

Aus dem Fachbereich Medizin der
Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main

Zentrum für Radiologie

(Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. H. D. Böttcher)

Institut für Neuroradiologie (Direktor: Prof. Dr. med. F. E. Zanella)

**¹H-MR-spektroskopische Bestimmung
der zerebralen Glutamat- und Glutaminkonzentration
bei Patienten mit einer Demenz vom Alzheimer-Typ**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin

des Fachbereichs Medizin

der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main

vorgelegt von

Anna du Mesnil de Rochemont

aus Prag

Frankfurt am Main, 2004

Dekan:

Prof. Dr. med. J. Pfeilschifter

Referent:

Prof. Dr. med. H. Lanfermann

Korreferent:

Prof. Dr. med. J. Pantel

Tag der mündlichen Prüfung:

14.10.2004

Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Universitätsprofessor Dr. med. E. Zanella dafür, dass er diese Arbeit ermöglichte und förderte.

Herrn Universitätsprofessor Dr. med. H. Lanfermann danke ich für die Überlassung des Themas und ganz besonders für die ausgezeichnete Betreuung.

Sehr herzlich bedanke ich mich bei Herrn Dr. rer. nat. U. Pilatus für seine Unterstützung bei den spektroskopischen Messungen sowie für die lange und hervorragende Zusammenarbeit, in der er mir bei zahlreichen Fragen und Problemen bereitwillig zur Verfügung stand.

Herrn Dr. med. S. Herminghaus danke ich für die gewährte Unterstützung bei der Einarbeitung in das Thema, für seine Diskussionsbereitschaft und für viele nützliche Anregungen.

Herrn Universitätsprofessor Dr. med. K. Maurer, Herrn PD Dr. med. Frölich sowie allen Ärzten und Mitarbeitern der Gedächtnisambulanz danke ich für die Überweisung der Patienten sowie für die gute Zusammenarbeit.

Sehr herzlich danke ich meinem Mann für seine umfangreiche fachliche und persönliche Unterstützung. Auch danke ich ihm für seine vielen wichtigen Anregungen und für die Durchsicht des Manuskripts.

Bei allen Patienten und Probanden bedanke ich mich herzlich für ihre Bereitschaft zur spektroskopischen Untersuchung und für ihre gute Mitarbeit.

Danksagung

| | |
|--|-----------|
| Inhaltsverzeichnis | I |
| Abkürzungsverzeichnis | IV |
| 1. Einleitung | 1 |
| 1.1 Morbus Alzheimer | 1 |
| 1.1.1 Historischer Überblick | 2 |
| 1.1.2 Ätiologie und Prävalenz | 2 |
| 1.1.3 Neuropathologische Veränderungen | 3 |
| 1.1.4 Klinisches Bild und Prognose | 5 |
| 1.1.5 Diagnose und Differenzialdiagnose | 6 |
| 1.1.6 Therapie | 7 |
| 1.2 Glutamaterges Transmittersystem beim M. Alzheimer | 9 |
| 1.3 Magnetresonanztomographie | 13 |
| 1.3.1 Historischer Überblick | 13 |
| 1.3.2 Physikalische Grundlagen | 14 |
| 1.3.3 Nachverarbeitung der Rohdaten und Quantifizierung | 18 |
| 1.3.4 ^1H -Spektrum des menschlichen Gehirns | 21 |
| 1.3.5 ^1H -spektroskopische Befunde beim M. Alzheimer | 25 |
| 1.4 Fragestellungen der Arbeit | 27 |
| 2. Patienten, Probanden und Methode | 29 |
| 2.1 Patienten | 29 |
| 2.2 Probanden | 30 |

| | | |
|-------------|---|-----------|
| 2.3 | Methode | 32 |
| 2.3.1 | Bildgebende MR-Untersuchung | 32 |
| 2.3.2 | Lokalisierung des untersuchten Volumens | 32 |
| 2.3.3 | Spektroskopische Untersuchung | 33 |
| 2.3.4 | Nachverarbeitung der Rohdaten | 34 |
| 2.3.5 | Auswahlkriterien der Spektren für die Auswertung | 36 |
| 2.3.6 | Statistische Auswertung | 36 |
| 3. | Ergebnisse | 38 |
| 3.1 | Hauptergebnis: Glutamat- und Glutaminbestimmung | 39 |
| 3.1.1 | Zuverlässigkeit der Konzentrationsbestimmung vor der Quantifizierung | 39 |
| 3.1.2 | Zuverlässigkeit der Quantifizierung | 42 |
| 3.1.3 | Vergleich der Glutamat- und Glutaminkonzentration von Patienten und Probanden | 42 |
| 3.2. | Nebenergebnisse: Bestimmung der kortikalen Atrophie sowie der Substanzen N-Acetyl-Aspartat (tNAA), myo-Inositol (mI), Kreatin (tCr) und Cholin (tCh) | 44 |
| 3.2.1 | Hirngewebeatrophie | 44 |
| 3.2.2 | Zuverlässigkeit der Konzentrationsbestimmungen vor Quantifizierung | 45 |
| 3.2.3 | Zuverlässigkeit der Quantifizierung | 46 |
| 3.2.4 | Vergleich von Patienten und Probanden bezüglich aller quantifizierter Substanzen | 47 |
| 4. | Diskussion | 51 |
| 4.1 | Alters- und Geschlechtsverteilung, Lokalisation der Messvolumina | 52 |
| 4.1.1 | Altersverteilung | 52 |
| 4.1.2 | Geschlechtsverteilung | 52 |
| 4.1.3 | Lokalisation der Messvolumina | 53 |

| | | |
|------------|--|-----------|
| 4.2 | Glutamat- und Glutaminbestimmung | 54 |
| 4.2.1 | ¹ H-spektroskopische Bestimmbarkeit von Glutamat in zellulären Kompartimenten | 54 |
| 4.2.2 | Zuverlässigkeit der Konzentrationsbestimmung | 56 |
| 4.2.3 | Zuverlässigkeit der Quantifizierung | 56 |
| 4.2.4 | Glutamat- und Glutaminkonzentration bei den Probanden | 57 |
| 4.2.5 | Vergleich der Glutamat- und Glutaminkonzentration von Probanden und Patienten | 58 |
| 4.3 | Nebenergebnisse | 64 |
| 4.3.1 | Hirngewebeatrophie | 64 |
| 4.3.2 | Zuverlässigkeit der Konzentrationsbestimmungen von tNAA, mI, tCr und tCh | 64 |
| 4.3.3 | Zuverlässigkeit der Quantifizierung | 65 |
| 4.3.4 | Vergleich von Patienten und Probanden bezüglich aller erhobener Parameter | 65 |
| 4.4 | Schlussfolgerung | 73 |
| 5. | Zusammenfassung | 74 |
| 6. | Summary | 76 |
| 7. | Literaturverzeichnis | 78 |
| 8. | Anhang | 97 |
| | Rohdaten-Tabelle | 97 |
| | Lebenslauf | 99 |
| | Schriftliche Erklärung | 100 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|--------------------|---|
| %SD | standard deviations in percent |
| AD | Alzheimer Demenz |
| ADAS | Alzheimer's disease assessment scale |
| ANOVA | Varianzanalyse |
| APP | Amyloid-Precursor-Protein |
| A β | β -Amyloid-Peptid |
| B ₀ | Feldstärke eines statischen Magnetfelds |
| CHES | chemical-shift selective saturation |
| Ch, Cho | Cholin |
| Cr | Kreatinhaltige Moleküle (Kreatin und Kreatinphosphat) |
| CSF | cerebrospinal fluid |
| DAT | Demenz vom Alzheimer-Typ |
| DSM III | Diagnostic and statistical manual of mental disorder, 3rd edition |
| EAS | Exzitatorische Aminosäuren |
| GABA | γ -Aminobutyrat |
| Gln | Glutamin |
| Glu | Glutamat |
| Glx | Glutamat und Glutamin |
| GPCh | Glycerophosphocholin |
| ¹ H-MRS | Protonen-Magnetresonanzspektroskopie |
| HF | Hochfrequenz |
| HMPAO | Hexamethylpropylenaminoxim |
| HPLC | high-performance liquid chromatography |
| Ins | Inositol |
| IP ₃ | Inositol-3-Phosphat |
| LCModel | Linear Combination of Model Spectra |
| LSD-Test | least significant difference-Test (post-hoc-Analyse) |
| MANCOVA | multivariate Kovarianzanalyse |
| MANOVA | multivariate Varianzanalyse |
| mI | myo-Inositol |
| MMSE | Mini Mental State Examination |
| MRS | Magnetresonanzspektroskopie |

| | |
|---------------------|--|
| MRSI | magnetic resonance spectroscopic imaging (spektroskopische Bildgebung) |
| MRT | Magnet-Resonanztomographie |
| NAA | N-Acetyl-Aspartat |
| NAAG | N-Acetyl-Aspartyl-Glutamat |
| NFT | neurofibrillary tangles (Neurofibrillenbündel) |
| NINCDS- ADRDA | National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke – Alzheimer´s Disease and Related Disorders |
| NMDA | N-Methyl-D-Aspartat |
| nV | Nanovolt |
| NZ | Nervenzelle |
| ³¹ P-MRS | Phosphor-Magnetresonanztomographie |
| PC | Phosphatidylcholin |
| PCh | Phosphocholin |
| PCP | Phencyclidin |
| PCr | Kreatinphosphat |
| PET | Positronen-Emissions-Tomographie |
| PI | Phosphatidylinositol |
| ppm | parts per million |
| PRESS | point-resolved spectroscopy |
| PGM | parietal grey matter, parietaler Kortex |
| PWM | parietal white matter, parietales Marklager |
| SKT | Syndrom-Kurz-Test |
| SPECT | Single Photon Emission Computed Tomography |
| STABW | Standardabweichung |
| STEAM | stimulated echo acquisition method |
| T | Tesla (Magnetfeldstärke, 1 T = 10.000 Gauß) |
| T ₁ | longitudinale Relaxationszeit |
| T ₂ | transversale Relaxationszeit |
| tCh | total Choline (Cholin, Phosphocholin, Glycerophosphocholin) |
| tCr | total Creatine (Kreatin und Kreatinphosphat) |
| TE | Echozeit |
| TR | Repetitionszeit |
| VD | vaskuläre Demenz |
| VK | Variationskoeffizient (VK = STABW / Mittelwert · 100%) |
| VOI | volume of interest |

1. Einleitung

Der Morbus Alzheimer ist gegenwärtig die häufigste neuropsychiatrische Krankheit in Deutschland. Auch wenn präventive oder kausale Behandlungsstrategien noch nicht zur Verfügung stehen, gibt es eine Reihe wirksamer Therapieverfahren, die den Verlauf dieser ätiologisch noch nicht vollständig geklärten Krankheit günstig beeinflussen können.

Allerdings werden diese Therapien zur Zeit nur bei einem geringen Anteil der Patienten eingesetzt (Kötter und Hampel 2000). Einer der Gründe ist die häufig verzögerte Diagnosestellung, da noch kein routinemäßig anwendbares diagnostisches Verfahren für die Früherkennung des M. Alzheimer existiert. Bildgebende Verfahren allein erlauben keine sichere Differenzialdiagnose zu Hirnleistungsstörungen anderer Genese. Die *in vivo*-¹H-MR-Spektroskopie ist eine nichtinvasive Untersuchungsmethode, deren Eignung für die Frühdiagnostik des M. Alzheimer seit einigen Jahren in verschiedenen Kliniken erprobt wird. Sie kann im Rahmen einer bildgebenden MR-Untersuchung durchgeführt werden und liefert biochemische Informationen, indem sie die Identifikation und Konzentrationsbestimmung chemischer Substanzen ermöglicht.

Neben der Bedeutung der ¹H-MR-Spektroskopie für die Diagnostik kommt ihr auch eine wichtige Rolle in der Grundlagenforschung zu. Für biochemische *in vitro*-Analysen wird sie schon seit langem eingesetzt. In den letzten Jahren konnten auch *in vivo* gezielte Fragestellungen untersucht werden. Zu den Molekülen, die mit der ¹H-MR-Spektroskopie identifiziert werden können, gehören die Aminosäuren Glutamin und Glutamat. Glutamat ist ein wichtiger exzitatorischer Neurotransmitter des menschlichen ZNS. Wie andere exzitatorische Transmitter kann Glutamat unter bestimmten Bedingungen neurotoxisch wirken. Einige Beobachtungen sprechen zudem für eine maßgebliche Beteiligung des glutamatergen Transmittersystems an der Pathogenese des M. Alzheimer (Greenamyre und Young 1989). Ziel der vorliegenden prospektiven Untersuchung ist die ¹H-MR-spektroskopische Bestimmung der Glutamat- und Glutaminkonzentration bei Patienten, die an einer Demenz vom Alzheimer-Typ in frühen bis mittleren Stadien leiden, und ihr Vergleich mit dem Befund bei altersentsprechenden Probanden.

1.1 Morbus Alzheimer

1.1.1 Historischer Überblick

Im Jahr 1906 berichtete der damals in Frankfurt am Main tätige Arzt Alois Alzheimer erstmals über die Symptomatik sowie den neuropathologischen Befund seiner Patientin A. D., die mit etwa fünfzig Jahren an einer rasch progredienten Demenz erkrankt war. Neben einer ausgeprägten Hirnatrophie beschrieb er erstmals Plaques und Neurofibrillen (Alzheimer 1907).

Von Kraepelin wurde die präsenile Demenzerkrankung im Jahr 1910 nach Alzheimer benannt (Kraepelin 1910). Die ursprüngliche Unterscheidung zwischen einer präsenilen und einer senilen Demenz wurde später aufgehoben, da außer dem Erkrankungsalter keine klinischen oder neuropathologischen Unterschiede festgestellt werden konnten (Albert 1963). Mit der Ausweitung des Konzepts wurde nun auch die senile Demenz nicht länger als unvermeidliche Alterserscheinung verstanden und das Alter als Hauptrisikofaktor für die Erkrankung erkannt. Auch der Demenzbegriff wurde erweitert und umfasst heute nicht mehr nur schwere, irreversible Störungen, sondern auch leichtere und teilweise reversible kognitive Defizite (Förstl 1999). Die Diagnose „M. Alzheimer“ kann gegenwärtig nur mittels einer histopathologischen Untersuchung post mortem gesichert werden. Beim lebenden Patienten wird die Diagnose „Demenz vom Alzheimer-Typ“ oder „wahrscheinliche Alzheimer-Demenz“ gestellt.

1.1.2 Ätiologie und Prävalenz

Die primäre Ätiologie des M. Alzheimer ist bislang nicht geklärt. Mittels einer Reihe von Hypothesen wurde versucht, einzelne Befunde zu erklären; eine Einordnung aller unterschiedlichen Beobachtungen in eine einheitliche Theorie ist bislang noch nicht gelungen (Maurer et al. 1993).

Genotypisch wird eine seltene, familiäre Form mit einem autosomal dominanten Erbgang von einer sporadischen Form, die der Mehrzahl der Erkrankungen zugrunde liegt, unterschieden (Frölich und Hoyer 2002). Bei der familiären Form, die sich durch einen frühen Erkrankungsbeginn auszeichnet, wurden Mutationen dreier Gene auf den Chromosomen 1, 14 und 21 gefunden. Die Mehrzahl der Erkrankten weist jedoch keine Chromosomenmutation

auf (Frölich und Hoyer 2002). Allerdings wurde eine Häufung des Apolipoproteins E4 beobachtet, das vor allem das Risiko für einen frühen Beginn der Erkrankung zu erhöhen scheint (Heun und Papassotiropoulos 1999). Außer genetischen Faktoren wird eine Vielzahl anderer prädisponierender Faktoren diskutiert, von denen das Lebensalter als Hauptrisikofaktor hervortritt. Zahlreiche mögliche Risikofaktoren wurden bisher ohne eindeutige Ergebnisse untersucht; einer Metaanalyse zufolge soll ein erhöhtes Erkrankungsrisiko bei Frauen, bei Rauchern und bei niedriger Schulbildung bestehen. Der einzige gesicherte Zusammenhang besteht mit dem Lebensalter (Launer et al. 1999).

Die Prävalenz mittelschwerer und schwerer M. Alzheimer-Erkrankungen wurde bei den über 65jährigen in Deutschland auf etwa 6% geschätzt, unter Einbeziehung leichter Formen auf 8,6% (Bickel 1999). Annähernd 70% der Erkrankungen treten bei über 80jährigen auf. Die präsenile Form mit Beginn vor dem 65. Lebensjahr ist mit etwa 5% der Erkrankungen relativ selten (Bickel 1999).

Durch die demographische Entwicklung in Deutschland sind schwerwiegende sozio-ökonomische Folgen durch die Demenz vom Alzheimer-Typ zu erwarten. Das statistische Bundesamt rechnet mit einer rückläufigen Gesamtbevölkerung und einer gleichzeitigen Zunahme der über 60jährigen in den nächsten fünf Jahrzehnten von gegenwärtig rund 19 Millionen auf ca. 25 Millionen, die Anzahl der über 80jährigen würde sich auf 8 Millionen erhöhen (Kanowski 2002). Bei gleichbleibender Inzidenz und Prävalenz würde sich die Zahl aller von einer Demenz betroffenen Personen von gegenwärtig etwa 1,13 Millionen bis zum Jahr 2050 auf über 2,8 Millionen erhöhen. Eine Demenz vom Alzheimer-Typ läge etwa zwei Dritteln dieser Erkrankungen zugrunde (Hallauer 2002).

1.1.3 Neuropathologische Veränderungen

Der M. Alzheimer ist durch eine progrediente Degeneration von Neuronen gekennzeichnet, die sich als äußerst langsamer Prozess über mehrere Jahrzehnte erstreckt (Braak et al. 1993). Makroskopisch zeigt sich eine Hirnatrophie mit Verschmälerung der Gyri, diffuser Substanzminderung im Marklager und Erweiterung der Liquorräume (Arendt 1999). Histologische Veränderungen sind extrazelluläre neuritische Plaques, intrazelluläre Neurofibrillenbündel und Neurodegenerationen. Neuritische Plaques bestehen aus Amyloidfibrillen und dystrophen Neuronen und sind von Gliazellen umgeben. Amyloidfibrillen werden zu ca. 90% aus β -

Amyloid-Peptiden (A β) gebildet. A β ist ein proteolytisches Spaltprodukt eines hochmolekularen Transmembranproteins, des Amyloid-Precursor-Proteins (APP) (Kang et al. 1996). A β ist zytotoxisch und induziert Neurodegenerationen in der Umgebung seniler Plaques (Haass 1999).

Intrazellulär lassen sich Neurofibrillen nachweisen, die hauptsächlich aus abnorm phosphoryliertem Tau-Protein bestehen. Sie werden in Zellsoma und proximalem Axonbereich von Neuronen, in dystrophen Neuriten in der Peripherie von Plaques sowie als Neuropilfäden im Neuropil gefunden (Arendt 1999). Während Amyloidplaques auch beim normalen Alterungsprozess gefunden werden, sind Neurofibrillen für den M. Alzheimer pathognomonisch (Braak et al. 1993) (Abb. 1).

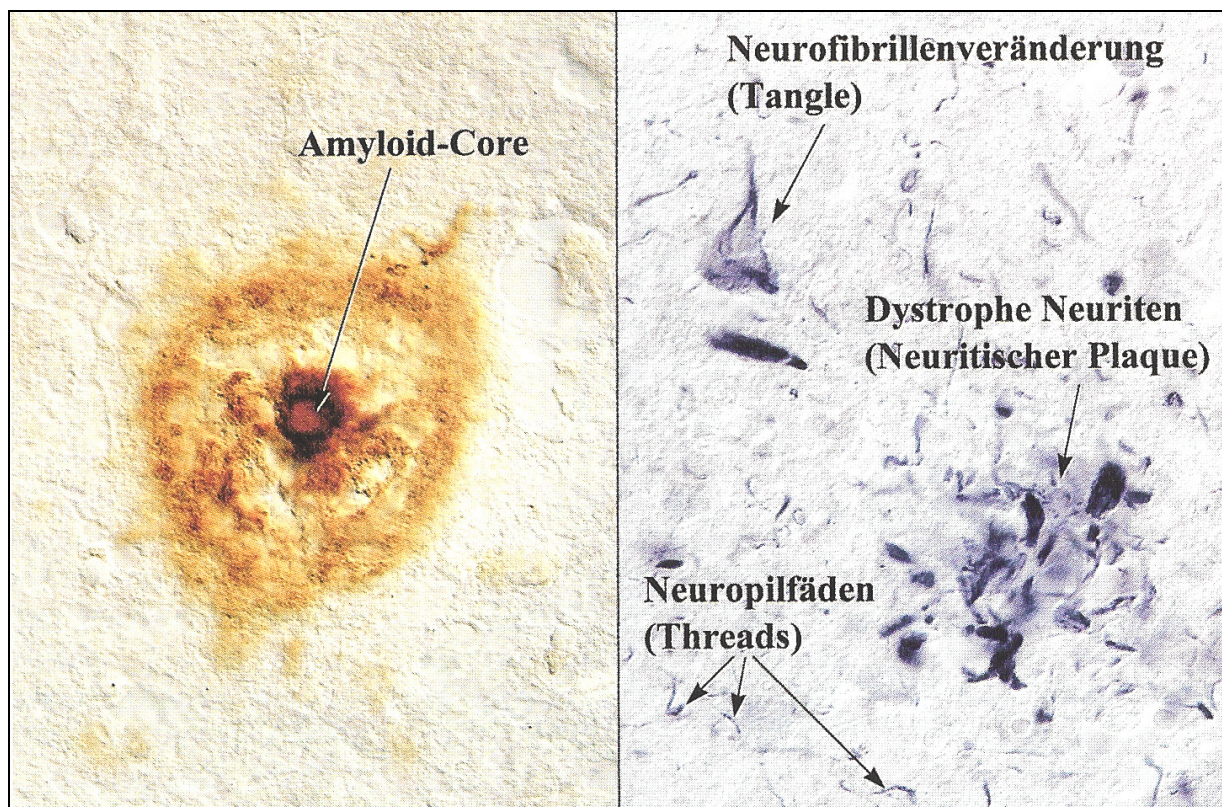


Abb. 1: Lichtmikroskopische Darstellung eines Amyloid-Plaques (links) sowie der verschiedenen Formen der neurofibrillären Degeneration (rechts). Immunhistochemische Darstellungen mit Antikörpern gegen β -Amyloid (links) bzw. hochphosphoryliertes Tau (rechts). (Aus: Förstl et al. 1999)

Neurofibrillen wurden vor allem in großen Pyramidenzellen mit langem und gering myelinisiertem Axon gefunden und folgen einem typischen Verteilungsmuster, das Grundlage der histologischen Stadieneinteilung des M. Alzheimer wurde (Braak et al. 1993).

Der Prozess beginnt im entorhinalen Kortex und greift zunächst auf weitere limbische und paralimbische Strukturen über (Braak et al. 1993). In der Folge erstreckt sich der degenerative Prozess zum Neokortex, beginnend im Temporal- und Parietallappen, später auch im Frontallappen. Nicht-primäre Assoziationsgebiete sind vor dem sensorischen Kortex betroffen, der primär-motorische Kortex hingegen erst spät im Krankheitsverlauf (Braak et al. 1993).

Als Folge der Neurodegeneration sind verschiedene Neurotransmittersysteme beeinträchtigt. Besonders ausgeprägt sind die Veränderungen beim cholinergen System, gefolgt vom serotonergen, glutamatergen und GABAergen Transmittersystem (Gsell et al. 1996). Sehr früh im Krankheitsverlauf finden sich beim M. Alzheimer ausgeprägte Verminderungen cholinergischer Neurone im basalen Vorderhirn, insbesondere im Nucleus basalis Meynert, dem Ursprungsgebiet der cholinergen Innervation der Hirnrinde (Perry et al. 1978). Das cholinerge Transmittersystem stellt einen wichtigen Ansatzpunkt der Pharmakotherapie dar (Frölich et al. 1999). Auch im glutamatergen Netzwerk sind ausgedehnte Neuronenverluste zu beobachten, die zum Teil auf eine überschießende Aktivierung durch den Transmitter Glutamat zurückgeführt werden (Kornhuber et al. 1999).

1.1.4 Klinisches Bild und Prognose

Der M. Alzheimer stellt eine erhebliche Belastung für den Betroffenen und seine Umgebung dar. Die Patienten klagen zu Beginn über Vergesslichkeit und reduzierte Leistungsfähigkeit. Dabei ist initial die Speicherung neuer Information betroffen, während alte Erinnerungen zunächst weiterhin reproduziert werden können (Kurz 1999). Im weiteren Verlauf werden auch Sprach-, Denk- und Urteilsvermögen beeinträchtigt, ebenso die Verarbeitung visueller und räumlicher Informationen sowie das praktische Handeln (Kurz 1999). Die Bewältigung der alltäglichen Aufgaben fällt dem Betroffenen immer schwerer und führt zuletzt zu einer völligen Abhängigkeit von Pflegepersonen.

Zu den vielfältigen nichtkognitiven Störungen des M. Alzheimer gehört häufig eine ausgeprägte Ruhelosigkeit, außerdem aggressive Verhaltensweisen, Wahnbildung und Sinnestäuschungen, die für den Patienten und sein Umfeld außerordentlich schwerwiegend sein können. Auch depressive Symptome treten im Krankheitsverlauf in einem hohen Prozentsatz der Fälle auf. Körperliche Symptome sind eine erhöhte Infektanfälligkeit, Gangstörungen, Harn- und Stuhlinkontinenz sowie Schluckstörungen, seltener sind

Krampfanfälle (Kurz 1999). Zuletzt kommt es zu Bettlägerigkeit mit Kontrakturen und Dekubitus, die häufigste Todesursache ist die Bronchopneumonie (Burns et al. 1990, Förstl 1992). Die Lebenserwartung ist deutlich eingeschränkt, die durchschnittliche Überlebenschance beträgt vom Zeitpunkt der Diagnosestellung an etwa 5 - 6 Jahre (Bracco et al. 1994).

1.1.5 Diagnose und Differenzialdiagnose

Für die Diagnosestellung muss zunächst der Verdacht auf ein demenzielles Syndrom verifiziert werden. Ein solches liegt vor, wenn die kognitiven Defizite das Alltagsleben beeinflussen, länger als sechs Monate andauern und nicht mit Bewusstseinsstörungen einhergehen. Neben der Eigen-, Fremd- und Familienanamnese und der Erhebung des psychopathologischen Befundes werden psychometrische Tests zur Bestätigung der kognitiven Defizite eingesetzt. Eine internistische und neurologische Untersuchung mit EKG, Labor und EEG dient der Abklärung anderer Ursachen oder zusätzlicher therapiebedürftiger Erkrankungen. Im Liquor lassen sich schon in frühen Krankheitsstadien erhöhte Tau-Spiegel (Schönknecht et al. 2003) und initial erhöhte, später verminderte β -Amyloid-Konzentrationen (Jensen et al. 1999) nachweisen, außerdem können entzündliche Erkrankungen ausgeschlossen werden. Strukturell bildgebende Routineverfahren dienen in erster Linie dem Ausschluss maligner Prozesse oder territorialer Infarkte. Atrophische Veränderungen können durch die Zusatzuntersuchung der MRT-basierten Volumetrie quantifiziert und zur Differenzialdiagnose herangezogen werden. Bei der DAT lässt sich eine progrediente Hirnatrophie nachweisen, die einem typischen Verteilungsmuster folgt. MR-volumetrische Untersuchungen zeigten signifikante Volumenreduktionen vor allem hippocampaler und parahippocampaler Strukturen (Kesslak et al. 1991, Jack et al. 1997, Pantel et al. 1997, Pantel et al. 1998), aber auch von Frontal-, Temporal- und Parietallappen (Pantel et al. 1997, Pantel et al. 1998). Funktionell bildgebende Verfahren wie PET (Positronen-Emissions-Tomographie) und SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography) zeigen eine Minderung der Hirndurchblutung (Stoppe et al. 1995, Jagust et al. 2001) sowie einen reduzierten Glukoseumsatz (Minoshima et al. 1997, Herholz et al. 2002) im temporoparietalen und parietalen Kortex.

Die *in vivo*- ^1H -MR-Spektroskopie ist ein nichtinvasives Untersuchungsverfahren, das Rückschlüsse auf biochemische Veränderungen und damit indirekt auf zelluläre Zusammen-

setzung und Funktionszustand des Hirnparenchyms ermöglicht. Eine MR-Spektroskopie kann im Rahmen einer bildgebenden Untersuchung mit einem zeitlichen Mehraufwand von ca. 20-30 min, mit automatisierten Verfahren auch in kürzerer Zeit durchgeführt werden (Moats und Shonk 1995).

Bislang gibt es allerdings noch kein sicheres diagnostisches Test- oder Untersuchungsverfahren für die Frühdiagnostik des M. Alzheimer *in vivo*. Selbst in fortgeschrittenen Stadien kann beim lebenden Patienten lediglich die Diagnose einer "wahrscheinlichen Alzheimer Demenz" oder "Demenz vom Alzheimer-Typ (DAT)" gestellt werden, erst durch eine neuropathologische Untersuchung post mortem kann diese definitiv gesichert werden (McKhann et al. 1984). Für die Forschung zur DAT werden die Diagnosekriterien des "National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke – Alzheimers Disease and Related Disorders" (NINCDS-ADRDA) zugrunde gelegt, die neben anamnестischen Daten auch psychometrische Tests, strukturelle Bildgebung, EEG und Liquoruntersuchung vorsehen (McKhann et al. 1984). Die Anwendung dieser Kriterien ermöglicht eine klinische Diagnosestellung mit einer Sensitivität von über 90% und einer Spezifität von 88% (Lopez et al. 2000).

Differenzialdiagnostisch müssen Gedächtnisstörungen anderer Ätiologien ausgeschlossen werden. Besondere Bedeutung hat die Abgrenzung von depressiven Erkrankungen und von der heterogenen Gruppe der vaskulären Demenzen. Seltener Ursachen einer Hirnleistungsstörung sind Lewy-Körperchen-Demenz, frontotemporale Demenzen oder die Creutzfeld-Jakob-Krankheit.

Mnestische Störungen im Rahmen eines Tumorleidens, einer Alkoholabhängigkeit, einer AIDS- oder Parkinson-Erkrankung sowie endokrinologischer oder metabolischer Störungen müssen durch internistische und neurologische Untersuchungen ausgeschlossen werden (Ihl 1999).

1.1.6 Therapie

Kurative Behandlungsstrategien stehen noch nicht zur Verfügung, sind aber Gegenstand intensiver Forschung. Für die Behandlung des M. Alzheimer ist ein integratives Behandlungskonzept anzustreben, das neben einer Pharmakotherapie auch psychotherapeutische Ansätze,

Soziotherapie und Beratung von Patient und Angehörigen umfasst. Maßnahmen zur Förderung der Alltagskompetenz helfen, die vorhandenen Ressourcen auszuschöpfen und die Pflegebedürftigkeit hinauszuschieben (Frölich et al. 2000).

Pharmakotherapeutisch werden derzeit vor allem Acetylcholinesterase-Inhibitoren, Glutamatmodulatoren und Nootropika eingesetzt.

Cholinesterase-Inhibitoren steigern kurzfristig die cholinerge Neurotransmission. Ihre Wirksamkeit auf kognitive Fähigkeiten und Alltagskompetenz ist für frühe und mittlere Erkrankungsstadien gut belegt. In Langzeit-Verlaufsstudien stabilisierte sich das kognitive Leistungsniveau über den Zeitraum von mindestens einem Jahr (Giacobini und Michel 1998).

Der Glutamatmodulator Memantine hat sich in mittleren wie auch in fortgeschrittenen Stadien als wirksam erwiesen. Bei Schwerkranken wurde eine Verbesserung des klinischen Gesamteindrucks und der Pflegebedürftigkeit erreicht (Winblad und Poritis 1999, Reisberg et al. 2003).

Nootropika sind eine heterogene Klasse von Substanzen, die für die Behandlung von Hirnleistungsstörungen im Alter eingesetzt werden, ohne dass die Wirkungsmechanismen immer bekannt wären. Nootropika werden von niedergelassenen Hausärzten häufig verschrieben, Wirksamkeitsnachweise existieren für einzelne Substanzen (Frölich et al. 2000).

