1,0
<b>TR / ms</b>	2000	2300
<b>TE / ms</b>	30	2,86
<b>Matrix / rows x columns x slices</b>	64 x 64 x 30	256 x 240 x 176
<b>FoV / mm</b>	192 x 192 x 149	256 x 240 x 176
<b>Slice Averages, n</b>	1	1
<b>Wiederholungen, n</b>	300	1
<b>Akquisitionsdauer / min</b>	10:04	9:14
<b>Bandbreite / Hz/Pixel</b>	1954	240
<b>EPI Faktor, n</b>	64	N/A

## 2.3 Datenvorverarbeitung und -nachbearbeitung

Zur Datenverarbeitung und statistischen Analyse wurde die Software *Tensor Imaging and Fiber Tracking* (TIFT) (Gorges et al. 2014; Müller et al. 2007) verwendet .

### 2.3.1 Datenvorverarbeitung

Die Datenvorverarbeitung beinhaltet eine standardisierte Abfolge verschiedener Schritte (Lee et al. 2013; Van Dijk et al. 2010; Whitwell et al. 2011, Gorges et al. 2014): Hierzu gehörte eine Bewegungskorrektur, Abstratenkonvertierung (Resampling) auf ein 1mm Gitternetz, stereotaktische Normalisierung in den Standardraum des Montreal Neurological Institute (MNI) (Brett et al. 2002), räumliches Glätten mittels eines dreidimensionalen Gaußfilters (7mm Full-Width-Half-Maximum), zeitliche lineare Grundlinienegalisierung und zeitlicher Breitbandfilter. Zudem wurden die ersten 15 der 200 Volumen entfernt. Zur Qualitätssicherung fand eine visuelle Inspektion aller Volumen der Echo Planar Imaging (EPI) und MPRAGE Bilder statt.

### Bewegungskorrektur

Durch eine 3-dimensionale Bewegungskorrektur in alle Freiheitsgrade lieferte die Scanner Software (syngoMRVA30A, Siemens, Erlangen, Germany) bereits bewegungskorrigierte Daten. Die bewegungskorrigierten Rohdaten (Digital Imaging and Communications in Medicine – DICOM files) wurden für die weitere Vorverarbeitung genutzt.

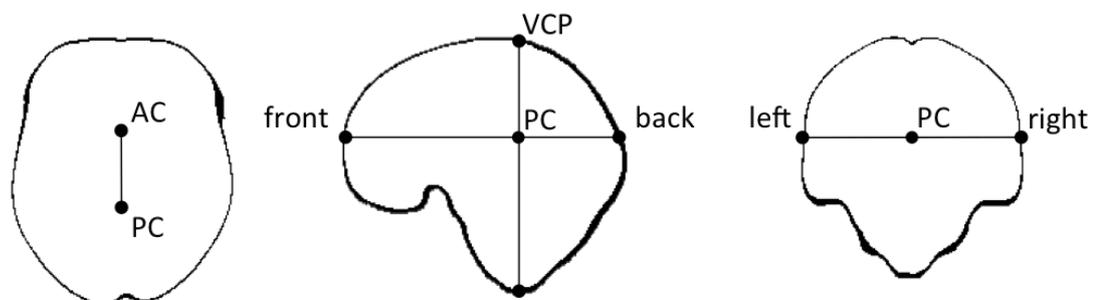
### Abtastratenkonvertierung (Resampling) auf ein kubisches 1mm Gitternetz

Die Daten wurden von der  $3 \times 3 \times 4 \text{ mm}^3$  Messvoxelgröße in kubisches 1mm Gitternetz ( $256 \times 256 \times 256$  Matrix) konvertiert. So fand eine Umsetzung von einer niedrigeren Abtastrate auf eine höhere Abtastrate (Upsampling) statt. Dies wurde bereits in früheren Studien durchgeführt (Müller & Kassubek, 2013).

### Stereotaktische Normalisierung

Die Normalisierung der EPI Bilder ( $1,0 \times 1,0 \times 1,0 \text{ mm}^3$ ) auf den stereotaktischen Standardraum des MNI (Brett et al. 2002) wurde anhand einer bereits beschriebenen Vorgehensweise in 2 Schritten durchgeführt (Müller et al. 2007). Zuerst wurden 8 Landmarken in das erste Volumen des EPI Datensatzes jedes Patienten bzw. Probanden gesetzt und durch einen neuroanatomisch versierten Physiker überprüft. Die Landmarken wurden in die anteriore Kommissur, die posteriore Kommissur, obere Vertikale durch die posteriore Kommissur, untere Vertikale durch die posteriore Kommissur, verlängerte vordere Verbindung von der anterioren zur posterioren Kommissur, verlängerte hintere Verbindung von der anterioren zur posterioren Kommissur, verlängerte Verbindung von der posterioren Kommissur zur linken Hemisphärgrenze, verlängerte posteriore Kommissur zur rechten Hemisphärgrenze gesetzt (Abbildung 1). Anhand der Koordinaten dieser Landmarken wurde eine lineare Transformation aller 6 Freiheitsgrade (x,y,z, pitch, roll, yaw) auf den MNI Raum ausgeführt. Dieses Vorgehen wurde auf alle Probanden-/Patientendatensätze angewandt, um durch arithmetisches Mitteln der Voxelintensität aller MNI transformierten EPI Bilder ein EPI Template zu berechnen. In einem zweiten Schritt wurden die einzelnen EPI Daten auf das studienspezifische Template normalisiert (Müller et al. 2007). So wurde sichergestellt, dass gleiche anatomische Strukturen an denselben Koordinaten liegen und der Vergleich interindividueller Daten ermöglicht. Zur Qualitätssicherung wurde die MNI

Normalisierung durch Überlagerung der EPI (erstes Volumen der Datenserie) eines jeden Teilnehmers der Studie mit dem Colin Gehirn überprüft (Holmes et al. 1998). Als quantitatives Maß wurde in einem zweiten Schritt der Pearson's Produkt Korrelationskoeffizient (Lee & Nicewander, 1988) zwischen jedem einzelnen EPI Bild (erstes Volumen der Datenserie) und dem EPI Template berechnet. Stellte sich anhand visueller Inspektion oder eines Korrelationskoeffizienten  $r < 0,8$  eine inakzeptable Normalisierung dar, wurden die Landmarken für den entsprechenden Datensatz präzisiert. Auf die anatomisch hochauflösenden MPRAGE Bilder wurde dasselbe Vorgehen angewandt, um die Darstellung von Ergebnissen auf einem morphologischen Hintergrund zu ermöglichen.



**Abbildung 1:** Schematische Darstellung der 8 Landmarken, welche in das erste Volumen des EPI Datensatzes gesetzt wurden. Abkürzungen: AC, Anterior Commissur; PC, Posterior Commissur; VCP, Vertical PC Plane. Nach „H.-P. Müller, J. Kassubek. Multimodal imaging in neurology – special focus on MRI applications and MEG. Synthesis Lectures in Biomedical Engineering #16, Ed. Enderle JD, Morgan & Claypool Publishers 2008; (ISBN paperback: 1-59829-550-0, ebook: 1-59829-551-9)“.

#### Räumliches Glätten, zeitliche lineare Grundlinienegalisierung und zeitliches Bandpassfilter

Das räumliche Glätten erfolgte mit einem dreidimensionalen Gaußfilter, um das Signal-Rausch-Verhältnis zu verbessern (Filterweite: 7mm Full-Width-Half-Maximum).

Zur Eliminierung möglicher linearer Scanner Drifts während der Datenakquisition wurde Voxel-weise über jedem Volumen eine lineare Grundlinienegalisierung (Detrending) durchgeführt (Friman et al. 2004). Da die Frequenzen im Bereich zwischen 0,01 und 0,08 Hz (low frequency fluctuations) des rs-fMRT relevant sind (Lu et al. 2007), wurden die Voxelzeitreihen mit einem Bandpassfilter  $0,01 < f < 0,08$  Hz (van den Heuvel & Hulshoff Pol, 2010; Van Dijk et al. 2010) gefiltert. Die ersten 15 der 200 Volumina wurden aufgrund des Einschwingvorganges des Bandpassfilters und möglicher Scanner Schwingungen zu

Beginn der Datenakquisition verworfen und darüber hinaus dem Patienten bzw. Probanden eine Gewöhnung an die Untersuchungsbedingungen ermöglicht (Song et al. 2011).

### 2.3.2 Berechnung der intrinsischen funktionellen Konnektivitätsnetzwerke

Mittels eines seed-basierten Ansatzes wurden in Übereinstimmung mit bereits erfolgten Studien (Choi et al. 2012; Hacker et al. 2012; Yeo et al. 2011) intrinsische funktionelle Konnektivitätsnetzwerke berechnet.

Das Setzen der Seeds in die graue Substanz des Gehirns erfolgte unter visueller Kontrolle an charakteristische Punkte der Faserbahnen, entsprechend vorheriger Ansätze (Gorges et al. 2015, Gorges et al. 2014).

Die Zeitreihe eines einzigen Voxels wurden extrahiert und mit den Zeitreihen aller anderen Voxel des gesamten Gehirns korreliert, um einen korrespondierenden Korrelationskoeffizienten (r-Wert) für jedes Voxel zu erhalten.

Zur Verbesserung der Normalverteilung der Korrelationskoeffizienten wurde eine Voxel-basierte Fisher's z-Transformation (Silver & Dunlap, 1987) mit daraus resultierenden  $z(r)$  Werten durchgeführt. Zu jedem Voxel korrespondiert ein  $z(r)$  Wert, welcher die Konnektivitätsstärke in Bezug auf das Seed-Voxel des jeweiligen Netzwerkes widerspiegelt. Mittels Voxel-weiser arithmetischer Mittelung der  $z(r)$  Werte wurden die intrinsischen Konnektivitätsnetzwerke auf Gruppenniveau für  $z(r) \geq 0,4$  (Gorges et al. 2015; Hyde & Li, 2014) dargestellt.

Die den funktionellen Netzwerken (Motornetzwerk, Frontoparietales Netzwerk, Hirnstammnetzwerk, Basalgangliennetzwerk, Hippocampales Netzwerk) zugrundeliegende Struktur wurde mittels DTI entsprechend den neuropathologischen Stadien wie folgt festgelegt: Neuropathologisches Stadium 1 (DTI: corticospinaler Trakt) neuropathologisches Stadium 2 (DTI: corticopontiner und corticorubraler Trakt) neuropathologisches Stadium 3 (DTI: corticostriataler Trakt) und neuropathologisches Stadium 4 (DTI: proximaler Anteil des Perforantpfades). Als Referenznetzwerk wurde in Rücksprache mit Herrn Prof. Braak das visuelle Netzwerk festgelegt (siehe Tabelle 4).

**Tabelle 4: Intrinsische funktionelle Konnektivitätsnetzwerke mit zugehörigen Seed Koordinaten (Seed Voxel 1,0 x 1,0 x 1,0 mm im stereotaktischen Raum des Montreal Neurological Institute (MNI).**

<b>Funktionelles Netzwerk</b>	<b>Seed Koordinaten (MNI, x/y/z)</b>
<b>Motornetzwerk</b>	<b>-25/-37/65</b>
<b>Frontoparietales Netzwerk</b>	<b>-40/26/44</b>
<b>Hirnstammnetzwerk</b>	<b>2/-28/-20</b>
<b>Basalgangliennetzwerk</b>	<b>18/5/18</b>
<b>Hippocampales Netzwerk</b>	<b>-24/-11/-22</b>
<b>Visuelles Referenznetzwerk</b>	<b>-16/-108/-12</b>

### Statistische Methoden

Die statistische Analyse der klinischen und demographischen Daten der Probanden und Patienten wurden mit der „Statistics toolbox“, welche von MATLAB® (The Mathworks Inc, Natick, Massachusetts, USA) bereitgestellt wird, durchgeführt.

Die intrinsischen funktionellen Konnektivitätsdaten wurden statistisch mittels des Softwarepaketes TIFT (Müller et al. 2007; Müller & Kassubek, 2013; Unrath et al. 2010) analysiert. Die Auswertung der intrinsischen funktionellen Konnektivität basiert auf Gorges et al. (Gorges et al., 2015, Gorges et al. 2014). Ein zweiseitiger parametrischer Student-t-Test für gleiche Varianzen (Ruxton, 2006) wurde durchgeführt, um mögliche Gruppenunterscheide für die einzelnen Netzwerke zwischen gesunden Kontrollpersonen und ALS Patienten zu erfassen. Mit Hilfe der False Discovery Rate (FDR) wurden die resultierenden p-Werte für multiple Vergleiche korrigiert (Genovese et al. 2002). Das Signifikanzniveau lag bei  $p < 0,05$ . Um den alpha Fehler zu verringern, erfolgte eine weitere Korrektur für multiple Vergleiche, indem eine parametrische korrelationsbasierte Gruppierung durchgeführt wurde. Isolierte Cluster, welche nicht das Minimum von 343 mm<sup>3</sup> Auflösung erreichten, wurden gelöscht. Kleinere (Radius < 3mm) unter dem Signifikanzniveau liegende Areale wurden nicht berücksichtigt.

### **3 Ergebnisse**

#### **3.1 Funktionelle Konnektivitätsnetzwerke und Gruppenvergleich im Querschnitt**

Analog zu den vier neuropathologischen Stadien wurden seed-basiert sechs intrinsische funktionelle Konnektivitätsnetzwerke sowohl für das Kontrollkollektiv (Abbildung 2 bis Abbildung 7, linke Spalte) als auch für das Patientenkollektiv (Abbildung 2 bis Abbildung 7, mittlere Spalte) identifiziert. Zudem erfolgte die Berechnung des Gruppenvergleichs zwischen ALS Patienten und gesunden Kontrollen (Abbildung 2 bis Abbildung 7, rechte Spalte). Im Vergleich mit gesunden Kontrollen zeigten die ALS Patienten ein ausgedehntes Muster erhöhter funktioneller Konnektivität (Hyperkonnektivität) in allen Netzwerken, mit Ausnahme des Referenznetzwerkes. Die Hyperkonnektivität fand sich zum einen innerhalb der Netzwerke, zum anderen zeigte sich auch eine Ausdehnung in benachbarte Areale.

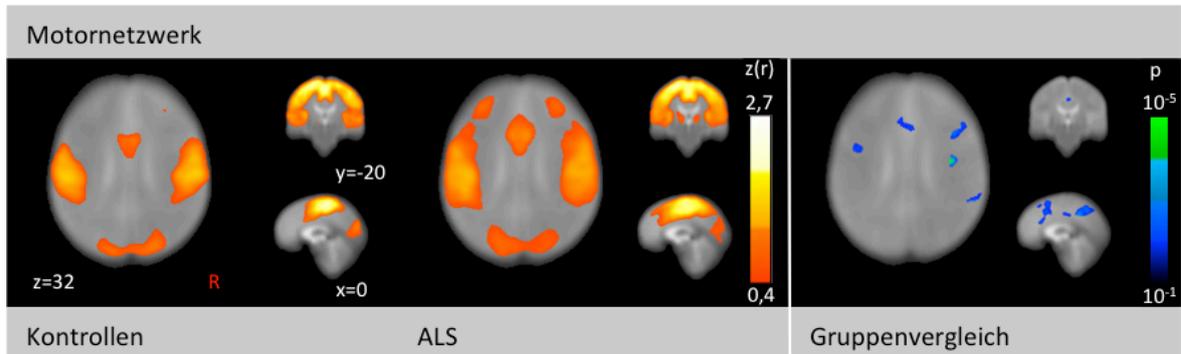
##### **3.1.1 Motornetzwerk**

Das Motornetzwerk bei gesunden Kontrollen (Abbildung 2, linke Spalte) zeigte eine nahezu symmetrische bihemisphärische Aktivität des primärmotorischen Cortex einschließlich prä- und supplementärmotorischer Areale sowie somatosensorischer Areale. Des Weiteren fand sich eine Aktivität im visuellen Assoziationscortex des Occipitallappens und im anterioren Cingulum.

Das Motornetzwerk bei ALS Patienten (Abbildung 2, mittlere Spalte) zeigte eine deutliche Ausdehnung der Aktivität in frontale und postcentrale Areale im Vergleich zum Motornetzwerk der gesunden Kontrollen. Diese Aktivität bezog Teile des präfrontalen Cortex mit ein, welche im engeren Sinne den dorsolateralen präfrontalen Cortex und eine ausgeprägte Aktivität im anterioren Cingulum umfassen. Die Aktivität des visuellen Assoziationscortex stellte sich ausgeprägter dar. Darüber hinaus fand sich eine bihemisphärische Aktivität im Bereich der Basalganglien.

Im Gruppenvergleich zwischen ALS Patienten und gesunden Kontrollen (Abbildung 2, rechte Spalte) stellten sich Hyperkonnektivitäten im Bereich des anterioren Cortex, des

anterioren Cingulums sowie postcentraler und präcentraler Areale dar. Die signifikanten Cluster des Gruppenvergleichs zwischen ALS Patienten und gesunden Kontrollen im Motornetzwerk sind in Tabelle 5 dargestellt.



**Abbildung 2: Motornetzwerk.** Links: gesunde Kontrollen. Mitte: Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose (ALS). Die Stärke der Konnektivität ist dargestellt in warmen Farben, Schwellenwert  $z(r) \geq 0,4$  Rechts: Gruppenvergleich zwischen ALS Patienten und gesunden Kontrollen, korrigiert für multiple Vergleiche ( $p < 0,05$ ). Dargestellt in kalten Farben sind t-Werte als Zeichen verstärkter funktioneller Konnektivität im Gruppenvergleich zwischen ALS Patienten und gesunden Kontrollen. Schnittebenen sind dargestellt im standardisierten stereotaktischen Raum des Montreal Neurological Institute (MNI). Abkürzungen: R, rechts ; ALS, Amyotrophe Lateralsklerose.

**Tabelle 5: Motornetzwerk.** Signifikante Cluster der intrinsischen funktionellen Konnektivitätsnetzwerke des Gruppenvergleichs zwischen Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose und gesunden Kontrollen. Koordinaten des Montreal Neurological Institute (MNI) korrespondieren zur maximalen Wahrscheinlichkeit. Abkürzungen: R, rechts; L, links; V, Volumen.

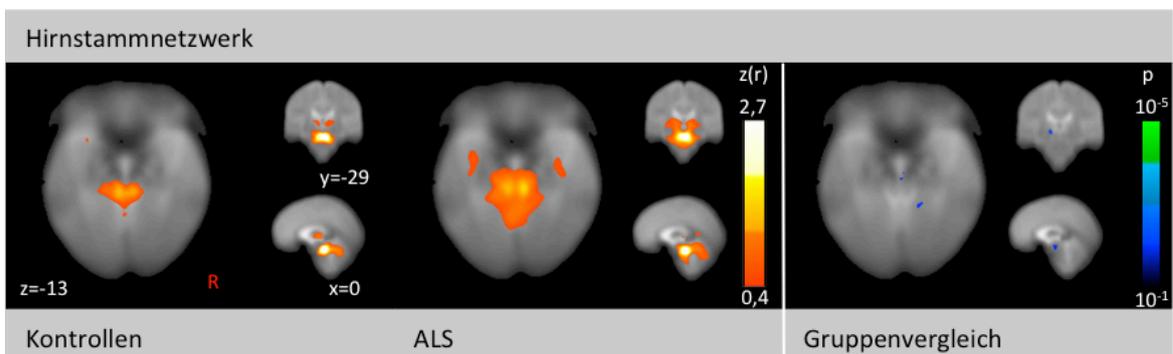
	R/L	MNI			Cluster		REGION
		x	y	z	V/mm3	p	
Motornetzwerk	L	-10	18	46	13669	$<10^{-5}$	Gyrus cinguli
	R	6	-49	40	7231	$<10^{-5}$	Gyrus cinguli
	R	37	3	51	3611	$<10^{-5}$	Gyrus frontalis medialis
	L	-37	4	42	2327	$<10^{-5}$	Gyrus frontalis medialis
	R	39	-13	34	1054	$<10^{-6}$	Gyrus präcentralis
	R	49	8	2	1043	$<10^{-4}$	Insula
	R	60	-47	27	1012	$<10^{-5}$	Gyrus supramarginalis
	L	-60	-56	22	843	$<10^{-5}$	Gyrus supramarginalis
	-	-1	-23	41	505	$<10^{-4}$	Gyrus cinguli
	R	12	-13	11	445	$<10^{-4}$	Thalamus
	R	40	12	32	428	$<10^{-5}$	Gyrus frontalis medialis
	L	-48	-4	19	416	$<10^{-4}$	Gyrus präcentralis
	R	33	-14	21	404	$<10^{-4}$	Insula

### 3.1.2 Hirnstammnetzwerk

Das Hirnstammnetzwerk bei gesunden Kontrollen (Abbildung 3, linke Spalte) zeigt Aktivitäten im Mesencephalon, im Bereich pontiner Areale sowie bihemisphärisch im Bereich der Basalganglien, der Pedunculi cerebelli und des Vermis cerebelli.

Das Hirnstammnetzwerk bei ALS Patienten (Abbildung 3, mittlere Spalte) zeigte im Vergleich zu gesunden Kontrollen eine Ausdehnung der Aktivität im Bereich des Hirnstammes auf mesencephale Areale sowie in den Bereich der Medulla oblongata. Darüber hinaus fand sich neben einer deutlicheren bihemisphärischen Aktivität der Basalganglien eine Ausbreitung der Aktivität temporal beidseits sowie in den Lobus cerebelli anterior.

Im Gruppenvergleich zwischen ALS Patienten und gesunden Kontrollen (Abbildung 3, rechte Spalte) stellte sich eine Hyperkonnektivität im Bereich des ventralen Tegmentums und der Basalganglien links dar. Die signifikanten Cluster des Gruppenvergleichs zwischen ALS Patienten und gesunden Kontrollen im Hirnstammnetzwerk sind in Tabelle 6 dargestellt.



**Abbildung 3: Hirnstammnetzwerk.** Links: gesunde Kontrollen. Mitte: Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose (ALS). Die Stärke der Konnektivität ist dargestellt in warmen Farben, Schwellenwert  $z(r) \geq 0,4$  Rechts: Gruppenvergleich zwischen ALS Patienten und gesunden Kontrollen, korrigiert für multiple Vergleiche ( $p < 0,05$ ). Dargestellt in kalten Farben sind t-Werte als Zeichen verstärkter funktioneller Konnektivität im Gruppenvergleich zwischen ALS Patienten und gesunden Kontrollen. Schnittebenen sind dargestellt im standardisierten stereotaktischen Raum des Montreal Neurological Institute (MNI). Abkürzungen: R, rechts ; ALS, Amyotrophe Lateralsklerose.

**Tabelle 6: Hirnstammnetzwerk. Signifikante Cluster der intrinsischen funktionellen Konnektivitätsnetzwerke des Gruppenvergleichs zwischen Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose und gesunden Kontrollen. Koordinaten des Montreal Neurological Institute (MNI) korrespondieren zur maximalen Wahrscheinlichkeit. Abkürzungen: R, rechts; L, links; V, Volumen.**

Hirnstammnetzwerk	R/L	MNI			Cluster		REGION
		x	y	z	V/mm <sup>3</sup>	p	
	L	-31	-56	-21	437	<10 <sup>-4</sup>	Declive
	R	21	-48	-16	369	<10 <sup>-4</sup>	Culmen
	R	31	-47	-27	361	<10 <sup>-5</sup>	Culmen
	-	0	-19	-14	358	<10 <sup>-4</sup>	Mittelhirn

### 3.1.3 Frontoparietales Netzwerk

Das frontoparietale Netzwerk bei gesunden Kontrollen (Abbildung 4, linke Spalte) zeigte eine bihemisphärisch nahezu symmetrische Aktivität frontaler und parietaler Areale, die im Speziellen neben dem dorsolateralen präfrontalen Cortex den anterioren präfrontalen Cortex, Anteile des anterioren Cingulums sowie den inferioren Parietallappen umfassten. Des Weiteren stellte sich eine bilaterale Aktivität der Basalganglien dar.

Das frontoparietale Netzwerk bei ALS Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen (Abbildung 4, mittlere Spalte) zeigte eine Ausdehnung der bihemisphärischen Aktivität frontaler als auch parietaler Areale auf Anteile des motorischen Netzwerkes sowie in präfrontale Areale. Diese können als superiore Anteile des primärmotorischen Cortex sowie Anteile des prä- und supplementärmotorischen Cortex angesehen werden. Die Ausdehnung nach frontal umfasste dorsolaterale und mediale präfrontale Areale sowie Teile des dorsalen anterioren Cingulums. Darüberhinaus fand sich auch eine Aktivität im posterioren Cingulum.

Im Gruppenvergleich zwischen ALS Patienten und gesunden Kontrollen (Abbildung 4, rechte Spalte) zeigte sich eine Hyperkonnektivität im Bereich des posterioren Cingulums sowie des anterioren präfrontalen Cortex. Signifikante Cluster des Gruppenvergleichs zwischen ALS Patienten und gesunden Kontrollen im frontoparietalen Netzwerk sind in Tabelle 7 dargestellt.

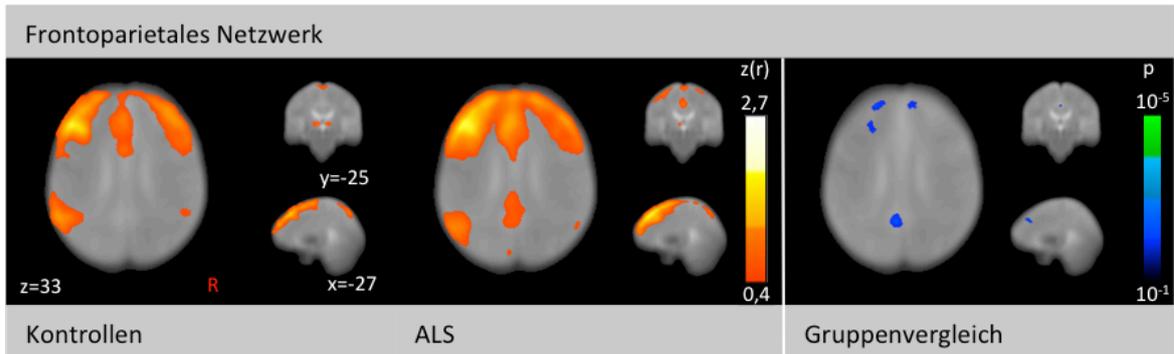


Abbildung 4: Frontoparietales Netzwerk. Links: gesunde Kontrollen. Mitte: Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose (ALS). Die Stärke der Konnektivität ist dargestellt in warmen Farben, Schwellenwert  $z(r) \geq 0,4$  Rechts: Gruppenvergleich zwischen ALS Patienten und gesunden Kontrollen, korrigiert für multiple Vergleiche ( $p < 0,05$ ). Dargestellt in kalten Farben sind t-Werte als Zeichen verstärkter funktioneller Konnektivität im Gruppenvergleich zwischen ALS Patienten und gesunden Kontrollen. Schnittebenen sind dargestellt im standardisierten stereotaktischen Raum des Montreal Neurological Institute (MNI). Abkürzungen: R, rechts ; ALS, Amyotrophe Lateralsklerose.

Tabelle 7: Frontoparietales Netzwerk. Signifikante Cluster der intrinsischen funktionellen Konnektivitätsnetzwerke des Gruppenvergleichs zwischen Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose und gesunden Kontrollen. Koordinaten des Montreal Neurological Institute (MNI) korrespondieren zur maximalen Wahrscheinlichkeit. Abkürzungen: R, rechts; L, links; V, Volumen.

Frontoparietales Netzwerk	R/L	MNI			Cluster		REGION
		x	y	z	V/mm3	p	
	L	-9	39	16	3079	$<10^{-5}$	Anteriores Cingulum
L	-31	33	39	1917	$<10^{-4}$	Gyrus frontalis medialis	
R	7	43	40	1296	$<10^{-4}$	Gyrus frontalis medialis	
L	-8	-2	69	456	$<10^{-4}$	Gyrus frontalis superior	
-	-4	-56	31	444	$<10^{-4}$	Precuneus	
L	-42	11	47	390	$<10^{-4}$	Gyrus frontalis medialis	

### 3.1.4 Basalgangliennetzwerk

Das Basalgangliennetzwerk bei gesunden Kontrollen (Abbildung 5, linke Spalte) zeigte eine starke bihemisphärische Aktivität im Bereich der Basalganglien.

Das Basalgangliennetzwerk bei ALS Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen (Abbildung 5, mittlere Spalte) zeigte eine Ausdehnung der Aktivität in frontale und parietale Areale sowie eine verstärkte Aktivität der Basalganglien, zudem in den dorsolateralen präfrontalen Cortex, das frontale Augenfeld sowie das anteriore Cingulum.

Im Gruppenvergleich zwischen ALS Patienten und gesunden Kontrollen (Abbildung 5, rechte Spalte) stellen sich Hyperkonnektivitäten im Bereich des anterioren Cingulums und

Gyrus cinguli dar. Signifikante Cluster des Gruppenvergleichs zwischen ALS Patienten und gesunden Kontrollen im Basalgangliennetzwerk sind in Tabelle 8 dargestellt.