Bisher werden die zur Verfügung stehenden diagnostischen und therapeutischen Möglichkeiten allerdings nur bei einem geringen Anteil der Patienten ausgeschöpft. Nur eine Minderheit der Patienten wird von Neurologen oder Psychiatern betreut, vor allem in ländlichen Gebieten und bei Heimbewohnern besteht eine gerontopsychiatrische Unterversorgung (Wolter-Henseler 2000, Kanowski 2002). In hausärztlichen Praxen unterbleibt häufig eine spezifische Diagnostik, da die Symptome als normale Alterserscheinungen missdeutet werden oder die Wirksamkeit der psycho- und pharmakotherapeutischen Interventionen unterschätzt wird (Kötter und Hampel 2000).

1.2 Glutamaterges Transmittersystem beim M. Alzheimer

Neben dem cholinergen System, das eine herausragende Rolle in Pathophysiologie und Therapie des M. Alzheimer spielt, sind auch andere Transmittersysteme unterschiedlich stark von Veränderungen betroffen, darunter auch das glutamaterge neuronale Netzwerk. Glutamat ist einer der wichtigsten exzitatorischen Transmitter. Bis zu 70% der Neurone des zerebralen Kortex verwenden Glutamat als Neurotransmitter, fast alle Nervenzellen sind mit Glutamat-rezeptoren ausgestattet (Greenamyre und Young 1989, Kornhuber et al. 1999). Grundlegende physiologische Funktionen, aber auch komplexe integrative Leistungen wie Gedächtnis- und Lernprozesse werden von glutamatergen Neuronen vermittelt (Kornhuber und Weller 1996, Kornhuber et al. 1999).

Glutamat wird in synaptischen Vesikeln gespeichert und bei Depolarisation in einem kalziumabhängigen Prozess ausgeschüttet (Abb. 2).

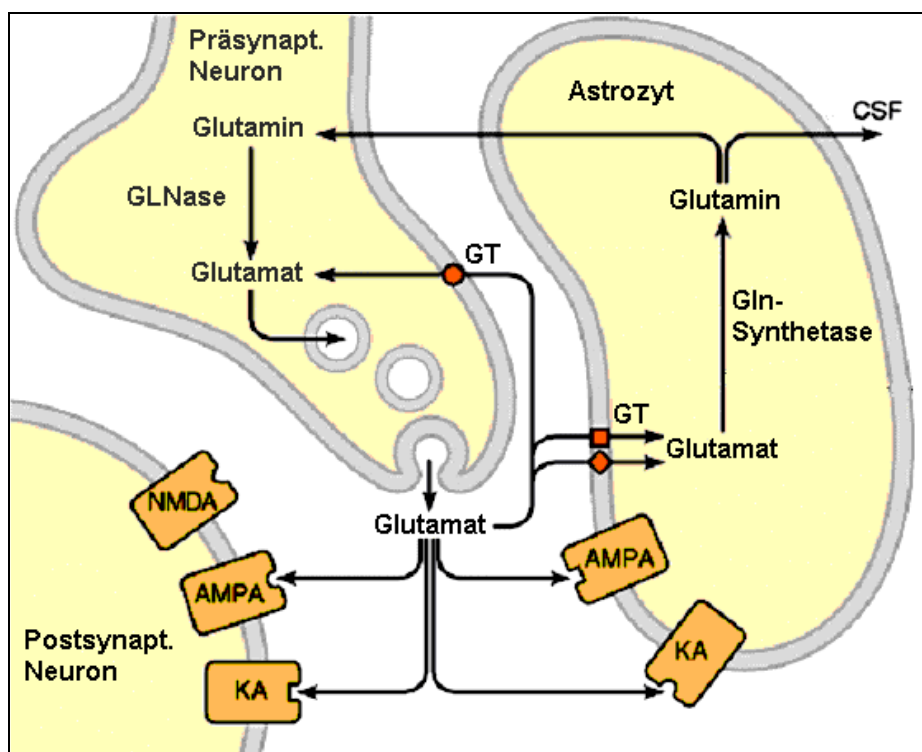


Abb. 2: Vereinfachtes Schema der glutamatergen Signalübertragung.

GLNase: Glutaminase, Gln-Synthetase: Glutamin-Synthetase, NMDA: N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor, AMPA: α -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazolpropionat-Rezeptor, KA: Kainat-Rezeptor, GT: Glutamatttransporter (abgewandelt nach: Siegel et al. 1999)

Nach erfolgter Depolarisation wird der Transmitter normalerweise rasch durch Glutamat-transporter aus dem synaptischen Spalt in Neurone und Astrozyten aufgenommen. In Astrozyten wird Glutamat vom Enzym Glutamin-Synthetase zu Glutamin umgewandelt und in dieser Form wieder an das präsynaptische Neuron abgegeben. Dort wird Glutamin durch das Enzym Glutaminase wieder zu Glutamat umgewandelt und steht erneut als Transmitter zur Verfügung (Hamberger et al. 1979).

Die Wirkung des Neurotransmitters wird über verschiedene Gruppen von Rezeptoren vermittelt, die nicht nur auf Glutamat, sondern auch auf andere Aminosäuren, sogenannte "exzitatorische Aminosäuren" (EAS), sowie auf verschiedene Pharmaka ansprechen (Meldrum 2000). Die Gruppe der ionotropen Rezeptoren umfasst Kainat-, AMPA (α -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazolpropionat)- und NMDA (N-Methyl-D-Aspartat)-Rezeptoren. Sie enthalten Ionenkanäle, durch die bei Depolarisation ein Kationeneinstrom erfolgt.

Am NMDA-Rezeptor setzt die pharmakologische Therapie des M. Alzheimer mit NMDA-Antagonisten an. Der NMDA-Rezeptor scheint für die Pathogenese der Erkrankung eine besondere Bedeutung zu haben und weist einige Besonderheiten auf. Nach erfolgter EAS-Bindung wird der Ionenkanal bei ruhendem Membranpotential durch ein Magnesium-Molekül blockiert, erst bei zusätzlicher Depolarisation der Zelle wird die Blockade aufgehoben und der Kationeneinstrom ermöglicht. Der Ionenkanal ist für Na^+ , K^+ und Ca^{2+} durchgängig. Eine PCP (Phencyclidin)-Bindungsstelle im Inneren des Ionenkanals ermöglicht zudem die Modulation der Rezeptorfunktion durch nichtkompetitive NMDA-Antagonisten (Kornhuber et al. 1999). Außer der Gruppe der ionotropen Rezeptoren existiert die Gruppe der sogenannten metabotropen Rezeptoren, die die Erregbarkeit und Synapsenaktivität der Neurone modulieren (Conn und Pin 1997).

Exzitatorische Aminosäuren wirken in einem äußerst feinregulierten Bereich. Da Glutamat die Blut-Hirn-Schranke nicht passieren kann, finden Synthese und Abbau in Neuronen und Gliazellen statt. Die Konzentration wird unter physiologischen Bedingungen in allen Kompartimenten konstant gehalten, was für die Signalübertragung von großer Bedeutung ist (Daikhin und Yudkoff 2000).

Unter Ruhebedingungen beträgt der Glutamatgehalt im synaptischen Spalt ca. $1 \mu\text{M}$. Bei der Depolarisation steigt er kurzfristig etwa 1000fach an, um danach physiologischerweise sofort wieder abzufallen (Kornhuber et al. 1999). Unter pathologischen Bedingungen kann es zu

einem länger dauernden Anstieg der extrazellulären Glutamatkonzentration kommen, der für die postsynaptische Nervenzelle potenziell toxisch ist. Bereits bei geringfügiger Depolarisation der Zellmembran kommt es an NMDA-Rezeptoren zur partiellen Aufhebung der Mg^{2+} -Blockade mit unkontrollierter Aktivierung (Henneberry 1989, Kornhuber et al. 1999).

Aus einem anhaltenden Anstieg der Glutamatkonzentration im synaptischen Spalt resultiert ein Kalziumeinstrom mit Aktivierung kataboler Enzyme, die schließlich zur Lyse des postsynaptischen Neurons führt. Dieses Phänomen wird "Exzitotoxizität" genannt (Sahai 1990). Ein solcher Anstieg kann durch verschiedene Faktoren entstehen. Besonders gut erforscht ist dieser Prozess nach ischämischen Läsionen von Hirngewebe *in vitro*. Ischämie führt zur „anoxischen Depolarisation“ mit Ausschüttung der synaptischen Vesikel. Bei schwerer ischämischer Läsion versagen die astrozytären und neuronalen Glutamattransporter, die von einem intakten Transmembrangradienten abhängig sind, da sie an einen Na^+ -Kotransport und einen K^+ -Gegentransport gekoppelt sind (Meldrum 2000). Daraus resultieren anhaltende, toxische Glutamatkonzentrationen im synaptischen Spalt (Sarantis und Attwell 1990, Takahashi et al. 1997).

Vorgeschädigte Zellen werden durch ein extrazelluläres Glutamat-Überangebot stärker geschädigt als intakte Neurone (Novelli et al. 1988).

Zahlreiche Indizien sprechen für eine maßgebliche Beteiligung exzitotoxischer Prozesse beim M. Alzheimer. Faktoren, die bei dieser Erkrankung für einen Anstieg von Glutamat im synaptischen Spalt oder im EZR verantwortlich gemacht werden, sind unter anderem ein chronischer Energiemangel mit mäßiger, anhaltender Depolarisation (Kornhuber et al. 1999), eine vermehrte, durch β -Amyloid hervorgerufene Freisetzung von Glutamat aus Makrophagen und Mikrogliazellen (McGeer und McGeer 1998) sowie vor allem eine nachgewiesene Störung der Glutamattransporterfunktion (Masliah et al. 1996, Li et al. 1997). *In vitro* zeigte sich eine durch $A\beta$ sowie durch Energiemangel verstärkte Vulnerabilität von Neuronen (Koh et al. 1990, Mattson et al. 1992, Gray und Patel 1995, Brewer und Wallimann 2000, Louzada et al. 2001).

Folgende für einen M. Alzheimer typische Veränderungen wurden nach Exposition durch exzitatorische Aminosäuren beobachtet: Die Entwicklung paariger helikaler Filamente, die Neurofibrillen (NFT)-Vorstufen ähneln (de Boni und McLachlan 1985, Sofroniew und Pearson 1985), eine vermehrte Expression des für die Bildung von NFT verantwortlichen

Tau-Gens (Esclaire et al. 1997) sowie ein Untergang cholinergischer Neurone im Nucleus basalis Meynert (Sofroniew und Pearson 1985).

Neurone, die Glutamat als Neurotransmitter verwenden, sind häufig weiteren glutamatergen Nervenzellen vorgeschaltet. So könnten durch Exzitotoxizität nachgeschaltete Neurone und schließlich ganze glutamaterge Netzwerke beschädigt werden (Kornhuber et al. 1999). Eine lokal erhöhte glutamaterge Aktivität mit Destruktion postsynaptischer glutamaterger Neurone würde schließlich zu einer insgesamt reduzierten glutamatergen Transmission führen, die einen Teil der kognitiven Einbußen erklären könnte (Greenamyre und Young 1989, Francis et al. 1993, Kornhuber et al. 1999). Die Mehrzahl der Untersuchungen zur Dichte und Bindungsfähigkeit von EAS-Rezeptoren zeigte eine Reduktion beim M. Alzheimer, die vor allem den Hippocampus betraf (Maragos et al. 1987, Young 1987, Represa et al. 1988, Cotman et al. 1990). Auch in neokortikalen Gebieten waren EAS-Rezeptoren in mehreren Untersuchungen vermindert (Greenamyre et al. 1985, Young 1987, del Bel und Slater 1991), in anderen hingegen zeigten sich keine Auffälligkeiten (Simpson et al. 1988, Porter et al. 1993). Die Konzentration von Glutamat in Hirngewebe beim M. Alzheimer wurde *in vitro* mit verschiedenen Analysemethoden untersucht. In fluorometrischen und chromatographischen Experimenten zeigte sich größtenteils eine Reduktion (Arai et al. 1984, Arai et al. 1985, Ellison et al. 1986, Sasaki et al. 1986, Hyman et al. 1987, Perry et al. 1987, Kowall et al. 1991). *In vitro*-Untersuchungen mit der ¹H-MRS zeigten zum Teil einen unveränderten (Mohanakrishnan et al. 1995), zum Teil einen erhöhten (Klunk et al. 1992, Klunk et al. 1996) Glutamatgehalt. Die *in vivo*-Glutamatkonzentration wurde bisher noch nicht systematisch untersucht, die veröffentlichten Studien ergaben widersprüchliche Ergebnisse.

Die nach EAS-Inkubation aufgetretenen Veränderungen und die Rezeptorenvermindierungen führten zur Formulierung der Glutamat-Hypothese des M. Alzheimer, nach der Glutamat zu einem chronisch progredienten Zelluntergang hippokampaler und kortikaler Neurone führen soll (Greenamyre et al. 1988, Greenamyre und Young 1989).

Die Bestimmung der Glutamat- und Glutaminkonzentration *in vivo* sollte daher dazu beitragen können, diese Hypothese zu überprüfen und mögliche exzitotoxische Vorgänge bei der Demenz vom Alzheimer-Typ zu analysieren.

1.3 Magnetresonanzspektroskopie

Die Magnetresonanzspektroskopie (MRS) ist eine nichtinvasive Untersuchungsmethode, die die Identifizierung chemischer Substanzen *in vitro* und *in vivo* ermöglicht. Sie hat sich in der analytischen Chemie und Biochemie in den letzten fünf Jahrzehnten zu einem Standardverfahren entwickelt, mit dem Moleküle identifiziert sowie deren intra- und intermolekulare Wechselwirkungen untersucht werden können. Mit der Entwicklung klinischer MR-Tomographen steht die MR-Spektroskopie seit den 1980er Jahren auch für die medizinische Forschung und Diagnostik am Lebenden zur Verfügung. Sie ergänzt die MR-Bildgebung, indem sie Rückschlüsse auf pathobiochemische Prozesse in Zellverbänden erlaubt.

Das Signal des Wasserstoffatomkerns, der aus einem Proton besteht, ist Grundlage der MR-tomographischen Bildgebung. Für MR-spektroskopische *in vivo*-Untersuchungen wurde zunächst das Signal des Phosphorkerns ausgewertet (^{31}P -MRS). In den 1990er Jahren gelang es, auch vom Wasserstoffkern aussagekräftige *in vivo*-Spektren zu erhalten (^1H -MRS). Der Vorteil der ^1H -MRS gegenüber der ^{31}P -MRS ist die größere Empfindlichkeit, so dass kleinere Volumina in vergleichsweise kurzer Zeit untersucht werden können. Die ^1H -MRS ermöglicht die Identifizierung und Quantifizierung zahlreicher Substanzen im Hirnparenchym des Menschen. In der Neuroradiologie findet sie bisher vor allem in der Diagnose und Differenzialdiagnose von Hirntumoren, aber auch von anderen neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen Anwendung.

1.3.1 Historischer Überblick

Das Phänomen der kernmagnetischen Resonanz wurde 1946 voneinander unabhängig von Edward Purcell und Felix Bloch beschrieben (Bloch et al. 1946, Purcell et al. 1946). 1950 wurde es mit Entdeckung der „chemischen Verschiebung“ möglich, Rückschlüsse auf die molekulare Umgebung bestimmter Atome zu ziehen (Proctor und Yu 1959). Ende der 1960er Jahre kam erstmals die Fourier-Transformation zur Anwendung, die eine mathematische Umwandlung eines aus verschiedenen Frequenzkomponenten bestehenden MR-Signals in sein Frequenzspektrum ermöglicht. Im Jahr 1972 wurden erstmals eine ^{13}C -Spektroskopie an lebenden Zellen durchgeführt (Eakin et al. 1972). 1973 konnten ^{31}P -spektroskopisch

energiereiche Phosphorverbindungen nachgewiesen und der intrazelluläre pH-Wert mittels der chemischen Verschiebung des anorganischen Phosphates bestimmt werden (Moon und Richards 1973). Im gleichen Jahr gelang es Lauterbur, mithilfe des Wasserstoffkernsignals erste zweidimensionale Bilder inhomogener Objekte zu produzieren. Er überlagerte dem statischen Feld des Magneten in verschiedenen Richtungen weitere Gradientenfelder (sich räumlich ändernde Magnetfelder) und erhielt so mehrere eindimensionale Profile eines Objekts. Aus diesen konnte er ein zweidimensionales Bild rekonstruieren (Lauterbur 1973).

In der *in vivo*-MR-Spektroskopie vom Wasserstoffkern wurden zunächst nur die beiden größten Signale, die von Wasser und Fett, detektiert, bis Sequenzen entwickelt wurden, die diese weitgehend unterdrückten. 1983 wurde erstmals ein Protonenspektrum vom Hirn einer Ratte aufgenommen, in dem eine Vielzahl von Molekülen identifiziert werden konnte (Behar et al. 1983).

Durch die Entwicklung von Magneten mit großer Feldstärke und ausreichender Feldhomogenität konnte sich die Protonenspektroskopie allmählich in der klinischen Forschung etablieren. Während in der analytischen Chemie hohe Magnetfeldstärken von 4-19 T verwendet werden können, stehen für die *in vivo*-Anwendung beim Menschen derzeit Geräte mit 0,5-7 T zur Verfügung. Für die klinische *in vivo*-MR-Spektroskopie werden gegenwärtig meist MR-Scanner mit einer Feldstärke von 1,5 T eingesetzt.

1.3.2 Physikalische Grundlagen

Elementarteilchen wie Protonen und Neutronen besitzen einen Eigendrehimpuls, auch „Spin“ genannt. In einem Atomkern mit in der Summe gerader Anzahl von Protonen und Neutronen heben sich die Spinwirkungen auf. Bei ungerader Anzahl von Protonen und Neutronen entsteht ein resultierender Spin.

Der sich um seine eigene Achse drehende positiv geladene Kern erzeugt ein magnetisches Moment. Solange kein äußeres Magnetfeld auf die Atomkerne einwirkt, sind sie zufällig im Raum orientiert, es resultiert keine äußerlich messbare Magnetisierung. Werden sie jedoch einem äußeren Magnetfeld B_0 ausgesetzt, kommt es zu einer Ausrichtung, die z. B. beim Proton aus quantenmechanischen Gründen entweder parallel oder antiparallel zum Magnetfeld ist. Die parallele Ausrichtung ist hierbei der energieärmere Zustand, der im thermischen Gleichgewicht geringfügig überwiegt. In diesem Fall ist die Vektorsumme der einzelnen

magnetischen Momente ungleich 0, so dass sich eine äußerlich messbare Magnetisierung M ergibt. Diese Umorientierung ist mit der Ausstrahlung oder Absorption von Energie verbunden. Die Beziehung zwischen dieser Energie (ΔE) und der magnetischen Feldstärke wird durch die Larmor-Gleichung beschrieben:

$$\Delta E = h \nu_0 = \gamma B_0 / 2\pi$$

h ist das Planck'sche Wirkungsquantum, ν_0 die Larmor-Frequenz, γ die vom Aufbau des betreffenden Kerns abhängige Proportionalitätskonstante, B_0 das äußere Magnetfeld in Tesla (Lanfermann et al. 2002).

Nachdem das System durch einen Hochfrequenzpuls in der Larmorfrequenz angeregt worden ist, wechseln einige Kerne vom energieärmeren Zustand in den antiparallelen, energiereicheren Zustand. Hierdurch verkleinert sich der zum äußeren Magnetfeld parallele Summenvektor M . Gleichzeitig entsteht ein Resonanzphänomen, die einzelnen Kerne präzedieren für kurze Zeit nicht regellos, sondern in Phase. Der hieraus entstehende Summenvektor liegt quer zum Hauptmagnetfeld. Nach Beendigung des Hochfrequenzpulses setzen sowohl in Längs- als auch in Querrichtung Relaxationsvorgänge ein, die durch die Zeitkonstanten T_1 und T_2 beschrieben werden. T_1 oder longitudinale Relaxation ist die Zeitkonstante, die die Rückkehr der einzelnen Kerne in die zu B_0 parallele energieärmere Ausgangslage bezeichnet. T_2 oder transversale Relaxationszeit bezeichnet den Verlust der Phase der einzelnen Präzessionsbewegungen, wodurch der Vektor quer zur Hauptmagnetisierung allmählich reduziert wird.

Bei der MR-Spektroskopie wird prinzipiell das folgende Experiment durchgeführt: Die in ein äußeres Magnetfeld B_0 eingebrachten Kerne richten sich parallel oder antiparallel zum Magnetfeld aus. Über eine Hochfrequenzspule wird elektromagnetische Energie zugeführt. Dann wird die Spule auf Empfang umgeschaltet und die von den Kernen wieder abgegebene Energie gemessen. Die resultierende in der Spule induzierte Spannung ist nur wenige Nanovolt groß. Das Experiment muss daher mehrmals wiederholt werden und das empfangene Signal aufsummiert und verstärkt werden. Das Signal ist proportional zur Anzahl der untersuchten Kerne und zur Stärke des Magnetfeldes B_0 .

Das empfangene Signal setzt sich aus einer Vielzahl von Einzelfrequenzen unterschiedlicher Amplituden zusammen. Eine mathematische Analyse des Zeitsignals in Bezug auf die in ihm enthaltenen Frequenzkomponenten erfolgt durch die Fourier-Transformation.

Chemische Verschiebung

Die Resonanzfrequenz des gleichen Isotops, hier speziell des Protons, ist in Abhängigkeit von der chemischen Umgebung des Atomkerns gering unterschiedlich. Sie wird von Wechselwirkungen des Kernspins mit der Elektronenhülle und mit benachbarten Kernen verursacht. Elektronenströme erzeugen zusätzliche kleine magnetische Felder, die das B_0 -Feld überlagern (Lanfermann et al. 2002).

Das resultierende effektive Feld, das lokale Magnetfeld B_i für jeden Atomkern i des untersuchten Moleküls, wird beschrieben durch folgende Gleichung:

$$B_i = B_0 (1 - \sigma_i),$$

wobei σ_i eine dimensionslose Größe ist, die den abschirmenden Einfluss der Elektronenhülle für den Kern i beschreibt. Sie hat typischerweise eine Größenordnung von 10^{-6} bis 10^{-3} (Gadian 1995, S. 7).

Die modifizierte Larmorgleichung, nach der sich für jeden Atomkern in einer bestimmten chemischen Bindung eine spezifische Energiedifferenz ergibt, lautet:

$$\Delta E_i = h \nu_i = \gamma B_0 (1 - \sigma_i) / 2\pi$$

Die Resonanzfrequenz eines Spins im Bezug zu einer Referenzfrequenz wird wie folgt angegeben:

$$\sigma_{i, \text{ref}} = (\nu_i - \nu_{\text{ref}}) / \nu_{\text{ref}} = (\sigma_{\text{ref}} - \sigma_i) / (1 - \sigma_{\text{ref}}) \approx (\sigma_{\text{ref}} - \sigma_i)$$

Die Unterschiede der Resonanzfrequenz werden als „Chemische Verschiebung“ oder "chemical shift" bezeichnet (Lanfermann et al. 2002).

Die chemische Verschiebung wird in Millionstel (parts per million, ppm) im Verhältnis zu einer Referenzfrequenz, seltener in Hz angegeben. In der Protonenspektroskopie liegt der Nullpunkt der ppm-Skala beim Signal der Substanz Tetramethylsilan. Bei der graphischen Darstellung wird die ppm-Skala von rechts nach links aufgetragen.

Aus der Fläche unter einem Signal kann also auf die Anzahl der Kerne, aus der chemischen Verschiebung auf die Art der chemischen Bindung geschlossen werden.

Kopplungsphänomene

Durch die molekularen Bindungen entstehen Wechselwirkungen zwischen benachbarten Kernen, an denen auch die umgebenden Elektronen beteiligt sind. Sie führen zu charakteristischen Kopplungsmustern innerhalb bestimmter Moleküle. Die Kopplungskonstante J (Einheit: Hertz) ist molekülspezifisch und unabhängig von der Magnetfeldstärke. Hierfür werden die Begriffe spin-spin-coupling oder J-coupling verwendet.

Wenn die Differenz der chemischen Verschiebung der beiden Kopplungspartner in der Größenordnung oder kleiner als die Kopplungskonstante ist, ergeben sich hierdurch nach Fourier-Transformation typische Dublett- oder komplexe Muster. Dies ist z.B. bei Glutamat und Glutamin bei niedriger Feldstärke der Fall. Kerne, die keinen Unterschied in der chemischen Verschiebung zeigen (äquivalente Kerne) koppeln nicht miteinander (Gadian 1995, S. 176-177).

Pulssequenzen

Die Ablenkung der Kerne aus ihrem Gleichgewichtszustand im statischen Magnetfeld B_0 erfolgt durch einen Hochfrequenz (HF)-Puls oder kurz „Puls“, der von der HF-Spule erzeugt wird. Er enthält eine Bandbreite verschiedener Frequenzen, die die Larmorfrequenzen des interessierenden Atomkerns und seiner molekularen Verbindungen einschließt. Nach einer bestimmten Länge, die von der Intensität des Pulses abhängig ist, wird der Summenvektor der Magnetisierung um 90° , d.h. in die xy-Ebene gedreht. Weitere Pulse können ein Echo ("spin-echo") dieses Signals erzeugen, indem sie den Vektor in der Transversalebene noch einmal um 180° kippen. Für bildgebende und spektroskopische Fragestellungen wurden Pulssequenzen entwickelt, die durch verschiedene Zeitkomponenten charakterisiert werden.

Diese Zeitkomponenten sind:

- 1.) TE oder Echozeit. Sie beschreibt die Zeitspanne zwischen der Aussendung des ersten HF-Pulses und der Detektion des MR-Signals.
- 2.) TR oder Repetitionszeit. Sie beschreibt den Abstand zwischen den Einzelmessungen. TR sollte länger als T_1 sein, damit vor Beginn des neuen Pulses ausreichend viele Kerne wieder relaxiert sind.

In der Protonenspektroskopie werden vor allem die "Point-Resolved Spectroscopy" (PRESS) und die "Stimulated Echo Acquisition Method" oder STEAM-Sequenz verwendet (Haase et al. 1986, Bottomley 1987). Die PRESS-Sequenz ist eine Folge von 90° - und 180° -Pulsen. Jeder der drei Pulse ist schichtselektiv, regt also Kerne in einer räumlichen Ebene an, das gemessene Signal ist ein Spin-echo-Signal aus einem durch die drei Ebenen definierten Volumen (Bottomley 1987).

Gelöste Substanzen in niedriger Konzentration können *in vivo* nur sichtbar gemacht werden, wenn das dominierende Wassersignal ausreichend unterdrückt wird. Dies kann durch eine frequenzselektive Anregung des Wassersignals vor der eigentlichen Messsequenz mit anschließender gradientenunterstützter Dephasierung erreicht werden.

Nach der exakten Lokalisierung des interessierenden Volumens (VOI) muss eine manuelle oder automatische Feinabstimmung der Feldhomogenität in dieser Region ("shimming") durchgeführt werden.

1.3.3 Nachverarbeitung der Rohdaten und Quantifizierung

Die Rohdaten müssen für die Auswertung im Zeit- oder im Frequenzbereich weiterverarbeitet werden. Dies kann unter Einsatz der in klinische MR-Geräte integrierten oder kommerziellen Softwareprogramme erfolgen, die unabhängig von der Konsole des MR-Gerätes auf workstations arbeiten. Aufgrund der komplexeren Auswerterroutinen liefern diese Programme meist genauere Ergebnisse als die Auswertung auf der Konsole mit der Herstellersoftware.

Für die Auswertung von Spektren mit kurzer Echozeit, die viele komplexe, überlappende Signale enthalten, hat sich das Programm LCMoel (Linear Combination of Model Spectra) bewährt (Provencher 1993). Es analysiert Spektren mit Hilfe einer Linearkombination von *in vitro*-Modellspektren, die durch Messung einzelner Moleküle in Lösung gewonnen wurden. Die *in vitro*-Modellspektren umfassen N-Acetyl-Aspartat und N-Acetyl-Aspartyl-Glutamat

(tNAA), Kreatin und Kreatinphosphat (tCr), Phosphocholin und Glycerophosphocholin (tCh), myo-Inositol (mI), Glutamat (Glu), Glutamin (Gln), Alanin (Ala), Aspartat (Asp), GABA, Glukose (Glc), Laktat (Lac), Taurin (Tau) und scyllo-Inositol (Scyllo).

LCModel berechnet aus dem nach Fourier-Transformation erhaltenen Rohspektrum ein Modellspektrum sowie eine Grundlinie, die von Makromolekülen sowie von Wasser- und Lipidresonanzen erzeugt wird. Probleme bei der Wasserunterdrückung, Änderungen in der Makromolekülkonzentration oder andere Artefakte lassen sich am Verlauf der Grundlinie ablesen (Provencher 2001). Die Konzentrationen werden in dimensionslosen Laboreinheiten angegeben (Abb. 3 a, b)

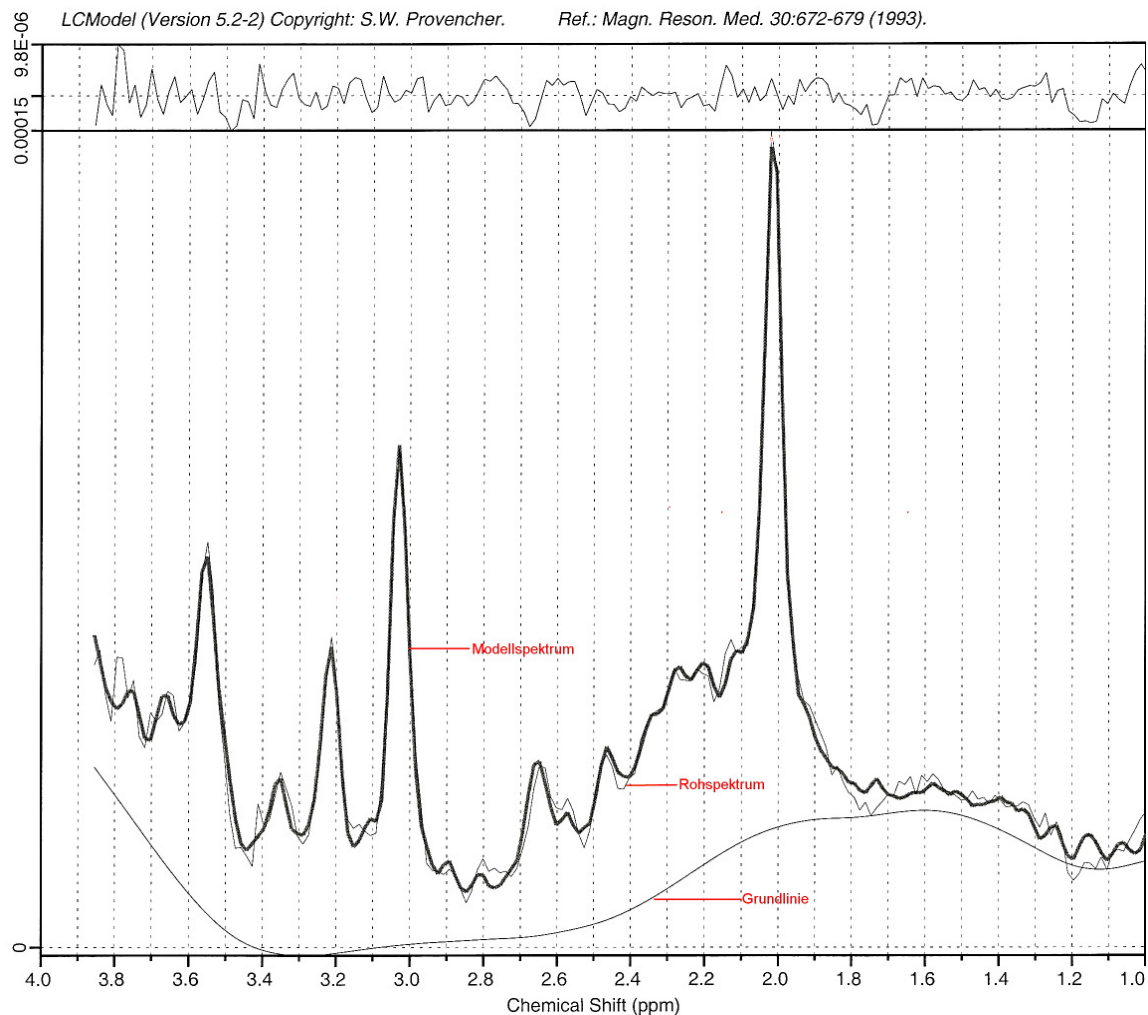


Abb. 3 a: LCModel-Auswertung eines normalen ZNS-Spektrums, ppm: parts per million
 Grundlinie: von LCModel berechnete Linie aus Makromolekülen, Lipidresonanzen und Wassersignal.
 Im oberen Fenster: Differenz nach Subtraktion des Modellspektrums vom Rohspektrum

| Conc. | %SD | /Cr | Metab. |
|--------|------|---------|----------|
| 0.048 | 999% | 3.5E-03 | Ala |
| 0.866 | 172% | 0.064 | Asp |
| 13.451 | 8% | 1.000 | Cre |
| 3.298 | 47% | 0.245 | GABA |
| 8.005 | 36% | 0.595 | Gln |
| 8.848 | 18% | 0.658 | Glu |
| 2.805 | 12% | 0.209 | GPC |
| 0.000 | 999% | 0.000 | PCh |
| 0.000 | 999% | 0.000 | Lac |
| 6.068 | 9% | 0.451 | mI |
| 12.572 | 13% | 0.935 | NAA |
| 3.306 | 40% | 0.246 | NAAG |
| 0.603 | 46% | 0.045 | Scyllo |
| 2.432 | 53% | 0.181 | Tau |
| 15.878 | 6% | 1.181 | NAA+NAAG |
| 2.805 | 12% | 0.209 | GPC+PCh |
| 16.853 | 19% | 1.253 | Glu+Gln |

Abb. 3 b: LCModel-Konzentrationsangaben (in dimensionslosen Laboreinheiten) mit %SD und dem jeweiligen Verhältnis zum Kreatingehalt (/tCr) der folgenden Substanzen:

Ala: Alanin, Asp: Aspartat, Cre: Kreatin und Kreatinphosphat, Gln: Glutamin, Glu: Glutamat, GPC: Glycerophosphocholin, PCh: Phosphocholin, Lac: Laktat, mI: myo-Inositol, NAA: N-Acetyl-Aspartat, NAAG: N-Acetyl-Aspartyl-Glutamat, Scyllo: Scyllo-Inositol, Tau: Taurin

Um untereinander vergleichbar zu sein, müssen die Metabolitensignale quantifiziert werden. Dies kann durch die Berechnung von Verhältnissen einzelner Signalintensitäten eines Spektrums geschehen (relative Quantifizierung durch sog. "Metabolitenratios") oder durch absolute Quantifizierung der Konzentration, das heißt Umrechnung in mmol/l. Bei der relativen Quantifizierung wird als Referenzsignal häufig die Konzentration von Kreatin und Kreatinphosphat (Gesamtkreatin oder tCr) verwendet, die sich als relativ konstant erwiesen hat und bei den meisten Pathologien unverändert erscheint (Provencher 1993). Prinzipiell ist eine absolute Konzentrationsbestimmung der relativen vorzuziehen, da davon auszugehen ist, dass sich bei der Bildung von Signalintensitätsverhältnissen die Messfehler addieren (Schirmer und Auer 2000). Für die Berechnung der absoluten Konzentration müssen alle Faktoren berücksichtigt werden, die Einfluss auf die gemessenen Signalintensitäten haben. Dies sind Größe und Zusammensetzung des Messvolumens, Spulenladung, T₁- und T₂-Relaxationszeiten sowie die Anzahl der signalgebenden Protonen (Provencher 1997, Lanfermann et al. 2002).