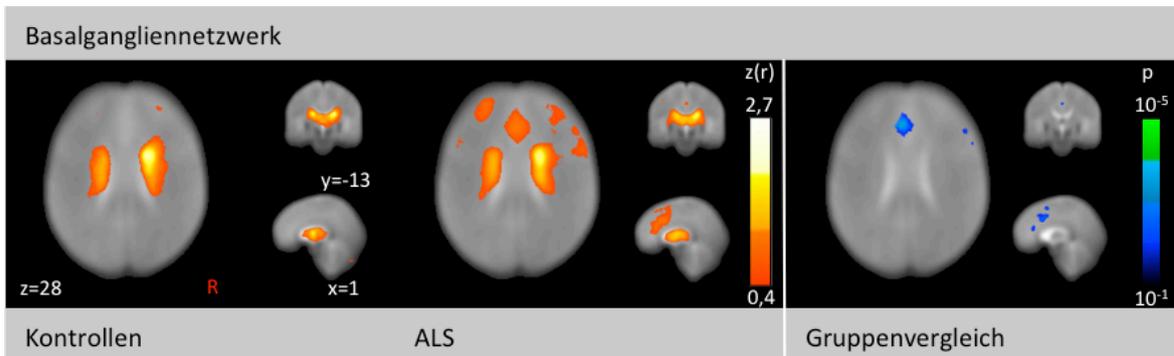


Abbildung 5: Basalgangliennetzwerk. Links: gesunde Kontrollen. Mitte: Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose (ALS). Die Stärke der Konnektivität ist dargestellt in warmen Farben, Schwellenwert  $z(r) \geq 0,4$  Rechts: Gruppenvergleich zwischen ALS Patienten und gesunden Kontrollen, korrigiert für multiple Vergleiche ( $p < 0,05$ ). Dargestellt in kalten Farben sind t-Werte als Zeichen verstärkter funktioneller Konnektivität im Gruppenvergleich zwischen ALS Patienten und gesunden Kontrollen. Schnittebenen sind dargestellt im standardisierten stereotaktischen Raum des Montreal Neurological Institute (MNI). Abkürzungen: R, rechts ; ALS, Amyotrophe Lateralsklerose.

Tabelle 8: Basalgangliennetzwerk. Signifikante Cluster der intrinsischen funktionellen Konnektivitätsnetzwerke des Gruppenvergleichs zwischen Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose und gesunden Kontrollen. Koordinaten des Montreal Neurological Institute (MNI) korrespondieren zur maximalen Wahrscheinlichkeit. Abkürzungen: R, rechts; L, links; V, Volumen.

	R/L	MNI			Cluster		REGION
		x	y	z	V/mm3	p	
Basalgangliennetzwerk	-	-4	28	16	12007	$<10^{-5}$	Anteriores Cingulum
	R	46	21	36	2466	$<10^{-4}$	Gyrus frontalis medialis
	-	1	-36	47	2192	$<10^{-5}$	Precuneus
	R	40	-63	-49	766	$<10^{-5}$	Lobus semilunaris inferior
	L	-52	14	32	594	$<10^{-4}$	Gyrus frontalis medialis
	R	50	-9	44	524	$<10^{-5}$	Gyrus präcentralis
	L	-39	-31	10	448	$<10^{-5}$	Gyrus temporalis transversus

### 3.1.5 Hippocampales Netzwerk

Die Darstellung des hippocampalen Netzwerkes bei gesunden Kontrollen (Abbildung 6, linke Spalte) zeigte eine bihemisphärische Aktivität des medialen Temporallappens, welche Bereiche der inferioren, mittleren und superioren temporalen Areale umfasste.

Das hippocampale Netzwerk bei ALS Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen (Abbildung 6, mittlere Spalte) zeigte eine stärkere Aktivität des medialen

Temporallappens mit Ausdehnung auf den temporalen Pol, darüberhinaus im Bereich des Thalamus.

Im Gruppenvergleich zwischen ALS Patienten und gesunden Kontrollen (Abbildung 6, rechte Spalte) stellten sich Hyperkonnektivitäten im Bereich des medialen Temporallappens dar, welche sich auf Mittelhirnstrukturen und cerebelläre Areale ausbreiteten. Signifikante Cluster des Gruppenvergleichs zwischen ALS Patienten und gesunden Kontrollen im hippocampalen Netzwerk sind in Tabelle 9 dargestellt.

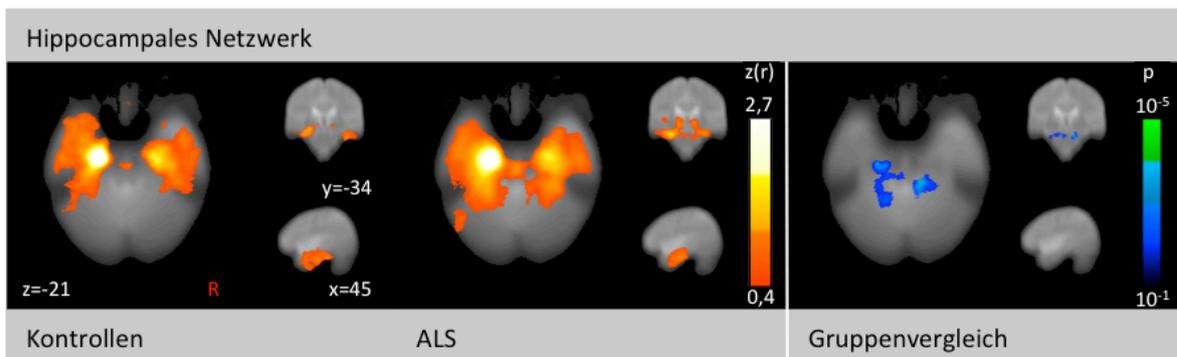


Abbildung 6: Hippocampales Netzwerk. Links: gesunde Kontrollen. Mitte: Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose (ALS). Die Stärke der Konnektivität ist dargestellt in warmen Farben, Schwellenwert  $z(r) \geq 0,4$  Rechts: Gruppenvergleich zwischen ALS Patienten und gesunden Kontrollen, korrigiert für multiple Vergleiche ( $p < 0,05$ ). Dargestellt in kalten Farben sind t-Werte als Zeichen verstärkter funktioneller Konnektivität im Gruppenvergleich zwischen ALS Patienten und gesunden Kontrollen. Schnittebenen sind dargestellt im standardisierten stereotaktischen Raum des Montreal Neurological Institute (MNI). Abkürzungen: R, rechts ; ALS, Amyotrophe Lateralsklerose.

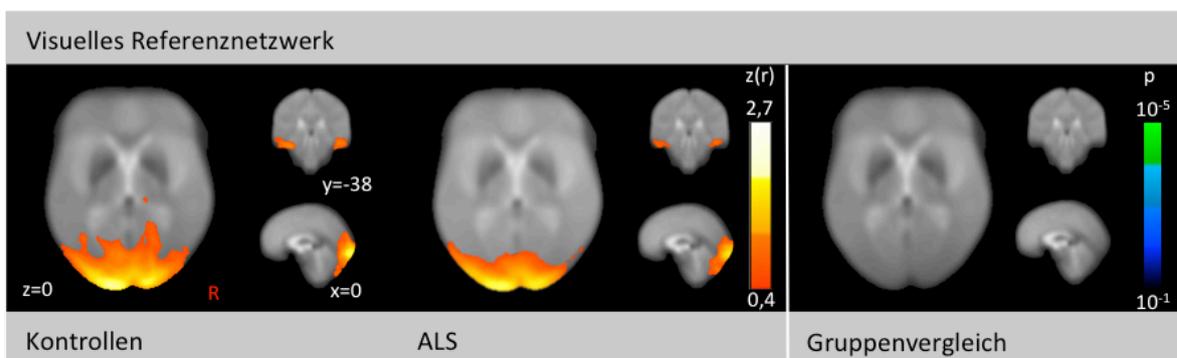
Tabelle 9: Hippocampales Netzwerk. Signifikante Cluster der intrinsischen funktionellen Konnektivitätsnetzwerke des Gruppenvergleichs zwischen Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose und gesunden Kontrollen. Koordinaten des Montreal Neurological Institute (MNI) korrespondieren zur maximalen Wahrscheinlichkeit. Abkürzungen: R, rechts; L, links; V, Volumen.

Hippocampales Netzwerk	R/L	MNI			Cluster		REGION
		x	y	z	V/mm3	p	
	-	-5	-62	-15	6392	$<10^{-4}$	Culmen
	R	7	-41	-16	4652	$<10^{-5}$	Mesencephalon
	R	6	-60	18	587	$<10^{-4}$	Posteriores Cingulum
	L	-16	-18	-6	366	$<10^{-5}$	Mesencephalon

### 3.1.6 Visuelles Referenznetzwerk

Das visuelle Referenznetzwerk bei gesunden Kontrollen (Abbildung 7, linke Spalte) zeigte eine nahezu bihemisphärisch symmetrische Aktivität im Bereich des Occipitallappens, welche sich aus dem primär visuellen Cortex, dem sekundär visuellen Cortex und dem visuellen Assoziationscortex zusammensetzt. Zudem zeigte sich eine schwächer ausgeprägte cerebelläre intrinsische Aktivität.

Im Gruppenvergleich zwischen ALS Patienten und gesunden Kontrollen (Abbildung 7, rechte Spalte) zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den intrinsischen Konnektivitätsnetzwerken bei Kontrollen und Patienten.



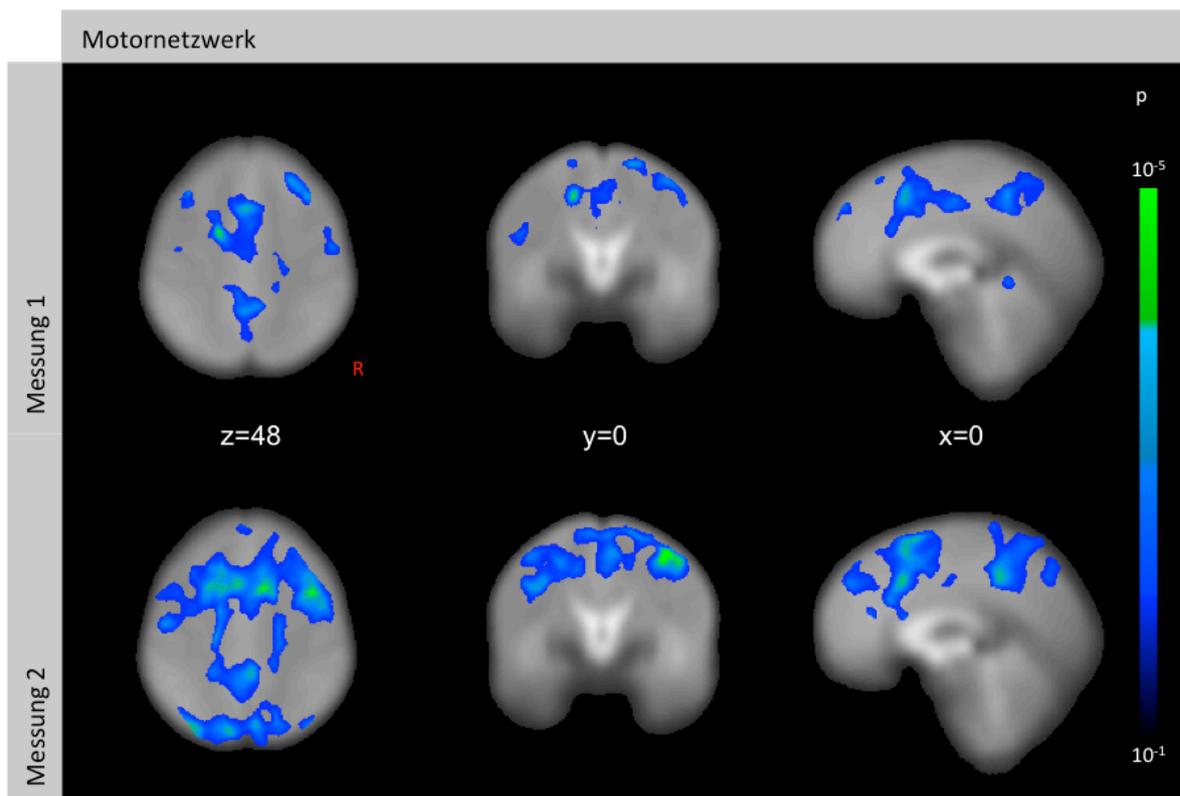
**Abbildung 7: Visuelles Referenznetzwerk.** Links: gesunde Kontrollen. Mitte: Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose (ALS). Die Stärke der Konnektivität ist dargestellt in warmen Farben, Schwellenwert  $z(r) \geq 0,4$  Rechts: Gruppenvergleich zwischen ALS Patienten und gesunden Kontrollen, korrigiert für multiple Vergleiche ( $p < 0,05$ ). Dargestellt in kalten Farben sind t-Werte als Zeichen verstärkter funktioneller Konnektivität im Gruppenvergleich zwischen ALS Patienten und gesunden Kontrollen. Schnittebenen sind dargestellt im standardisierten stereotaktischen Raum des Montreal Neurological Institute (MNI). Abkürzungen: R, rechts ; ALS, Amyotrophe Lateralsklerose.

## 3.2 Funktionelle Konnektivitätsnetzwerke im Gruppenvergleich longitudinal

Bei einer Subgruppe von 14 Patienten wurden im longitudinalen Design zu zwei Messpunkten MRT Daten akquiriert (baseline und follow up nach fünf Monaten). Auch hier zeigten sich im Gruppenvergleich der fünf intrinsischen Konnektivitätsnetzwerke (ohne Referenznetzwerk) Hyperkonnektivitäten, welche sich sowohl als verstärkte Konnektivität innerhalb der Netzwerke als auch in benachbarten Strukturen darstellen. Die Hyperkonnektivitäten stellten sich am zweiten Messpunkt deutlich ausgeprägter dar.

### 3.2.1 Motornetzwerk longitudinal

Abbildung 8 bis Abbildung 13 zeigt den Gruppenvergleich an zwei Messpunkten (baseline und follow-up). Korrespondierend hierzu sind in Tabelle 10 bis Tabelle 14 die signifikanten Cluster des Gruppenvergleichs zwischen ALS Patienten an 2 Messpunkten (baseline und follow up) dargestellt. Zum Zeitpunkt der ersten Messung fanden sich Hyperkonnektivitäten im Bereich parietaler, prä- und supplementärmotorischer Areale sowie unilateral im Bereich des dorsolateralen präfrontalen Cortex. Zum Zeitpunkt der Messung 2 stellte sich ein deutlich ausgeprägteres Muster an Hyperkonnektivität dar, welches sich auf ausgedehntere parietale, supplementär- und prämotorische Areale sowie jetzt bihemisphärisch auf den dorsolateralen präfrontalen Cortex bezieht.



**Abbildung 8: Motornetzwerk, Gruppenvergleich longitudinal, korrigiert für multiple Vergleiche ( $p < 0,05$ ). Dargestellt in kalten Farben sind positive t-Werte als Zeichen verstärkter funktioneller Konnektivität im Gruppenvergleich zwischen Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose und gesunden Kontrollen. Schnittebenen sind dargestellt im standardisierten stereotaktischen Raum des Montreal Neurological Institute (MNI). Abkürzungen: R, rechts.**

**Tabelle 10: Motornetzwerk. Signifikante Cluster der intrinsischen funktionellen Konnektivitätsnetzwerke des Gruppenvergleichs zwischen Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose an zwei Messzeitpunkten (Messung 1, Messung 2) und gesunden Kontrollen. Koordinaten des Montreal Neurological Institute (MNI) korrespondieren zur maximalen Wahrscheinlichkeit. Abkürzungen: R, rechts; L, links; V, Volumen.**

	R/L	MNI			Cluster		REGION
		x	y	z	V/mm <sup>3</sup>	p	
<b>Motornetzwerk</b>	<b>Messung 1</b>						
	L	-18	-3	48	23659	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus cinguli
	-	-2	-52	48	6318	<10 <sup>-5</sup>	Precuneus
	R	35	18	49	4296	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus frontalis medialis
	R	58	-50	39	1711	<10 <sup>-4</sup>	Inferiorer Parietallappen
	R	51	7	17	1242	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus frontalis inferior
	L	-35	19	50	1018	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus frontalis medialis
	L	-51	-9	18	878	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus präcentralis
	L	-44	8	3	526	<10 <sup>-4</sup>	Insula
	R	21	-23	44	459	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus cinguli
	-	-1	-52	-4	438	<10 <sup>-4</sup>	Culmen
	L	-44	-12	55	428	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus präcentralis
	-	0	47	41	416	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus frontalis medialis
	<b>Messung 2</b>						
	-	-5	-62	-15	6392	<10 <sup>-4</sup>	Culmen
	R	7	-41	-16	4652	<10 <sup>-5</sup>	Mesencephalon
R	6	-60	18	587	<10 <sup>-4</sup>	Posteriores Cingulum	
L	-16	-18	-6	366	<10 <sup>-5</sup>	Mesencephalon	

### 3.2.2 Hirnstammnetzwerk longitudinal

Zum Zeitpunkt der ersten Messung stellen sich schwache Hyperkonnektivitäten unilateral parietal, im Bereich der Commissura anterior sowie der Basalganglien und des Gyrus temporalis medius dar. Zum Zeitpunkt der zweiten Messung zeigt sich eine ausgedehntere Hyperkonnektivität unilateral parietal sowie bilateral im Gyrus temporalis medialis. Darüber hinaus finden sich Hyperkonnektivitäten im Bereich des dorsalen Thalamus, des Spleniums des Corpus Callosums sowie bihemisphärisch im Bereich der Basalganglien (vgl. Abbildung 9).

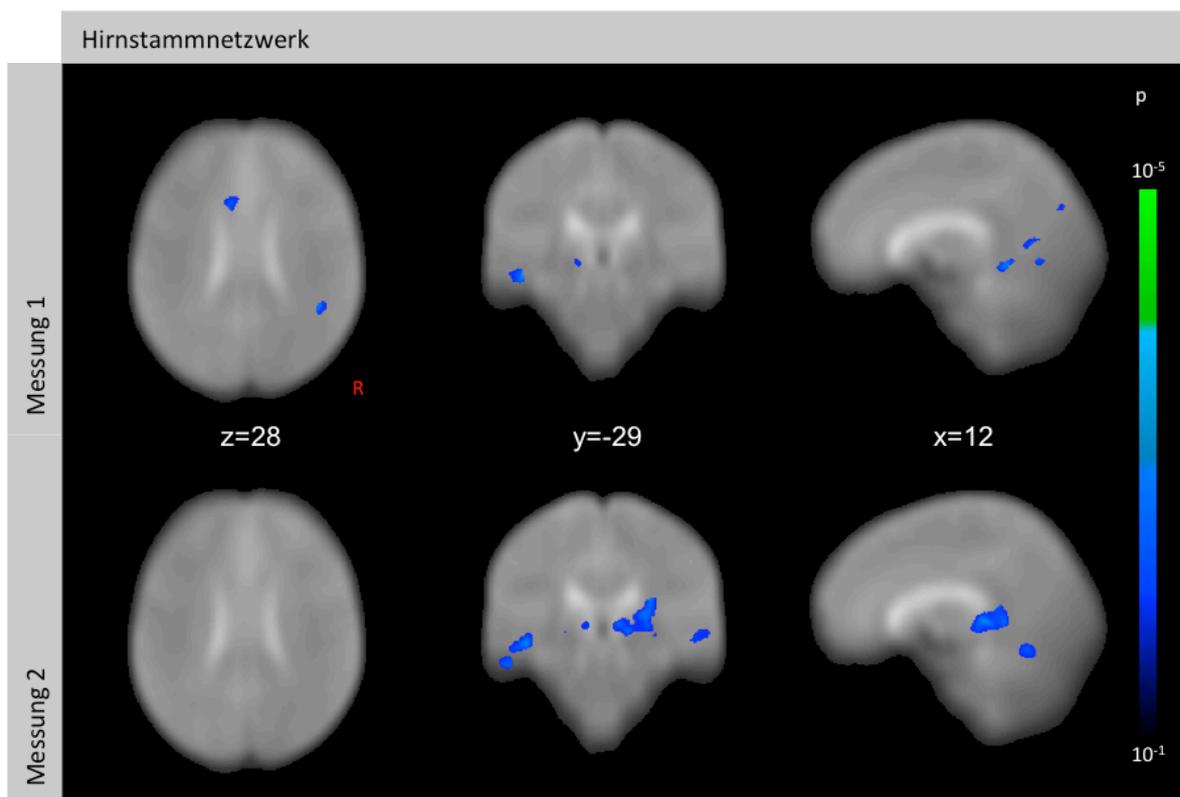


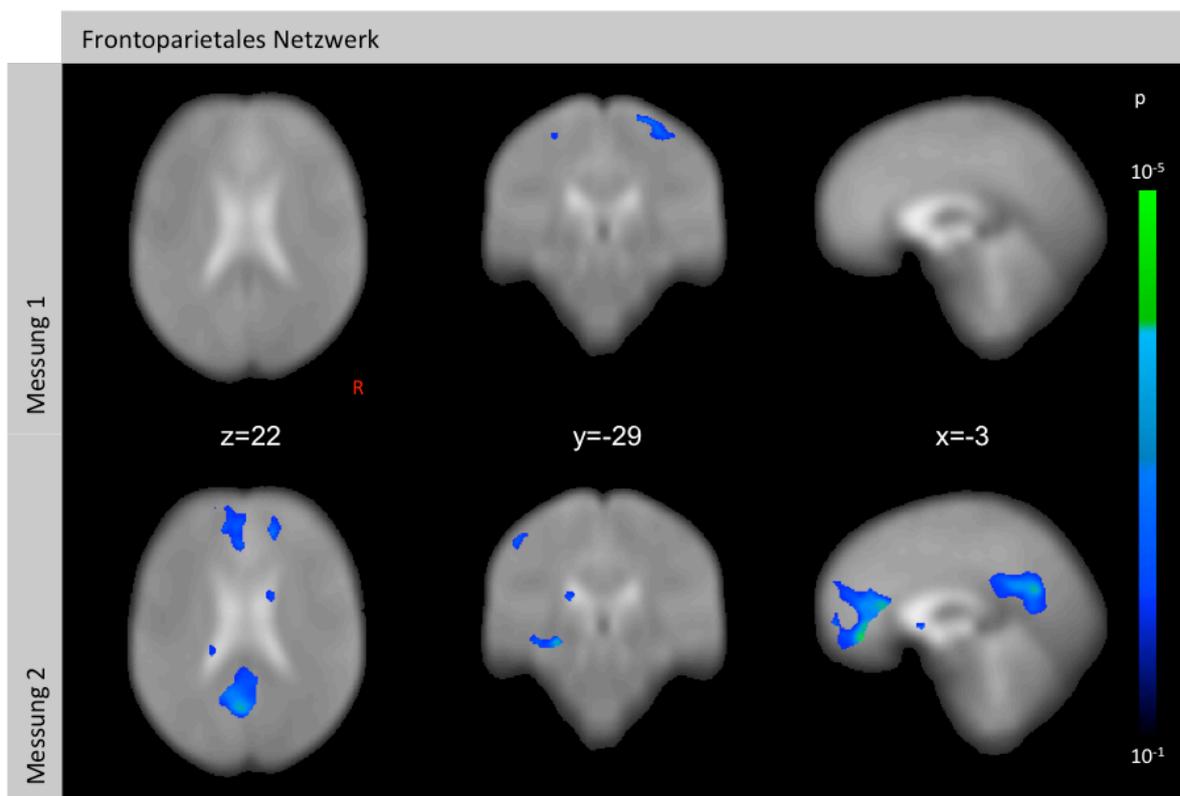
Abbildung 9: Hirnstammnetzwerk, Gruppenvergleich longitudinal, korrigiert für multiple Vergleiche ( $p < 0,05$ ). Dargestellt in kalten Farben sind positive t-Werte als Zeichen verstärkter funktioneller Konnektivität im Gruppenvergleich zwischen Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose und gesunden Kontrollen. Schnittebenen sind dargestellt im standardisierten stereotaktischen Raum des Montreal Neurological Institute (MNI). Abkürzungen: R, rechts.

**Tabelle 11: Hirnstammnetzwerk. Signifikante Cluster der intrinsischen funktionellen Konnektivitätsnetzwerke des Gruppenvergleichs zwischen Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose an zwei Messzeitpunkten (Messung 1, Messung 2) und gesunden Kontrollen. Koordinaten des Montreal Neurological Institute (MNI) korrespondieren zur maximalen Wahrscheinlichkeit. Abkürzungen: R, rechts; L, links; V, Volumen.**

	R/L	MNI			Cluster		REGION
		x	y	z	V/mm3	p	
<b>Hirnstammnetzwerk</b>	<b>Messung 1</b>						
	L	-26	-84	-20	6303	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus fusiformis
	R	24	-57	-18	3764	<10 <sup>-5</sup>	Declive
	R	36	-15	-5	2652	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus temporalis superior
	L	-25	-52	-15	2214	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus fusiformis
	L	-56	4	-15	1702	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus temporalis medialis
	R	44	-48	33	1132	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus supramarginalis
	L	-51	-66	-18	1047	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus fusiformis
	L	-52	-48	7	710	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus temporalis medialis
	R	22	-94	-19	678	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus fusiformis
	R	44	29	18	659	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus frontalis medialis
	L	-57	-69	5	596	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus temporalis medialis
	R	10	-65	11	553	<10 <sup>-4</sup>	Posteriores Cingulum
	L	-50	-29	-11	513	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus temporalis medialis
	R	54	-25	-2	449	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus temporalis superior
	L	-12	12	30	400	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus cinguli
	R	33	-88	3	388	<10 <sup>-8</sup>	Gyrus occipitalis medialis
	<b>Messung 2</b>						
	R	39	-55	-16	22269	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus fusiformis
	L	-34	-65	2	17875	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus occipitalis medialis
	-	0	-103	1	3850	<10 <sup>-4</sup>	Cuneus
	R	32	-100	-16	2768	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus occipitalis inferior
	R	54	-7	-3	835	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus temporalis superior
	R	56	-20	14	700	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus postcentralis
	R	24	-59	-53	689	<10 <sup>-5</sup>	Kleinhirntonsille
	L	-19	11	-6	591	<10 <sup>-5</sup>	Nucleus lentiformis
	R	57	-28	-2	574	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus temporalis medialis
	R	40	-18	-17	541	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus parahippocampalis
L	-46	-12	-26	462	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus temporalis medialis	
L	-57	-32	-19	424	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus temporalis medialis	
L	-46	37	-13	369	<10 <sup>-7</sup>	Gyrus frontalis medialis	

### 3.2.3 Frontoparietales Netzwerk longitudinal

Zum Zeitpunkt der ersten Messung fanden sich Hyperkonnektivitäten unilateral in anterioren präfrontalen Arealen, parietal sowie im Hippocampus. Zum Zeitpunkt der Messung 2 stellten sich ausgeprägtere Hyperkonnektivitäten dar, insbesondere im anterioren Cingulum mit deutlicher Ausdehnung nach präfrontal sowie im posterioren Cingulum. Zudem fanden sich Hyperkonnektivitäten unilateral im Hippocampus sowie bilateral parietal (vgl. Abbildung 10).



**Abbildung 10: Frontoparietales Netzwerk, Gruppenvergleich longitudinal, korrigiert für multiple Vergleiche ( $p < 0,05$ ). Dargestellt in kalten Farben sind positive t-Werte als Zeichen verstärkter funktioneller Konnektivität im Gruppenvergleich zwischen Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose und gesunden Kontrollen. Schnittebenen sind dargestellt im standardisierten stereotaktischen Raum des Montreal Neurological Institute (MNI). Abkürzungen: R, rechts.**

**Tabelle 12: Frontoparietales Netzwerk. Signifikante Cluster der intrinsischen funktionellen Konnektivitätsnetzwerke des Gruppenvergleichs zwischen Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose an zwei Messzeitpunkten (Messung 1, Messung 2) und gesunden Kontrollen. Koordinaten des Montreal Neurological Institute (MNI) korrespondieren zur maximalen Wahrscheinlichkeit. Abkürzungen: R, rechts; L, links; V, Volumen.**

	R/L	MNI			Cluster		REGION
		x	y	z	V/mm3	p	
<b>Frontoparietales Netzwerk</b>	<b>Messung 1</b>						
	R	27	-30	69	1225	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus präcentralis
	L	-27	-51	8	444	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus parahippocampalis
	<b>Messung 2</b>						
	-	-1	38	-5	15460	<10 <sup>-5</sup>	Anteriores Cingulum
	-	-4	-66	23	9678	<10 <sup>-5</sup>	Precuneus
	L	-38	42	-12	3345	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus frontalis medialis
	-	1	1	0	2076	<10 <sup>-5</sup>	Anteriores Cingulum
	L	-28	-31	-8	910	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus parahippocampalis
	R	67	-2	-23	694	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus temporalis medialis
	R	43	24	35	586	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus frontalis medialis
	L	-51	-33	54	411	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus postcentralis
	R	33	25	-10	398	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus frontalis inferior
	R	20	-41	3	391	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus parahippocampalis
	L	-55	-3	33	388	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus präcentralis
	L	-45	11	47	376	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus frontalis medialis
	R	54	25	6	373	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus frontalis inferior
	L	-29	43	0	354	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus frontalis superior

### 3.2.4 Basalgangliennetzwerk longitudinal

Zum Zeitpunkt der ersten Messung fanden sich Hyperkonnektivitäten im anterioren Cingulum, im Gyrus temporalis superior sowie im Bereich der Inselregion. Zum Zeitpunkt der zweiten Messung stellen sich ausgeprägte Hyperkonnektivitäten dar, welche sich im Bereich des anterioren Cingulums, parietaler sowie prä- und supplementärmotorischer Areale sowie im Bereich der Inselregion unilateral betont darstellen (vgl. Abbildung 11).