1.3.4 ^1H -Spektrum des menschlichen Gehirns

Voraussetzung für die Erfassbarkeit von Kernsignalen mit der MR-Spektroskopie ist die Beweglichkeit des Atoms bzw. der molekularen Verbindung. Kerne, die in Makromoleküle wie Proteine oder Zellmembranen eingebunden sind, erzeugen breite, nicht näher analysierbare Signale. Kleine, freie Moleküle bis zur Größenordnung einer freien Aminosäure oder eines Dipeptids hingegen erzeugen prominente Signale. Mit der MR-Spektroskopie wird also, wie auch mit anderen analytischen und chromatographischen Verfahren, die Konzentration ungebundener kleiner Moleküle bestimmt.

Im Protonen-Spektrum des menschlichen Gehirns lassen sich zahlreiche Moleküle unterscheiden. Die unterschiedliche chemische Verschiebung der ^1H -Resonanzfrequenz wird hierbei durch die verschiedenen physikochemischen Eigenschaften der signalerzeugenden protonenhaltigen Gruppen dieser Substanzen bedingt (Abb. 4).

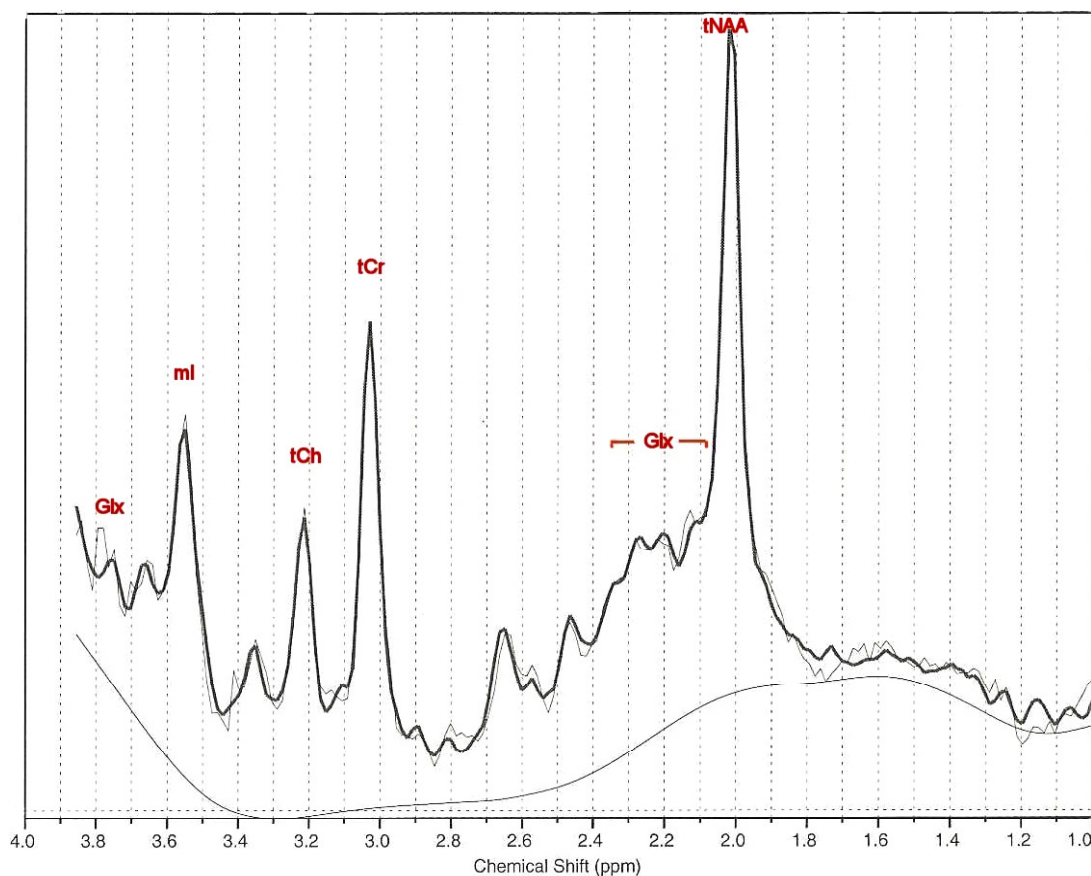


Abb. 4: Normales ZNS-Spektrum

mI: myo-Inositol, tCh: Cholinhaltige Moleküle, tCr: Kreatin und Kreatinphosphat, tNAA: N-Acetyl-Aspartat und N-Acetyl-Aspartyl-Glutamat, Glx: Glutamin und Glutamat, ppm: parts per million

Mit MR-Scannern mittlerer Feldstärken können *in vivo*-protonenspektroskopisch im Hirnparenchym in der Regel folgende Substanzen identifiziert werden:

N-Acetyl-Aspartat und N-Acetyl-Aspartyl-Glutamat (tNAA)

N-Acetyl-Aspartat oder NAA ist eine freie acetylierte Aminosäure, deren prominentes Singulett bei 2,02 ppm im normalen ZNS-Spektrum alle anderen Signale überragt. Weitere gekoppelte Resonanzen liegen bei 2,49, bei 2,67 und bei 4,38 ppm. NAA ist in zahlreiche Stoffwechselprozesse eingebunden und gilt, da es im reifen ZNS nur in Nervenzellen vorkommt, als neuronaler Marker. Akute und chronische Zustände, die mit einem verminderten neuronalen Stoffwechsel oder mit Nervenzellverlusten einhergehen, führen zur Mindering des NAA-Signals in der ¹H-MRS (Lanfermann et al. 2002). Neben NAA trägt in geringerem Umfang auch das Dipeptid N-Acetyl-Aspartyl-Glutamat (NAAG) zur Resonanz bei. Beide Moleküle können *in vivo* nicht separat bestimmt werden und werden als tNAA ("total NAA") zusammengefasst.

Kreatin und Kreatinphosphat (tCr)

Bei 3,04 ppm wird ein Singulett durch die beiden Verbindungen Kreatin und Kreatinphosphat erzeugt. Sie sind am zellulären Energiestoffwechsel beteiligt, Kreatinphosphat dient in Muskel und ZNS als Energiereserve. Beide Substanzen kommen sowohl in Neuronen als auch in Gliazellen vor (Petroff et al. 1993). Ihre Konzentration im ZNS ist in den verschiedenen Hirnregionen relativ konstant und bleibt auch bei den meisten Erkrankungen unverändert, weshalb das Signal in vielen protonenspektroskopischen Studien als Referenzsignal verwendet wird (Provencher 1993). Beide Metabolite werden im weiteren als tCr bezeichnet, da sie mit der ¹H-MRS nicht differenziert werden können.

Cholinhaltige Metabolite (tCh)

Die Gruppe der cholinhaltigen Moleküle oder Trimethylamine erzeugt ein prominentes Singulett bei 3,2 ppm. Zu diesem Signal trägt freies Cholin nur in geringem Umfang bei, es wird hauptsächlich von Glycerophosphocholin und Phosphocholin gebildet. Diese Substanzen können Vorstufe bzw. Abbauprodukt von Zellmembranen sein, erhöhter Membranumsatz führt zu einem Anstieg der detektierbaren freien Moleküle (Klein 2000).

myo-Inositol (mI)

Inositole sind zyklische Zuckeralkohole, die in 9 verschiedenen Isomeren existieren. Das im ZNS am häufigsten vorkommende Isomer ist myo-Inositol. Seine 6 Protonen ergeben insgesamt 4 Gruppen von Resonanzen, von denen ein Signal bei 3,5-3,6 ppm besonders prominent ist (Govindaraju et al. 2000). Die Substanz ist in Gliazellen stärker konzentriert als in Neuronen und gilt deswegen als Gliamarker (Brand et al. 1993). Signifikante Veränderungen der zerebralen myo-Inositol-Konzentration wurden bei verschiedenen Demenzformen (M. Alzheimer und Frontotemporale Demenz), Stoffwechselstörungen (Diabetes mellitus, hepatische Enzephalopathie), Änderungen der Osmolarität (Hyper- und Hyponatriämie, Nierenversagen) und beim M. Down gefunden (Kreis und Ross 1992, Kreis et al. 1992, Ross et al. 1994, Ernst et al. 1997, Ross et al. 1997).

Glutamin und Glutamat (Glx)

Die Signale der Aminosäuren Glutamin und Glutamat werden in der *in vivo*-Spektroskopie in der Regel als "Glx" zusammengefasst, weil sie bei mittleren Feldstärken nicht sicher voneinander separiert werden können. Im Gegensatz zu den Singulets von tNAA, tCh, mI und tCh erzeugen die Aminosäuren Glutamin und Glutamat im ¹H-MR-Spektrum durch Wechselwirkungen benachbarter protonenhaltiger Gruppen im Molekül gekoppelte Resonanzen. Dies beeinflusst die Bestimmbarkeit *in vivo* erheblich. Statt eines prominenten Signals produzieren die Protonen der Methin- und Methylengruppen mehrgipflige Multipletts mit niedriger Gesamthöhe. Beim Glutamat enthalten α -Methingruppe (CH) sowie β - und γ -Methylengruppen (CH₂) Protonen, die Signale zwischen 0 und 4 ppm erzeugen (Abb. 5).

| | |
|---|---|
| $\begin{array}{c} \text{OOC-C}_\alpha\text{H-C}_\beta\text{H}_2\text{-C}_\gamma\text{H}_2\text{-COO}^- \\ \\ \text{NH}_3 \end{array}$ | $\begin{array}{c} \text{OOC-C}_\alpha\text{H-C}_\beta\text{H}_2\text{-C}_\gamma\text{H}_2\text{-CO-NH}_2 \\ \\ \text{NH}_3 \end{array}$ |
| Glutamat | Glutamin |

Abb. 5: Strukturformeln von Glutamat und Glutamin

In vitro sind folgende Resonanzen darstellbar: Das Proton der α -Methingruppe des Glutamats erzeugt ein Signal in Form eines zweifachen Dubletts bei 3,74 ppm (Govindaraju et al. 2000).

Die vier Protonen der beiden β - und γ -Methylengruppen produzieren *in vitro* vier Multipletts zwischen 2,04 und 2,35 (Govindaraju et al. 2000).

Das Glutaminmolekül ist dem Glutamat strukturverwandt, besitzt aber eine zusätzliche Aminogruppe. Das Proton der α -Methingruppe erzeugt *in vitro* ein Triplett bei 3,75 ppm, also an gleicher Stelle wie die entsprechende Glutamatresonanz (Govindaraju et al. 2000). Die Protonen der β - und γ -Methylengruppen werden *in vitro* durch vier Multipletts zwischen 2,11 und 2,45 ppm abgebildet, erfahren also eine beinahe vollständige Überschneidung mit den Glutamatsignalen (Govindaraju et al. 2000). Die Aminogruppe des Glutamins enthält zwei Protonen, deren Signale *in vitro* außerhalb des analysierten ppm-Abschnitts zwischen 6,82 und 7,53 liegen (Govindaraju et al. 2000). Die Überlagerung der Signale ist der Grund dafür, dass *in vivo* keine sichere Differenzierung von Glutamin und Glutamat möglich ist (Govindaraju et al. 2000).

Eine weitere wichtige Einflussgröße für die Detektierbarkeit von Glx in der *in vivo*-Spektroskopie sind Überschneidungen mit anderen Metabolitsignalen sowie mit Makromolekülresonanzen. Die Signale der β - und γ -Methylengruppen von Glutamin und Glutamat bei 2,04 - 2,45 ppm sind denen von NAA und NAAG unmittelbar benachbart. Das prominente Signal von NAA liegt bei 2,01 ppm, ein kleineres Dublett bei 2,49 ppm. NAAG produziert eine Einzelresonanz bei 2,04 ppm. Auch GABA erzeugt *in vitro* in der gleichen Region drei Multipletts zwischen 1,89 und 3,01 ppm (Govindaraju et al. 2000).

Die Überschneidungen mit NAA, GABA und NAAG können prinzipiell mithilfe von LCModel separiert werden, weil jede dieser Substanzen weitere Resonanzen an anderen Stellen erzeugt. Problematischer für die Auswertung sind die *in vivo* vorhandenen Makromoleküle. Diese erzeugen vor allem bei kurzen Echozeiten breite, nicht näher definierbare Rauschsignale, von denen die Resonanzen der Aminosäuren Glutamin und Glutamat schwierig abzugrenzen sind (Behar et al. 1994).

Es gibt Hinweise darauf, dass die Glutamatfraktion in synaptischen Vesikeln sich der *in vivo*-Detektion ganz oder teilweise entzieht (Kauppinen und Williams 1991, Pirttilä et al 1993, Kauppinen et al. 1994).

1.3.5 ¹H-MR-Spektroskopische Befunde beim M. Alzheimer

Die erste *in vivo*-¹H-MRS-Untersuchung zum M. Alzheimer wurde im Jahr 1992 von Bruhn et al. publiziert und zeigte ermutigende Ergebnisse für eine Anwendbarkeit dieser Technik als diagnostisches Verfahren (Bruhn et al. 1992). In der Folge wurden zahlreiche *in vivo*- und *in vitro*-¹H-MRS-Studien zur DAT durchgeführt. Die wesentlichen Veränderungen betreffen den Gehalt des neuronalen Markers tNAA sowie die myo-Inositolkonzentration.

Der absolute oder relative Gehalt von tNAA war in einem großen Teil der Untersuchungen in verschiedenen Hirnregionen bei der DAT verringert. Für den Parietal- oder Schläfenlappen wurden signifikante Verringerungen von tNAA oder tNAA/tCr in sechs Studien beschrieben (Miller et al. 1993, Jessen et al. 2000, Kantarci et al. 2000, Antonuo et al. 2001, Hattori et al. 2002, Herminghaus et al. 2003a), während drei Arbeitsgruppen einen unveränderten Gehalt ermittelten (Moats et al. 1994, Ernst et al. 1997, Stoppe et al. 2000). In einer Untersuchung war der Parietallappen unauffällig, temporal hingegen war NAA/tCr verringert (Frederick et al. 1997). Im Okzipitallappen wurde von vier Arbeitsgruppen über eine signifikante Reduktion von tNAA oder tNAA/tCr berichtet (Miller et al. 1993, Moats et al. 1994, Shonk et al. 1995, Huang et al. 2001), während eine diese Region unverändert fand (Kantarci et al. 2000). Im Frontallappen wurde zum Teil über eine reduzierte (Christiansen et al. 1995), zum Teil über eine unveränderte (Herminhaus et al. 2003a) Konzentration von tNAA bzw. tNAA/tCr berichtet. Die Hippocampusregion war Gegenstand einer Arbeit, die den tNAA-Gehalt hier vermindert fand (Capizzano et al. 2000).

Eine unerwartete Beobachtung war der Anstieg von myo-Inositol bzw. mI/tCr bei der Demenz vom Alzheimer-Typ. Dieser Befund konnte bisher noch nicht schlüssig erklärt werden. Erhöhte relative oder absolute Konzentrationen von mI bei der DAT wurden im Parietal- oder Temporallappen von sieben Arbeitsgruppen referiert, allerdings waren sie nur in vier Studien signifikant (Miller et al. 1993, Moats et al. 1994, Ernst et al. 1997, Kantarci et al. 2000, Antonuo et al. 2001, Huang et al. 2001, Herminhaus et al. 2003a). Zwei Arbeiten berichteten über einen unveränderten parietalen Gehalt von mI bzw. mI/tCr (Stoppe et al. 2000, Hattori et al. 2002). Im Okzipitallappen wurde in fünf Untersuchungen ein Anstieg von mI oder mI/tCr ermittelt (Miller et al. 1993, Shonk et al. 1995, Moats et al. 1994, Huang et al. 2001), eine Studie fand mI/tCr dort unverändert (Kantarci et al. 2000). Im Frontallappen war die mI- bzw.

mI/Cr-Konzentration den bisherigen Publikationen zufolge unverändert (Ernst et al. 1997, Herminghaus et al. 2003a).

Einzelne Arbeiten beschreiben zudem Veränderungen von tCho/tCr (Kantarci et al. 2000) bzw. von tCr (Huang et al. 2001) bei der DAT.

In jüngerer Zeit ist durch die Verfügbarkeit subtiler Auswertungsverfahren auch die *in vivo*-Konzentrationsbestimmung von Glutamat und Glutamin (Glx) möglich geworden. Bisher wurden sieben Studien mit quantitativen oder qualitativen Angaben zur *in vivo*-Konzentration von Glx oder Glx/tCr bei der DAT publiziert (Moats et al. 1994, Shonk et al. 1995, Ernst et al. 1997, Stoppe et al. 2000, Antonuo et al. 2001, Hattori et al. 2002, Herminghaus et al. 2003a). Die referierten Ergebnisse sind heterogen: Drei Arbeitsgruppen fanden einen unveränderten Gehalt glutamaterger Marker (Shonk et al. 1995, Ernst et al. 1997, Stoppe et al. 2000), drei beschreiben eine Reduktion (Moats et al. 1994, Antonuo et al. 2001, Hattori et al. 2002), eine berichtet über einen Glx/tCr-Anstieg bei der DAT (Herminhaus et al. 2003a). Die Untersuchungen unterscheiden sich vor allem hinsichtlich der eingesetzten Auswertungsmethoden erheblich voneinander.

Im Gegensatz zu den meisten *in vivo*-Befunden stehen die Ergebnisse zweier *in vitro*-spektroskopischer Untersuchungen, die in autoptisch gewonnenem Hirngewebe einen signifikanten Glutamatanstieg beim M. Alzheimer beschreiben (Klunk et al. 1992, Klunk et al. 1996). Bei einer weiteren *in vitro*-Studie war der Glutamatgehalt hingegen unverändert (Mohanakrishnan et al. 1995).

Im Hinblick auf eine mögliche pathogenetische Bedeutung von Glutamat beim M. Alzheimer ist weniger der intrazelluläre Gehalt als vielmehr die Konzentration des Transmitters im synaptischen Spalt von Interesse. Einige Untersuchungen weisen darauf hin, dass in synaptischen Vesikeln gespeichertes Glutamat protonenspektroskopisch nicht oder unvollständig erfasst wird (Kauppinen und Williams 1991, Pirttilä 1993, Kauppinen et al. 1994). Nach Entleerung der Vesikel erfolgt unter physiologischen Bedingungen ein rascher Reuptake von Glutamat ins präsynaptische Neuron sowie ein Transport in umliegende Astrozyten, wo es zu Glutamin umgewandelt und in dieser Form wieder an die Nervenzelle abgegeben wird. Unter pathologischen Bedingungen kann die Aufnahme aus dem synaptischen Spalt in die Astrozyten versagen, da die Funktion der astrozytären Glutamattransporter eingeschränkt oder aufgehoben ist. Dies führt zu einem Anstieg der bestimmaren Glx-Fraktion und damit der Glx-Gesamtkonzentration (Kauppinen et al. 1994). Am Modell einer anoxischen Depolari-

sation *in vitro* (Kauppinen und Williams 1991) sowie bei der neonatalen Asphyxie *in vivo* (Yongling et al. 2000) wurde ein Glx-Konzentrationsanstieg nachgewiesen, auch die Ergebnisse einer ^1H -MRS-Studie zu Beinahe-Ertrinkungsunfällen zeigte einen Anstieg der Glx-Konzentration (Kreis et al. 1996).

Beim M. Alzheimer wurden Funktionseinschränkungen astrozytärer EAS-Transporter nachgewiesen (Li et al. 1997, Masliah et al. 1996). Somit könnte theoretisch eine Entleerung synaptischer Speicher in Verbindung mit einem länger dauernden Anstieg der Glutamatkonzentration im synaptischen Spalt *in vivo* nachweisbar sein. Potenziell neurotoxische extrazelluläre Glutamatkonzentrationen bei der DAT könnten so *in vivo* sichtbar gemacht werden. Allerdings müssen hierfür theoretisch zwei Voraussetzungen erfüllt sein: Die Glx-Konzentration muss hinreichend zuverlässig bestimmbar sein, und der Anstieg von Glutamat im synaptischen Spalt muss einen ausreichend großen Anteil der neuronalen Synapsen betreffen.

1.4 Fragestellungen der Arbeit

Die ^1H -MR-Spektroskopie ermöglicht *in vivo* die Konzentrationsbestimmung biochemischer Substanzen und es wurden bereits zahlreiche Untersuchungen zur Demenz vom Alzheimer-Typ durchgeführt. In der Regel ist der Gehalt von N-Acetyl-Aspartat, myo-Inositol, Kreatin und Kreatinphosphat sowie der cholinhaltigen Substanzen bestimmt worden. Durch den Einsatz komplexer Nachbearbeitungsverfahren ist es jedoch möglich geworden, auch die Konzentration von Glutamin und Glutamat zu messen. Glutamat ist einer der wichtigsten exzitatorischen Neurotransmitter und wird mit der Pathogenese der DAT in Zusammenhang gebracht. Das glutamaterge Transmittersystem bei der DAT wurde bisher nur in wenigen Studien und zudem mit kontroversen Ergebnissen *in vitro* und *in vivo* spektroskopisch erforscht.

Die vorliegende Arbeit soll zur Klärung der Zusammenhänge beitragen, indem mit der *in vivo*- ^1H -MR-Spektroskopie die Konzentrationen von Glutamin und Glutamat im Parietallappen von Patienten, die an einer Demenz vom Alzheimer-Typ im frühen bis mittleren Stadium leiden, gemessen werden. Dazu sind zwei Volumina auszuwählen, die im Kortex bzw. im Marklager des Parietallappens liegen. Neben der Glutamat- und Glutaminkonzentration sollen zusätzlich das Ausmaß der Hirngewebeatrophie sowie die Konzentration der Moleküle

N-Acetylaspartat und N-Acetyl-Aspartyl-Glutamat (tNAA), Kreatin und Kreatinphosphat (tCr), myo-Inositol (mI) sowie der cholinhaltigen Substanzen (tCh) bestimmt werden, um Hinweise auf den Zustand der Neuronen und die zelluläre Zusammensetzung der untersuchten Hirnregionen zu erhalten. Als Kontrollgruppe dienen altersentsprechende Probanden.

Folgende Fragen soll die Untersuchung klären:

- 1.) Wie zuverlässig kann bei einer Magnetfeldstärke von 1,5 T die Konzentration von Glutamin und Glutamat *in vivo* gemessen und unter Einsatz einer geeigneten Auswertungssoftware (LCModel) quantifiziert werden?
Als Maß für die Zuverlässigkeit der Messungen werden die von LCModel angegebenen %SD-Werte herangezogen.
- 2.) Welche absoluten und im Verhältnis zum Kreatingehalt relativen Metabolitkonzentrationen werden gemessen?
Zur Verifizierung der Quantifizierung soll untersucht werden, ob absolute oder relative Konzentrationen stärker streuen. Hierzu werden die Variationskoeffizienten verglichen.
- 3.) Zeigen Probanden und Patienten unterschiedliche Glutamat- und Glutaminkonzentrationen?
Weiter soll untersucht werden, ob ein Zusammenhang der Konzentrationen mit der Erkrankungsdauer oder mit dem Ausmaß der kognitiven Defizite besteht.
- 4.) Bestehen Unterschiede bei Patienten und Probanden bezüglich der Hirngewebeatrophie sowie der Konzentrationen der Substanzen tNAA, tCr, mI und tCh?
Hierzu dient eine ANOVA-Analyse. Auch hier sollen mögliche Korrelationen mit der Dauer und dem Schweregrad der Erkrankung geprüft werden.

2. Patienten, Probanden und Methode

2.1 Patienten

Die Patienten für die prospektive Untersuchung wurden dem Institut für Neuroradiologie im Zeitraum von September 2000 bis September 2001 von der Gedächtnisambulanz (damalige Leitung: PD Dr. med. L. Frölich) der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie I (Leitung Prof. Dr. med. K. Maurer) der Universität Frankfurt überwiesen.

Die untersuchte Patientengruppe umfasste insgesamt 39 Personen. Von diesem Kollektiv erfüllten die Spektren von 29 Patienten die Auswahlkriterien (s. Kapitel 2.3.5). Diese Patienten waren zum Untersuchungszeitpunkt 55 - 83 Jahre, im Durchschnitt 71,9 Jahre alt, 10 waren männlichen, 19 weiblichen Geschlechts (Tab. 1).

| | <i>DAT-Patienten</i> |
|---------------------------|-----------------------------|
| n | 29 |
| Alter (Mittelwert, STABW) | 71,9 ± 7,91 Jahre |
| Geschlecht | 10 m., 19 w. |
| MMSE | 21 ± 3,57 (11-27) |
| GDS | 3,97 ± 0,72 |
| SKT | 13,1 ± 5,9 |
| Erkrankungsdauer | 2,96 ± 1,8 Jahre |
| PGM-Spektren | 25 |
| PWM-Spektren | 19 |

Tab. 1: Alters- und Geschlechtsverteilung, psychometrische Testergebnisse der ausgewerteten Patienten
DAT: Patient mit Demenz vom Alzheimer-Typ, MMSE: Mini Mental State Examination, GDS: Global Deterioration Scale, SKT: Syndrom-Kurz-Test, PGM: parietale Hirnrinde, PWM: parietales Marklager

Alle Patienten bzw. deren Angehörige willigten schriftlich in die MR-Untersuchung ein. Sie waren kooperativ und tolerierten die ca. 30 min. dauernde Untersuchung gut.

Die Diagnose einer Demenz vom Alzheimer-Typ wurde von der Gedächtnisambulanz mittels ausführlicher Anamneseerhebung, einer neurologischen und internistischen Untersuchung, psychometrischen Tests sowie bildgebenden und nuklearmedizinischen Verfahren gestellt. Die erhobenen Laborparameter umfassten neben dem Blutbild die

Bestimmung von Schilddrüsenhormonen, Vitamin B₁₂, Folsäure und Cholesterin. Zur körperlichen Untersuchung gehörten EKG und EEG. Außerdem wurden die Patienten mittels PET (Positronen-Emissions-Tomographie) oder HMPAO-SPECT (Hexamethylpropylen-aminoxim-Single Photon Emission Computed Tomography) untersucht. Vor der Spektroskopie wurde zudem eine konventionelle MR-Tomographie durchgeführt.

Folgende Diagnosekriterien wurden angewandt: NINDS-ARDA (National Institute of Neurological Disorder and Stroke, Alzheimer's Disease and Related Disorders Association [McKhann et al. 1984]) und DSM IV (American Psychiatric Association 1994). Der Schweregrad der Hirnleistungsstörung wurde in der Gedächtnisambulanz mithilfe folgender psychometrischer Tests und Kriterien beurteilt: Mini Mental State Examination (MMSE) (Folstein et al. 1975), Syndrom-Kurz-Test (SKT) (Erzigkeit 1989) und Global Deterioration Scale (GDS) (Reisberg et al. 1982). Die Angaben über die Erkrankungsdauer stammten zum Teil von den Patienten selbst, zum Teil von deren Angehörigen. Die Zeitspanne zwischen dem Bemerkten erster gravierender Symptome und dem Zeitpunkt der MRS-Untersuchung reichte von sechs Monaten bis zu 7,5 Jahren, im Durchschnitt waren es 2,96 Jahre.

2.2 Probanden

Die Probandengruppe bestand aus 19 Personen. Ein Proband wurde wegen ausgeprägter morphologischer MRT-Veränderungen nicht in die Auswertung einbezogen.

Die Probanden, deren Daten ausgewertet wurden, waren 58-81 Jahre alt, ihr Durchschnittsalter lag bei 66,4 Jahren (Tab. 2). Acht Probanden waren männlichen, zehn weiblichen Geschlechts.

| | <i>NP</i> |
|---------------------------|----------------|
| n | 18 |
| Alter (Mittelwert, STABW) | 66,4 ± 7 Jahre |
| Geschlecht | 8 m., 10 w. |
| MMSE | 29,65 ± 0,49 |
| PGM-Spektren | 17 |
| PWM-Spektren | 13 |

Tab. 2: Alters- und Geschlechtsverteilung, psychometrische Testergebnisse der ausgewerteten Probanden NP: Normalproband, MMSE: Mini Mental State Examination, PGM: parietale Hirnrinde, PWM: parietales Marklager

Die Probanden waren nach eigenen Angaben zum Zeitpunkt der Untersuchung weitgehend gesund. Sie wurden nach Herz-, Nieren- und Kreislaufkrankheiten, Stoffwechselerkrankungen, Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises, Malignomen sowie nach neurologischen, und psychiatrischen Auffälligkeiten befragt. Der Gesundheitszustand der Probanden wurde mit einem standardisierten Fragebogen erfasst.

Ein Proband war 8 Jahre zuvor wegen eines Karzinoms kolonreseziert worden und war seitdem tumorfrei, eine Chemotherapie war nicht durchgeführt worden. Der gleiche Proband litt seit 5 Jahren an Asthma bronchiale und an einer arteriellen Hypertonie. Zwei weitere Probanden gaben eine arterielle Hypertonie an, die medikamentös behandelt wurde, einer von diesen hatte vor 15 Jahren einen Hinterwandinfarkt erlitten. Alle anderen Probanden hatten keine schweren Vorerkrankungen.