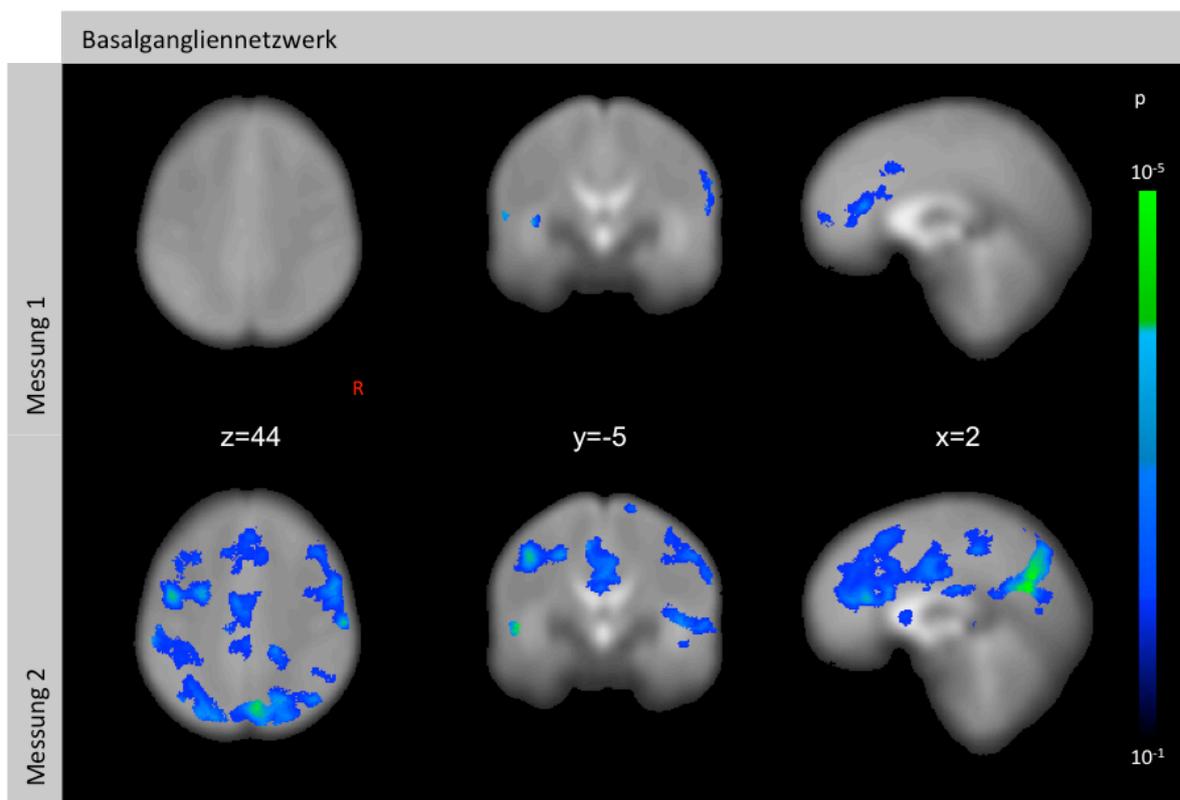


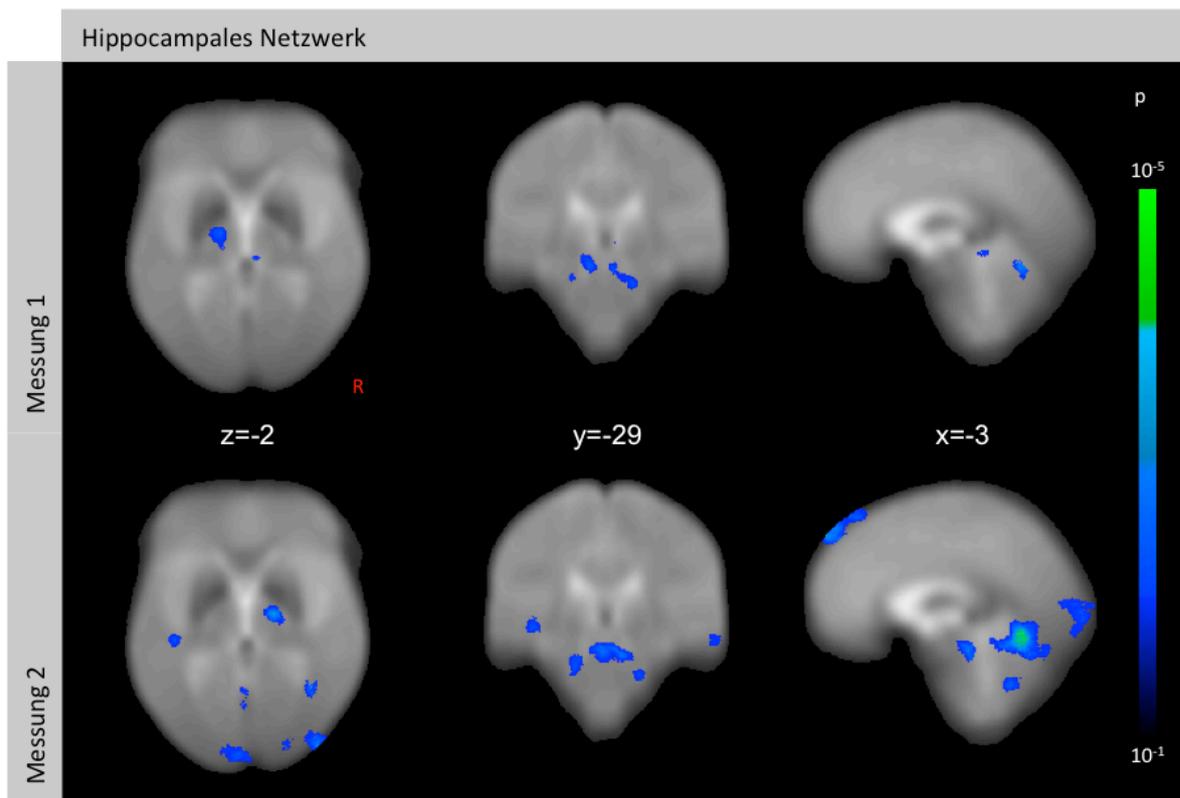
Abbildung 11: Basalgangliennetzwerk, Gruppenvergleich longitudinal, korrigiert für multiple Vergleiche ( $p < 0,05$ ). Dargestellt in kalten Farben sind positive t-Werte als Zeichen verstärkter funktioneller Konnektivität im Gruppenvergleich zwischen Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose und gesunden Kontrollen. Schnittebenen sind dargestellt im standardisierten stereotaktischen Raum des Montreal Neurological Institute (MNI). Abkürzungen: R, rechts.

**Tabelle 13: Basalgangliennetzwerk. Signifikante Cluster der intrinsischen funktionellen Konnektivitätsnetzwerke des Gruppenvergleichs zwischen Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose an zwei Messzeitpunkten (Messung 1, Messung 2) und gesunden Kontrollen. Koordinaten des Montreal Neurological Institute (MNI) korrespondieren zur maximalen Wahrscheinlichkeit. Abkürzungen: R, rechts; L, links; V, Volumen.**

	R/L	MNI			Cluster		REGION
		x	y	z	V/mm <sup>3</sup>	p	
<b>Basalgangliennetzwerk</b>	<b>Messung 1</b>						
	-	-5	31	15	5490	<10 <sup>-5</sup>	Anteriores Cingulum
	L	-7	-97	29	1364	<10 <sup>-5</sup>	Cuneus
	L	-46	-72	3	1266	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus occipitalis medialis
	R	62	-12	15	1128	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus postcentralis
	L	-6	53	9	957	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus frontalis medialis
	L	-27	-51	-7	662	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus parahippocampalis
	R	33	21	-11	633	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus frontalis inferior
	<b>Messung 2</b>						
	-	4	-67	26	45880	<10 <sup>-5</sup>	Precuneus
	L	-31	-47	9	45071	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus temporalis superior
	R	58	-23	41	20836	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus postcentralis
	L	-48	12	22	6052	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus frontalis inferior
	L	-54	-22	1	2197	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus temporalis superior
	R	48	-72	13	1836	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus temporalis medialis
	R	21	-46	47	1757	<10 <sup>-4</sup>	Precuneus
	R	16	-14	75	1639	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus präcentralis
	-	0	-36	47	1550	<10 <sup>-4</sup>	Precuneus
	L	-14	52	20	1453	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus frontalis medialis
	L	-58	36	11	1343	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus frontalis inferior
	R	47	-58	47	1284	<10 <sup>-4</sup>	Lobus parietalis inferior
	R	54	35	7	1000	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus frontalis inferior
	R	33	-42	46	747	<10 <sup>-4</sup>	Lobus parietalis inferior
	L	-63	-35	9	524	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus temporalis superior
	L	-9	13	66	354	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus frontalis superior

### 3.2.5 Hippocampales Netzwerk longitudinal

Zum Zeitpunkt der ersten Messung fanden sich schwache Hyperkonnektivitäten unilateral im Bereich des Thalamus sowie im Lobus cerebelli anterior. Zum Zeitpunkt der zweiten Messung stellten sich deutlichere Hyperkonnektivitäten im Gyrus frontalis superior, Lobus cerebelli anterior, Pons, und Cuneus sowie unilateral im Thalamus und der Inselregion dar (vgl. Abbildung 12).



**Abbildung 12: Hippocampales Netzwerk, Gruppenvergleich longitudinal, korrigiert für multiple Vergleiche ( $p < 0,05$ ). Dargestellt in kalten Farben sind positive t-Werte als Zeichen verstärkter funktioneller Konnektivität im Gruppenvergleich zwischen Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose und gesunden Kontrollen. Schnittebenen sind dargestellt im standardisierten stereotaktischen Raum des Montreal Neurological Institute (MNI). Abkürzungen: R, rechts.**

**Tabelle 14: Hippocampales Netzwerk. Signifikante Cluster der intrinsischen funktionellen Konnektivitätsnetzwerke des Gruppenvergleichs zwischen Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose an zwei Messzeitpunkten (Messung 1, Messung 2) und gesunden Kontrollen. Koordinaten des Montreal Neurological Institute (MNI) korrespondieren zur maximalen Wahrscheinlichkeit. Abkürzungen: R, rechts; L, links; V, Volumen.**

	R/L	MNI			Cluster		REGION
		x	y	z	V/mm <sup>3</sup>	p	
<b>Hippocampales Netzwerk</b>	<b>Messung 1</b>						
	-	0	-43	-5	1193	<10 <sup>-4</sup>	Culmen
	-	-5	-66	-17	908	<10 <sup>-4</sup>	Declive
	L	-15	-16	5	850	<10 <sup>-4</sup>	Thalamus
	L	-26	-80	-24	387	<10 <sup>-4</sup>	Declive
	L	-39	-43	-49	386	<10 <sup>-4</sup>	Kleinhirntonsille
	<b>Messung 2</b>						
	-	-3	-64	-9	15545	<10 <sup>-5</sup>	Culmen
	R	31	31	50	8293	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus frontalis medialis
	-	-5	52	50	6457	<10 <sup>-5</sup>	Gyrus frontalis superior
	R	33	-48	-8	1502	<10 <sup>-5</sup>	Insula
	-	-5	-57	-40	1248	<10 <sup>-4</sup>	Kleinhirntonsille
	R	45	-92	4	691	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus occipitalis medialis
	L	-7	11	71	640	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus frontalis superior
	R	55	-5	54	628	<10 <sup>-4</sup>	Gyrus präcentralis
	R	7	-47	7	527	<10 <sup>-4</sup>	Posteriores Cingulum
	L	-49	-58	-37	526	<10 <sup>-4</sup>	Tuber cerebelli
	R	22	-101	25	455	<10 <sup>-6</sup>	Gyrus occipitalis medialis

## 4 Diskussion

### 4.1 Regionale funktionelle Hyperkonnektivitäten bei der ALS

In dieser Studie zu Korrelaten der Erkrankungsstadien bei ALS in der intrinsischen funktionellen Konnektivitäts-Magnetresonanztomographie zeigen sich in allen untersuchten funktionellen Konnektivitätsnetzwerken Hyperkonnektivitäten. Diese erstrecken sich auf prä- / supplementärmotorische Areale, somatosensorische Areale, anteriore und motorische cinguläre Areale, die Basalganglien, mesiotemporale Areale sowie das ventrale Tegmentum. Die Beobachtung verstärkter kortikaler Aktivität und ausgedehnter Aktivitätsmuster konnte bereits in aufgabenassoziierten und früheren aufgabenfreien funktionellen MRT Studien konsistent gezeigt werden (Agosta et al. 2011; Douaud et al. 2011; Lulé et al. 2009; Turner et al. 2012). Nur in einer Studie zeigte sich in einer früheren Analyse von 5 resting state Netzwerken signifikante Hypokonnektivitäten in 2 der untersuchten Netzwerke (Default Mode und sensomotorisches Netzwerk), in den restlichen Netzwerken (fronto-temporo-parietales, posteriores und ventrales Netzwerk) ließ sich kein signifikanter Unterschied nachweisen (Mohammadi et al. 2009). Die Hypokonnektivitäten können durch die angewendete Methodik der rs-fMRT Analyse oder ein Patientenkollektiv in frühem Krankheitsstadium bedingt sein. Bezüglich der räumlichen Verteilung fanden sich in den unten genannten Studien konsistent mit dieser Arbeit funktionelle Hyperkonnektivitäten im Bereich prä-/supplementärmotorischer, sensomotorischer Regionen und den Basalganglien (Agosta et al. 2011; Douaud et al. 2011). Eine Theorie zur Erklärung der verstärkten intrinsischen funktionellen Konnektivität ist eine (physiologische) kompensatorische bzw. adaptive Reaktion auf einen krankheitsbedingten Verlust struktureller Netzwerkintegrität (Agosta et al. 2011; Douaud et al. 2011). Somit wäre dieser Effekt im Sinne einer sekundären Reorganisation, d.h. als Kompensationsmechanismus in Folge einer strukturellen Degeneration zu werten. Zusätzliche Ressourcen werden durch die Rekrutierung weiterer Gehirnregionen mittels Reorganisation funktioneller Netzwerke bereitgestellt, um bereits betroffene Regionen zu umgehen, bis die neuronale Reserve durch Erreichen eines kritischen Zellverlustes erschöpft ist (Mevel et al. 2011).

In einer weiteren Studie konnte jedoch eine positive Beziehung zwischen funktioneller Konnektivität und Krankheitsprogression gezeigt werden (Verstraete et al. 2010), so dass postuliert werden muss, dass die zunehmende funktionelle Konnektivität eine aktive Rolle in der Pathogenese der ALS einnimmt (Douaud et al. 2011). Bereits 1996 konnte mittels transkranieller Magnetstimulation eine kortikale Übererregbarkeit bei ALS Patienten gezeigt werden (Yokota et al. 1996). In einer longitudinalen Studie mit asymptomatischen Genträgern stellte sich eine Zunahme kortikaler Übererregbarkeit in den Monaten kurz vor Symptombeginn ein (Vucic et al. 2008). Darüber hinaus konnte in einer mit ALS Patienten durchgeführten <sup>11</sup>C-Flumazenil PET Studie eine signifikante Verminderung der Bindung des Gamma-Amino-Buttersäure-Rezeptor-PET-Liganden Flumazenil gezeigt werden (Turner et al. 2005). Die cerebralen Regionen verminderter Flumazenil-Bindung weisen eine regionale Übereinstimmung mit den in dieser Studie dargestellten Hyperkonnektivitäten des Motornetzwerks auf. Unter Berücksichtigung dieser Ergebnisse kann postuliert werden, dass die funktionellen Hyperkonnektivitäten eine Dekompensation der inhibitorischen Einflüsse widerspiegelt (Douaud et al. 2011). Dies stützt die These, dass eine Erkrankung der zentralen Interneurone eine Schlüsselrolle in der Pathogenese der ALS darstellt.