Zwei der Probanden wiesen in der MRT geringe Zeichen einer Mikroangiopathie auf, zwei hatten eine ausgeprägtere Mikroangiopathie. Bei keinem der Probanden wurden Tumoren oder territoriale Infarkte gefunden.

Zur Beurteilung der kognitiven Leistungsfähigkeit führten die Probanden einen MMSE-Test durch. Elf von ihnen erreichten hier die volle Punktzahl (30 Punkte), sechs erreichten 29 Punkte, ein Proband erzielte 27 Punkte, alle Personen waren also altersentsprechend unauffällig. Alle Probanden willigten schriftlich in die spektroskopische Untersuchung ein und tolerierten diese gut.

2.3 Methode

2.3.1 Bildgebende Diagnostik

Alle Untersuchungen wurden auf einem Gyroscan Intera 1,5 Tesla MR-Gerät der Firma Philips (Philips Medical Systems Eindhoven/Niederlande) durchgeführt.

Für die Bildgebung sind ein axialer T₁-gewichteter und ein koronarer T₂-gewichteter Datensatz mit 3 mm Schichtdicke aufgenommen worden, zusätzlich wurde eine weitere axiale T₂-gewichtete Tomographie mit einem field of view von 250 und 5 mm Schichtdicke bei 22 Schichten und einem gap von 1 mm akquiriert.

2.3.2 Lokalisierung der Volumina für die Spektroskopie

Es wurden jeweils ein Volumen ("volume of interest", VOI) im Marklager und eines im Kortex des Parietallappens untersucht.

Das Marklager-Volumen (parietal white matter, PWM) wurde dorsolateral vom Hinterhorn des Seitenventrikels in der linken, ausnahmsweise auch in der rechten Hemisphäre platziert. Es enthielt ausschließlich weiße Substanz und war 4,5-9,5 cm³ groß (Abb. 6).

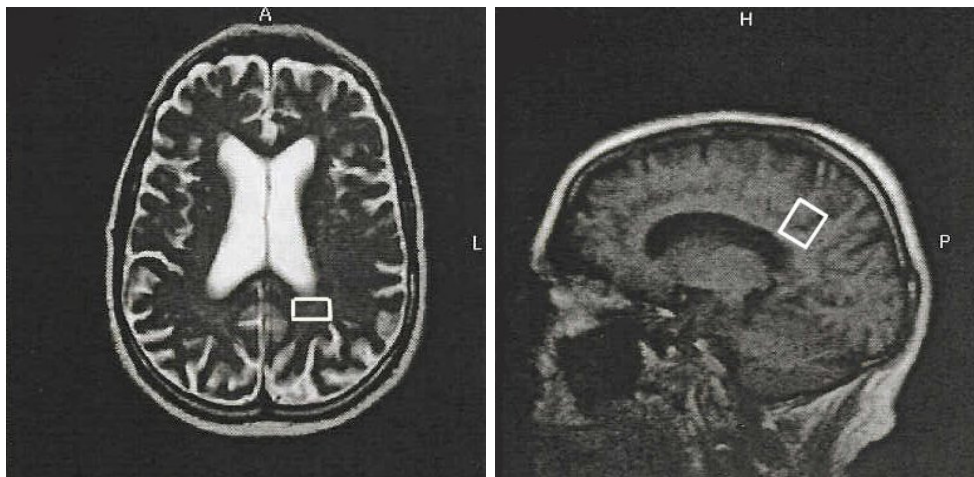


Abb. 6: Lokalisation des Marklagervolumens im Parietallappen (PWM)

Das Volumen im parietalen Kortex (parietal grey matter, PGM) umfasste die Hirnrinde auf beiden Seiten des interhemisphärischen Spalts. Es enthielt Assoziationsareale des Gyrus cinguli und bestand überwiegend aus grauer Substanz. Der Anteil des liquorhaltigen Raums zwischen Hemisphären und Gyri wurde durch eine zusätzliche Messung bestimmt. Die Größe der PGM-Volumina betrug 9-18,5 cm³ (Abb. 7).

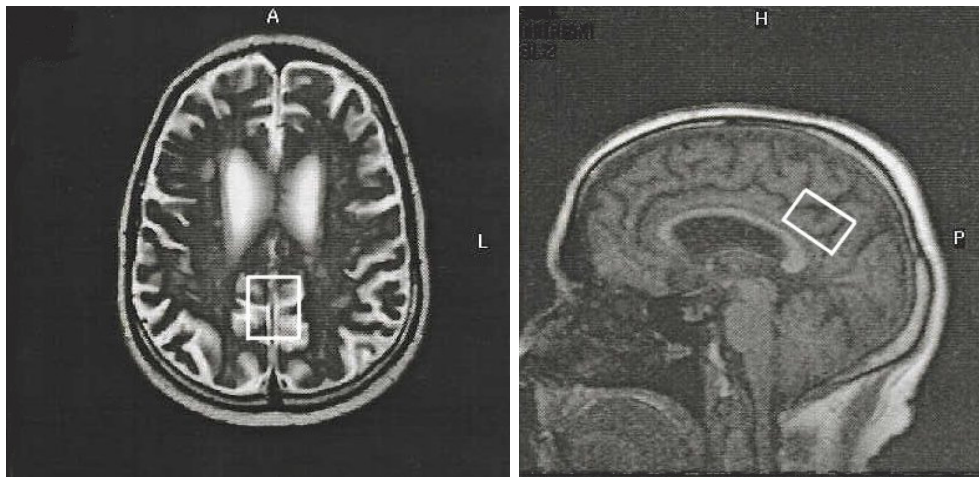


Abb. 7: Lokalisation des Rindenvolumens im Parietallappen (PGM)

2.3.3 Spektroskopische Untersuchung

Nach der Lokalisierung wurde die Feldhomogenität in dem zu untersuchenden Bereich optimiert. Dieses erfolgte automatisch mittels eines im Gerät implementierten Messprogramms ("automatic shimming").

Sequenzen:

Die Spektren wurden mit einer PRESS-Sequenz mit kurzer Echo-Zeit (TE = 22 ms, TR = 3 s) akquiriert.

Für die Wasserunterdrückung erfolgte eine frequenzselektive Anregung des Wassersignals durch einen HF-Puls mit einer Bandbreite von 60 Hz mit anschließender Dephasierung der transversalen Magnetisierung mittels Gradienten.

Im Marklager wurden, je nach Volumengröße, 96-128 Akquisitionen durchgeführt, im Kortex 64 Akquisitionen.

Im Anschluss an die Messungen im Kortex-Volumen (PGM) wurde jedesmal eine zusätzliche Akquisitionsserie vom gleichen Volumen ohne Wasserunterdrückung bei schrittweise ansteigenden TE-Zeiten von 30-1500 ms zur Messung des Liquorgehaltes (cerebrospinal fluid, CSF) durchgeführt. Aufgrund der unterschiedlichen T_2 -Relaxationszeiten für Liquor und Gewebe kann hierdurch der prozentuale Hirngewebeanteil errechnet werden (Ernst et al. 1993).

Das MR-Gerät wurde einmal monatlich kalibriert, indem ein "Phantom" (eine mit einer Kreatinlösung bekannter Konzentration gefüllte Kunststoffkugel) gemessen wurde. Hierbei wurde die Transmitterreferenzamplitude ($TRAMP_{Ph}$) als Maß für die Spulenladung ermittelt.

2.3.4 Nachverarbeitung der Rohdaten

Die Rohdaten wurden zu einer Unix-Workstation (Sun SPARK 20, Sun Microsystems Inc., Mountain View, CA, USA) übermittelt und mit LCMModel analysiert.

Zur Beurteilung der Messgenauigkeit wurden die vom Programm für jede Substanz gesondert angegebenen %SD-Werte herangezogen. Diese geben die Streuung aller von LCMModel durchgeführten Einzelberechnungen an und beschreiben in etwa die Genauigkeit der einzelnen Konzentrationsbestimmung.

Kleine %SD-Werte (bis ca. 20%) indizieren zuverlässige Konzentrationsbestimmungen, höhere Werte weisen auf größere Messungenauigkeiten für die betreffende Substanz hin (Provencher 1997).

Absolute Quantifizierung:

Die Quantifizierung erfolgte nach der "phantom replacement method". Hierfür wurden Größe und Zusammensetzung des VOI (in PGM) sowie Spulenladung und Relaxationszeiten berücksichtigt. Die von LCMModel erhaltenen Werte wurden nach folgender Formel umgerechnet (Provencher 1997):

$$Konz. = \frac{\left(\frac{1 - e^{-\frac{TR}{T_{1Ph}}}}{1 - e^{-\frac{TR}{T_{1iv}}}} \cdot \frac{e^{-\frac{TE}{T_{2Ph}}}}{e^{-\frac{TE}{T_{2iv}}}} \right) \cdot \frac{TRAMP_{iv}}{TRAMP_{Ph}}}{TissueFraction(PGM)}$$

TR: Repetitionszeit, TE: Echozeit, Ph: Phantom, iv: in vivo, TRAMP: Transmitterreferenzamplitude, TissueFraction: Hirngewebeanteil (nur PGM-Volumen)

Die Korrekturfaktoren im Einzelnen:

1.) Transmitterreferenzamplitude ($TRAMP_{iv}$) für die Spulenladung

Für jede *in vivo*-Messung wurde die Spulenladung notiert und durch die bei den Kalibrierungsmessungen ermittelte Spulenladung des „Phantoms“ dividiert.

2.) Relaxationseffekte T_1 und T_2 :

In vivo- T_1 - und T_2 -Relaxationszeiten wurden der Literatur entnommen (Henriksen 1995, Tab. 3):

| | T_1 (s) | T_2 (ms) |
|------|-----------|------------|
| tNAA | 1,41 | 345 |
| tCr | 1,5 | 220 |
| tCh | 1,32 | 348 |
| mI | 1,2 | 200 |

Tab. 3: Relaxationszeiten für Quantifizierung (Aus: Henriksen 1995)

Für NAA wurden die *in vivo*- und *in vitro*- T_1 -Relaxationszeiten bei 1,5 T überprüft, T_{1iv} war doppelt so lang wie T_{1Ph} . Unter der Annahme, dass dies auch bei den anderen Metaboliten der Fall ist, lassen sich aus obengenannter Formel folgende Korrekturfaktoren für T_1 und T_2 errechnen (Tab. 4):

| tNAA | tCr | tCh | mI | Glx |
|------|------|------|------|------|
| 0,75 | 0,77 | 0,78 | 0,81 | 0,75 |

Tab. 4: Metabolitspezifische Korrekturfaktoren für T_1 und T_2

3.) Tissue Fraction (TF):

Die Messwerte im PGM-VOI wurden durch den errechneten Hirngewebe-Anteil (TF) dividiert.

2.3.5 Auswahlkriterien für die Spektren

Alle Spektren wurden nach Kurvenverlauf, Grundlinie und Amplitude des Rauschens (nach Subtraktion des Modellspektrums vom Rohspektrum) beurteilt. Spektren, deren Grundlinie nicht dem Verlauf des Modellspektrums folgte oder extreme Knickbildungen aufwiesen, wurden nicht ausgewertet. Als weiteres Ausschlusskriterium diente ein %SD-Wert für tCr von mehr als 20% (Provencher 1997).

Von allen Patientendatensätzen erfüllten insgesamt 25 PGM- und 19 PWM-Spektren die Auswahlkriterien. Bei den Probanden waren es 17 PGM-Spektren und 13 PWM-Spektren.

2.3.6 Statistische Auswertung

Die statistischen Berechnungen erfolgten mit dem STATISTICA-Programm (StatSoft, Tulsa, USA). Folgende Tests wurden durchgeführt:

Das Alter der Patienten- und Probandengruppe wurde mit einem Student-t-Test für unverbundene Stichproben mit ungleicher Varianz verglichen.

Der Vergleich der Geschlechterverteilung der Patienten und Probanden erfolgte mit einer Häufigkeits-Testung (Chi-Quadrat-Test).

Zum Vergleich der Glutamat- und Glutaminkonzentration zwischen beiden Gruppen wurde ein Student-t-Test für unverbundene Stichproben durchgeführt. Anschließend erfolgte eine multivariate Varianzanalyse mit Alter und Geschlecht als Kofaktoren (MANCOVA).

Zum Vergleich der Hirngewebeatrophie von Patienten und Probanden wurde ein Student-t-Test mit ungleicher Varianz durchgeführt, anschließend eine MANCOVA mit Alter und Geschlecht als Kovariablen.

Dem Vergleich aller erhobenen metabolischen Parameter diente eine multivariate Varianzanalyse (MANOVA) mit fünffachem Least Significant Difference (LSD)-Test.

Zur Untersuchung möglicher Einflüsse des Lebensalters und des Geschlechts auf Atrophie, Glx-Gehalt sowie den Gehalt aller Moleküle wurden Varianzanalysen mit den Kofaktoren Alter und Geschlecht durchgeführt (MANCOVA).

Die Korrelationen wurden als Pearson-Produkt-Moment-Korrelationen berechnet.

Zur Verifizierung der Quantifizierung dient ein Vergleich der Standardabweichungen von absoluten und relativen (im Verhältnis zu tCr) Konzentrationen. Da diesen unterschiedliche Einheiten zugrunde liegen, wurde hierfür der von der Einheit unabhängige Variationskoeffizient (VK) errechnet. Er gibt an, wieviel Prozent vom Mittelwert die Standardabweichung beträgt ($VK = \text{STABW} / \text{Mittelwert} \cdot 100\%$).

3. Ergebnisse

Bei 29 Patienten und bei 18 Probanden erfüllten die gemessenen Spektren die oben genannten Qualitätskriterien.

Ein typisches Probandenspektrum aus der parietalen Rindenregion (PGM) zeigt Abb. 8. Die Resonanzen von tNAA, tCr, tCh und mI sind als prominente Einzelsignale erkennbar, die gekoppelten Resonanzen von Glutamin und Glutamat (Glx) sind zwischen 2,05 und 2,35 ppm sowie bei 3,75 ppm abzugrenzen.

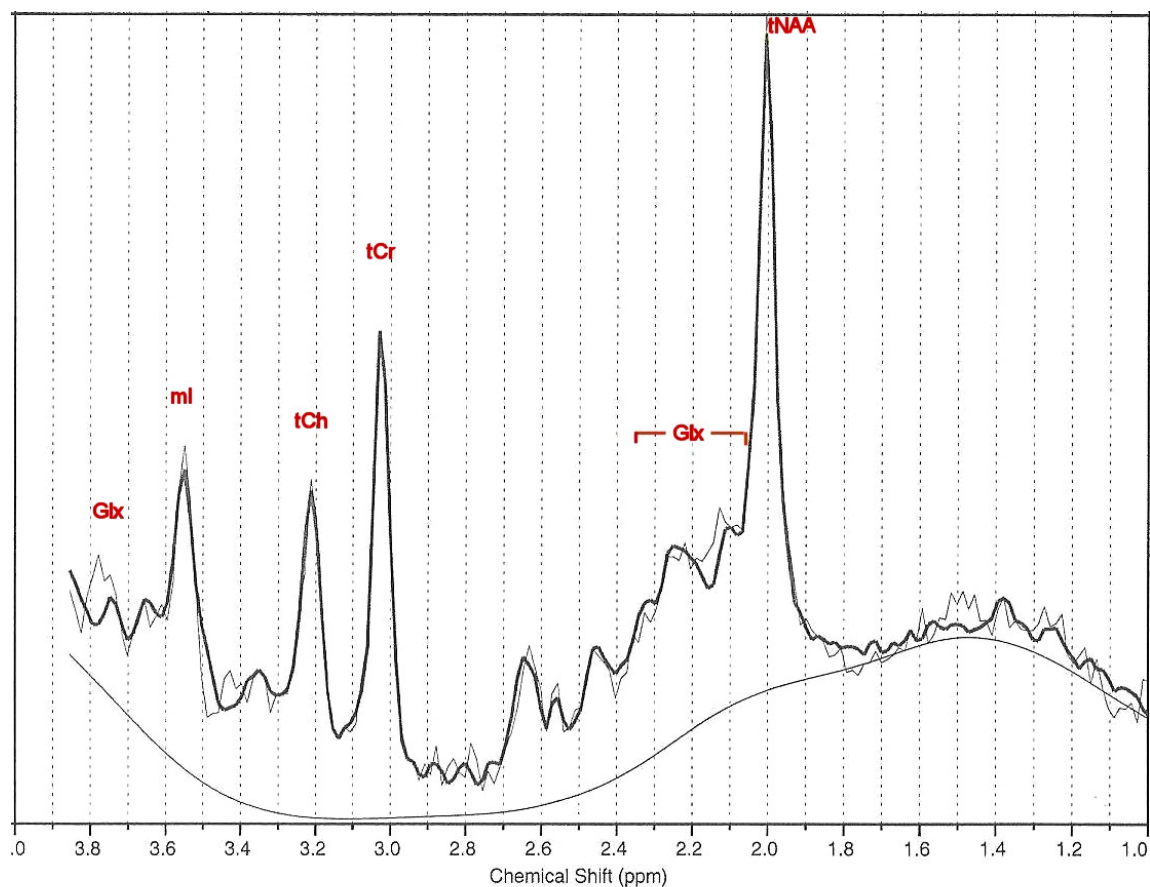


Abb. 8: Probandenspektrum (PGM); mI: myo-Inositol, tCh: Cholinhaltige Substanzen (Glycerophosphocholin und Phosphocholin), tCr: Kreatin und Kreatinphosphat, Glx: Glutamin und Glutamat, tNAA: N-Acetyl-Aspartat und N-Acetyl-Aspartyl-Glutamat, ppm: parts per million

Im Vergleich zum tCr-Signal zeigen sich in einem Patientenspektrum aus der gleichen Region ein deutlich höhengemindertertes tNAA-Signal sowie ein Signalanstieg von myo-Inositol (mI) (Abb. 9).

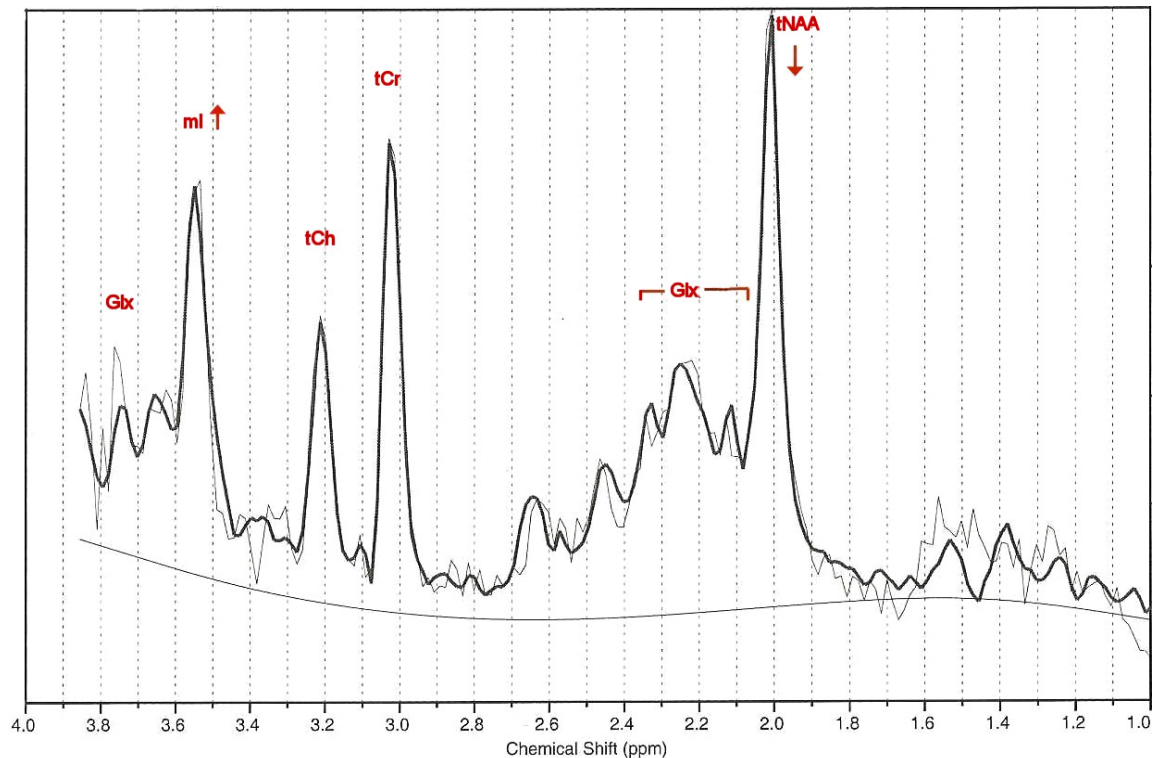


Abb. 9: Patientenspektrum (PGM); ml: myo-Inositol, tCh: Cholinhaltige Substanzen (Glycerophosphocholin und Phosphocholin), tCr: Kreatin und Kreatinphosphat, Glx: Glutamin und Glutamat, tNAA: N-Acetyl-Aspartat und N-Acetyl-Aspartyl-Glutamat, ppm: parts per million

Der Altersdurchschnitt der Patienten lag bei $71,9 \pm 7,91$ Jahren, der der Probanden bei $66,4 \pm 7$ Jahren. Dieser Altersunterschied ist im T-Test signifikant ($p = 0,02$).

Auch in der Geschlechtsverteilung unterscheiden sich die Gruppen signifikant voneinander. In der Patientengruppe sind nach dem Chi-Quadrat-Test signifikant mehr Frauen als in der Probandengruppe enthalten ($p < 0,05$).

3.1. Hauptergebnis: Glutamat- und Glutaminbestimmung

3.1.1 Zuverlässigkeit der Konzentrationsbestimmung vor der Quantifizierung

Der erste Punkt der Fragestellung betrifft die Zuverlässigkeit, mit der die Konzentration von Glutamin und Glutamat bei 1,5 Tesla mit der Auswertungssoftware LCModel gemessen werden kann. Als Maß für die Zuverlässigkeit der LCModel-Angaben gilt der Wert %SD, der für jede gemessene Substanz gesondert angeführt wird. %SD-Werte unter 20% indizieren

zuverlässige Konzentrationsangaben, höhere Werte sind ein Hinweis auf größere Messungenauigkeiten für die entsprechende Substanz. Werden die %SD-Werte verschiedener Moleküle verglichen, zeigt sich, dass die Konzentration von Glx mit dem höchsten %SD-Wert gemessen wurde (Abb. 10):

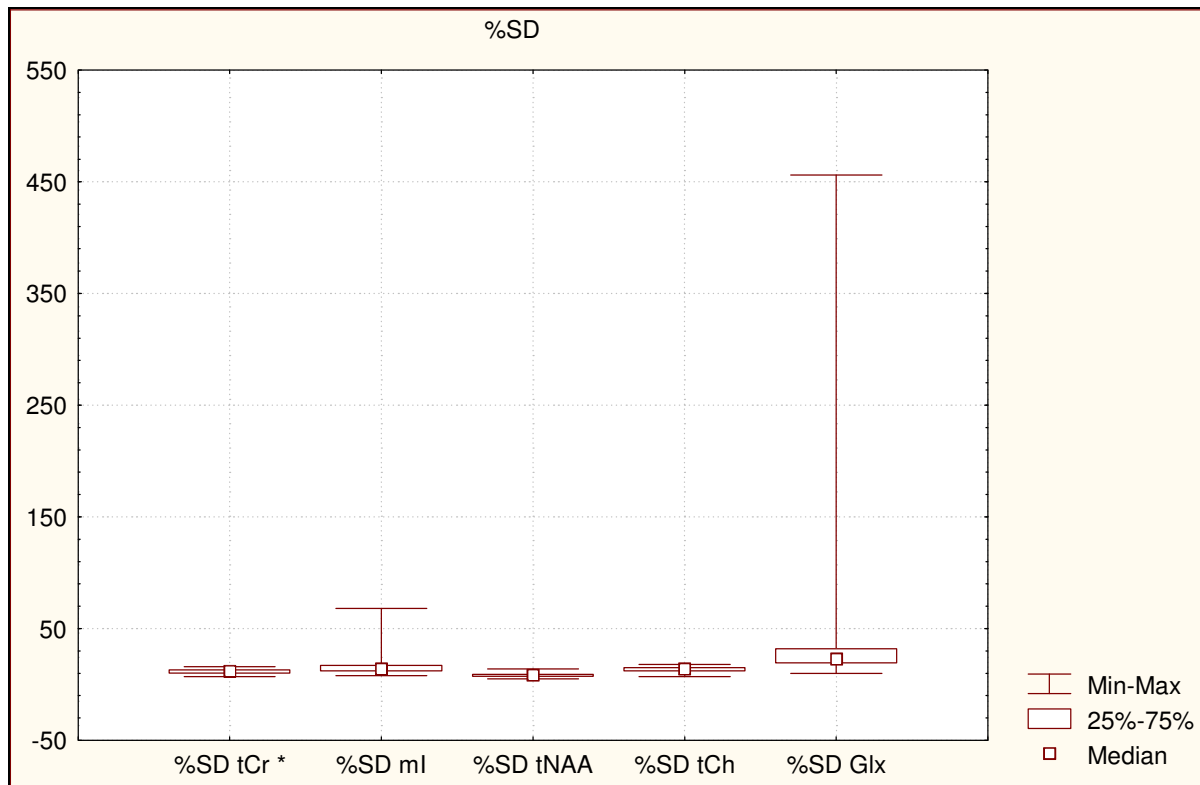


Abb. 10: %SD-Werte der Konzentrationsangaben für Kreatin und Kreatinphosphat (tCr), myo-Inositol (ml), NAA und NAAG (tNAA), der cholinhaltigen Substanzen (tCh) und Glutamin und Glutamat (Glx) wie von LCModel angegeben

* Für tCr war ein %SD-Wert von max. 20% Auswahlkriterium

Beim Vergleich der %SD-Werte, mit denen Glx in Marklager- und Kortextvolumen bestimmt wurde, zeigt sich, dass LCModel die Konzentration im Marklager mit geringerer Zuverlässigkeit bestimmen konnte. Im PGM-Volumen betragen die %SD-Werte durchschnittlich 28% (10-181%), im PWM-Volumen durchschnittlich 51% (78-456%). In mmol/l umgerechnet ergibt sich für das PGM-Volumen eine absolute Fehlergröße von durchschnittlich $3,2 \pm 0,86$ mmol/l, für das PWM-Volumen von $2,5 \pm 0,69$ mmol/l (Abb. 11).

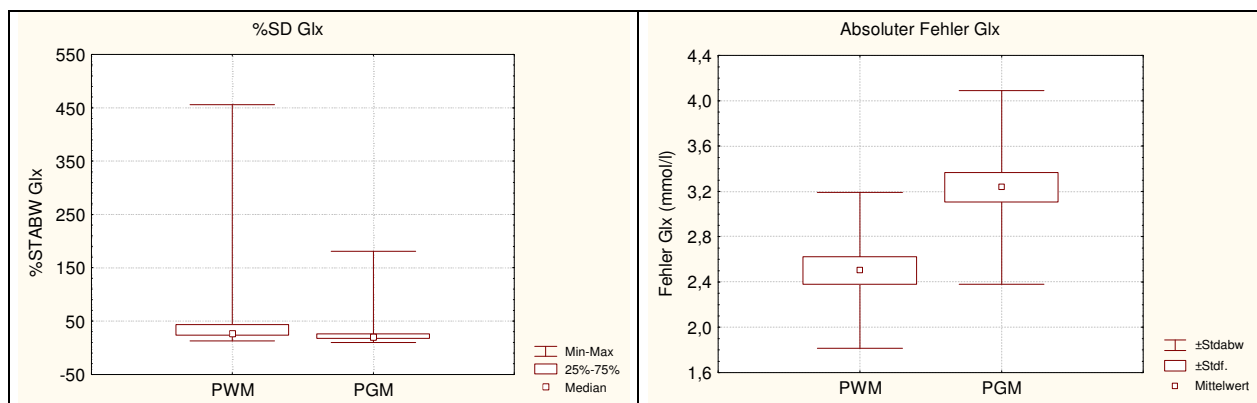


Abb. 11: %SD-Werte der Konzentrationsangaben für Glutamin und Glutamat (Glx) in Marklager (PWM) und Kortex (PGM) (linke Seite), %SD als absolute Fehlergrößen in mmol/l umgerechnet (rechte Seite)

Hohe %SD-Werte gehen mit niedrigen Glx-Konzentrationsangaben einher, es besteht eine inverse Korrelation von Glx und %SD ($r = -0,53$, $p < 0,001$) (Abb. 12).

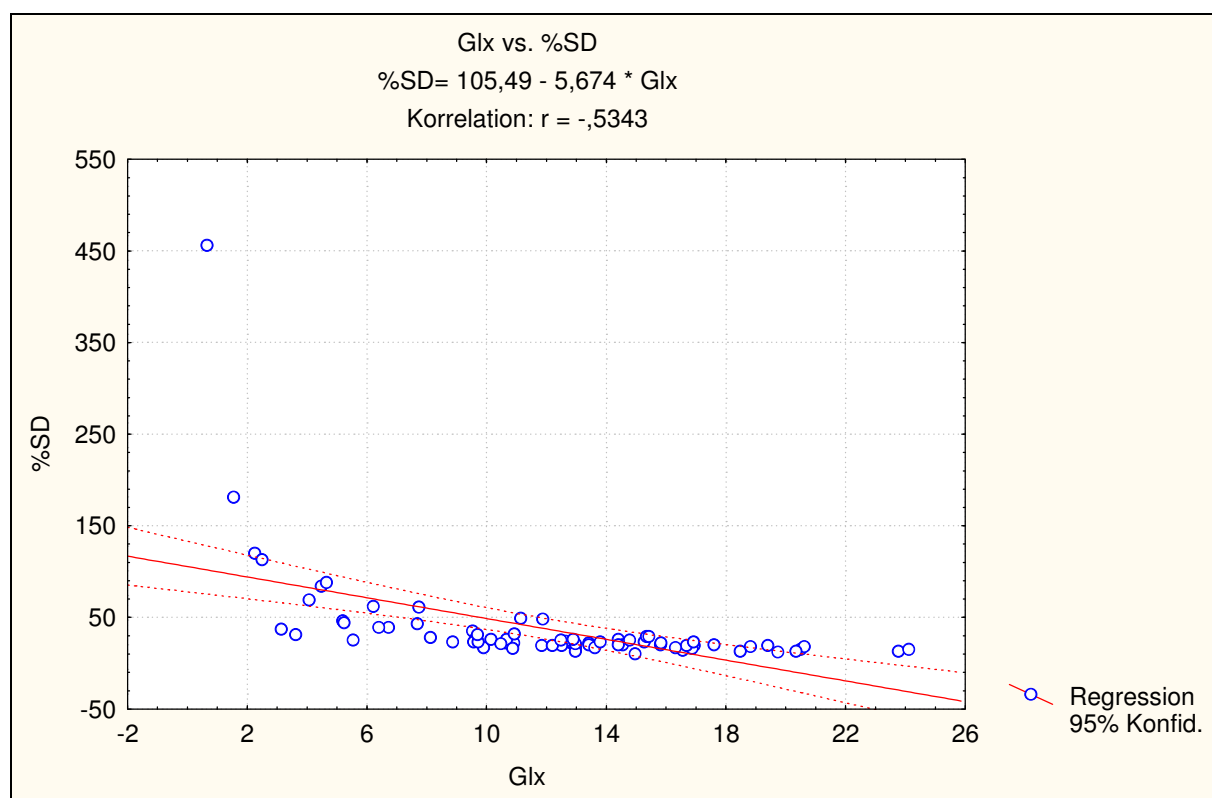


Abb. 12: Korrelation zwischen %SD-Werten und gemessener Glutamat- und Glutaminkonzentration (Glx)

3.1.2 Zuverlässigkeit der Quantifizierung

Der zweite Punkt der Fragestellung betrifft die Zuverlässigkeit der Quantifizierung. Hierzu dient der Vergleich der Variationskoeffizienten (VK) der absoluten und relativen Konzentrationen. Der VK gibt an, wieviel Prozent vom Mittelwert die Standardabweichung beträgt.

In beiden untersuchten Volumina sind die VK der relativen Glutamat- und Glutaminkonzentrationen im Durchschnitt höher als die der absoluten, die absoluten Konzentrationen streuen also weniger stark. Dies zeigt sich vor allem in der weißen Substanz (Tab. 5).

| <i>Variationskoeffizient (VK), Mittelwerte</i> | <i>Glx NP</i> | <i>Glx DAT</i> |
|--|---------------|----------------|
| VK absol. Konz. PGM (%) | 22,5 | 33,3 |
| VK rel. Konz. PGM (%) | 25,6 | 37,8 |
| VK absol. Konz. PWM (%) | 45,6 | 46,4 |
| VK rel. Konz. PWM (%) | 55,7 | 50,8 |

Tab. 5: Variationskoeffizienten (VK = STABW/ Mittelwert · 100) von absoluten und relativen Konzentrationen, parietale Hirnrinde (PGM) und parietales Marklager (PWM), Probanden (NP) und Patienten (DAT)

3.1.3 Vergleich der Glutamat- und Glutaminkonzentration von Patienten und Probanden

Der dritte Punkt der Fragestellung bezieht sich auf den Vergleich der Konzentrationen von Glutamin und Glutamat bei Patienten und Probanden.

Der Mittelwert der gemessenen Glx-Konzentrationen lag im parietalen Hirnrinden-Volumen (PGM) bei den Probanden bei $13,98 \pm 3,14$ mmol/l, bei den Patienten bei $15,48 \pm 5,15$ mmol/l. Im Marklager-Volumen (PWM) wurde bei den Probanden eine mittlere Konzentration von $8,14 \pm 3,71$ mmol/l gemessen, bei den Patienten lag sie bei $8,16 \pm 3,79$ mmol/l. Weder im Marklager-Volumen noch im Kortex-Volumen unterscheiden sich die Konzentrationen signifikant voneinander (T-Test, Tab. 6 und Abb. 13). Die statistische Power des T-Tests ist 0,71.

Eine Varianzanalyse mit Alter und Geschlecht als Kofaktoren (MANCOVA) ergibt ein nahezu identisches Ergebnis (Tab. 6).

| <i>Absolute Glx-Konzentrationen</i> | <i>Glx PGM (mmol/l)</i> | <i>Glx PWM (mmol/l)</i> |
|-------------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| NP | 13,98 ± 3,14 | 8,14 ± 3,71 |
| DAT | 15,48 ± 5,15 | 8,16 ± 3,79 |
| Unterschied (T-Test) | n. s. (p = 0,29) | n. s. (p = 0,99) |
| Kovariablen Alter (MANCOVA) | n. s. (p = 0,29) | n. s. (p = 0,82) |
| Kovariablen Geschl. (MANCOVA) | n. s. (p = 0,26) | n. s. (p = 0,97) |

Tab. 6: Vergleich der absoluten Glutamat- und Glutaminkonzentration bei Probanden (NP) und Patienten (DAT), Mittelwerte und Standardabweichungen.

n. s.: nicht signifikant (T-Test und MANCOVA mit Alter bzw. Geschlecht als Kovariablen)

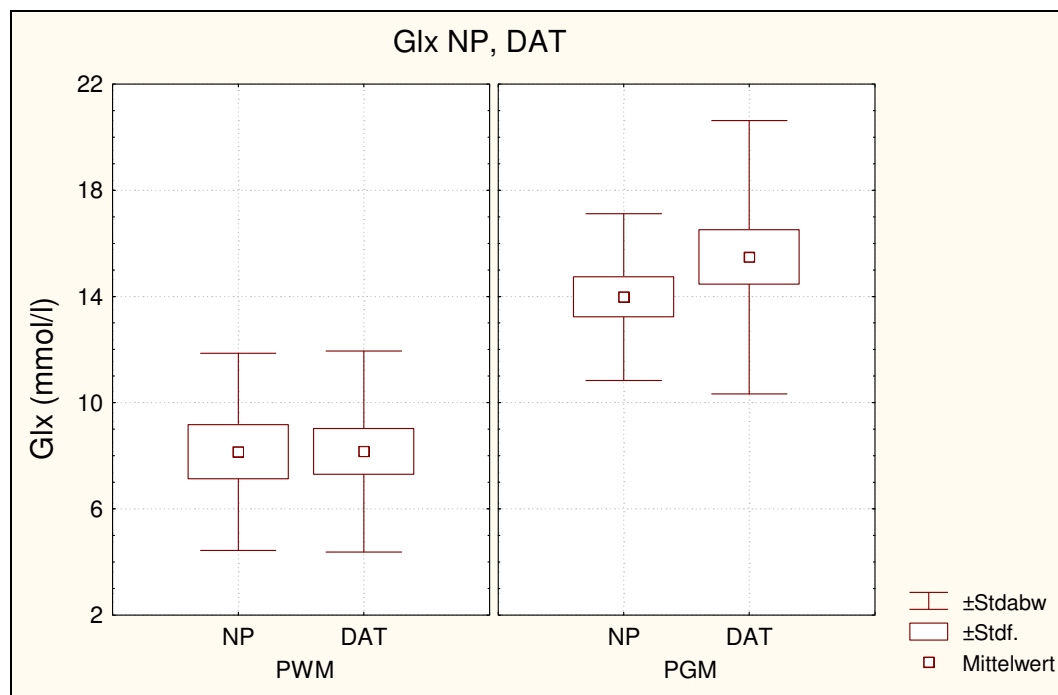


Abb. 13: Absolute Glutamat- und Glutaminkonzentration (Glx) bei Probanden (NP) und Patienten (DAT) in parietalem Marklager (PWM) und parietaler Hirnrinde (PGM)

Auch bei den relativen Glx/Cr-Konzentrationen gibt es in beiden Volumina keinen signifikanten Unterschied (T-Test, Tab. 7). Der durchschnittliche Glx/tCr-Gehalt bei den Probanden betrug im Kortex $1,46 \pm 0,37$ und im Marklager $1,22 \pm 0,68$. Die entsprechenden Werte bei den Patienten betragen $1,56 \pm 0,59$ (PGM) und $1,18 \pm 0,6$ (PWM). Eine MANCOVA mit Alter oder Geschlecht als Kovariablen verändert dieses Ergebnis nicht.

| <i>Relative Glx-Konzentrationen</i> | <i>Glx/tCr PGM</i> | <i>Glx/tCr PWM</i> |
|-------------------------------------|--------------------|--------------------|
| NP | 1,46 ± 0,37 | 1,22 ± 0,68 |
| DAT | 1,56 ± 0,59 | 1,18 ± 0,6 |
| Unterschied (T-Test) | n. s. (p = 0,51) | n. s. (p = 0,88) |
| Kovariable Alter (MANCOVA) | n. s. (p = 0,74) | n. s. (p = 0,65) |
| Kovariable Geschlecht (MANCOVA) | n. s. (p = 0,4) | n. s. (p = 0,82) |

Tab. 7: Vergleich der relativen Glutamat- und Glutaminkonzentration (Glx/Cr) bei Probanden (NP) und Patienten (DAT), Mittelwerte und Standardabweichungen
n. s.: nicht signifikant (T-Test und MANCOVA mit Alter bzw. Geschlecht als Kovariablen)

Korrelationen des absoluten oder relativen Glx-Gehalts mit der Erkrankungsdauer oder mit den MMSE-Ergebnissen bestehen nicht.

3.2 Nebenergebnisse: Bestimmung der kortikalen Atrophie sowie der Moleküle N-Acetyl-Aspartat (NAA), myo-Inositol (mI), Kreatin (tCr) und Cholin (tCh)

Der vierte Punkt der Fragestellung betrifft mögliche Unterschiede zwischen Patienten und Probanden im Ausmaß der Hirngewebeatrophie sowie im Gehalt der übrigen gemessenen Substanzen. Für die Konzentrationsbestimmung wird zunächst die Zuverlässigkeit der LCModel-Konzentrationsangaben sowie die Exaktheit der Quantifizierung untersucht, dann folgt ein Vergleich der absoluten Konzentrationen in beiden Gruppen. Zuletzt wird überprüft, ob Korrelationen der Konzentrationen mit Alter, Krankheitsdauer oder MMSE bestehen.

3.2.1 Hirngewebeatrophie

Der Liquorgehalt im kortikalen Volumen als Maß für die Hirnrindenatrophie ist bei den Patienten signifikant größer als bei den Probanden (T-Test, $p < 0,0001$). Der Hirngewebeanteil im kortikalen Volumen betrug bei den Probanden im Mittel $0,87 \pm 0,05$ (0,77-0,94), bei den Patienten $0,75 \pm 0,1$ (0,45-0,95) (Abb. 14). Dies entspricht einer durchschnittlichen Zunahme des Liquorgehalts im Volumen um 16%. Eine Varianzanalyse mit dem Lebensalter bzw. mit dem Geschlecht als Kovariablen (MANCOVA) verändert dieses Ergebnis nicht (Signifikanz in beiden Fällen $p < 0,001$). Es bestehen keine Korrelationen zwischen Atrophie und Alter, Krankheitsdauer oder MMSE-Ergebnis.

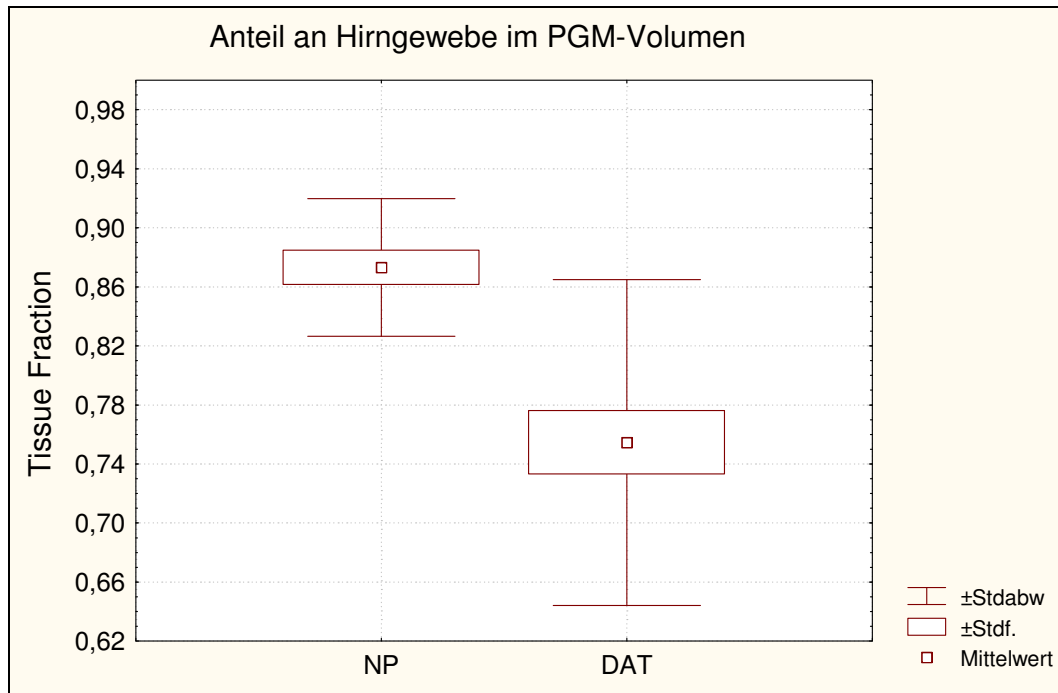


Abb. 14: Anteil an Hirngewebe (Tissue Fraction) im PGM-Volumen als Maß für die kortikale Atrophie

3.2.2 Zuverlässigkeit der Konzentrationsbestimmungen vor der Quantifizierung

Neben Glutamin und Glutamat wurden die Konzentrationen der Substanzen N-Acetyl-Aspartat und N-Acetyl-Aspartyl-Glutamat (tNAA), Kreatin und Kreatinphosphat (tCr), myo-Inositol (mI) sowie der cholinhaltigen Substanzen Glycerophosphocholin und Phosphocholin (tCh) berechnet. Als Maß für die Zuverlässigkeit der von LCMModel angegebenen Messwerte dienen die %SD für die einzelnen Metaboliten. Ein %SD-Wert von maximal 20% bei der gemessenen tCr-Konzentration war Auswahlkriterium für die Spektren. Die cholinhaltigen Substanzen sowie tNAA konnten im Gesamtkollektiv mit großer Zuverlässigkeit bestimmt werden, die %SD-Werte betragen weniger als 14% (tNAA) bzw. 18% (tCh). Für die myo-Inositol-Konzentrationen wurden größere %SD angegeben, vor allem in der weißen Substanz. Bei myo-Inositol unterscheiden sich die %SD zwischen PWM und PGM signifikant (T-Test, $p < 0,001$), bei allen anderen Substanzen nicht (Tab. 8).

| %SD | tNAA | tCr* | mI | tCh |
|------------|---------------|----------------|----------------|----------------|
| %SD PGM | 8,38 (6-13) | 11,07 (7 - 15) | 13,29 (8 - 28) | 13,95 (9 - 18) |
| %SD PWM | 8,44 (5 - 14) | 12,72 (8 - 16) | 17,78 (8 - 68) | 13,09 (7 - 17) |

Tab. 8: Mittelwerte, Minimum und Maximum der %SD des Gesamtkollektivs (NP + DAT) für die Substanzen tNAA: N-Acetyl-Aspartat und N-Acetyl-Aspartyl-Glutamat, tCr: Kreatin und Kreatinphosphat, mI: myo-Inositol, tCh: Glycerophosphocholin und Phosphocholin

*ein %SD-Wert unter 20% für tCr war Auswahlkriterium

3.2.3 Zuverlässigkeit der Quantifizierung

Zum Vergleich der Streuungen von absolut quantifizierten und relativen Konzentrationen dient der Variationskoeffizient. Die VK der absoluten Konzentrationen sind, abgesehen von der Cholingruppe, ähnlich hoch wie die der relativen Signalintensitätsverhältnisse (Tab. 9).

| | tNAA | tCr | mI | tCh |
|-------------------------|-------------|------------|-----------|------------|
| VK (%) PGM absol. Konz. | 13,34 | 14,31 | 34,83 | 20,76 |
| VK (%) PGM rel. Konz. | 10,25 | | 34,89 | 17,06 |
| VK (%) PWM absol. Konz. | 15,42 | 17,8 | 28,9 | 22,57 |
| VK (%) PWM rel. Konz. | 19,34 | | 30,45 | 15,65 |

Tab. 9: Mittelwerte der Variationskoeffizienten der absoluten und relativen Konzentrationen für Probanden und Patienten, parietale Hirnrinde (PGM) und Marklager (PWM)

tNAA: N-Acetyl-Aspartat und N-Acetyl-Aspartyl-Glutamat, tCr: Kreatin und Kreatinphosphat, mI: myo-Inositol, tCh: Glycerophosphocholin und Phosphocholin

Bei der tNAA-Konzentration ist der Mittelwert der VK der relativen Konzentrationen im PGM-Volumen höher als der VK der absoluten Konzentrationen, im Marklagervolumen ist es umgekehrt.

Bei myo-Inositol unterscheiden sich die mittleren VK beider Konzentrationsangaben kaum voneinander. Bei den cholinhaltigen Substanzen ist in beiden Volumina der Mittelwert der VK der relativen Konzentrationen deutlich niedriger als der der absoluten.

3.2.4 Vergleich von Patienten und Probanden bezüglich aller quantifizierter Substanzen

Nach Korrektur für Relaxationseffekte, Liquorgehalt und Spulenladung ergeben sich für Patienten und Probanden im Durchschnitt folgende Konzentrationen (Tab. 10):

| <i>NP</i> | <i>tNAA</i> | <i>tCr</i> | <i>mI</i> | <i>tCh</i> |
|----------------------------------|------------------|------------------|-----------------|-----------------|
| Konz. (Mittelw. ± STABW, mmol/l) | PGM 11,7 ± 1,35 | PGM 10,03 ± 1,33 | PGM 5,66 ± 2,47 | PGM 2,58 ± 0,55 |
| | PWM 10,31 ± 1,25 | PWM 7,21 ± 1,43 | PWM 3,57 ± 0,99 | PWM 2,47 ± 0,51 |

| <i>DAT</i> | <i>tNAA</i> | <i>tCr</i> | <i>mI</i> | <i>tCh</i> |
|----------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Konz. (Mittelw. ± STABW, mmol/l) | PGM 11,57 ± 1,7 | PGM 10,5 ± 1,57 | PGM 6,08 ± 1,76 | PGM 2,69 ± 0,56 |
| | PWM 9,99 ± 1,76 | PWM 7,28 ± 1,23 | PWM 4,28 ± 1,2 | PWM 2,4 ± 0,59 |

Tab. 10: Mittelwerte und Standardabweichungen der absoluten Konzentrationen in Probanden- und Patientengruppe, parietale Hirnrinde (PGM) bzw. parietales Marklager (PWM)
tNAA: N-Acetyl-Aspartat und N-Acetyl-Aspartyl-Glutamat, *tCr*: Kreatin und Kreatinphosphat, *mI*: myo-Inositol, *tCh*: Glycerophosphocholin und Phosphocholin

Beim Vergleich der absoluten Konzentrationen aller quantifizierter Substanzen ergeben sich weder im Marklager- noch im Rindenvolumen signifikante Unterschiede zwischen Probanden- und Patientengruppe (MANOVA). Allerdings zeigt sich ein nichtsignifikanter Trend ($p = 0,09$) zu einer um 20% erhöhten *mI*-Konzentration in der weißen Substanz bei den Patienten (Abb. 15 a, b und Tab. 11).

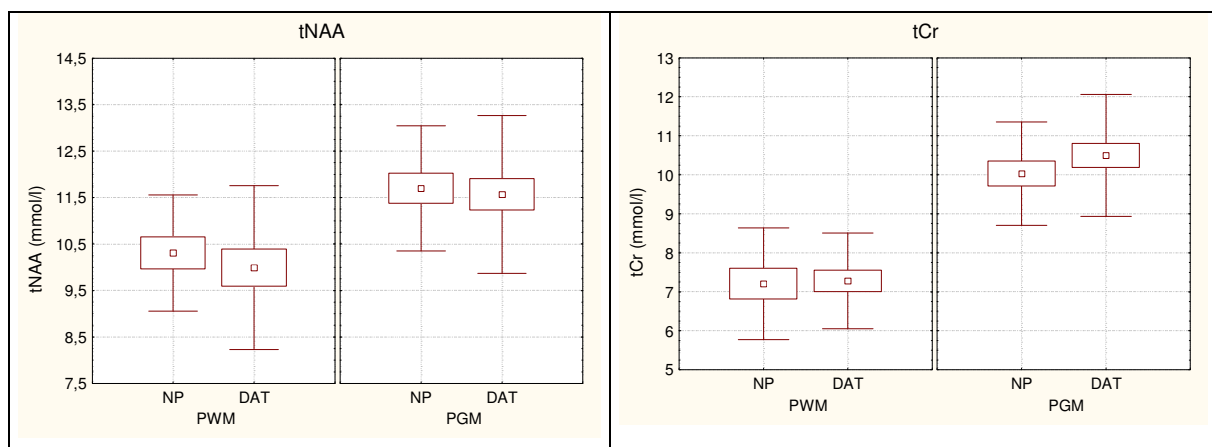


Abb. 15 a: Absolute Konzentrationen von *tNAA* und *tCr* in PWM und PGM, Vergleich von Probanden und Patienten

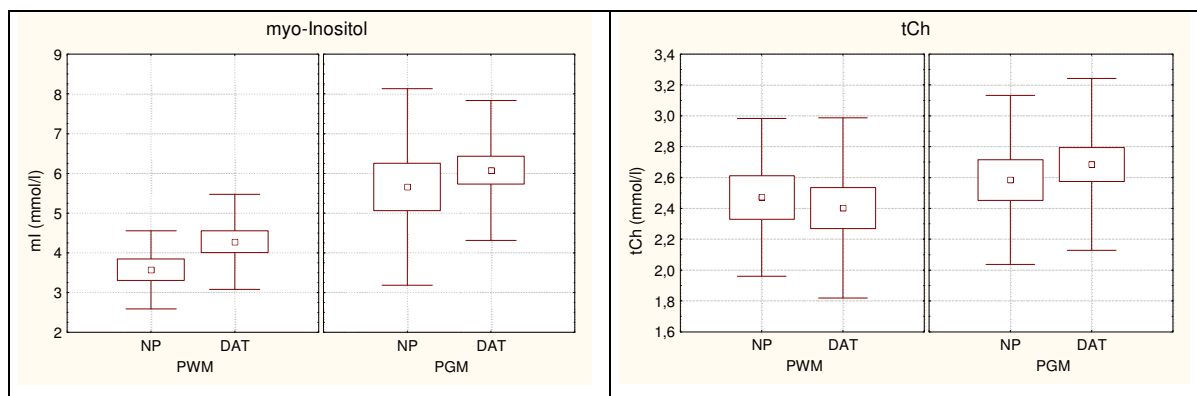


Abb. 15 b: Absolute Konzentrationen von mI und tCh in PWM und PGM, Vergleich von Probanden und Patienten

| PGM: MANOVA, LSD-Tests und MANCOVA für den Vergleich von NP und DAT | | | | | |
|--|--------------|-------------|------------|-------------|-------------|
| Freiheitsgrade MANOVA | 36 | | | | |
| Wilks' Lambda MANOVA | 0,87 | | | | |
| p-Wert MANOVA | 0,4 | | | | |
| p-Wert LSD-Test | tNAA 0,79 | tCr 0,32 | mI 0,53 | tCh 0,56 | Glx 0,29 |
| Kovariablen Alter MANCOVA (p) | 0,3 | | | | |
| Kovariablen Geschl. MANCOVA (p) | 0,48 | | | | |

| PWM: MANOVA, LSD-Tests und MANCOVA für den Vergleich von NP und DAT | | | | | |
|--|--------------|-------------|------------|-------------|-------------|
| Freiheitsgrade MANOVA | 26 | | | | |
| Wilks' Lambda MANOVA | 0,79 | | | | |
| p-Wert MANOVA | 0,27 | | | | |
| p-Wert LSD-Test | tNAA 0,58 | tCr 0,88 | mI 0,09 | tCh 0,73 | Glx 0,99 |
| Kovariablen Alter MANCOVA (p) | 0,34 | | | | |
| Kovariablen Geschl. MANCOVA (p) | 0,28 | | | | |

Tab. 11: MANOVA und Wahrscheinlichkeiten für post hoc-Tests (LSD-Test) zum Vergleich der Konzentrationen aller quantifizierter Substanzen von Probanden und Patienten, MANCOVA-Wahrscheinlichkeiten für Unterschiede mit den Kovariablen Alter und Geschlecht

Beim Vergleich aller Molekülkonzentrationen zeigen Varianzanalysen mit den Kovariablen Alter bzw. Geschlecht kein anderes Ergebnis als die MANOVA (Tab. 11).

Bei den Patienten bestehen folgende signifikante Korrelationen zwischen Metabolitkonzentrationen und dem Schweregrad bzw. der Dauer der Erkrankung:

a) PGM-Volumen:

Im Volumen der Hirnrinde korreliert der tNAA-Gehalt positiv mit dem MMSE-Resultat ($r = 0,58$, $p < 0,01$) (Abb. 16 a).

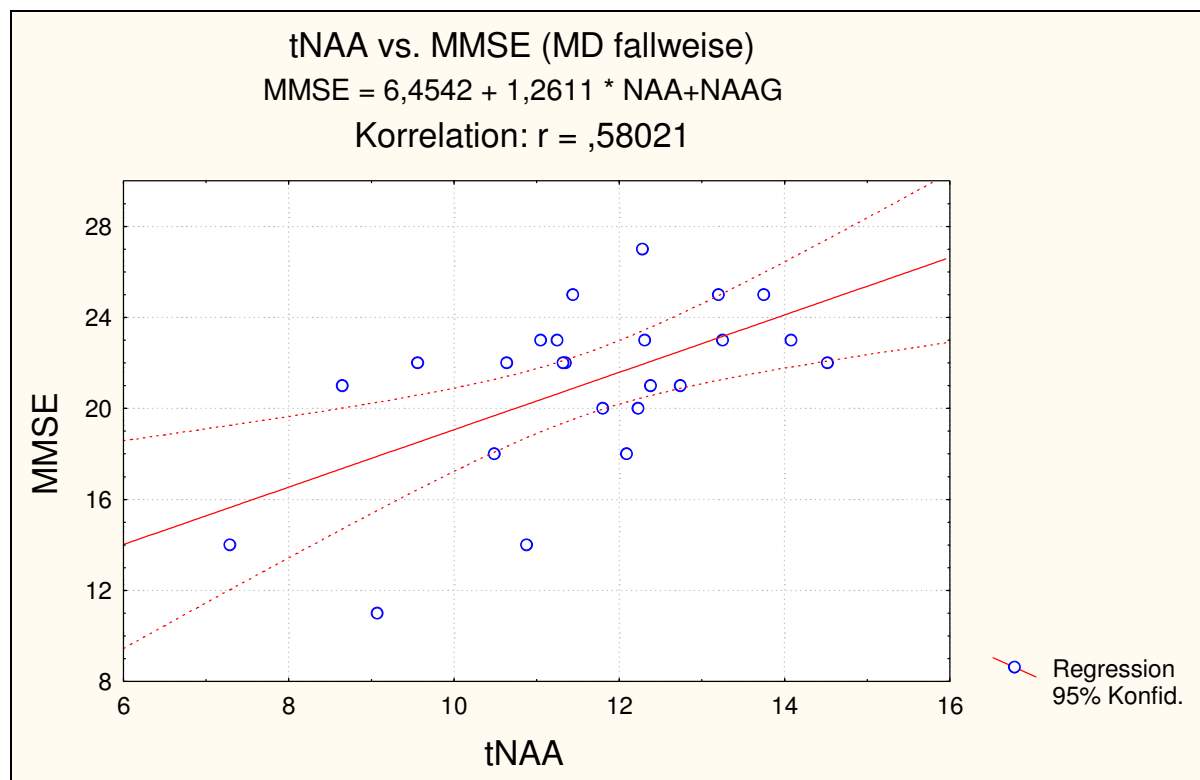


Abb. 16 a: Korrelationen der Konzentrationen von NAA und NAAG (tNAA) mit dem MMSE-Ergebnis im PGM-Volumen

Eine weitere positive Konzentration besteht zwischen dem tCr-Gehalt und dem MMSE-Ergebnis ($r = 0,51$, $p = 0,01$) (Abb. 16 b).

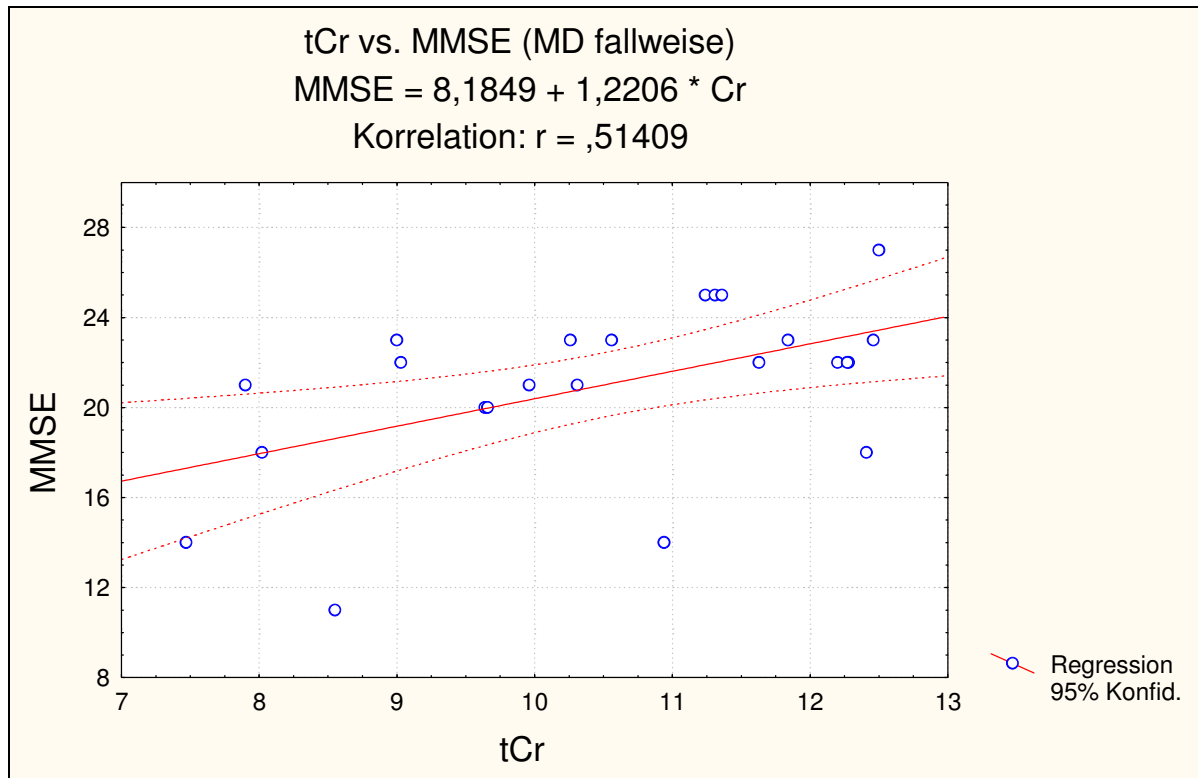


Abb. 16 b: Korrelationen der Konzentrationen von Kreatin und Kreatinphosphat (tCr) mit dem MMSE-Ergebnis im PGM-Volumen

Ein Zusammenhang mit der Krankheitsdauer besteht bei keiner der Substanzen.

b) PWM-Volumen:

Im Marklager gibt es keine signifikanten Korrelationen der absoluten Metabolitkonzentrationen mit Krankheitsdauer oder MMSE-Resultat.

4. Diskussion

Die vorgestellten Ergebnisse sprechen für eine zuverlässige *in vivo*-Konzentrationsbestimmung der Moleküle NAA, tCr, tCh und mI, die gering streuen und niedrige %SD aufweisen. Auch die Glx-Konzentration konnte quantifiziert werden, die Messwerte zeigen jedoch wegen der besonderen Signaleigenschaften höhere %SD-Werte und damit eine vergleichsweise höhere Messungenauigkeit. Die Glx-Konzentration in der Patientengruppe war im parietalen Kortex um 11% höher als bei den Probanden, der Unterschied war nicht signifikant. Der Glx-Gehalt im parietalen Marklager unterschied sich bei Patienten und Probanden nicht, auch bestanden keine Korrelationen mit der Dauer oder dem Schweregrad der Erkrankung. Die große Streuung der Messwerte von Glutamat und Glutamin erlaubt keine sichere Aussage über das Ausmaß möglicher exzitotoxischer Vorgänge in der Patientengruppe.

Bei den übrigen bestimmten Metabolitkonzentrationen gab es weder in der grauen noch in der weißen Substanz des Parietallappens signifikante Unterschiede zwischen Patienten und Probanden, allerdings zeigte sich bei den Patienten eine nichtsignifikant erhöhte Konzentration des Gliamarkers myo-Inositol um 20% im Marklagervolumen ($p = 0,09$). In der grauen Substanz war der mI-Gehalt bei den Patienten um 7% höher als bei den Probanden. Dieses Ergebnis spricht für eine mäßige reaktive oder entzündliche Gliaproliferation bei der DAT.

Die mittlere Konzentration des neuronalen Markers tNAA zeigte in beiden Gruppen ähnliche Werte, allerdings bestand bei den Patienten im Kortexvolumen eine signifikante positive Korrelation von tNAA mit dem MMSE-Ergebnis, also eine Abnahme des tNAA-Gehalts mit zunehmenden kognitiven Einbußen. Diese kann als progrediente Abnahme des neuronalen Volumenanteils bei der DAT interpretiert werden.

Der Gehalt von tCr war in beiden Gruppen ebenfalls ähnlich hoch, in der Patientengruppe bestand jedoch eine positive Korrelation mit der MMSE-Punktzahl, also eine Reduktion der tCr-Konzentration mit zunehmendem Schweregrad der Demenz. Diese deutet möglicherweise einen chronischen Energiemangel in fortgeschrittenen Erkrankungsstadien an.

Der mittlere Liquoranteil im untersuchten Hirnrindenvolumen war in der Patientengruppe im Vergleich zu den Probanden signifikant um 16% erhöht, also bestand bei den DAT-Patienten eine ausgeprägte parietale Hirnrindenatrophie.