An einem Subkollektiv von 14 Patienten konnten in einem longitudinalen Studienansatz an zwei Messpunkten MRT Daten akquiriert werden (baseline und follow-up im Abstand von fünf Monaten). In diesem Kollektiv zeigt sich in den untersuchten Netzwerken im Gruppenvergleich eine deutliche Zunahme der Hyperkonnektivitäten vom ersten zum zweiten Messpunkt, insbesondere in prä-/supplementärmotorischen, sensomotorischen, temporalen Arealen, im Gyrus cinguli, im Bereich der Insula und den Basalganglien. Dies spiegelt in Form von funktionellen cerebralen Veränderungen die klinische Progression des Krankheitsverlaufes wider. Aktuell existieren wenige longitudinale Studien bei ALS Patienten. Dies ist durch den nicht-linearen, rasch progredienten Krankheitsverlauf und eher späten Studieneinschluss aufgrund der nicht seltenen diagnostischen Latenz zu erklären (Schuster et al. 2015). Das Wissen über progressionsassoziierte Veränderungen innerhalb unterschiedlicher funktioneller Netzwerke während des Krankheitsverlaufes der ALS ist essentiell für das Verständnis der Krankheitsentwicklung und birgt das Potential, funktionelle Bildgebung eventuell in Zukunft als diagnostisches Mittel einzusetzen (Stoppel et al. 2014). Durch den Longitudinalansatz konnten ergänzende

Informationen bezüglich der Entwicklung der funktionellen Hyperkonnektivität im Krankheitsverlauf gewonnen werden.

#### **4.2 Wie sind die funktionellen Veränderungen mit strukturellen Veränderungen assoziiert ?**

In dieser Studie zeigen sich sowohl im Querschnitt- als auch Longitudinalansatz Hyperkonnektivitäten, welche im Krankheitsverlauf zunehmen. Um die Assoziation funktioneller Veränderungen mit strukturellen Veränderungen zu untersuchen, wurden kombinierte MRT Studien durchgeführt. Eine multiparametrische Analyse, welche DTI, Messung der kortikalen Dicke und rs-fMRT kombinierte, zeigte eine Abnahme der strukturellen Integrität motorischer Regionen bei erhaltener funktioneller Organisation des Motornetzwerkes (Verstraete et al. 2010). Es konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen verstärkter funktioneller Konnektivität und zunehmender Krankheitsprogression beobachtet werden. In einer weiteren Studie fand sich eine Assoziation erhöhter funktioneller Konnektivität mit veränderter grauer Substanz in sensomotorischen, prämotorischen, präfrontalen und thalamischen Regionen (Douaud et al. 2011). Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass strukturelle und funktionelle Veränderungen nicht unabhängig voneinander sind, sondern ein assoziierter Pathomechanismus zugrunde liegt. Mittels DTI konnte bei ALS Patienten auf dem Boden neuropathologischer Erkenntnisse ein *in vivo* Monitoring des Krankheitsverlaufes ermöglicht werden (Kassubek et al. 2014). Es ist jedoch deutlich, dass mit Abnahme der strukturellen Konnektivität die funktionelle Konnektivität zunimmt. Offen bleibt, ob die funktionellen Veränderungen den strukturellen vorausgehen oder umgekehrt. Schmidt et al. untersuchten den Zusammenhang struktureller und funktioneller Veränderungen bei ALS Patienten. Es konnte gezeigt werden, dass sich die am stärksten geschädigten strukturellen Verbindungen mit den am stärksten beeinträchtigten funktionellen Verbindungen überschneiden. Eine deutliche Schädigung struktureller und funktioneller Verbindungen konnte insbesondere in geringer topologischer Entfernung zum Motorcortex gezeigt werden (Schmidt et al. 2014). In einer weiteren Arbeit zeigten Schmidt et al., dass die topologische Distanz der Netzwerke zwischen weiter auseinanderliegenden neuropathologischen Stadien zunimmt. Dies lässt auf eine zugrundeliegende Vernetzung der weißen Substanz des Gehirns schließen, welche die Krankheitsausbreitung leitet (Schmidt et al. 2016). Es ist davon auszugehen, dass funktionelle Veränderungen eine

Folge der reduzierten strukturellen Integrität sind und erst auftreten, wenn die Schädigung der weißen Substanz ein gewisses Ausmaß erreicht hat (Schmidt et al. 2014). Dies deckt sich auch mit den von Agosta et al. veröffentlichten Ergebnissen, dass Patienten mit Schädigung des kortikospinalen Traktes als Maß einer strukturellen Schädigung des sensomotorischen Netzwerkes die größte Abnahme funktioneller Konnektivität zeigten (Agosta et al. 2011). Douaud et al. postulierten die These, dass den strukturellen Veränderungen vorausgehende funktionelle Veränderungen den Verlust des inhibitorischen Einflusses widerspiegeln und dass eine zentrale Interneuronopathie eine Schlüsselrolle in der Pathogenese der ALS darstellt (Douaud et al. 2011).

### **4.3 Funktionelle MRT als Biomarker bei ALS: Vorteile und Nachteile**

Die Identifizierung von Biomarkern kann einen wesentlichen Beitrag zur Entwicklung zukünftiger therapeutischer Konzepte bei Erkrankungen wie der ALS leisten (Turner & Benatar, 2015). Die Heterogenität der Erkrankung und die daraus resultierende Variabilität des Phänotyps erschwert es, diagnostische und prognostische Biomarker zu etablieren. Aufgrund ihrer nicht invasiven und strahlenfreien Charakteristika stellt die MRT prinzipiell einen potenten Biomarker dar (Turner et al. 2009). Die rs-fMRT bietet die Möglichkeit, motorische und extra-motorische Veränderungen zu erfassen und möglichst schon frühe bzw. präklinische Veränderungen zu detektieren. Auch hinsichtlich neuer Medikamentenentwicklungen bietet die fMRT die Möglichkeit, den therapeutischen Effekt sogar vor Symptombeginn zu registrieren (Turner & Modo, 2010). Longitudinale Studienansätze sind wichtig zur Beurteilung der Sensitivität der fMRT Bildgebung hinsichtlich der Krankheitsaktivität im Vergleich zu klinischen Parametern wie z.B. dem ALS-FRS-R (Turner et al., 2013). Die mittels longitudinaler fMRT Studien gewonnenen Erkenntnisse über krankheitsassoziierte Veränderungen innerhalb verschiedener funktioneller Systeme sind essentiell für das Verständnis der Entwicklung und des Pathomechanismus dieser Erkrankung. Zudem liegt die Herausforderung für Biomarker in der Bildgebung des Zentralen Nervensystems darin, neben Studien auf Gruppenebene auch Analysen auf Einzelfallniveau zu realisieren. Dies birgt das Potential, die Diagnosestellung zu optimieren, die Patienten prognostisch zu stratifizieren und die Entwicklung therapeutischer Ansätze zu vereinfachen (Turner et al., 2013). Hinsichtlich der Etablierung der intrinsischen fMRT als Biomarker in die klinische Routine ist sicherlich die aufwendige Datenakquisition und -verarbeitung sowie die hohe interindividuelle

Variabilität aktuell noch sehr kritisch zu sehen. Es ist ein höheres Maß der Standardisierung von Datenakquisition und Datennachbearbeitung (Postprocessing) nötig. Chou et al. untersuchten die langfristige Reproduzierbarkeit intrinsischer funktioneller Konnektivitätsnetzwerke. Hier zeigte sich, dass die intraindividuelle Reproduzierbarkeit hoch ist und daher fMRT zum longitudinalen Monitoring hinsichtlich der Krankheitsprogression oder auch hinsichtlich möglicher Therapieeffekte auf Individualniveau einsetzbar ist. Im Gegensatz hierzu war die interindividuelle Variabilität sehr hoch, daher stellte der Einsatz intrinsischer funktioneller Konnektivität als quantitatives Maß im Sinne eines diagnostischen Instrumentes aktuell eine Herausforderung dar (Chou et al. 2012).

#### **4.4 *In-vivo* Staging der ALS mittels MRT**

Bisher liegt die Hauptfunktion der MRT bei ALS darin, im Rahmen der Differenzialdiagnostik die Symptome der Patienten erklärende Pathologien im Bereich des Gehirns oder Rückenmarks auszuschließen. Strukturelle und funktionelle Bildgebungstechniken haben aktuell noch keinen Stellenwert in der Diagnosestellung oder Verlaufskontrolle von Motoneuronenerkrankungen. Brettschneider und Kollegen definierten 2013 vier neuropathologische Stadien, welche anhand eines sequentiellen, regionalen Ausbreitungsmusters von pTDP-43 identifiziert wurden (Brettschneider et al. 2013). Die innerhalb der letzten Jahrzehnte deutlich fortgeschrittene Entwicklung und Anwendung struktureller und funktioneller Bildgebung erlauben es, die neu hinzugewonnen histopathologischen und genetischen Erkenntnisse in einen klinischen Kontext zu bringen (Turner & Verstraete, 2015). Die MRT stellt hierfür aufgrund der guten Verfügbarkeit, Nichtinvasivität sowie Strahlenfreiheit eine geeignete Methode dar. Auf dem Boden des neuropathologisch definierten Ausbreitungsmusters anhand der pTDP-43 Einschlüsse bietet sich die Möglichkeit einer bildgebenden *in vivo* Darstellung der Krankheitsstadien auch in Korrelation zum klinischen Phänotyp. Mittels der strukturellen Bildgebungsmethode DTI konnte bereits ein *in vivo* Transfer der neuropathologischen Stadieneinteilung durchgeführt werden (Kassubek et al. 2014). Es wurde hierbei ein fiber tracking durchgeführt und anhand einer TOI basierten Methode analysiert. Eine neben Gruppen- auch auf Einzelfallniveau durchgeführte Analyse zeigte auch auf Einzelfallniveau eine signifikante Korrelation der individuellen Stadien mit der Krankheitsdauer sowie dem klinischen Schweregrad (ALS-FRS-R). Eine individuelle *in vivo* Kategorisierung ist anhand

dieser Methode möglich und das Krankheitsstadium der ALS kann abgebildet werden. Hier konnte jedoch gezeigt werden, dass sich die funktionellen Veränderungen bei der ALS im Sinne von im Krankheitsverlauf progredienten Hyperkonnektivitäten darstellen und sich auch in Form einer zunehmenden Netzwerkexpansion manifestieren. Auf dem Boden dieser Erkenntnisse lässt sich eine Progression mit zunehmender intrinsischer funktioneller Konnektivität darstellen, jedoch mit dem hier gewählten methodischen Ansatz ohne den für eine Stadieneinteilung notwendigen sequentiellen Charakter im Einzelfall. Die funktionelle Bildgebung birgt insbesondere aufgrund der hohen intraindividuellen Reproduzierbarkeit (Chou et al. 2012) in Form von longitudinalen Untersuchungen großer Patientenkollektive das Potential einer auf Gruppenniveau durchführbaren Stadieneinteilung und somit ein potentielles Readout für klinische Studien.

#### **4.5 Limitationen der Studie**

Ein mittlerer ALS-FRS-R von 40 Punkten (maximal 48 Punkte) zeigt, dass Patienten mit noch moderaten klinischen Beeinträchtigungen an der Studie teilgenommen haben und insbesondere wenige klinisch schwer betroffene Patienten eingeschlossen wurden. Ebenso ist die im longitudinalen Studiendesign untersuchte kleine Patientenzahl (n=14) ein limitierender Faktor. Jedoch sind longitudinale Studien bei ALS Patienten selten und stellen aufgrund des raschen Krankheitsverlaufes und der physischen Belastung während des Untersuchungsvorganges mittels MRT eine Herausforderung dar (Menke et al. 2014). Artefakte bedingt durch die Kopfbewegungen der untersuchten Personen können das rs-fMRT Signal beeinflussen und mögliche Scheinkorrelationsmuster erzeugen (Power et al. 2012), welche bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden sollten. Jedoch kann dieser potentiell mitwirkende Faktor weitgehend reduziert werden, da mittels standardisierter Datenverarbeitungsschritte Kopfbewegungen während der rs-fMRT Datenakquisition korrigiert wurden (Gorges et al. 2014). Zudem stützen die Ergebnisse des longitudinalen Studienansatzes die verstärkte funktionelle intrinsische Konnektivität im fortschreitenden Krankheitsverlauf.

## 4.6 Ausblick

In dieser Studie wurden im Gruppenvergleich funktionelle Veränderungen bei Patienten mit ALS im Querschnitt- sowie Longitudinalansatz dargestellt. Die Ergebnisse dieser Studie verdeutlichen, dass mittels intrinsischer funktioneller Konnektivitäts-Magnetresonanztomographie zerebrale Veränderungen detektiert werden können und die Progression dieser zerebralen Veränderungen im Krankheitsverlauf abgebildet werden kann. Aktuell konnte in Form von funktionellen zerebralen Veränderungen die klinische Progression des Krankheitsverlaufes widergespiegelt werden, allerdings ohne den für eine Stadieneinteilung notwendigen sequentiellen Charakter auf Individualniveau. Mit Hilfe standardisierter Datenakquisitions- und verarbeitungsprotokolle, großer, gut definierter Patientenkollektive sowie mehrerer longitudinaler Messzeitpunkte könnte dies in zukünftigen Studien möglich sein. In dieser Arbeit wurde die strukturelle Komponente nicht quantitativ berücksichtigt. Ein nächster Ansatz ist es, den Zusammenhang zwischen strukturellen Veränderungen des kortikospinalen Traktes und der funktionellen Konnektivität innerhalb intrinsischer funktioneller Konnektivitätsnetzwerke systematisch zu untersuchen, auch vor dem Hintergrund, dass strukturelle Veränderungen des corticospinalen Traktes bereits als potentieller Surrogatmarker gewertet wurden (Kassubek et al., 2012, Kassubek et al. 2014).

## 5 Zusammenfassung

Der Krankheitsverlauf der Amyotrophen Lateralsklerose (ALS) konnte postmortem in vier neuropathologische Stadien basierend auf dem spezifischen Verteilungsmuster von phosphoryliertem TAR DNA binding protein-43 (pTDP-43) eingeteilt werden. Stadium 1: Motorkortex, motorische Hirnnervenkerne V, VII, XII,  $\alpha$ -Motoneurone des Rückenmarks; Stadium 2: präfrontaler Kortex, Formation reticularis, präzerebelläre Kerne, Nucleus ruber; Stadium 3: präfrontaler und postzentraler Kortex, Striatum; Stadium 4: anteromedialer Temporallappen einschließlich hippokampale Formation. Mittels Diffusion Tensor Imaging (DTI) konnte ein in-vivo Transfer der neuropathologischen Stadieneinteilung durch Mitglieder der Arbeitsgruppe etabliert werden. Ziel der vorliegenden Studie war es, die intrinsische funktionelle Konnektivität in den entsprechend assoziierten funktionellen Netzwerken (Motornetzwerk für Stadium 1, Hirnstammnetzwerk und frontoparietales Netzwerk für Stadium 2, Basalgangliennetzwerk für Stadium 3, hippokampales Netzwerk für Stadium 4) bei ALS Patienten in einem Querschnitts- und Longitudinalansatz zu untersuchen. Hierfür wurde bei 71 ALS Patienten und 28 gesunden Kontrollen funktionelle „resting state“ Magnetresonanztomographie Daten (3.0 Tesla) akquiriert.