4.1 Alters- und Geschlechtsverteilung, Lokalisation des Messvolumens

4.1.1 Altersverteilung

Das Alter von Patienten und Probanden unterscheidet sich signifikant voneinander, die Patienten waren im Durchschnitt 5,5 Jahre älter als die Probanden. Deswegen wurde in der Auswertung der Ergebnisse das Alter als Kovariable berücksichtigt (MANCOVA).

Die Ergebnisse bisher publizierter Studien über den Zusammenhang zwischen protonenspektroskopisch erfassbaren Substanzen und dem Lebensalter sind uneinheitlich. Mehrere Untersuchungen fanden einen Anstieg von tCh im Alterungsprozess (Chang et al. 1996, Pfefferbaum et al. 1999, Angelié et al. 2001), während andere über unveränderte (Christiansen et al. 1993, Saunders 1999) bzw. erniedrigte (Charles et al. 1994, Sijens et al. 2003) Konzentrationen berichteten. Auch ein Anstieg von tCr mit zunehmendem Lebensalter wurde in einigen Arbeiten referiert (Chang et al. 1996, Pfefferbaum et al. 1999, Saunders et al. 1999, Angelié et al. 2001), während andere tCr unverändert (Christiansen et al. 1993, Sijens et al. 2003) oder erniedrigt fanden (Charles et al. 1994). In einzelnen Studien wurde auch eine mI-Zunahme (Chang et al. 1996) und eine tNAA-Reduktion (Christiansen et al. 1993) beobachtet, die in den übrigen Untersuchungen jedoch nicht reproduziert wurden.

Bei der Auswertung der eigenen Daten, die das Alter als Kovariable einbezieht (MANCOVA-Analyse), zeigte sich kein Unterschied im Vergleich zur Auswertung ohne Berücksichtigung des Alters (ANOVA). Daraus lässt sich schließen, dass der Einfluss der unterschiedlichen Altersverteilung in Probanden- und Patientengruppe auf die Konzentrationsunterschiede nicht wesentlich ist.

4.1.2 Geschlechtsverteilung

Auch die Geschlechtsverteilung von Patienten und Probanden der vorliegenden Studie unterscheidet sich signifikant.

In der Literatur wurden vereinzelt Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Probanden für einzelne protonenspektroskopisch messbare Moleküle angegeben. Hierbei wurde über eine etwas höhere myo-Inositol-Konzentration bei Frauen (Pouwels und Frahm 1998) sowie über einen niedrigeren tCh-Gehalt bei Frauen im höheren Lebensalter (Wilkinson

et al. 1997) berichtet, außerdem über einen reduzierten relativen tNAA/tCr-Gehalt bei Frauen (Wilkinson et al. 1997).

Die Auswertung der vorliegenden Daten, die das Geschlecht als Kovariable berücksichtigt, zeigt keinen Einfluss dieses Faktors auf die Messergebnisse.

4.1.3 Lokalisation der Messvolumina

Die Messvolumina wurden in Hirnrinde und Marklager des Parietallappens platziert, da dort beim M. Alzheimer bereits in frühen Stadien Veränderungen zu erwarten sind.

Die frühesten neuropathologischen Veränderungen finden sich beim M. Alzheimer in der transentorhinalen Region des limbischen Systems. Von dort aus breiten sie sich über die entorhinale Region auf den Hippocampus, später auf den Isocortex aus. Hier sind zunächst nichtprimäre Assoziationsareale betroffen. Zuletzt greift der Prozess auf die primär-motorische und primär-sensorische Rinde über (Braak et al. 1993). Da der Hippocampus nur ein kleines Volumen aufweist und in der Nähe des lufthaltigen Felsenbeins und der Keilbeinhöhle liegt, welche Inhomogenitäten des lokalen Magnetfelds verursachen, sind *in vivo*-MRS-Untersuchungen in dieser Region nur eingeschränkt auswertbar (Rothman 1994).

Die gewählten Volumina im Parietallappen sind für MR-spektroskopische Untersuchungen sehr gut geeignet, da keine luft- und knochenhaltigen Strukturen in ihrer Umgebung liegen, die Artefakte verursachen könnten.

Funktionell bildgebende Untersuchungen zeigten im parietalen Kortex bereits in frühen Erkrankungsstadien eine Hypoperfusion bzw. einen verringerten Glukoseumsatz (Stoppe et al. 1995, Minoshima et al. 1997), weshalb hier auch schon früh spektroskopisch sichtbare Veränderungen zu erwarten sind.

Volumina im Parietallappen bei der DAT wurden von zahlreichen Arbeitsgruppen examiniert, so dass sich diese Lokalisation auch gut für den Vergleich mit bisher publizierten Ergebnissen eignet.

Die PWM-Volumina wurden in den meisten Fällen im linken, ausnahmsweise wegen weit ins Marklager hineinreichender Hirnfurchen im rechten Parietallappen platziert. Nach den Ergebnissen einer Probandenstudie von Pouwels und Frahm ist von einer seitensymmetrischen Verteilung der spektroskopisch bestimmbaren Moleküle auszugehen (Pouwels und Frahm 1998).

4.2 Glutamat- und Glutaminbestimmung

4.2.1 ¹H-spektroskopische Bestimmbarkeit von Glutamat in zellulären Kompartimenten

Glutamat kommt eine zentrale Rolle im Stoffwechsel der Aminosäuren zu. Beim Abbau des Moleküls entsteht 2-Oxoglutarat, das Kosubstrat zahlreicher Transaminasen ist. Glutamat ist Biosynthesestufe weiterer Aminosäuren und Proteine sowie von GABA. Die Neusynthese erfolgt aus Glucose, die Aminogruppe entstammt vorwiegend verzweigt-kettigen Aminosäuren. Glutamin wird in Astrozyten aus Glutamat und NH₃ synthetisiert, beide Aminosäuren werden im Citratzyklus abgebaut. Die Blut-Hirn-Schranke ist für Glutamat nicht permeabel. Weitere Mechanismen sorgen für eine niedrige Glutamatkonzentration im Extrazellulärraum, die Voraussetzung für die Wirkung des Transmitters ist: Der rasche Abtransport aus dem synaptischen Spalt durch astrozytäre Glutamattransporter und die Umwandlung zu Glutamin in Gliazellen. Glutamin übt keine Transmitterwirkung aus und kann in dieser Form wieder ans Neuron abgegeben werden, ohne die neuronale Signalübertragung zu stören (Daikhin und Yudkoff 2000).

Bei den in dieser Arbeit angegebenen absoluten Konzentrationen von Glutamat und Glutamin ist zu berücksichtigen, dass nur ein Teil des Glutamats im Hirnparenchym *in vivo* spektroskopisch sichtbar ist.

Freies Glutamat ist im Hirngewebe in Gliazellen und in Neuronen enthalten, wobei die Konzentration in Nervenzellen deutlich überwiegt (Fonnum 1984). In Neuronen werden drei subzelluläre glutamathaltige Kompartimente unterschieden: Zytosol, Mitochondrien und synaptische Vesikel. Es gibt Anzeichen für eine eingeschränkte protonenspektroskopische Bestimmbarkeit des Neurotransmitter-Pools. Folgende Untersuchungen unterstützen die Hypothese eines protonenspektroskopisch unsichtbaren synaptischen Glutamatpools *in vivo*:

Zwei Arbeitsgruppen bestimmten den Glutamatgehalt in Hirnpräparaten von Meer-schweinchen mit der ¹H-MRS und mit einem chromatographischen Verfahren (HPLC, high-performance liquid chromatography). Sie fanden eine Diskrepanz zwischen beiden ermittelten Werten, die protonenspektroskopische Methode zeigte nur ca. 80% des in der HPLC gemessenen Glutamatgehalts. Die perfundierten Hirnschnitte wurden anschließend verschiedenen Bedingungen ausgesetzt, die zu einer anoxischen Depolarisation führen. Es resultierte ein

Anstieg der ^1H -spektroskopisch bestimmbaren Fraktion auf 100% (Kauppinen und Williams 1991, Pirttilä et al. 1993). Ein weiteres ^{13}C - und ^1H -MRS-Experiment der gleichen Arbeitsgruppe ergab, dass sehr wahrscheinlich der Transmitterpool die protonenspektroskopisch unsichtbare Fraktion darstellt (Kauppinen et al. 1994).

In vivo-Untersuchungen an Patienten, die einer akuten Ischämie ausgesetzt waren, zeigten ebenfalls einen Anstieg des protonenspektroskopisch messbaren Glx-Gehalts.

So konnte in zwei Studien bei Neugeborenen nach perinataler Asphyxie spektroskopisch ein Anstieg des Glx-Signals nachgewiesen werden (Pu et al. 2000, Groenendaal et al. 2001). In einer der Untersuchungen wurde die Messung nach einer Woche wiederholt, der Glutamatanstieg war zu diesem Zeitpunkt noch nachweisbar (Pu et al. 2000).

Gegenstand einer weiteren Publikation war die hypoxische Enzephalopathie nach Beinahe-Ertrinkungsunfällen. Hier zeigte sich ein Glx-Anstieg, der am vierten Tag nach dem Unfall seinen Höhepunkt erreichte. Der relative Glutamingehalt stieg proportional stärker an als die Glutamatfraktion (Kreis et al. 1996).

Ob in diesen Studien ein realer Konzentrationsanstieg zugrunde lag oder eine Zunahme der spektroskopisch erfassbaren Fraktion, ist aus den vorliegenden Daten nicht abzuleiten. Die Ergebnisse sprechen jedoch für die prinzipielle Möglichkeit, exzitotoxische Prozesse *in vitro* und *in vivo* mit der ^1H -MRS darzustellen, da die anoxische Depolarisation als Modell für exzitotoxische Vorgänge eingesetzt werden kann (Ueda et al. 1992).

Bei den beschriebenen Untersuchungen ist davon auszugehen, dass durch die schwere akute Ischämie der Anteil der depolarisierten Neuronen und der beteiligten Synapsen sehr hoch war. Ob auch chronische exzitotoxische Vorgänge in geringerem Umfang zu einem Anstieg der sichtbaren Glx-Fraktion führen, ist aus der vorhandenen Literatur nicht abzuleiten, denn der Glx-Gehalt wurde bisher nur bei wenigen Krankheitsbildern untersucht. Einzelne Studien liegen z. B. zur Vaskulären Demenz (VD) und zur Epilepsie vor. Bei der VD soll ein chronischer Energiemangel zur hypoxischen Depolarisation mit erhöhter extrazellulärer Glutamatkonzentration führen (Kornhuber et al. 1999). In zwei Arbeiten wurden Glx bzw. Glx/tCr bei der VD bestimmt, in einer war Glx unverändert, in der anderen war Glx/tCr signifikant höher als in der Kontrollgruppe (Herminghaus et al. 2003 a, Herminghaus et al. 2003b). Zwei *in vivo*- ^1H -MRS-Studien bei Patienten mit temporaler oder idiopathischer generalisierter Epilepsie zeigten ebenfalls einen Glx-Anstieg. Diese beiden Befunde sprechen

dafür, dass chronische Glx-Erhöhungen im Extrazellulärraum *in vivo* prinzipiell darstellbar sind (Simister et al. 2002, Simister et al. 2003).

4.2.2 Zuverlässigkeit der Konzentrationsbestimmung von Glutamat und Glutamin

Die Zuverlässigkeit der Konzentrationsbestimmung von Glutamat und Glutamin wurde in dieser Arbeit mithilfe der molekülspezifischen %SD-Werte beurteilt. Obwohl die Aminosäuren in hoher Konzentration vorlagen, waren die %SD-Werte von Glx wegen der oben beschriebenen Kopplungsphänomene höher als die der übrigen quantifizierten Moleküle.

In den Marklagerspektren zeigten sich zudem höhere %SD als in den Rindenvolumina. Der Grund hierfür ist wahrscheinlich die geringere Größe der Marklager-Volumina und deswegen ein niedrigeres Signal/Rausch-Verhältnis.

Theoretisch könnte eine Analyse nur derjenigen Spektren durchgeführt werden, in denen der Glx-Gehalt von LCMoel mit hoher Zuverlässigkeit, also mit geringen %SD-Werten bestimmt werden konnte. Wegen der Korrelation hoher %SD-Werte mit niedrigen Messwerten (vgl. Abb. 12) würde eine solche Selektion allerdings automatisch Spektren mit hohen Glx-Konzentrationen bevorzugen und damit die Ergebnisse unter Umständen verzerren. Aus diesem Grunde wurde auf eine Vorauswahl verzichtet.

4.2.3 Zuverlässigkeit der Quantifizierung

Die Zuverlässigkeit der Quantifizierung wurde durch einen Vergleich der Streuung der relativen im Vergleich zu den absoluten Konzentrationen beurteilt. Hierfür wurden die von der Einheit unabhängigen Variationskoeffizienten (VK) verglichen. Die VK der absoluten Glx-Konzentrationen waren bei Probanden und Patienten niedriger als die der relativen, so dass die absoluten Werte verlässlicher erscheinen. Für Glx lagen die VK der absoluten Konzentrationen bei den Probanden im PWM-Volumen im Durchschnitt bei 46%, die der relativen bei 56%. Im PGM-Volumen betrugen die VK von Glx 22%, von Glx/tCr 26%.

Die in dieser Arbeit erhaltenen Variationskoeffizienten sind höher als in einer vergleichbaren Probandenstudie von Schirmer und Auer. Hier wurden die VK absoluter und relativer Angaben in einem PWM-Volumen verglichen. Die VK der relativen Konzentrationen lagen bei 23,5%, die der absoluten bei 23,1% (Schirmer und Auer 2000). Der wesentliche

Unterschied zwischen beiden Studien ist das Alter der Probanden. Während sie in der Arbeit von Schirmer und Auer im Durchschnitt 35 Jahre alt waren, betrug der Altersdurchschnitt bei unserer Untersuchung 65,6 Jahre. Dies ist eine mögliche Ursache für die unterschiedlichen Streuungen.

4.2.4 Glutamat- und Glutaminkonzentration bei den Probanden

Der Mittelwert der Glutamat- und Glutaminkonzentration im Probandenkollektiv betrug in der parietalen Hirnrinde $13,98 \pm 3,14$ mmol/l, im parietalen Marklager $8,14 \pm 3,71$ mmol/l. Die Konzentration in der grauen Substanz war damit um das 1,7-fache höher als die in der weißen Substanz.

In der Literatur finden sich ähnliche Angaben für entsprechende Lokalisationen. In einer Studie an 26 jungen Probanden bei 2 T wurde im PGM-Volumen eine durchschnittliche Glx-Konzentration von $12,5 \pm 3,0$ mmol/kg gemessen, im PWM-Volumen $8,1 \pm 1,5$ mmol/l (Michaelis et al. 1993), in einer weiteren Studie an jungen Erwachsenen, die separate Angaben für Glutamat und Glutamin macht, betrug die Konzentration von Glutamat im PGM durchschnittlich $8,2 \pm 1,1$ mmol/l, die von Glutamin $3,8 \pm 1,4$ mmol/l. Im PWM wurde ein Glutamatgehalt von $6,7 \pm 1,8$ mmol/l und ein Glutamingehalt von $1,5 \pm 1,3$ mmol/l angegeben (Pouwels und Frahm 1998). Beide Untersuchungen unterscheiden sich von der vorliegenden vor allem durch das durchschnittliche Probandenalter (18-29 bzw. 21-32 Jahre).

Während die PWM-Konzentrationen aller drei Arbeiten übereinstimmen, liegt der gemessene Glx-Gehalt im PGM in der eigenen Studie im Vergleich zu den beiden o. g. etwas höher. Im Vergleich zur Arbeit von Pouwels und Frahm kann dies dadurch zustande kommen, dass die Konzentrationen dort nicht für den Liquoranteil korrigiert wurden. Die Angaben von Michaelis et al. hingegen sind für diesen Faktor korrigiert. Da keine systematischen Untersuchungen über Änderungen des Glx-Gehalts im Alterungsprozess existieren, lässt sich ein Einfluss des Alters auf die unterschiedlichen Resultate nur vermuten.

In der eigenen sowie in den beiden anderen beschriebenen Studien zeigte sich eine höhere Glx-Konzentration in der grauen Substanz als in der weißen. Ein solches Verhältnis wurde auch in einer 4,1 Tesla MRSI-Untersuchung (spektroskopische Bildgebung) beobachtet (Pan et al. 1996).

4.2.5 Vergleich der Glutamat- und Glutaminkonzentration von Probanden und Patienten

Die durchschnittlichen Glutamat- und Glutaminkonzentrationen bei den Patienten betragen in der parietalen Rindenregion $15,48 \pm 5,15$ mmol/l und lagen damit um 11% höher als bei den Probanden ($13,98 \pm 3,14$ mmol/l), der Unterschied war aufgrund der hohen Standardabweichungen nicht signifikant. Im Marklager-Volumen betrug der Glx-Gehalt bei den Patienten $8,16 \pm 3,79$ mmol/l und war damit so hoch wie der der Probanden ($8,14 \pm 3,71$ mmol/l).

Eine Analyse mit Alter und Geschlecht als Kovariablen verändert das Ergebnis nicht. Ebenfalls lässt sich keine Korrelation zwischen Glx-Gehalt und Ausprägung oder Dauer der Demenz nachweisen.

Das Ergebnis muss unter dem Vorbehalt der großen Varianz betrachtet werden. Die Power des vergleichenden T-Tests beträgt bei den vorliegenden Daten lediglich 0,71. Deswegen kann aus den Daten keine gesicherte Aussage zu einer möglichen Änderung der Glx-Konzentration bei der DAT abgeleitet werden.

Theoretisch waren für die durchgeführte Untersuchung verschiedene Resultate denkbar. In sehr frühen Stadien der Erkrankung ist von einem noch weitgehend intakten glutamatergen neuronalen Netzwerk im Parietallappen auszugehen. Deshalb sollte die messbare Glx-Fraktion in dieser Phase theoretisch unverändert sein. Sollten allerdings ausgedehnte Verschiebungen von Glutamat aus dem MR-unsichtbaren Pool der synaptischen Vesikel in den Extrazellulärraum stattfinden, könnte ein Anstieg der messbaren Glx-Fraktion resultieren. In der Folge einer Zunahme von Glutamat im synaptischen Spalt scheint die Glutaminfraktion anzusteigen, da Glutamat in den umliegenden Astrozyten verstärkt zu Glutamin umgewandelt wird (Kreis et al. 1996). Die Mehrzahl der Patienten befand sich den psychometrischen Tests zufolge in frühen Erkrankungsstadien, so dass theoretisch je nach Ausmaß exzitotoxischer Neurodegeneration eine unveränderte oder erhöhte durchschnittliche *in vivo*-Glx-Konzentration plausibel erschien.

In späteren Erkrankungsstadien hingegen kommt es zu einer Reduktion vitaler Nervenzellen, was theoretisch in einer Glutamatabnahme resultieren sollte, da Glutamat vorwiegend in Neuronen enthalten ist (Fonnum 1984). Deswegen ist bei der Interpretation der vorhande-

nen Literatur zum Glutamatgehalt bei der DAT der Schweregrad der Demenz von besonderer Bedeutung.

Die Konzentration exzitatorischer Aminosäuren bei der DAT wurde mit verschiedenen Methoden untersucht. Neben der *in vivo*- und *in vitro*-MRS kamen chromatographische und flourometrische Verfahren zur Anwendung. Während Untersuchungen zum Spätstadium der Erkrankung überwiegend eine Abnahme glutamaterger Marker zeigen, sind die Ergebnisse bei früheren Stadien nicht einheitlich. Für die Interpretation aller *in vitro*-Untersuchungen muss berücksichtigt werden, dass der Gehalt von Glutamin und Glutamat post mortem durch Autolyse rasch verändert wird (Knörle et al. 1997), und dass durch Extraktionsverfahren auch der *in vivo* unsichtbare Neurotransmitterpool abgebildet wird.

1.) Chromatographische und fluorometrische *in vitro*-Untersuchungen:

In Hirngewebe aus verschiedenen Regionen wurde der Glutamatgehalt chromatographisch und flourometrisch untersucht (Arai et al. 1984, Arai et al. 1985, Arai et al. 1986, Ellison et al. 1986, Sasaki et al. 1986, Hyman et al. 1987, Perry et al. 1987, Kowall et al. 1991). Die Arbeitsgruppen verwendeten autoptisch oder bioptisch gewonnenes Hirngewebe überwiegend später Erkrankungsstadien. In den meisten Untersuchungen zeigte sich ein verringerter Glutamatgehalt beim M. Alzheimer (Arai et al. 1984, Arai et al. 1985, Arai et al. 1986, Ellison et al. 1986, Sasaki et al. 1986, Hyman et al. 1987, Kowall et al. 1991), der auf die Degeneration glutamaterger Netzwerke in fortgeschrittenen Stadien zurückgeführt wurde (Bowen 1990, Francis et al. 1993).

Daten zum Parietallappen wurden in einer Studie an Autopsiegewebe erhoben, Glutamat war dort im Vergleich zu Hirngewebe von Personen, die nicht dement gewesen waren, verringert (Arai et al. 1985). Für den Vergleich mit der eigenen Untersuchung ist zu berücksichtigen, dass in der Arbeit von Arai et al. späte Stadien untersucht wurden, in denen eine weitgehende Reduktion glutamaterger Netzwerke zu erwarten ist.

2.) *In vitro*-¹H-MRS:

Bisher wurden drei Studien veröffentlicht, die MR-spektroskopisch Extrakte von autoptischem Hirngewebe von Personen untersuchten, die am M. Alzheimer gelitten hatten. Die erste Studie verwendete Proben aus temporalem oder frontalem Kortex, die mittels ¹H-

und ^{31}P -MRS analysiert wurden. Entsprechend der Anzahl der senilen Plaques wurde ein mittleres und ein fortgeschrittenes Stadium der Erkrankung definiert. Die Glutamatkonzentration bei den Patienten war im Vergleich zu Präparaten von Personen ohne Demenz erhöht, vor allem in fortgeschrittenen Stadien. Es gab eine signifikante inverse Korrelation von der Glutamat- mit der NAA-Konzentration. Diese wurde als mögliche erhöhte Glutamatexposition der verbleibenden Neuronen interpretiert. Glutamin war bei den Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe unverändert (Klunk et al. 1992).

Eine weitere *in vitro*-Studie der gleichen Arbeitsgruppe untersuchte Extrakte aus dem Kortex verschiedener Regionen mit der ^1H - und ^{31}P -MRS. In den Extrakten wurde eine signifikante Erhöhung der Glutamatkonzentration in der Patientengruppe mit M. Alzheimer gefunden. Eine positive Korrelation der Konzentrationen von Glutamat mit Phosphodiestern wurde von den Autoren als Hinweis darauf gewertet, dass der Glutamatanstieg in einem fortgeschrittenen Stadium stattfindet, in dem Membranabbauprodukte akkumulieren (Klunk et al. 1996).

Eine andere Arbeitsgruppe analysierte ebenfalls Autopsiepräparate aus dem temporoparietalen Kortex mit der ^1H -MRS. Die Mehrzahl der Präparate wies eine ausgeprägte Neurodegeneration auf. Hier fand sich kein Hinweis auf eine Veränderung der Glutamatkonzentration, es bestand jedoch eine inverse Korrelation des Glutamatgehalts mit der Dichte der Neurofibrillen. Der Glutamingehalt wurde nicht bestimmt (Mohanakrishnan et al. 1995).

Mit der eigenen Arbeit sind diese Studien wegen der unterschiedlichen Untersuchungsmethoden und Lokalisationen kaum vergleichbar. Lediglich in der Arbeit von Mohanakrishnan et al. wurde der temporoparietale Kortex untersucht, in Übereinstimmung mit dem eigenen Ergebnis war die Glutamatkonzentration hier unverändert.

3.) *In vivo*- ^1H -MRS:

Insgesamt liegen bisher sieben Publikationen mit qualitativen oder quantitativen Aussagen zum *in vivo*- Glutamat- und Glutamingehalt vor (Moats et al. 1994, Shonk und Ross 1995, Ernst et al. 1997, Stoppe et al. 2000, Antonuo et al. 2001, Hattori et al. 2002). Die Ergebnisse sind uneinheitlich, zum Teil widersprüchlich.

Zwei Arbeitsgruppen berichteten über eine unveränderte, zwei über eine reduzierte Glx-Konzentration. In zwei Studien waren die Ergebnisse nicht eindeutig, da die von Glx

erzeugten Resonanzen sich unterschiedlich verhielten. Eine Arbeitsgruppe berichtete über einen Glx-Anstieg bei der DAT (Tab. 12).

| <i>Studie</i> | <i>Patienten</i> | <i>Lokalisation</i> | <i>Methode</i> | <i>Glx</i> |
|------------------|------------------|---------------------|----------------|---|
| Moats 1994 | 10 DAT, 7 NP | OGM, PWM | STEAM, 1,5 T | α -Glx \uparrow , β - und γ -Glx \downarrow * |
| Shonk 1995 | 65 DAT, 32 NP | OGM | STEAM, 1,5 T | α -Glx/Cr \uparrow , β - und γ -Glx/Cr = |
| Ernst 1997 | 12 DAT, 11 NP | FGM, TPGM | PRESS, 1,5 T | Glx = |
| Stoppe 2000 | 30 DAT, 22 NP | PWM, PGM | STEAM, 2 T | Glx = |
| Antonuo 2001 | 18 DAT, 12 NP | PGM | PRESS, 0,5 T | Glx/Cr \downarrow |
| Hattori 2002 | 9 DAT, 12 NP | PGM, PWM | PRESS, 3 T | Glx/Cr in PGM \downarrow |
| Herminghaus 2003 | 48 DAT, 27 NP | TL, PGM, PWM, FL | STEAM 1,5 T | Glx/Cr in TM, PGM \uparrow |

Tab. 12: *In vivo*-DAT-Studien, Glutamat- und Glutaminkonzentration

DAT: Patienten mit Demenz vom Alzheimer-Typ, NP: normale Probanden, OGM: occipital grey matter, PWM: parietal white matter, FGM: frontal grey matter, TPGM: temporoparietal grey matter, PGM: parietal grey matter, TL: temporal lobe, FL: frontal lobe (graue und weiße Substanz des Frontallappens, FGM und FWM), Glx: Glutamat und Glutamin-Konzentration

* Lokalisation der für den Glx-Vergleich verwendeten Spektren ist unklar

Für den Vergleich der bisher publizierten Arbeiten ist zu berücksichtigen, dass neben unterschiedlichen Mess- und Auswertemethoden auch verschiedene Hirngebiete untersucht wurden:

1.) Temporallappen und temporoparietaler Kortex

Ernst et al. untersuchten im Jahr 1997 ein frontales Volumen sowie eines in der temporoparietalen Hirnrinde. Temporoparietal fand sich bei den DAT-Patienten hinsichtlich der Glx-Konzentration kein Unterschied zu den Probanden. Diese betrug nach Korrektur für den Liquoranteil bei den Probanden im Mittel $15,0 \pm 0,7$ mmol/kg, bei den DAT-Patienten $15,1 \pm 0,5$ mmol/kg, ist also mit unseren eigenen Ergebnissen vergleichbar (NP $13,98 \pm 3,14$ mmol/l, DAT $15,48 \pm 5,15$ mmol/l) (Ernst 1997).

In einer weiteren Studie zur Vaskulären Demenz und DAT wurde ein Volumen im Temporallappen spektroskopiert, das Kortex und Marklager enthielt. Hier war Glx/tCr bei der DAT signifikant erhöht (Herminghaus et al. 2003a).

2.) Kortex des Okzipitallappens (OGM)

In einer Studie von Shonk et al. wurde Glx/tCr in einem okzipitalen Hirnrindenvolumen bestimmt. Bei der DAT zeigte sich ein Anstieg in der α -Protonenregion, das Signal der β -

und γ -Methylengruppen war nicht verändert. Das Signal der α -Protonenregion wurde von den Autoren nicht als Glutamat-, sondern als Glukoseresonanz interpretiert (Shonk et al. 1995).

3.) Frontallappen (FGM, FWM)

Im Rahmen einer Arbeit zur DAT und Frontotemporalen Demenz zeigte sich in der frontalen Hirnrinde kein Unterschied der Glx-Konzentration zwischen DAT-Patienten und Probanden (Ernst et al. 1997). Auch eine weitere Studie, die Vaskuläre Demenz und DAT untersuchte, fand sowohl in der grauen als auch in der weißen Substanz des Frontallappens bei der DAT eine unveränderte Glx/tCr-Konzentration (Herminghaus et al. 2003 a).

4.) Parietal- und Okzipitallappen (PWM, OGM)

Moats et al. spektroskopierten VOI im okzipitalen Kortex und im parietalen Marklager. Es wurden Differenzspektren von 6 Spektrenpaaren angefertigt, deren Lokalisation nicht ersichtlich ist. In diesen Differenzspektren zeigte sich bei der DAT ein Anstieg des von der α -Protonenregion erzeugten Signals mit gleichzeitiger Reduktion der Resonanz in der β - und γ -Protonenregion. Dieses Ergebnis wurde als Reduktion von Glx bei der DAT gewertet, da die Resonanz in der α -Protonenregion abermals als Glukosesignal interpretiert wurde (Moats et al. 1994).

5.) Parietallappen (PGM, PWM)

Mit der eigenen Untersuchung hinsichtlich der Lokalisation vergleichbar sind vier Studien, die bei unterschiedlichen Magnetfeldstärken durchgeführt wurden (Stoppe et al. 2000, Antonuo et al. 2001, Hattori et al. 2002, Herminghaus et al. 2003a).

Stoppe et al. spektroskopierten Volumina in parietalem Kortex und Marklager bei 2 T und werteten die Daten mit LCModel aus, allerdings erfolgte keine Korrektur für den Liquorgehalt. Der Glx-Gehalt war in beiden Volumina im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht signifikant verändert. Angaben zur Glx-Konzentration sind dem Text nicht zu entnehmen. Die Patienten hatten ein durchschnittliches MMSE-Testergebnis von 18 Punkten (Stoppe et al. 2000), während in der eigenen Untersuchung im Mittel ein Ergebnis von 21 Punkten erreicht wurde.

Herminghaus et al. berichteten über einen nahezu signifikanten Anstieg von Glx/tCr im parietalen Kortex (PGM) bei der DAT. Die kognitiven Defizite der Patienten sind nach den

MMSE-Ergebnissen von 17-24 Punkten in etwa den eigenen vergleichbar. Der wichtigste Unterschied zur eigenen Untersuchung ist der, dass in der Arbeit von Herminghaus et al. eine andere Vorauswahl an Spektren vorgenommen wurde. Die Auswertung erfolgte ebenfalls mit LCModel, allerdings wurden nur solche Spektren ausgewählt, bei denen Glx mit einem %SD-Wert unter 15% bestimmt werden konnte (Herminghaus et al. 2003 a). Bei einer solchen Selektion wäre auch in der eigenen Untersuchung die kortikale Glx-Konzentration bei den Patienten signifikant höher als bei den Probanden.

Zwei weitere Arbeitsgruppen setzten MR-Geräte mit höherer bzw. niedrigerer Feldstärke ein und legten den Schwerpunkt auf die Bestimmung der Glx/tCr-Konzentration. Antonuo et al. untersuchten bei 0,5 T Volumina im Kortex des Gyrus cinguli bei 18 Patienten und 12 Probanden. Bei 0,5 T kollabieren die Multipletts von Glutamin und Glutamat zu einer Einzelresonanz, was die Signalintensitätsbestimmung erleichtert (Prost et al. 1997). In dieser Untersuchung zeigte sich eine signifikante Abnahme der relativen Glutamat- und Glutaminkonzentration (Glx/tCr) um 10% bei Patienten mit einer DAT sowie positive Korrelationen von Glx/tCr sowohl mit den Ergebnissen des MMSE als auch mit der IADL (Activities of Daily Living scale). Die untersuchte Region entspricht dem PGM-Volumen der eigenen Untersuchung. Die Patienten hatten im MMSE durchschnittlich 18 Punkte erreicht, waren also kognitiv geringgradig stärker eingeschränkt als die eigenen (Antonuo et al. 2001).