Im Querschnittsansatz konnte gezeigt werden, dass sich im Gruppenvergleich zwischen ALS Patienten und gesunden Kontrollen in allen relevanten Netzwerken funktionelle Hyperkonnektivitäten darstellen. Diese beziehen sich zum einen auf Regionen innerhalb des intrinsischen Konnektivitätsnetzwerkes, aber auch auf benachbarte Regionen, im Sinne einer Netzwerkexpansion. Im Referenznetzwerk (visuelles Netzwerk) fand sich im Gruppenvergleich kein signifikanter Unterschied. Im Longitudinalansatz stellte sich bei 14 Patienten im Gruppenvergleich zwischen ALS Patienten und gesunden Kontrollen eine über den Zeitverlauf deutliche Zunahme der funktionellen Hyperkonnektivitäten dar, welche sich wiederum auf Regionen innerhalb des intrinsischen Konnektivitätsnetzwerkes, aber auch auf benachbarte Regionen im Sinne einer Netzwerkexpansion beziehen.

In dieser Studie konnte somit gezeigt werden, dass sich die intrinsischen funktionellen Veränderungen im Sinne von Hyperkonnektivitäten darstellen, welche im Zeitverlauf der Erkrankung progredient sind. Die funktionellen Hyperkonnektivitäten können zum einen als sekundäre Reorganisation im Sinne eines Kompensationsmechanismus, zum anderen als Verlust kortikaler Inhibition gewertet werden. In Form von funktionellen zerebralen Veränderungen konnte die klinische Progression des Krankheitsverlaufes widergespiegelt werden, allerdings ohne den für eine Stadieneinteilung notwendigen sequentiellen Charakter auf Individualniveau. Mittels größerer, standardisierter Datenakquisitions- und -verarbeitungsprotokolle und mehrfach durchgeführter Messpunkte könnte ein auf funktioneller und struktureller Konnektivität basierendes Stadienmodell möglicherweise *in vivo* etabliert werden.

## 6 Literaturverzeichnis

- 1 Agosta, F., Al-Chalabi, A., Filippi, M., Hardiman, O., Kaji, R., Meininger, V., Nakano, I., Shaw, P., Shefner, J., van den Berg, L. H. & Ludolph, A. (2014). The El Escorial criteria: Strengths and weaknesses. *Amyotrophic Lateral Sclerosis & Frontotemporal Degeneration*, *16*, 1–7.
- 2 Agosta, F., Valsasina, P., Absinta, M., Riva, N., Sala, S., Prella, A., Copetti, M., Comola, M., Comi, G. & Filippi, M. (2011). Sensorimotor functional connectivity changes in amyotrophic lateral sclerosis. *Cerebral Cortex*, *21*, 2291–8.
- 3 Agosta, F., Weiler, M., & Filippi, M. (2015). Propagation of Pathology through Brain Networks in Neurodegenerative Diseases: From Molecules to Clinical Phenotypes. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, *21*, 754–67.
- 4 Alonso, A., Logroscino, G., Jick, S. S., & Hernán, M. A. (2009). Incidence and lifetime risk of motor neuron disease in the United Kingdom: a population-based study. *European Journal of Neurology*, *16*, 745–51.
- 5 Andersen, P. M., & Al-Chalabi, A. (2011). Clinical genetics of amyotrophic lateral sclerosis: what do we really know? *Nature Reviews. Neurology*, *7*, 603–15.
- 6 Bartels, C., Mertens, N., Hofer, S., Merboldt, K.-D., Dietrich, J., Frahm, J., & Ehrenreich, H. (2008). Callosal dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis correlates with diffusion tensor imaging of the central motor system. *Neuromuscular Disorders*, *18*, 398–407.
- 7 Biswal, B., Yetkin, F. Z., Haughton, V. M., & Hyde, J. S. (1995). Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar MRI. *Magnetic Resonance in Medicine*, *34*, 537–41.
- 8 Braak, H., Brettschneider, J., Ludolph, A. C., Lee, V. M., Trojanowski, J. Q., & Del Tredici, K. (2013). Amyotrophic lateral sclerosis--a model of corticofugal axonal spread. *Nature Reviews. Neurology*, *9*, 708–14.
- 9 Brett, M., Johnsrude, I. S., & Owen, A. M. (2002). The problem of functional localization in the human brain. *Nature Reviews. Neuroscience*, *3*, 243–9.
- 10 Brettschneider, J., Del Tredici, K., Toledo, J. B., Robinson, J. L., Irwin, D. J., Grossman, M., Suh, E., Van Deerlin, V. M., Wood, E.M., Baek, Y., Kwong, L., Lee, E.B., Elman, L., McCluskey, L., Fang, L., Feldengut, S., Ludolph, A.C., Lee, V. M., Braak, H. & Trojanowski, J. Q. (2013). Stages of pTDP-43 pathology in amyotrophic lateral sclerosis. *Annals of Neurology*, *74*, 20–38.

- 11 Brettschneider, J., Tredici, K. Del, Lee, V. M.-Y., & Trojanowski, J. Q. (2015). Spreading of pathology in neurodegenerative diseases: a focus on human studies. *Nature Reviews. Neuroscience*, *16*, 109–20.
- 12 Brooks, B. R., Miller, R. G., Swash, M., & Munsat, T. L. (2000). El Escorial revisited: revised criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Other Motor Neuron Disorders*, *1*, 293–9.
- 13 Chang, J. L., Lomen-Hoerth, C., Murphy, J., Henry, R. G., Kramer, J. H., Miller, B. L., & Gorno-Tempini, M. L. (2005). A voxel-based morphometry study of patterns of brain atrophy in ALS and ALS/FTLD. *Neurology*, *65*, 75–80.
- 14 Charcot, JM., Joffroy A. (1869). Deux cas d'atrophie musculaire progressive avec lesions de la substance grise et des faisceaux antero-lateraux de la moelle epiniere. *Arch Physiol Neurol Pathol* 2: 744
- 15 Chiò, A., Logroscino, G., Hardiman, O., Swingler, R., Mitchell, D., Beghi, E., & Traynor, B. G. (2009). Prognostic factors in ALS: A critical review. *Amyotrophic Lateral Sclerosis*, *10*, 310–23.
- 16 Choi, E. Y., Yeo, B. T. T., & Buckner, R. L. (2012). The organization of the human striatum estimated by intrinsic functional connectivity. *Journal of Neurophysiology*, *108*, 2242–63.
- 17 Chou, Y., Panych, L. P., Dickey, C. C., Petrella, J. R., & Chen, N. (2012). Investigation of long-term reproducibility of intrinsic connectivity network mapping: a resting-state fMRI study. *American Journal of Neuroradiology*, *33*, 833–8.
- 18 del Aguila, M. A., Longstreth, W. T., McGuire, V., Koepsell, T. D., & van Belle, G. (2003). Prognosis in amyotrophic lateral sclerosis: a population-based study. *Neurology*, *60*, 813–9.
- 19 Douaud, G., Filippini, N., Knight, S., Talbot, K., & Turner, M. R. (2011). Integration of structural and functional magnetic resonance imaging in amyotrophic lateral sclerosis. *Brain*, *134*, 3470–9.
- 20 Ellis, C. M., Simmons, A., Jones, D. K., Bland, J., Dawson, J. M., Horsfield, M. A., Leigh, P. N. (1999). Diffusion tensor MRI assesses corticospinal tract damage in ALS. *Neurology*, *53*, 1051–8.
- 21 Fang, F., Valdimarsdóttir, U., Bellocco, R., Ronnevi, L.-O., Sparén, P., Fall, K., & Ye, W. (2009). Amyotrophic lateral sclerosis in Sweden, 1991-2005. *Archives of Neurology*, *66*, 515–9.
- 22 Filippi, M., Agosta, F., Abrahams, S., Fazekas, F., Grosskreutz, J., Kalra, S., Masdeu, J. C. (2010). EFNS guidelines on the use of neuroimaging in the management of motor neuron diseases. *European Journal of Neurology*, *17*, 526-533.

- 23 Filippi, M., Agosta, F., Grosskreutz, J., Benatar, M., Kassubek, J., Verstraete, E., & Turner, M. R. (2015). Progress towards a neuroimaging biomarker for amyotrophic lateral sclerosis. *The Lancet Neurology*, *14*, 786–788.
- 24 Filippini, N., Douaud, G., Mackay, C. E., Knight, S., Talbot, K., & Turner, M. R. (2010). Corpus callosum involvement is a consistent feature of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology*, *75*, 1645–52.
- 25 Friman, O., Borga, M., Lundberg, P., & Knutsson, H. (2004). Detection and detrending in fMRI data analysis. *NeuroImage*, *22*, 645–55.
- 26 Genovese, C. R., Lazar, N. A., & Nichols, T. (2002). Thresholding of statistical maps in functional neuroimaging using the false discovery rate. *NeuroImage*, *15*, 870–8.
- 27 Gordon, P. H. (2013). Amyotrophic Lateral Sclerosis: An update for 2013 Clinical Features, Pathophysiology, Management and Therapeutic Trials. *Aging and Disease*, *4*, 295–310.
- 28 Gorges, M., Müller, H.-P., Ludolph, A. C., Rasche, V., & Kassubek, J. (2014). Intrinsic functional connectivity networks in healthy elderly subjects: a multiparametric approach with structural connectivity analysis. *BioMed Research International*, *2014*, 947252.
- 29 Gorges, M., Müller, H.-P., Lulé, D., Pinkhardt, E. H., Ludolph, A. C., & Kassubek, J. (2015). To rise and to fall: functional connectivity in cognitively normal and cognitively impaired patients with Parkinson's disease. *Neurobiology of Aging*, *36*, 1727–35.
- 30 Grosskreutz, J., Kaufmann, J., Frädrieh, J., Dengler, R., Heinze, H.-J., & Peschel, T. (2006). Widespread sensorimotor and frontal cortical atrophy in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *BMC Neurology*, *6*, 17.
- 31 Grosskreutz, J., Peschel, T., Unrath, A., Dengler, R., Ludolph, A. C., & Kassubek, J. (2008). Whole brain-based computerized neuroimaging in ALS and other motor neuron disorders. *Amyotrophic Lateral Sclerosis*, *9*, 238–48.
- 32 Hacker, C. D., Perlmutter, J. S., Criswell, S. R., Ances, B. M., & Snyder, A. Z. (2012). Resting state functional connectivity of the striatum in Parkinson's disease. *Brain*, *135*, 3699–711.
- 33 Han, J., & Ma, L. (2006). Functional magnetic resonance imaging study of the brain in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Chinese Medical Sciences Journal*, *21*, 228–33.
- 34 Holmes, C. J., Hoge, R., Collins, L., Woods, R., Toga, A. W., & Evans, A. C. (1998). Enhancement of MR images using registration for signal averaging. *Journal of Computer Assisted Tomography*, *22*, 324–33.

- 35 Hübers, A., Weishaupt, J. H., & Ludolph, A. C. (2013). Genetik der amyotrophen Lateralsklerose, *Nervenarzt* 84, 1213-9.
- 36 Hyde, J. S., & Li, R. (2014). Functional connectivity in rat brain at 200 µm resolution. *Brain Connectivity*, 4, 470–80.
- 37 Ingre, C., Roos, P. M., Piehl, F., Kamel, F., & Fang, F. (2015). Risk factors for amyotrophic lateral sclerosis. *Clinical Epidemiology*, 7, 181–93.
- 38 Jelsone-Swain, L. M., Fling, B. W., Seidler, R. D., Hovatter, R., Gruis, K., & Welsh, R. C. (2010). Reduced Interhemispheric Functional Connectivity in the Motor Cortex during Rest in Limb-Onset Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 4, 158.
- 39 Kassubek, J., Juengling, F. D., Baumgartner, A., Unrath, A., Ludolph, A. C., & Sperfeld, A.-D. (2007). Different regional brain volume loss in pure and complicated hereditary spastic paraparesis: a voxel-based morphometric study. *Amyotrophic Lateral Sclerosis*, 8, 328–36.
- 40 Kassubek, J., Ludolph, A. C., & Müller, H.-P. (2012). Neuroimaging of motor neuron diseases. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*, 5, 119–27.
- 41 Kassubek, J., Müller, H.-P., Del Tredici, K., Brettschneider, J., Pinkhardt, E. H., Lulé, D., Böhm, S., Braak, H. & Ludolph, A. C. (2014). Diffusion tensor imaging analysis of sequential spreading of disease in amyotrophic lateral sclerosis confirms patterns of TDP-43 pathology. *Brain*, 137, 1733–40.
- 42 Kassubek, J., Unrath, A., Huppertz, H.-J., Lulé, D., Ethofer, T., Sperfeld, A.-D., & Ludolph, A. C. (2005). Global brain atrophy and corticospinal tract alterations in ALS, as investigated by voxel-based morphometry of 3-D MRI. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Other Motor Neuron Disorders*, 6, 213–20.
- 43 Kiernan, M. C., Vucic, S., Cheah, B. C., Turner, M. R., Eisen, A., Hardiman, O., Burrell, J.R. & Zoing, M. C. (2011). Amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet*, 377, 942–55.
- 44 Konrad, C., Henningsen, H., Bremer, J., Mock, B., Deppe, M., Buchinger, C., Turski, P., Knecht, S. & Brooks, B. (2002). Pattern of cortical reorganization in amyotrophic lateral sclerosis: a functional magnetic resonance imaging study. *Experimental Brain Research*, 143, 51–6.
- 45 Kwong, K. K., Belliveau, J. W., Chesler, D. a, Goldberg, I. E., Weisskoff, R. M., Poncelet, B. P., Kennedy, D.N., Hoppel, B.E., Cohen, M.S. & Turner, R. (1992). Dynamic magnetic resonance imaging of human brain activity during primary sensory stimulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89, 5675–9.
- 46 Kwong, L. K., Neumann, M., Sampathu, D. M., Lee, V. M.-Y., & Trojanowski, J. Q.