Hattori et al. führten eine Studie bei 3 T Magnetfeldstärke durch. Zwei Volumina in Kortex und Marklager des Parietallappens wurden examiniert. Auch hier wurde bei der DAT eine signifikante Abnahme der relativen Glutamat- und Glutaminkonzentration (Glx/tCr) im PGM-Volumen gefunden. Außerdem bestand im gleichen VOI eine positive Korrelation zwischen dem Gehalt von Glx/tCr und tNAA/tCr. Bei den Patienten mit längerer Krankheitsdauer war Glx/tCr stärker reduziert als in der Gruppe der kürzer erkrankten. Im Marklagervolumen war die Konzentration beider Aminosäuren unverändert. Der durchschnittliche MMSE-Wert betrug 16,9 Punkte, die Patienten waren kognitiv also etwas stärker beeinträchtigt als die eigenen. Prinzipiell lässt eine Magnetfeldstärke von 3 T ein sehr gutes Signal/Rausch-Verhältnis erwarten. Allerdings wurden nur neun Patienten untersucht und keine absolute Quantifizierung durchgeführt (Hattori et al. 2002).

Die beiden letztgenannten Studien sind wegen der abweichenden Magnetfeldstärken nur bedingt mit der eigenen Arbeit vergleichbar.

4.3 Nebenergebnisse

4.3.1 Hirngewebeatrophie

Der Liquoranteil im parietalen Hirnrindenvolumen wurde als Index für die kortikale Atrophie bestimmt (Ernst et al. 1993). Die Patienten mit einer Demenz vom Alzheimer-Typ zeigten einen signifikant höheren Liquoranteil im PGM und damit eine stärkere Atrophie im Vergleich zu den Probanden. Eine Korrelation zwischen Atrophie und Krankheitsdauer oder MMSE-Resultaten bestand nicht. Vom Ausmaß der Hirnvolumenminderung kann also nicht unmittelbar auf die Ausprägung des kognitiven Defizits geschlossen werden.

Neuropathologischen Untersuchungen zufolge kommt die Atrophie bei der DAT durch eine Verschmälerung der Hirnrinde vor allem in den Schichten III und V zustande (Braak et al. 1993). Die für therapeutische Interventionen bedeutsame Frage, ob diese Verschmälerung durch neuronale Atrophie oder durch Neurolyse bedingt ist, wird kontrovers diskutiert (Regeur et al. 1993, Mufson und Benzing 1994). Eine Atrophie des Parietallappens bei der DAT wurde auch *in vivo* MR-volumetrisch für Patienten beschrieben, die kognitiv ähnlich stark eingeschränkt waren wie die eigenen (Pantel et al. 1998).

Neben der quantitativen Größenveränderung interessiert die zelluläre Zusammensetzung des Gewebes. Der Gehalt an tNAA und mI kann zur Frage der Neuronendichte und -funktion sowie eventueller Gliaproliferation weitere Informationen liefern.

4.3.2 Zuverlässigkeit der Konzentrationsbestimmungen von tNAA, mI, tCr und tCh

Die Bestimmung der tNAA-, tCr- und tCh-Konzentrationen war nach dem Kriterium der %SD-Werte zuverlässig. Die %SD von tNAA betragen im PGM im Durchschnitt 8,38% (6-13%), im PWM 8,44% (5-14%). Bei tCr betragen sie im PGM im Mittel 11,07% (11-15%), im PWM 12,72% (8-16%). Die tCh-Messungen wiesen %SD von 13,95% (9-18%) im PGM und 13,09% (7-17%) im PWM auf. Diese gute Messgenauigkeit wird insbesondere durch die Resonanzeigenschaften der Moleküle bedingt, die Singulett produzieren.

Die %SD von myo-Inositol lagen etwas höher, im Kortextvolumen betragen sie im Mittel 13,29% (8-28%), im PWM 17,78% (8-68%). Die größere Streuung der mI-Konzentrationsangaben kann sowohl messtechnisch bedingt sein als auch durch eine tatsächlich bestehende

größere Variabilität zustande kommen. Die Hauptresonanz von mI bei 3,5-3,6 ppm liegt sehr nah an der des Wassers (4,0 ppm), jedes ungenügend unterdrückte Wassersignal wirkt sich sowohl auf die Grundlinie in dieser Region als auch auf die Form des mI-Signals aus. Auch eine größere individuelle Schwankungsbreite ist möglich. Da die Substanz als Osmoregulator fungiert, wird die Konzentration von myo-Inositol zum Beispiel durch Veränderungen der Osmolarität beeinflusst (Brand et al. 1993). Auch die zelluläre Zusammensetzung im untersuchten Volumen hat einen Einfluss auf den Gehalt von myo-Inositol, da Gliazellen, insbesondere Astrozyten, mehr mI enthalten als Neuronen (Brand et al. 1993).

4.3.3 Zuverlässigkeit der Quantifizierung

Die Variationskoeffizienten der absoluten und relativen Konzentrationen zeigten für tNAA geringe Unterschiede. Bei tCh streuten die relativen Konzentrationsangaben in beiden Volumina weniger als die absoluten. Bei den anderen Substanzen waren die Streuungen der absoluten Konzentrationsangaben den relativen vergleichbar, so dass ein systematischer Fehler durch die vorgenommene Quantifizierung nicht wahrscheinlich ist.

In der Probandenuntersuchung von Schirmer und Auer, die ebenfalls Variationskoeffizienten absoluter und relativer Konzentrationen in einem parietalen Marklagervolumen verglich, fanden sich wie beim Glx-Gehalt bei allen bestimmten Konzentrationen geringere VK als in der vorliegenden. Auch hier ist der Unterschied am ehesten auf das geringere Alter der Probanden zurückzuführen (Schirmer und Auer 2000). Eine hinsichtlich des Alters mit dem eigenen Probandenkollektiv vergleichbare Untersuchung der VK liegt nicht vor.

4.3.4 Vergleich von Patienten und Probanden bezüglich aller erhobener Parameter

1.) NAA und NAAG

Die tNAA-Konzentration betrug bei den Probanden in der grauen Substanz $11,7 \pm 1,35$ mmol/l, in der weißen $10,31 \pm 1,25$ mmol/l. Beide Werte sind mit den Angaben anderer Untersucher für jüngere Probanden gut vergleichbar. Pouwels und Frahm gaben für PWM eine Konzentration von $10,6 \pm 0,8$ mmol/l an, für PGM $8,7 \pm 0,8$ mmol/l. Der kleinere Wert im PGM-Volumen kommt wahrscheinlich dadurch zustande, dass dort keine Liquorkorrektur

vorgenommen wurde (Pouwels und Frahm 1998). Michaelis et al., die ihre Angaben für den Liquorgehalt korrigierten, fanden eine tNAA-Konzentration von $11,7 \pm 2,2$ mmol/l im PGM und von $11,2 \pm 1,2$ mmol/l im PWM (Michaelis et al. 1993).

Der tNAA-Gehalt bei den Patienten betrug im PGM-Volumen $11,57 \pm 1,7$ mmol/l, im PWM-Volumen $9,99 \pm 1,76$ mmol/l. Somit unterscheiden sich Probanden- und Patientengruppe in beiden parietalen Regionen in ihrer tNAA-Konzentration nicht. Allerdings zeigte sich in der grauen Substanz eine signifikante positive Korrelation zwischen MMSE und tNAA. Je geringer die erreichte Punktzahl, desto niedriger war der kortikale tNAA-Gehalt.

N-Acetyl-Aspartat ist im ZNS Erwachsener ausschließlich in Nervenzellen enthalten (Urenjak et al. 1992). NAA ist an zahlreichen Stoffwechselprozessen wie Proteinsynthese, Fettsäuren- und Myelinsynthese beteiligt (Burri et al. 1991, Urenjak et al. 1992) und wird daher in der Protonenspektroskopie als neuronaler Marker angesehen.

Reversible NAA-Verminderungen legen nahe, dass anhand der NAA-Konzentration nicht nur die Dichte, sondern auch die Funktion von Nervenzellen beurteilt werden können (de Stefano et al. 1995). In einem *in vitro*-Versuch zeigte sich, dass NAA von Mitochondrien synthetisiert wurde. Inhibitoren der Atmungskette blockierten die Synthese. Hieraus wurde gefolgert, dass eine NAA-Reduktion in erster Linie Ausdruck eines verminderten neuronalen Energieumsatzes sei (Bates et al. 1996).

Auch N-Acetyl-Aspartyl-Glutamat (NAAG) existiert ausschließlich in Neuronen. Das Molekül ist in glutamatergen, GABAergen und zahlreichen anderen Neuronen lokalisiert und wirkt als Neurotransmitter. Eine modulatorische, herabregulierende Funktion von NAAG auf die glutamaterge Signalübertragung wird angenommen (Coyle 1997). Die Konzentrationen von NAA und NAAG können aufgrund der nur minimal unterschiedlichen chemischen Verschiebung bei 1,5 T *in vivo* nicht separat bestimmt werden.

Die Zunahme des Liquoranteils im PGM-Volumen bei den Patienten zeigt eine vermehrte kortikale Atrophie, die sehr wahrscheinlich auf eine neuronale Volumenminderung zurückzuführen ist. Der tNAA-Gehalt im Parietallappen hingegen war nicht signifikant verändert, was eher für eine neuronale Hypotrophie als für einen ausgeprägten Untergang von Nervenzellen in dieser Region zum Zeitpunkt der Untersuchung spricht. Die Korrelation von tNAA

und MMSE indiziert eine progrediente Abnahme des neuronalen Volumens in fortgeschrittenen Erkrankungsstadien.

Bisher wurden vier Untersuchungen zur DAT publiziert, die VOI im Parietallappen spektroskopiert und absolute Konzentrationen berechnet haben (Moats et al. 1994, Rose et al. 1999, Stoppe et al. 2000, Huang et al. 2001). Zwei Arbeitsgruppen berichten über eine Reduktion des tNAA-Gehalts bei der DAT (Rose et al. 1999, Huang et al. 2001), während die anderen die Konzentration unverändert fanden (Moats et al. 1994, Stoppe et al. 2000).

Die Patienten in den Studien, bei denen der tNAA-Gehalt signifikant erniedrigt war, hatten stärkere kognitive Einbußen als die eigenen. Wie in der vorliegenden Arbeit waren in diesen Studien tNAA-Konzentration und MMSE-Ergebnis positiv korreliert (Rose et al. 1999, Huang et al. 2001). Die Differenzen zwischen den Studien sind am ehesten durch die Unterschiede in der Ausprägung der Demenz zu erklären.

2.) myo-Inositol

Der Mittelwert der mI-Konzentrationen betrug bei den Probanden im PGM-Volumen $5,66 \pm 2,47$ mmol/l, im PWM-Volumen $3,57 \pm 0,99$ mmol/l. Dieses Verhältnis findet sich ebenfalls in den Probandenuntersuchungen von Pouwels und Frahm sowie von Michaelis et al.. Im PWM geben Pouwels und Frahm eine mI-Konzentration von $3,1 \pm 0,6$ mmol/l an, im PGM von $4,3 \pm 0,7$ mmol/l (Pouwels und Frahm 1998). Michaelis et al. ermittelten im PGM einen durchschnittlichen mI-Gehalt von $6,2 \pm 1,1$ mmol/l, im PWM von $4,7 \pm 1,0$ mmol/l (Michaelis et al. 1993).

Die Mittelwerte der gemessenen mI-Konzentrationen bei den Patienten betragen im PGM-Volumen $6,08 \pm 1,76$ mmol/l, im PWM-Volumen $4,28 \pm 1,2$ mmol/l. Der mI-Gehalt war damit bei den Patienten in der weißen Substanz um 20% höher, in der grauen Substanz um 7,4% höher als bei den Probanden. Beide Unterschiede waren nicht signifikant. Eine Korrelation zur MMSE-Punktzahl oder zur Erkrankungsdauer bestand nicht.

Der zyklische Zuckeralkohol myo-Inositol ist das häufigste Inositol-Isomer im ZNS. Seine Funktion ist noch weitgehend unbekannt. Als wahrscheinlich wird eine Bedeutung als Osmoregulator angenommen (Lien et al. 1990, Brand et al. 1993), möglicherweise fungiert mI als Glukose-Speicherform (Ross 1991). Myo-Inositol ist außerdem Substrat für die Synthese

mehrerer second messenger (Inositoltriphosphat, Inositoldiphosphat, Diacylglycerol) (Ross 1991, Ross et al. 1997). Diese sind in die Wirkung verschiedener Hormone und Transmitter, unter anderem in die cholinerge Signalübertragung eingebunden (Ek und Nahorski 1988, Ross 1991). Auch ist myo-Inositol Substrat des membranständigen Moleküls Phosphatidylinositol (Ross 1991). In kultivierten Zellen konnte mI nur in Gliazellen, nicht in Neuronen nachgewiesen werden, auch *in vivo* scheint die Substanz in Gliazellen in höherer Konzentration vorzuliegen als in Neuronen. Deswegen gilt freies myo-Inositol als Gliamarker (Brand et al. 1993). Da inflammatorische Prozesse beim M. Alzheimer Astrozyten- und Mikroglia proliferation induzieren, ist bei ausgeprägter Entzündungsreaktion ein Anstieg des myo-Inositol zu erwarten (Pike et al. 1995). Einen ähnlichen Effekt hätte eine reparative Gliaproliferation im Sinne eines narbigen Umbaus.

Einer Hypothese zufolge könnte eine Zunahme des mI-Gehalts bei der DAT Ausdruck eines gestörten Inositolphosphatstoffwechsels sein (Ross et al. 1998). Diese Hypothese beruht auf postmortem-Beobachtungen sowie auf den typischen *in vivo*-spektroskopischen Veränderungen. Autoptisch wurde beim M. Alzheimer eine Abnahme des Phosphatidylinositol (PI) sowie eine reduzierte Aktivität des Enzyms Phosphatidylinositolkinase festgestellt. MR-spektroskopische Untersuchungen verschiedener Demenzformen zeigten bei DAT, M. Down, Frontotemporaler und Vaskulärer Demenz eine Zunahme von mI oder mI/tCr (Shonk et al. 1995, Shonk und Ross 1995, Huang et al. 1999, Herminghaus et al. 2003 a, Herminghaus et al. 2003b). Eine Arbeitsgruppe untersuchte Patienten mit leichten kognitiven Beeinträchtigungen unter der Vorstellung, dass es sich um ein Frühstadium der DAT handelt, sowie Patienten mit manifester DAT. In beiden Gruppen war im Vergleich zur Kontrollgruppe ein mI/tCr-Anstieg feststellbar. Die Autoren folgern hieraus, dass ein Anstieg des mI-Gehalts der klinischen Manifestation der DAT vorangehe (Kantarci et al. 2000).

In der vorliegenden Studie zeigt sich ein Trend zu einem Anstieg des myo-Inositolgehalts im parietalen Marklager bei DAT-Patienten um 20% ($p = 0,09$). Dieser kann am ehesten als Hinweis auf eine entzündlich bedingte oder narbige Astrozyten- und Mikroglia proliferation gewertet werden. Ob ein gestörter Inositolstoffwechsel vorliegt, ist mit der durchgeführten Untersuchung nicht zu klären, da myo-Inositol und Inositolphosphatverbindungen mit der ^1H -MRS nicht differenziert werden können.

Von den übrigen *in vivo*-¹H-MRS-Arbeiten zur DAT, die absolute PGM- und PWM-Konzentrationen ermittelten, fanden drei einen signifikanten mI-Konzentrationsanstieg in der Patientengruppe (Moats et al. 1994, Rose et al. 1999, Huang et al. 2001), eine ergab keinen Unterschied im mI-Gehalt zwischen Patienten und Probanden (Stoppe et al. 2000). Wieder zeigen diejenigen Untersuchungen eine signifikante Änderung, deren Patienten kognitiv stärker eingeschränkt waren.

3.) Kreatin und Kreatinphosphat (tCr)

Die mittlere Konzentration des Gesamtkreatins betrug bei den Probanden im PGM $10,03 \pm 1,33$ mmol/l, im PWM $7,21 \pm 1,43$ mmol/l. Damit lag sie deutlich höher als in den Probandenuntersuchungen an jüngeren Kollektiven. Pouwels und Frahm gaben für das PGM-Volumen $6,5 \pm 0,6$ mmol/l, für PWM $5,7 \pm 0,6$ mmol/l an, Michaelis et al. $8,2 \pm 1,4$ mmol/l für PGM und $6,1 \pm 0,8$ mmol/l für PWM (Michaelis et al. 1993, Pouwels und Frahm 1998). Die Diskrepanz zwischen diesen Daten und der eigenen Messung ist am ehesten auf das Alter der Probanden zurückzuführen: Mehrere Probandenstudien zeigten für verschiedene Regionen eine Zunahme von tCr mit zunehmendem Lebensalter (Chang et al. 1996, Saunders et al. 1999, Pfefferbaum et al. 1999, Angelié et al. 2001) bzw. eine positive Korrelation des Kreatingehalts mit dem Alter (Leary et al. 2000). Allerdings wurde auch über eine unveränderte (Christiansen et al. 1993, Sijens et al. 2003) bzw. erniedrigte (Charles et al. 1994) tCr-Konzentration berichtet. In Übereinstimmung mit den eigenen Daten war der tCr-Gehalt in den anderen Studien im Kortex höher als im Marklager (Michaelis et al. 1993, Pouwels und Frahm 1998, Pfefferbaum et al. 1999, Saunders et al. 1999).

In der DAT-Gruppe wurde eine tCr-Konzentration von $10,5 \pm 1,57$ mmol/l (PGM) bzw. $7,28 \pm 1,23$ mmol/l (PWM) gemessen, signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe bestehen damit nicht. Die positive Korrelation von MMSE und tCr legt eine fortschreitende Abnahme des Kreatingehalts im späteren Krankheitsverlauf nahe. Allerdings darf diese Korrelation mangels Unterschieds zwischen beiden Gruppen nicht überbewertet werden.

Kreatinphosphat fungiert in Zellen von Muskulatur und Gehirn als schnell verfügbarer Energiespeicher. Die energiereiche Verbindung wird vom Enzym Kreatinkinase gespalten,

die Phosphatgruppe kann auf ADP übertragen werden und dient so der Pufferung von ADP und ATP. Neben seiner Funktion als Energiespeicher dient PCr dem Energietransfer von den Mitochondrien zu den ATP-verbrauchenden Strukturen (Brewer und Wallimann 2000). In der ^1H -MRS erzeugen freies Kreatin und Kreatinphosphat ein gemeinsames Signal, das *in vivo* bei mittleren Feldstärken nicht weiter differenziert werden kann. Bei den meisten Krankheitsbildern bleibt die messbare Konzentration unverändert, weswegen das Kreatinsignal häufig als internes Referenzsignal verwendet wird.

Die Substanz ist sowohl in Neuronen als auch in Astrozyten und Oligodendrozyten enthalten (Petroff et al. 1995). Obwohl tCr bei vielen Erkrankungen unverändert erscheint, wurde über eine Reduktion bei der vaskulären Demenz sowie bei Tumoren und Infarkten berichtet, bei denen ein Energiemangel vorherrscht (Möller-Hartmann et al. 2002, Herminghaus et al. 2003b).

Die Korrelation von MMSE und tCr in der eigenen Untersuchung könnte also als möglicher Hinweis auf einen progredienten Energiemangel in späteren Krankheitsstadien gewertet werden. Funktionell bildgebende Studien legen bei der DAT einen chronischen Energiemangel nahe, indem sie eine herabgesetzte Perfusion sowie einen erniedrigten Sauerstoff- und Glukoseverbrauch zeigten (Stoppe et al. 1995, Minoshima et al. 1997, Jagust et al. 2001). Eine ^{31}P -MRS-Studie ergab einen verringerten ATP-Verbrauch bei der DAT (Panchalingam et al. 1991).

Wenn auch kein signifikanter Unterschied zwischen Patienten und Probanden besteht, zeigt die Korrelation von tCr und MMSE, dass die Berechnung relativer Signalintensitätsverhältnisse mit Kreatin als interner Referenz bei DAT-Studien zu Fehlern führen kann.

Nur eine der vier *in vivo* ^1H -MRS-Studien, die den Parietallappen untersucht haben, fand bei der DAT einen veränderten tCr-Gehalt (Huang et al. 2001). Hier war tCr im PGM bei der DAT signifikant erhöht. Die übrigen Arbeiten zeigten keinen Unterschied im tCr-Gehalt zwischen NP und DAT in der grauen oder weißen Substanz des Parietallappens (Moats et al. 1994, Rose et al. 1999, Stoppe et al. 2000).

4.) Cholinhaltige Substanzen (tCh)

In der Probandengruppe betrug die tCh-Konzentration in der grauen Substanz $2,58 \pm 0,55$ mmol/l, in der weißen Substanz $2,47 \pm 0,51$ mmol/l.

Dieses Resultat liegt deutlich über den Angaben von Pouwels und Frahm, die im PGM (ohne Liquorkorrektur) $1,1 \pm 0,14$ mmol/l und im PWM $1,68 \pm 0,27$ angaben, sowie über denen von Michaelis et al., die im PGM eine Konzentration von $1,4 \pm 0,3$ mmol/l und im PWM von $1,8 \pm 0,3$ mmol/l angeben (Michaelis et al. 1993, Pouwels und Frahm 1998). Da die Bestimmung dieser Substanz eine sehr geringe Streuung aufweist und die Messwerte als zuverlässig anzusehen sind, kann dieser Unterschied nur durch das höhere Alter der Probanden erklärt werden. Von den Probandenstudien, die unterschiedliche Altersgruppen untersuchten, ergaben drei einen Anstieg cholinerges Marker bei älteren Personen (Chang 1996, Pfefferbaum et al. 1999, Angelié et al. 2001), eine berichtete über eine positive Korrelation des Cholingehalts mit zunehmendem Lebensalter (Leary et al. 2000). Zwei Studien zeigten keine Konzentrationsänderungen im Alterungsprozess (Christiansen et al. 1993, Saunders et al. 1999), zwei fanden den tCh-Gehalt bei älteren Probanden erniedrigt (Charles et al. 1994, Sijens et al. 2003).

Bei den Patienten mit einer DAT war die CholinKonzentration ähnlich hoch wie bei den Probanden. Im PGM-Volumen betrug sie im Mittel $2,96 \pm 0,56$ mmol/l, im PWM $2,4 \pm 0,59$ mmol/l. Es zeigte sich keine Korrelation mit der Krankheitsdauer oder dem Schweregrad.

Das tCh-Signal wird vorwiegend von Glycerophosphocholin (GPCh) und Phosphocholin (PCh) erzeugt. Phosphocholin (PCh) ist Vorstufe bzw. Abbauprodukt des Phosphatidylcholins (PC), eines wesentlichen Bestandteils von Biomembranen (Klein 2000). Glycerophosphocholin (GPCh) ist ein Membranabbauprodukt und fungiert außerdem als Osmoregulator (Klein 2000). Entsprechend wird die GesamtcholinKonzentration mit der Rate des Zellmembranumsatzes in Verbindung gebracht. Eine starke Vermehrung von Membranabbauprodukten lässt daher einen Anstieg des Cholinsignals erwarten (Klein 2000). Für die DAT wurde eine solche bisher nur in einem sehr geringen Teil der Studien nachgewiesen (Meyerhoff et al. 1994, Kantarci et al. 2000). Die Arbeitsgruppen, die den Parietallappen untersuchten, fanden in Übereinstimmung mit der eigenen Studie keinen Hinweis auf eine

Veränderung der tCh-Konzentration (Moats et al. 1994, Rose et al. 1999, Stoppe et al. 2000, Huang et al. 2001).

Zusammenfassend sprechen die hier vorgestellten Ergebnisse für eine ausgeprägte parietale Hirnrindenatrophie im frühen und mittleren Stadium der DAT. Mit zunehmender Schwere der Demenz zeigt sich eine Tendenz zur Verringerung des neuronalen Volumenanteils im parietalen Kortex. Die nichtsignifikante Zunahme des gliaspezifischen Markers myo-Inositol spricht für eine entzündliche oder reparative Gliaproliferation. Die positive Korrelation von tCr mit dem MMSE-Ergebnis könnte einen progredienten chronischen Energiemangel in fortgeschrittenen Erkrankungsstadien andeuten. Die hohe Messungenauigkeit für die Glutamat- und Glutaminbestimmung erlaubt keine sichere Aussage über das Ausmaß möglicher exzitotoxischer Vorgänge.

4.4 Schlussfolgerung

- 1.) Mit der ^1H -MRS bei 1,5 Tesla Magnetfeldstärke kann im parietalen Marklager und im parietalen Kortex der Gehalt der Moleküle Glutamin und Glutamat *in vivo* gemessen und quantifiziert werden.
- 2.) Die zusätzlich gemessenen Moleküle mI, tCr, tCh und tNAA mit prominenten Einzelsignalen ließen sich mit niedrigen %SD-Werten bestimmen. Nach diesem Kriterium ist die Zuverlässigkeit der Konzentrationsbestimmungen hoch. Die besonderen Eigenschaften der Signale von Glutamin und Glutamat mit gekoppelten Resonanzen führen *in vivo* zu einer vergleichsweise höheren Messungengenauigkeit.
- 3.) Die durchschnittliche Glutamat- und Glutaminkonzentration von Patienten in frühen und mittleren Stadien einer Demenz vom Alzheimer-Typ (DAT) war im Vergleich zur Probandengruppe im parietalen Rindenvolumen um 11% erhöht, erreichte jedoch kein Signifikanzniveau. Es ist daher sinnvoll, weitere Untersuchungen bei einer größeren Patientenzahl bzw. bei höherer Feldstärke mit einem besseren Signal/Rausch-Verhältnis durchzuführen.
- 4.) Die Konzentration der Substanzen Kreatin und Kreatinphosphat (tCr) korrelierte positiv mit dem Schweregrad der Demenz. Deswegen ist für Untersuchungen zur DAT eine absolute Quantifizierung der Bildung von Signalintensitätsratios im Verhältnis zu tCr vorzuziehen.

5. Zusammenfassung

Die *in vivo* MR-Protonenspektroskopie (^1H -MRS) ist ein nichtinvasives Verfahren, das die Untersuchung biochemischer Substanzen beim Lebenden ermöglicht. In einer prospektiven Studie wurden Patienten, die an einer Demenz vom Alzheimer-Typ (DAT) litten, und altersentsprechende Probanden mit der ^1H -MRS untersucht. Im Hirngewebe wurden Konzentrationen von Molekülen bestimmt, die Aussagen über die zelluläre Zusammensetzung ermöglichen. Das Hauptinteresse galt der Untersuchung von Glutamat und Glutamin, da ein Überangebot des Neurotransmitters Glutamat im synaptischen Spalt möglicherweise für die Neurodegeneration beim M. Alzheimer mitverantwortlich ist.

Bei 29 Patienten mit einer DAT sowie 19 Probanden wurden zwei Volumina in Kortex und Marklager des Parietallappens bei 1,5 Tesla Magnetfeldstärke mit einer PRESS-Sequenz (TE = 22 ms, TR = 3 s) untersucht. Die Patienten waren kognitiv leicht bis mittelschwer beeinträchtigt (Mini Mental State Examination, MMSE, 11-27 Punkte). Die quantitative Auswertung der Spektren erfolgte nach der "phantom replacement method" mit dem Softwareprogramm LCModel. Als Kriterium für die Zuverlässigkeit der Konzentrationsangaben diente die vom Programm als %SD-Wert angegebene Auswertegenauigkeit der Einzelmessungen.

Neben dem Glutamat- und Glutamingehalt wurden der Liquorgehalt im kortikalen Messvolumen und die Konzentrationen der Moleküle N-Acetyl-Aspartat und N-Acetyl-Aspartyl-Glutamat (tNAA), myo-Inositol (mI), Kreatin und Kreatinphosphat (tCr) sowie der cholinhaltigen Substanzen (tCh) bestimmt. Bei den Patienten konnten 25 aussagekräftige Spektren aus der Rindenregion und 19 aus dem Marklager des Parietallappens gemessen werden, bei den Probanden 17 Kortex- und 13 Marklager-Spektren.

Glutamat und Glutamin können mit der *in vivo*-Spektroskopie wegen ihrer sich überlappenden Resonanzen nicht separat bestimmt werden und wurden deshalb als „Glx“ zusammengefasst. Der Glx-Gehalt betrug in der Rindenregion bei den Patienten im Durchschnitt $15,48 \pm 5,15$ mmol/l, bei den Probanden $13,98 \pm 3,14$ mmol/l. Die um 11% höhere Konzentration bei den Patienten war nicht signifikant. Die Glx-Konzentrationen im Marklager betragen $8,16 \pm 3,79$ mmol/l bei den Patienten und $8,14 \pm 3,71$ mmol/l bei den Probanden.

Nach dem Kriterium der %SD war die Zuverlässigkeit der Konzentrationsbestimmung von Glutamat und Glutamin eingeschränkt, was auf die protonenspektroskopischen Eigenschaften von Glutamat und Glutamin zurückzuführen ist. Sie erzeugen wegen ihrer gekoppelten

Resonanzen breite und mehrgipflige Protonensignale, die wegen der resultierenden niedrigen Signalamplitude für LCModel von Makromolekülresonanzen oder von Artefakten, die durch ungenügende Wasserunterdrückung entstehen, schwierig abzugrenzen sind.

Die %SD-Werte der Einzelmessungen von tNAA, mI, tCr und tCh waren gering, die Messergebnisse können daher als zuverlässig angesehen werden.

Die tNAA-Konzentrationen in beiden Gruppen unterschieden sich weder in der grauen noch in der weißen Substanz signifikant voneinander. Im Hirnrindenvolumen zeigte sich bei den Patienten jedoch eine positive Korrelation von tNAA und MMSE-Ergebnis, also eine Reduktion von tNAA mit zunehmenden kognitiven Einbußen. Dies spricht für eine Abnahme des neuronalen Volumenanteils mit fortschreitender Erkrankung.

Der durchschnittliche myo-Inositolgehalt im Marklagervolumen lag in der Patientengruppe um 20% höher als bei den Probanden. Der Unterschied erreichte jedoch kein Signifikanzniveau ($p = 0,09$). Im Rindenvolumen war die mittlere myo-Inositolkonzentration bei den Patienten um 7% höher als in der Kontrollgruppe, auch hier war der Unterschied nicht signifikant. Der nichtsignifikante myo-Inositolanstieg lässt sich als mäßige entzündliche oder reaktive Gliaproliferation interpretieren.

Die tCr-Konzentrationen in beiden Gruppen unterschieden sich nicht, jedoch bestand bei den DAT-Patienten eine positive Korrelation des tCr-Gehalts mit der MMSE-Punktzahl in der grauen Substanz des Parietallappens, die Konzentration nahm also mit zunehmendem Schweregrad der Demenz ab. Bei der durchschnittlichen tCh-Konzentration bestanden keine Gruppenunterschiede in den untersuchten Regionen.

Die Patienten wiesen eine signifikante Zunahme des mittleren Liquoranteils um 16% im kortikalen Volumen auf. Dies ist als kortikale Hirngewebeatrophie in frühen und mittleren Stadien der DAT zu werten.

Während die *in vivo*-Konzentrationen von tNAA, mI, tCr und tCh zuverlässig bestimmt werden konnten, war die Messung von Glutamat und Glutamin bei 1,5 T mit technischen Schwierigkeiten verbunden. Wegen der hohen Standardabweichungen konnte aus dieser Untersuchung keine gesicherte Aussage zu einer möglichen Konzentrationsänderung dieser Aminosäuren bei der DAT abgeleitet werden.

Es ist zu erwarten, dass hier durch MR-Geräte mit 3 T Feldstärke sowie durch den Einsatz der parallelen Bildgebung ein erheblich höheres Signal/Rausch-Verhältnis und damit genauere Ergebnisse erzielt werden können.

6. Summary

Proton magnetic resonance spectroscopy (^1H -MRS) is a noninvasive tool for the examination of neurochemistry *in vivo*. The aim of the present prospective study is the investigation of *in vivo*-detectable changes in metabolite concentrations during early stages of probable Alzheimer's disease (AD) using ^1H -MRS. To obtain information about tissue composition the concentrations of several metabolites were estimated. The main focus of this study were the amino acids glutamate and glutamine, since an excessive supply of the neurotransmitter glutamate in the synaptic cleft is considered to be a possible cause for neurodegeneration in AD.

For 29 patients with probable AD and for 19 elderly controls two volumes in parietal grey and white matter were examined at 1.5 Tesla using a single-voxel short echo PRESS sequence (TE = 22 ms, TR = 3 s). The patients had mild to moderate dementia (mini mental state examination, MMSE, 11-27). Their spectroscopic findings were compared to the data obtained from 19 healthy elderly controls. Metabolite concentrations were quantified using the software tool LCModel (Provencher 1993). For each data set the compliance with accuracy criteria was based on the %SD values. These values are calculated by the software measuring the reliability of the obtained metabolite concentrations.