- (2007). TDP-43 proteinopathy: the neuropathology underlying major forms of sporadic and familial frontotemporal lobar degeneration and motor neuron disease. *Acta Neuropathologica*, *114*, 63–70.
- 47 Lee, E. B., Lee, V. M.-Y., & Trojanowski, J. Q. (2012). Gains or losses: molecular mechanisms of TDP43-mediated neurodegeneration. *Nature Reviews. Neuroscience*, *13*, 38–50.
- 48 Lee, M. H., Smyser, C. D., & Shimony, J. S. (2013). Resting-state fMRI: a review of methods and clinical applications. *American Journal of Neuroradiology*, *34*, 1866–72.
- 49 Lee Rodgers, J., & Nicewander, W. A. (1988). Thirteen Ways to Look at the Correlation Coefficient. *The American Statistician*, *42*, 59–66.
- 50 Ling, S.-C., Polymenidou, M., & Cleveland, D. W. (2013). Converging mechanisms in ALS and FTD: disrupted RNA and protein homeostasis. *Neuron*, *79*, 416–38.
- 51 Lu, H., Zuo, Y., Gu, H., Waltz, J. A., Zhan, W., Scholl, C. A., Rea, W., Yang, Y. & Stein, E. A. (2007). Synchronized delta oscillations correlate with the resting-state functional MRI signal. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *104*, 18265–9.
- 52 Ludolph, A., Drory, V., Hardiman, O., Nakano, I., Ravits, J., Robberecht, W. & Shefner, J. (2015). A revision of the El Escorial criteria - 2015. *Amyotrophic Lateral Sclerosis & Frontotemporal Degeneration*, *16*, 291–2.
- 53 Ludolph, A., Dengler, R., Grehl, T., Hecht, M., Löscher, W., Meyer, T., Petri, S., Weber, M., Weishaupt, J. (2014). Amyotrophe Lateralsklerose (Motoneuronenerkrankung) *S1 Leitlinie*.  
[http://www.dgn.org/images/red\\_leitlinien/LL\\_2014/PDFs\\_Download/LL\\_18\\_Amyotrophe\\_Lateralsklerose.pdf](http://www.dgn.org/images/red_leitlinien/LL_2014/PDFs_Download/LL_18_Amyotrophe_Lateralsklerose.pdf) (14.03.2015)
- 54 Lulé, D., Diekmann, V., Kassubek, J., Kurt, A., Birbaumer, N., Ludolph, A. C., & Kraft, E. (2007). Cortical plasticity in amyotrophic lateral sclerosis: motor imagery and function. *Neurorehabilitation and Neural Repair*, *21*, 518–26.
- 55 Lulé, D., Ludolph, A. C., & Kassubek, J. (2009). MRI-based functional neuroimaging in ALS: an update. *Amyotrophic Lateral Sclerosis*, *10*, 258–68.
- 56 Menke, R.A.L., Körner, S., Filippini, N., Douaud, G., Knight, S., Talbot, K. & Turner, M.R. (2014). Widespread grey matter pathology dominates the longitudinal cerebral MRI and clinical landscape of amyotrophic lateral sclerosis. *Brain*, *137*, 2546–55.
- 57 Mevel, K., Chételat, G., Eustache, F., & Desgranges, B., (2011). The default mode network in healthy aging and Alzheimer’s disease. *International Journal of Alzheimer’s Disease*, *2011*, 535816.
- 58 Miller, R. G., Jackson, C. E., Kasarskis, E. J., England, J. D., Forshe, D., Johnston, W.,

- Kalra, S., Katz, J.S., Mitsumoto, H., Rosenfeld, J., Shoesmith, C., Strong, M.J. & Woolley, S. C. (2009). Practice parameter update: the care of the patient with amyotrophic lateral sclerosis: drug, nutritional, and respiratory therapies (an evidence-based review): report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*, *73*, 1218–26.
- 59 Miller, R. G., Mitchell, J. D., Lyon, M., & Moore, D. H. (2003). Riluzole for amyotrophic lateral sclerosis (ALS)/motor neuron disease (MND). *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Other Motor Neuron Disorders*, *4*, 191–206.
- 60 Mohammadi, B., Kollwe, K., Samii, A., Krampfl, K., Dengler, R., & Münte, T. F. (2009). Changes of resting state brain networks in amyotrophic lateral sclerosis. *Experimental Neurology*, *217*, 147–53.
- 61 Müller, H.-P., & Kassubek, J. (2013). Diffusion tensor magnetic resonance imaging in the analysis of neurodegenerative diseases. *Journal of Visualized Experiments*, (77), 50427.
- 62 Müller, H.-P., Lulé, D., Unrath, A., Ludolph, A. C., Riecker, A., & Kassubek, J. (2011). Complementary image analysis of diffusion tensor imaging and 3-dimensional t1-weighted imaging: white matter analysis in amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neuroimaging*, *21*(1), 24–33.
- 63 Müller, H.-P., Unrath, A., Ludolph, A. C. & Kassubek, J. (2007). Preservation of diffusion tensor properties during spatial normalization by use of tensor imaging and fibre tracking on a normal brain database. *Physics in Medicine and Biology*, *52*, 99–109.
- 64 Neumann, M., Sampathu, D. M., Kwong, L. K., Truax, A. C., Micsenyi, M. C., Chou, T. T., Bruce, J., Schuck, T., Grossmann, M., Clark, C. M., McCluskey, L.F., Miller, B.L., Masliah, E., Mackenzie, I. R., Feldman, H., Feiden, W., Kretzschmar, H.a., Trojanowski, J.Q. & Lee, V. M. (2006). Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science*, *314*, 130–3.
- 65 Phukan, J., & Hardiman, O. (2009). The management of amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neurology*, *256*, 176–86.
- 66 Power, J.D., Barnes, K.A., Snyder, A.Z., Schlaggar, B.L., & Petersen, S.E. (2012). Spurious but systematic correlations in functional connectivity MRI networks arise from subject motion. *NeuroImage*, *59*, 2142–54.
- 67 Ravits, J. M., & La Spada, A. R. (2009). ALS motor phenotype heterogeneity, focality, and spread: deconstructing motor neuron degeneration. *Neurology*, *73*, 805–11.
- 68 Ringholz, G. M., Appel, S. H., Bradshaw, M., Cooke, N. A., Mosnik, D. M., & Schulz, P. E. (2005). Prevalence and patterns of cognitive impairment in sporadic ALS.

- Neurology*, 65, 586–90.
- 69 Ruxton, G. D. (2006). The unequal variance t-test is an underused alternative to Student's t-test and the Mann-Whitney U test. *Behavioral Ecology*, 17, 688–690.
  - 70 Sach, M., Winkler, G., Glauche, V., Liepert, J., Heimbach, B., Koch, M. A., Büchel, C. & Weiller, C. (2004). Diffusion tensor MRI of early upper motor neuron involvement in amyotrophic lateral sclerosis. *Brain*, 127, 340–50.
  - 71 Schmidt, R., Verstraete, E., de Reus, M. A., Veldink, J. H., van den Berg, L. H., & van den Heuvel, M. P. (2014). Correlation between structural and functional connectivity impairment in amyotrophic lateral sclerosis. *Human Brain Mapping*, 35, 4386-95
  - 72 Schmidt, R., de Reus, M. A., Scholtens, L. H., van den Berg, L. H., & van den Heuvel, M. P. (2016). Simulating disease propagation across white matter connectome reveals anatomical substrate for neuropathology staging in amyotrophic lateral sclerosis. *NeuroImage*, 124, 762–9.
  - 73 Schuster, C., Elamin, M., Hardiman, O., & Bede, P. (2015). Presymptomatic and longitudinal neuroimaging in neurodegeneration--from snapshots to motion picture: a systematic review. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 86, 1089-96
  - 74 Silver, N. C., & Dunlap, W. P. (1987). Averaging correlation coefficients: Should Fisher's z transformation be used? *Appl Psychol*, 72, 146–148.
  - 75 Song, X.-W., Dong, Z.-Y., Long, X.-Y., Li, S.-F., Zuo, X.-N., Zhu, C.-Z., He, Y., Yan, C.-G. & Zang, Y.-F. (2011). REST: a toolkit for resting-state functional magnetic resonance imaging data processing. *PloS One*, 6, e25031.
  - 76 Stoppel, C. M., Vielhaber, S., Eckart, C., Machts, J., Kaufmann, J., Heinze, H.-J., Kollwe, K., Petri, S., Dengler, R., Hopf, J. M. & Schoenfeld, M. A. (2014). Structural and functional hallmarks of amyotrophic lateral sclerosis progression in motor- and memory-related brain regions. *NeuroImage. Clinical*, 5, 277–90.
  - 77 Turner, M. R., Agosta, F., Bede, P., Govind, V., Lulé, D., & Verstraete, E. (2012). Neuroimaging in amyotrophic lateral sclerosis. *Biomarkers in Medicine*, 6, 319–37.
  - 78 Turner, M. R., & Benatar, M. (2015). Ensuring continued progress in biomarkers for amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle & Nerve*, 51, 14–8.
  - 79 Turner, M. R., Bowser, R., Bruijn, L., Dupuis, L., Ludolph, A., McGrath, M., Manfredi, G., Maragakis, N., Miller, R. G., Pullman, S. L., Rutkove, S. B., Shaw, P. J., Shefner, J. & Fischbeck, K. H. (2013). Mechanisms, models and biomarkers in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotrophic Lateral Sclerosis & Frontotemporal Degeneration*, 14, 19–32.
  - 80 Turner, M. R., Grosskreutz, J., Kassubek, J., Abrahams, S., Agosta, F., Benatar, M., Filippi, M., Goldstein, L. H., van den Heuvel, M., Karla, S., Lulé, D. & Mohammadi, B. (2011). Towards a neuroimaging biomarker for amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet*

*Neurology*, 10, 400–3.

- 81 Turner, M. R., Hammers, A., Al-Chalabi, A., Shaw, C. E., Andersen, P. M., Brooks, D. J., & Leigh, P. N. (2005). Distinct cerebral lesions in sporadic and “D90A” SOD1 ALS: studies with [11C]flumazenil PET. *Brain*, 128, 1323–9.
- 82 Turner, M. R., Kiernan, M. C., Leigh, P. N., & Talbot, K. (2009). Biomarkers in amyotrophic lateral sclerosis. *The Lancet. Neurology*, 8, 94–109.
- 83 Turner, M. R., & Modo, M. (2010). Advances in the application of MRI to amyotrophic lateral sclerosis. *Expert Opinion on Medical Diagnostics*, 4, 483–496.
- 84 Turner, M. R., & Verstraete, E. (2015). What does imaging reveal about the pathology of amyotrophic lateral sclerosis? *Current Neurology and Neuroscience Reports*, 15, 569.
- 85 Uenal, H., Rosenbohm, A., Kufeldt, J., Weydt, P., Goder, K., Ludolph, A., Rothenbacher, D. & Nagel, G. (2014). Incidence and geographical variation of amyotrophic lateral sclerosis (ALS) in Southern Germany--completeness of the ALS registry Swabia. *PloS One*, 9, e93932.
- 86 Unrath, A., Müller, H.-P., Riecker, A., Ludolph, A. C., Sperfeld, A.-D., & Kassubek, J. (2010). Whole brain-based analysis of regional white matter tract alterations in rare motor neuron diseases by diffusion tensor imaging. *Human Brain Mapping*, 31, 1727–40.
- 87 van den Heuvel, M. P., & Hulshoff Pol, H. E. (2010). Exploring the brain network: a review on resting-state fMRI functional connectivity. *European Neuropsychopharmacology*, 20, 519–34.
- 88 Van Dijk, K. R. A., Hedden, T., Venkataraman, A., Evans, K. C., Lazar, S. W., & Buckner, R. L. (2010). Intrinsic functional connectivity as a tool for human connectomics: theory, properties, and optimization. *Journal of Neurophysiology*, 103, 297–321.
- 89 Verstraete, E., van den Heuvel, M. P., Veldink, J. H., Blanken, N., Mandl, R. C., Hulshoff Pol, H. E., & van den Berg, L. H. (2010). Motor network degeneration in amyotrophic lateral sclerosis: a structural and functional connectivity study. *PloS One*, 5, e13664.
- 90 Vucic, S., Nicholson, G. A., & Kiernan, M. C. (2008). Cortical hyperexcitability may precede the onset of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Brain*, 131, 1540–1550.
- 91 Whitwell, J. L., Avula, R., Master, A., Vemuri, P., Senjem, M. L., Jones, D. T., Jack, C. R. Jr. & Josephs, K. a. (2011). Disrupted thalamocortical connectivity in PSP: a resting-state fMRI, DTI, and VBM study. *Parkinsonism & Related Disorders*, 17, 599–605.
- 92 Williams, J. R., Fitzhenry, D., Grant, L., Martyn, D., & Kerr, D. A. (2013). Diagnosis pathway for patients with amyotrophic lateral sclerosis: retrospective analysis of the

US Medicare longitudinal claims database. *BMC Neurology*, 13, 160.

- 93 Yeo, B. T. T., Krienen, F. M., Sepulcre, J., Sabuncu, M. R., Lashkari, D., Hollinshead, M., Roffamn, J. L., Smoller, J. W., Polimeni, J. R., Fischl, B., Liu, H. & Buckner, R. L. (2011). The organization of the human cerebral cortex estimated by intrinsic functional connectivity. *Journal of Neurophysiology*, 106, 1125–65.
- 94 Yokota, T., Yoshino, A., Inaba, A., & Saito, Y. (1996). Double cortical stimulation in amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 61, 596–600.

## **7 Danksagung**

An erster Stelle bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. J. Kassubek für die Bereitstellung des interessanten Themas und seine kontinuierliche und umfassende Betreuung in jeder Phase der Erstellung dieser Arbeit.

Ein herzliches Dankeschön gilt auch Herrn Prof. Dr. A. C. Ludolph für die Möglichkeit in seiner Abteilung zu promovieren und für seine Unterstützung zur Schaffung von Freiräumen um auch neben der klinischen Tätigkeit diese Dissertation fertigzustellen.

Herrn Dr. M. Gorges und Herrn PD H.-P. Müller danke ich für die ihr großes Engagement bei der Betreuung meiner Arbeit. Insbesondere für ihre Unterstützung bei der Auswertung der MRT-Daten, die anregenden Diskussionen zur Interpretation der Ergebnisse und das Korrekturlesen.

Frau S. Fuchs danke ich für die Durchführung der MRT Untersuchungen und ihre zuverlässige und hilfsbereite Art.

Bedanken möchte ich mich auch bei allen ALS Patienten und Kontrollpersonen ohne deren Mitwirken diese Studie nicht möglich gewesen wäre.

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern und meinem Bruder Christoph für ihre Unterstützung und Motivation. Philipp danke ich für seine unverzichtbare Hilfe bei technischen Fragen und seine unendliche Geduld während der gesamten Zeit der Erstellung dieser Arbeit.

## 8 Lebenslauf

*Der Lebenslauf wurde aus Gründen des Datenschutzes entfernt.*

### **Kongressbeiträge**

Vortrag: Röhl I., Gorges M., Müller H.-P., Lulé D., Ludolph A.C., Kassubek J. „TDP-43 Pathologie bei der Amyotrophen Lateralsklerose zeigt mit steigenden Krankheitsstadien funktionelle Hyperkonnektivitäten in resting-state Netzwerken“. 87. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Neurologie, 2014, München.

Poster: Röhl I., Gorges M., Müller H.-P., Lulé D., Ludolph A.C., Kassubek J. „Regional patterns of ‘resting-state’ functional hyperconnectivity in ALS: the association with

sequential spreading“. 25th International Symposium on ALS/MND, 2014, Brussels, Belgium

Poster: Röhl I., Gorges M., Müller H.-P., Lulé D., Ludolph A.C., Kassubek J. „Pattern of ‘Resting-State’ Functional Hyperconnectivity in Amyotrophic Lateral Sclerosis Reflects Neuropathological Disease Stages“. 59. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Klinische Neurophysiologie und funktionelle Bildgebung, 2015, Tübingen

Poster: Röhl I., Gorges M., Müller H.-P., Lulé D., Ludolph A.C., Kassubek J. „Funktionelle Hyperkonnektivitäten in 'resting-state' Netzwerken bei der Amyotrophen Lateralsklerose in steigenden Krankheitsstadien“. 22. Kongress des Wissenschaftlichen Beirates der Deutschen Gesellschaft für Muskelkranke e.V., 2015, Bochum

### **Publikation**

Schulthess I., Gorges M., Müller H.-P., Lulé D., Del Tredici K., Ludolph A. C., Kassubek J. (2016) "Functional connectivity changes resemble patterns of pTDP-43 pathology in amyotrophic lateral sclerosis" *Scientific Reports*, 6, 38391.