In patients, 25 spectra with sufficient quality were obtained from parietal grey matter (PGM) and 19 from white matter (PWM) and compared to 17 PGM spectra and 13 PWM spectra from controls. For volumes in parietal grey matter, the fraction of cerebrospinal fluid was estimated. Absolute concentrations of glutamate and glutamine (Glx), N-acetyl aspartate and N-acetyl aspartyl glutamate (tNAA), myo-Inositol (mI), creatine and phosphocreatine (tCr) and choline-containing compounds (tCh) were calculated based on the phantom replacement method. Due to overlapping proton resonances, glutamine and glutamate cannot be separated *in vivo* and therefore are summed up as "Glx".

In patients, mean Glx concentration in PGM was $15,48 \pm 5,15$ mmol/l, in healthy controls $13,98 \pm 3,14$ mmol/l. The 11% increase in patients did not reach significance. In PWM, Glx concentration in probable AD patients was $8,16 \pm 3,79$ mmol/l, in controls $8,14 \pm 3,71$ mmol/l. These values had high %SD values compared to the singulett signals (tNAA, mI, tCho, tCr) since glutamate and glutamine are broadened due to the complex multiplett structures. The respective low amplitudes are sometimes difficult to discriminate from baseline modulations caused by imperfect water suppression or macromolecules, resulting

in a reduced accuracy of the LCModel fit.

The estimates of tNAA, mI, tCr and tCh had low %SD, indicating high accuracy of the calculated quantitative concentrations.

There were no significant alterations of tNAA concentrations in either parietal grey or white matter, but in patients, tNAA showed a significant positive correlation with MMSE score in PGM. Since tNAA is considered to be a neuronal marker, this correlation may indicate a reduction in neuronal volume as the disease proceeds.

Myo-inositol concentrations in patients were 20% elevated for PWM in probable AD patients compared to controls, but the difference did not reach significance ($p = 0,09$). In PGM, patients showed a 7% increase in mI, which was not significant either. The moderate increase in myo-Inositol in PWM for patients can be interpreted as mild gliosis, e.g. due to inflammation.

There were no significant between-group differences in tCr concentrations in either of the volumina, but in patients, tCr correlated positively with MMSE score in PGM. tCh concentrations were similar in both regions in patients and controls.

For probable AD patients, the fraction of cerebrospinal fluid in the parietal cortical volume was significantly increased by 16% compared to controls. This increase is in accordance with cortical atrophy in early and advanced stages of probable AD.

NAA, mI, tCr and tCh concentrations were estimated with high accuracy, whereas the quantification of glutamate and glutamine at 1.5 T was difficult, mainly for technical reasons. Thus, the presented data do not provide sound information regarding potential changes of Glx concentrations in probable AD.

Further improvement of *in vivo* Glx examination should be achieved by an improvement of signal-to-noise ratio at higher magnetic fields, e.g. 3 T MR scanners, and the use of parallel imaging.

7. Literaturverzeichnis

Albert E (1963)

Senile Demenz und Alzheimer - die gleiche Krankheit?
Zbl Ges Neurol Pschiat 172: 264

Alzheimer A (1907)

Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde.
Allg Z Psychiat 64: 146

American Psychiatric Association

DSM-IV. Diagnostic and statistical manual of mental disorder, fourth edition.
Washington DC, 1994

Angelié E, Bonmartin A, Boudraa A, Gonnaud PM, Mallet JJ, Sappey-Marinié D (2001)
Regional Differences and Metabolic Changes in Normal Aging of the Human Brain: Proton
MR Spectroscopic Imaging Study.
AJNR Am J Neuroradiol 22: 119-127

Antonuo PG, Jones JL, Wang Y, Li SJ (2001)

Decreased glutamate + glutamine in Alzheimer's disease detected in vivo with ¹H-MRS at
0,5 T.
Neurology 56: 737-742

Arai H, Kobayashi K, Ichimiya Y, Kosaka K, Iizuka R (1984)

A preliminary study of free amino acids in the postmortem temporal cortex from Alzheimer-
type dementia patients.
Neurobiol Aging 5: 319-321

Arai H, Kobayashi K, Ichimiya Y, Kosaka K, Iizuka R (1985)

Free amino acids in post-mortem cerebral cortices from patients with Alzheimer-type
dementia.
Neurosci Res 2: 486-490

Arendt T

Pathologische Anatomie der Alzheimer Krankheit.

In: Förstl H, Bickel H, Kurz A (Hrsg): Alzheimer Demenz. Grundlagen, Klinik und Therapie,
87-106
Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1999

Bates TE, Strangward M, Keelan J, Davey GP, Munro PM, Clark JB (1996)

Inhibition of N-acetylaspartate production: implications for 1H MRS studies in vivo.
Neuroreport 7: 1397-1400

Behar KL, den Hollander JA, Stromski ME, Ogino T, Shulman RG, Prichard JW (1983)
High-resolution ¹H nuclear magnetic resonance study of cerebral hypoxia in vivo.
Proc Natl Acad Sci USA 80: 4945-4948

Behar KL, Rothman DL, Spencer DD, Petroff OA (1994)
Analysis of macromolecule resonances in ¹H NMR spectra of human brain.
Magn Reson Med 32: 294-302

del Bel EA, Slater P (1991)
Binding to the glycine site of the NMDA receptor complex in brains of patients with
Alzheimer's disease.
Neurosci Lett 131: 75-78

Bickel H
Epidemiologie der Demenzen.
In: Förstl H, Bickel H, Kurz A (Hrsg): Alzheimer Demenz. Grundlagen, Klinik und Therapie,
9-32
Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1999

Bloch FW, Hansen WW, Packard ME (1946)
Nuclear Induction.
Phys Rev 69: 127

de Boni U, McLachlan DRC (1985)
Controlled Induction of Paired Helical Filaments of the Alzheimer Type in Cultured Human
Neurons, by Glutamate and Aspartate.
J Neurol Sci 68: 105-118

Bottomley PA (1987)
Spatial localization in NMR spectroscopy in vivo.
Ann N Y Acad Sci 508: 333-348

Bowen DM (1990)
Treatment of Alzheimer's Disease. Molecular Pathology Versus Neurotransmitter-Based
Therapy.
Br J Psychiatry 157: 327-330

Braak H, Braak E, Bohl J (1993)
Staging of Alzheimer-Related Cortical Destruction.
Eur Neurol 33: 403-408

Bracco L, Gallato R, Grigoletto F, Lippi A, Lepore V, Bino G, Lazzaro MP, Carella F, Piccolo
T, Pozzili C et al. (1994)
Factors affecting course and survival in Alzheimer's disease. A 9-year longitudinal study.
Arch Neurol 51: 1213-1219

- Brand A, Richter-Landsberg C, Leibfritz D (1993)
Multinuclear NMR studies on the energy metabolism of glial and neuronal cells.
Dev. Neurosci. 15: 289-298
- Brewer GJ, Wallimann TW (2000)
Protective Effect of the Energy Precursor Creatine Against Toxicity of Glutamate and β -Amyloid in Rat Hippocampal Neurons.
J Neurochem 74: 1968-1978
- Bruhn H, Stoppe G, Merboldt KD, Michaelis T, Hänicke W, Frahm J (1992)
Cerebral metabolic alterations in normal aging and Alzheimer's dementia detected by proton MRS.
Proceedings of the 11th Annual Meeting of the Society of Magnetic Resonance in Medicine, Berlin, 1992, Berkeley, CA, Society of Magnetic Resonance in Medicine, 1992: 752
- Burns A, R. Jacoby, P. Luthert, R. Levy (1990)
Cause of death in Alzheimer's disease.
Age Ageing 19: 341-344
- Burri R, Steffen C, Herschkowitz N (1991)
N-acetyl-L-aspartate is a major source of acetyl groups for lipid synthesis during rat brain development.
Dev Neurosci 13: 403-411
- Capizzano AA, Schuff N, Amend DL, Tanabe JL, Norman D, Maudsley AA, Jagust W, Chui HC, Fein G, Segal MR, Weiner MW (2000)
Subcortical Ischemic Vascular Dementia: Assessment with Quantitative MR Imaging and ^1H MR spectroscopy.
AJNR Am J Neuroradiol 21: 621-630
- Chang L, Ernst T, Poland RE, Jenden DJ (1996)
In vivo proton magnetic resonance spectroscopy of the normal aging human brain.
Life Sci 58: 2049-2056
- Christiansen P, Toft P, Larsson HB, Stubgaard M, Henriksen O (1993)
The concentration of N-acetyl aspartate, creatine + phosphocreatine, and choline in different parts of the brain in adulthood and senium.
Magn Reson Imaging 11: 799-806
- Christiansen P, Schlosser A, Henriksen O (1995)
Reduced N-Acetylaspartate content in the frontal part of the brain in patients with probable Alzheimer's disease.
Magn Res Imag 13: 457-462
- Conn PJ, Pin JP (1997)
Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors.
AR Pharmacol Toxicol 37: 205-237

Cotman CW, Geddes JW, Ulas J, Klein M (1990)
Plasticity of excitatory amino acid receptors: implications for aging and Alzheimer's disease.
Progr Brain Res 86: 55-61

Coyle JT (1997)
The Nagging Question of the Function of N-Acetylaspartylglutamate.
Neurobiol Dis 4: 231-238

Daikhin Y, Yudkoff M (2000)
Compartmentation of Brain Glutamate Metabolism in Neurons and Glia.
J Nutrition 130: 1026-1031

Eakin RT, Morgan LO, Gregg CT, Matwiyoff NA (1972)
Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy of living cells and their metabolism of a specifically labelled ¹³C substrate.
FEBS Lett 28: 259-262

Ek B, Nahorski S (1988)
Muscarinic receptor coupling to inositol phospholipid metabolism in guinea-pig cerebral cortex, parotid gland and ileal smooth muscle.
Biochem Pharmacol 37: 4461-4467

Ellison DW, Beal MF, Mazurek MF, Bird ED, Martin JB (1986)
A Postmortem Study of Amino Acid Neurotransmitters in Alzheimer's Disease.
Ann Neurol 20: 616-621

Ernst T, Kreis R, Ross BD (1993)
Absolute quantification of water and metabolites in the human brain. I. Compartments and water.
J Magn Reson; Series B 102: 1-8

Ernst T, Chang L, Melchor R, Mehringer CM (1997)
Frontotemporal Dementia and Early Alzheimer Disease: Differentiation with Frontal Lobe H-1 Spectroscopy.
Radiology 203: 829-836

Erzigkeit H
The SKT - A Short Cognitive Performance Test as an Instrument for the assessment of Clinical Efficacy of Cognition Enhancers.
In: Bergener M, Reisberg B (Hrsg): Diagnosis and Treatment of Senile Dementia, 164-174
Springer, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo 1989

Esclaire F, Lesort M, Blanchard C, Hugon J (1997)
Glutamate Toxicity Enhances Tau Gene Expression In Neuronal Cultures.
J Neurosci Res 49: 309-318

Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR (1975)
"Mini-Mental-State". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician.
J Psychiatr Res 12: 189-198

Fonnum F (1984)
Glutamate: A Neurotransmitter in Mammalian Brain.
J Neurochem 42: 1-11

Francis PT, Sims NR, Procter AW, Bowen DM (1993)
Cortical Pyramidal Neurone Loss May Cause Glutamatergic Hypoactivity and Cognitive Impairment in Alzheimer's Disease: Investigative and Therapeutic Perspectives.
J Neurochem 60: 1589-1604

Frederick BB, Satlin A, Yurgelun-Todd DA, Renshaw PF (1997)
In Vivo Proton Magnetic Resonance Spectroscopy of Alzheimer's Disease in the Parietal and Temporal Lobes.
Biol Psychiatry 42: 147-150

Frölich L, Hampel H, Gorriz C, Schramm U
Cholinerge Behandlungsstrategien.
In: Förstl H, Bickel H, Kurz A (Hrsg): Alzheimer Demenz. Grundlagen, Klinik und Therapie, 179-190
Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1999

Frölich L, Padberg F, Kratzsch T, Maurer K, Möller HJ, Hampel H (2000)
Therapie der Alzheimer-Demenz. Aktueller Stand und Perspektiven.
MMW Fortschr Med 142: 30-34

Frölich L, Hoyer S (2002)
Etiologic and pathogenetic heterogeneity of Alzheimer disease.
Nervenarzt 73: 422-427

Gadian GD
NMR and its applications to living systems.
Oxford University Press, Oxford, New York, Tokyo 1995

Giacobini E, Michel JP (1998)
Cholinesterase inhibitors for Alzheimer disease therapy: Past, present and future.
Int J Ger Psychopharmacology 1: 164-70

Govindaraju V, Young K, Maudsley AA (2000)
Proton NMR chemical shifts and coupling constants for brain metabolites.
NMR Biomed 13: 129-153

- Gray CW, Patel AJ (1995)
Neurodegeneration mediated by glutamate and beta-amyloid peptide: a comparison and possible interaction.
Brain Res 691: 169-179
- Greenamyre JT, Penney JB, Young AB, d'Amato JC, Hicks SP, Shoulston I (1985)
Alterations in L-glutamate binding in Alzheimer's and Huntington's diseases.
Science 227: 1496-1499
- Greenamyre JT, Maragos WF, Albin RL, Penney JB, Young AB (1988)
Glutamate transmission and toxicity in Alzheimer's disease.
Progr Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 12: 421-430
- Greenamyre JT, Young AB (1989)
Excitatory Amino Acids and Alzheimer's Disease.
Neurobiol Aging 10: 593-602
- Groenendaal F, Roelants-van Rijn AM, van der Grond J, Toet MC, de Vries LS (2001)
Glutamate in cerebral tissue of asphyxiated neonates during the first week of life demonstrated in vivo using proton magnetic resonance spectroscopy.
Biol Neonate 79: 254-257
- Gsell W, Strein I, Riederer P (1996)
The neurochemistry of Alzheimer type, vascular type and mixed type dementias compared.
J Neural Transm Suppl 47: 73-101
- Haase A, Frahm J, Hänicke W, Matthaei D (1985)
¹H NMR chemical shift selective (CHESS) imaging.
Phys Med Biol 30: 341-344
- Haase A, Frahm J, Matthaei D, Hänicke W, Bomsdorf H, Kunz D, Tischler R (1986)
MR imaging using stimulated echoes (STEAM).
Radiology 106: 787-790
- Haass C
Molekulare Mechanismen der Alzheimer Erkrankung.
In: Förstl H, Bickel H, Kurz A (Hrsg): Alzheimer Demenz. Grundlagen, Klinik und Therapie, 55-66
Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1999
- Haglid KG, Wang S, Qiner Y, Hamberger A (1994)
Excitotoxicity. Experimental correlates to human epilepsy.
Mol Neurobiol 9:259-263
- Hallauer JF (2002)
Epidemiologie und Ökonomie des Morbus Alzheimer in Deutschland.
Symposium: Fortschritte in der Behandlung des Morbus Alzheimer - Diagnostische und therapeutische Interventionen, Zusammenfassung der Beiträge, Frankfurt 2002

Hamberger A, Chiang GH, Sandoval E, Cotman CW (1979)
Glutamate as a CNS transmitter. II. Regulation of synthesis in the releasable pool.
Brain Research 168: 531-541

Hampel H, Bürger K, Padberg F, Bahro M
Aktuelle Möglichkeiten und Perspektiven der Liquoruntersuchung bei der Alzheimer Demenz.
In: Förstl H, Bickel H, Kurz A (Hrsg): Alzheimer Demenz. Grundlagen, Klinik und Therapie,
153-167
Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1999

Hattori N, Abe K, Sakoda S, Sawada T (2002):
Proton MR spectroscopic study at 3 Tesla on glutamate/glutamine in Alzheimer's disease.
Neuroreport 13: 183-186

Henneberry RC (1989)
The role of neuronal energy in the neurotoxicity of excitatory amino acids.
Neurobiol Aging: 611-613

Henriksen O (1995)
In vivo quantitation of metabolite concentrations in the brain by means of proton MRS.
MNR Biomed 8: 139-148

Herholz K, Salmon E, Perani D, Baron JC, Holthoff V, Frölich L, Schönknecht P, Ito K,
Mielke R, Kalbe E, Zundorf G, Delbeuck X, Pelati O, Anchisi D, Fazio F, Kerrouche N,
Desgranges B, Eustache F, Beuthien-Baumann B, Menzel C, Schröder J, Kato T, Arahata Y,
Henze M, Heiss WD (2002)
Discrimination between Alzheimer dementia and controls by automated analysis of
multicenter FDG PET.
Neuroimage 17: 302-316

Herminghaus S, Frölich L, Gorriz C, Pilatus U, Dierks T, Wittsack HJ, Lanfermann H,
Maurer K, Zanella FE (2003a)
Brain metabolism in Alzheimer disease and vascular dementia assessed by in vivo proton
magnetic resonance spectroscopy.
Psychiatry Res 30: 183-190

Herminghaus S, Pilatus U, Kratzsch T, Peters J, Maurer K, Zanella FE, Frölich L,
Lanfermann H (2003b)
Neurochemical Characterization of Vascular Dementia Using Quantitative in vivo Proton
MR Spectroscopy.
(in press)

Heun R, Papassotiropoulos A
Genetik der Alzheimer Demenz.
In: Förstl H, Bickel H, Kurz A (Hrsg): Alzheimer Demenz. Grundlagen, Klinik und Therapie,
33-54
Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1999

- Huang W, Alexander GE, Daly EM, Shetty HU, Krasuski JS, Rapoport SI, Schapiro MB (1999)
High brain myo-inositol levels in the predementia phase of Alzheimer's disease in adults with Down's syndrome: a ¹H MRS study.
Am J Psychiatry 156: 1879-1886
- Huang W, Alexander GE, Chang L, Shetty HU, Krasuski JS, Rapoport SI, Schapiro MB (2001)
Brain metabolite concentration and dementia severity in Alzheimer disease: A ⁽¹⁾H MRS study.
Neurology 57: 626-632
- Hyman BT, Van Hoesen GW, Damasio AR (1987)
Alzheimer's Disease: Glutamate Depletion in the Hippocampal Perforant Pathway Zone.
Ann Neurol 22: 37-40
- Ihl, R
Klinische Diagnosekriterien.
In: Förstl H, Bickel H, Kurz A (Hrsg): Alzheimer Demenz. Grundlagen, Klinik und Therapie, 109-128
Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1999
- Jack CR Jr, Petersen RC, Xu YC, Waring SC, O'Brien PC, Tangalos EG, Smith GE, Ivnik RJ, Kokmen (1997)
Medial temporal atrophy on MRI in normal aging and very mild Alzheimer's disease.
Neurology 49: 786-794
- Jagust W, Thisted R, Devous MD Sr, Van Heertum R, Mayberg H, Jobst K, Smith AD, Borys N (2001)
SPECT perfusion imaging in the diagnosis of Alzheimer's disease: a clinical-pathologic study.
Neurology 56: 950-956
- Jensen M, Schröder J, Blomberg M, Engvall B, Pantel J, Ida N, Basun H, Wahlund LO, Werle E, Jauss M, Beyreuther K, Lannfelt L, Hartmann T (1999)
Cerebrospinal fluid A beta42 is increased early in sporadic Alzheimer's disease and declines with disease progression.
Ann Neurol 45: 504-511
- Jessen F, Block W, Träber F, Keller E, Flacke S, Papassotiropoulos A, Lamerichs R, Heun R, Schild HH (2000)
Proton MR spectroscopy detects a relative decrease of N-acetylaspartate in the medial temporal lobe of patients with AD.
Neurology 55: 684-688

Kang J, Lemaire HG, Unterbeck A, Salbaum JM, Masters CL, Grzeschik KH, Multhaup G, Beyreuther K, Müller-Hill B (1996)
The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor.
Nature 325: 733-736

Kanowski S (2002)
Vierter Altenbericht.
Bundesministerium für Familie, Senioren, Frauen und Jugend, Berlin

Kantarci K, Jack CR Jr, Xu YC, Campeau NG, O'Brien PC, Smith GE, Ivnik RJ, Boeve BF, Kokmen E, Tangalos EG, Petersen RC (2000)
Regional metabolic patterns in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: A ^1H MRS study.
Neurology 55: 210-217

Kauppinen RA, Williams SR (1991)
Nondestructive Detection of Glutamate by ^1H -MRS Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Cortical Brain Slices from the Guinea Pig: Evidence for Changes in Detectability During Severe Anoxic Insults.
J Neurochem 57: 1136-1144

Kauppinen RA, Pirttilä TR, Auriola SO, Williams SR (1994)
Compartmentation of cerebral glutamate in situ as detected by ^1H -MRS/ ^{13}C n.m.r.
Biochem J 298: 121-127

Kesslak PJ, Nalcioglu O, Cotman CW (1991)
Quantification of magnetic resonance scans for hippocampal and parahippocampal atrophy in Alzheimer's disease.
Neurology 41: 51-54

Klein J (2000)
Membrane breakdown in acute and chronic neurodegeneration: focus on choline-containing phospholipids.
J Neural Transm 107: 1027-1063

Klunk WE, Panchalingam K, Moosy J, McClure RJ, Pettegrew JW (1992)
N-acetyl-L-aspartate and other amino acid metabolites in Alzheimer's disease brain: a preliminary proton nuclear magnetic resonance study.
Neurology 42, 1578-1585

Klunk WE, Xu C, Panchalingam K, McClure RJ, Pettegrew JW (1996):
Quantitative ^1H and ^{31}P MRS of PCA extracts of postmortem Alzheimer's disease brain.
Neurobiol Aging 17: 349-357

Knörle R, Assmann D, Landwehrmeyer GB, Scheremet R, Müller K, Feuerstein TJ (1997)
Aspartate, glutamate, glutamine, glycine and gamma-aminobutyric acid in human bioptic neocortical areas: comparison to autoptic tissue.
Neurosci Lett 221: 169-172

Kötter HU, Hampel H (2000)
Alte Mythen verhindern die Therapie. Gedächtnisstörungen sind nicht Ausdruck "normaler" Senilität.
MMW Fortschr Med 25: 35-36

Koh JY, Yang LL, Cotman CW (1990)
 β -Amyloid protein increases the vulnerability of cultured cortical neurons to excitotoxic damage.
Brain Res 533: 315-320

Kornhuber J, Gundacker I, Maler M, Otto M, Wiltfang J
Neurotransmitterveränderungen bei der Alzheimer Demenz.
In: Förstl H, Bickel H, Kurz A (Hrsg): Alzheimer Demenz. Grundlagen, Klinik und Therapie, 67-86
Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1999

Kornhuber J, Weller M (1996)
Neue therapeutische Möglichkeiten mit niederaffinen NMDA-Rezeptorantagonisten.
Nervenarzt 67: 77-82

Kowall NW, Beal MF (1991)
Glutamate, Glutaminase-, and Taurine-immunoreactive Neurons Develop Neurofibrillary Tangles in Alzheimer's Disease.
Ann Neurol 29: 162-167

Kraepelin E
Psychiatrie - ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte. VIII. Aufl., Bd II, 1.
Barth, Leipzig 1910

Kreis R, Ernst T, Ross BD (1993)
Absolute quantitation of water and metabolites in the human brain: Part II. Metabolite concentrations.
J. Magn Reson; Series B 102: 9-19

Kreis R, Ross BD (1992)
Cerebral metabolic disturbances in patients with sub-acute and chronic diabetes mellitus: detection by proton magnetic resonance spectroscopy.
Radiology 184: 123-130

Kreis R, Ross BD, Farrow NA, Ackermann Z (1992)
Metabolic Disorders of the Brain in Chronic Hepatic Encephalopathy Detected with H-¹ MR Spectroscopy.
Radiology 182: 19-27

Kreis R, Arcinue E, Ernst T, Shonk TK, Flores R, Ross BD (1996)
Hypoxic Encephalopathy after Near-Drowning Studied by Quantitative ¹H Magnetic Resonance Spectroscopy.
J Clin invest 97: 1142-1154

Kurz A
Verlauf und Bestätigung der Diagnose.
In: Förstl H, Bickel H, Kurz A (Hrsg): Alzheimer Demenz. Grundlagen, Klinik und Therapie, 167-176
Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1999

Lanfermann H, Herminghaus S, Pilatus U, Raab P, Wagner S, Zanella FE (2002)
Grundlagen der ¹H-MR-Spektroskopie intrakranieller Tumoren.
Klin Neuroradiol 12: 1-17

Launer LJ, Andersen K, Dewey ME, Letenneur L, Ott A, Amaducci LA, Brayne C, Copeland JR, Dartigues JF, Kragh-Sorensen P, Lobo A, Martinez-Lage JM, Stijnen T, Hofman A (1999)
Rates and risk factors for dementia and Alzheimer's disease: results from EURODEM pooled analyses. EURODEM Incidence Research Group and Work Groups. European Studies of Dementia.
Neurology 52: 78-84

Lauterbur PC (1973)
Image formation by induced local interactions. Examples employing NMR.
Nature 242: 190

Leary SM, Brex PA, MacManus DG, Parker GJ, Barker GJ, Miller DH, Thompson AJ (2000)
A ¹H magnetic resonance spectroscopy study of aging in parietal white matter: implications for trials in multiple sclerosis.
Magn Reson Imaging 18: 455-9

Li S, Mallory M, Alford M, Tanaka S, Masliah E (1997)
Glutamate Transporter Alterations in Alzheimer Disease are Possibly Associated with Abnormal APP Expression.
J Neuropathol Exp Neurol 56: 901-911

Lien YH, Shapiro JI, Chan L (1990)
Effects of hypernatremia on organic brain osmoles.
J Clin Invest 85: 1427-1435

Lopez OL, Becker JT, Klunk W, Saxton J, Hamilton RL, Kaufer DI, Sweet RA, Cidis Meltzer C, Wisniewski S, Kamboh MI, De Koski ST (2000)
Research evaluation and diagnosis of probable Alzheimer's disease over the last two decades: I.
Neurology 55: 1854-1862

- Louzada PR Jr, Paula Lima AC, de Mello FG, Ferreira ST (2001)
Dual role of glutamatergic neurotransmission on amyloid beta(1-42) aggregation and neurotoxicity in embryonic avian retina.
Neurosci Lett, 301: 59-63
- Maragos WF, Chu DC, Young AB, D'Amato CJ, Penney JB Jr. (1987)
Loss of hippocampal [3H]TCP binding in Alzheimer's disease.
Neurosci Lett 74: 371-376
- Masliah E, Alford M, DeTeresa R, Mallory M, Hansen L (1996)
Deficient glutamate transport is associated with neurodegeneration in Alzheimer's disease.
Ann Neurol 40: 759-766
- Mattson MP, Cheng B, Davis D, Bryant K, Lieberburg I, Rydel RE (1992)
beta-Amyloid peptides destabilize calcium homeostasis and render human cortical neurons vulnerable to excitotoxicity.
J Neurosci 12: 376-389
- Mattson MP, Barger SW, Cheng B, Lieberburg I, Smith-Swintosky VL, Rydel RE (1993)
Beta-Amyloid precursor protein metabolites and loss of neuronal Ca²⁺ homeostasis in Alzheimer's disease.
Trends Neurosci 16: 409-414
- Maurer K, Ihl R, Frölich L
Alzheimer. Grundlagen, Diagnostik, Therapie.
Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1993
- McGeer PL, McGeer EG (1998)
Mechanisms of cell death in Alzheimer disease - immunopathology.
J Neural Transm 54 (Suppl): 159-166
- McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM (1984)
Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease.
Neurology 34: 939-944
- Meldrum, BS (2000)
Glutamate as a Neurotransmitter in the Brain: Review of Physiology and Pathology.
J Nutrition 130: 1007-1015
- Meyerhoff DJ, MacKay S, Constans JM, Norman D, van Dyke C, Fein G, Weiner MW (1994)
Axonal Injury and Membrane Alterations in Alzheimer's Disease Suggested by In Vivo Proton Magnetic Resonance Spectroscopic Imaging.
Ann Neurol 36: 40-47

- Michaelis T, Merboldt KD, Bruhn H, Hänicke W, Frahm J (1993)
 Absolute Concentrations of Metabolites in the Adult Human Brain in Vivo: Quantification of Localized Proton MR Spectra.
 Radiology 187: 219-77
- Miller BL, Moats RA, Shonk T, Ernst T, Woolley S, Ross BD (1993)
 Alzheimer Disease: Depiction of Increased Cerebral *Myo*-Inositol with Proton MR Spectroscopy.
 Radiology 187 : 433-437
- Minoshima S, Giordani B, Berent S, Frey KA, Foster NL, Kuhl DE (1997)
 Metabolic reduction in the posterior cingulate cortex in very early Alzheimer's disease.
 Ann Neurol 42: 85-94
- Moats RA, Ernst T, Shonk TK, Ross BD (1994)
 Abnormal Cerebral Metabolite Concentrations in Patients with Probable Alzheimer Disease.
 Magn Reson Med 32: 110-115
- Moats RA, Shonk T (1995)
 Evaluation of Automated MR Spectroscopy: Applications in Alzheimer Disease.
 AJNR Am J Neuroradiol 16: 1779-1782
- Möller-Hartmann W, Herminghaus S, Krings T, Marquardt G, Lanfermann H, Pilatus U, Zanella FE (2002)
 Clinical application of proton magnetic resonance spectroscopy in the diagnosis of intracranial mass lesions.
 Neuroradiology 44: 371-381
- Mohanakrishnan P, Fowler AH, Vonsattel JP, Husain MM, Jolles PR, Liem P, Komorski RA (1995)
 An in vitro ¹H nuclear magnetic resonance study of the temporoparietal cortex of Alzheimer brains.
 Exp Brain Res 102: 503-510
- Moon R, Richards J (1973)
 Determination of intracellular pH by ³¹P Magnetic-Resonance.
 J Biol Chem 248:7276-7278
- Mufson EJ, Benzing WC (1994)
 Lack of Neocortical Nerve Cell Loss in Alzheimer's Disease: Reality or Methodological Artifact.
 Neurobiol Aging 15: 361-362
- Novelli A, Reilly JA, Lysko PG, Henneberry RC (1988)
 Glutamate becomes neurotoxic via the N-methyl-D-aspartate receptor when intracellular energy levels are reduced.
 Brain Res 451: 205-212

- Pan JW, Mason GF, Pohost GM, Hetherington HP (1996)
Spectroscopic Imaging of Human Brain Glutamate by Water-Suppressed J-Refocused Coherence Transfer at 4.1T
Magn Reson Med 36: 7-12
- Panchalingam K, Strychor S, Tretta M, Newton A, Pettegrew JW (1991)
In vivo ³¹P NMR shows decreased brain ATP utilization is correlated with severity of dementia in Alzheimer's disease.
Neurology 41 (suppl 1): 291
- Pantel J, Schröder J, Schad LR, Friedlinger M, Knopp MV, Schmitt R, Geissler M, Bluml S, Essig M, Sauer H (1997)
Quantitative magnetic resonance imaging and neuropsychological functions in dementia of the Alzheimer type.
Psychol Med 27: 221-229
- Pantel J, Schröder J, Essig M, Jauss M, Schneider G, Eysenbach K, von Kummer R, Baudendistel K, Schad LR, Knopp MV (1998)
In vivo Quantification of Brain Volumes in Subcortical Vascular Dementia and Alzheimer's Disease.
Dement Geriatr Cogn Disord 9: 309-316
- Perry EK, Tomlinson BE, Blessed G, Bergmann K, Gibson PH, Perry RH (1978)
Correlation of cholinergic abnormalities with senile plaques and mental test scores in senile dementia.
Br Med J 2: 1457-1459
- Perry TL, Yong VW, Bergeron C, Hansen S, Jones K (1987)
Amino Acids, Glutathione, and Glutathione Transferase Activity in the Brains of Patients with Alzheimer's Disease.
Ann Neurol 21: 331-336
- Petroff OA, Pleban LA, Spencer DD (1995)
Symbiosis between in vivo and in vitro NMR spectroscopy; the creatine, N-acetylaspartate, glutamate and GABA content of the epileptic human brain.
Magn Reson Imag 13: 1197-1211
- Pfefferbaum A, Adalsteinsson E, Spielman D, Sullivan EV, Lim KO (1999)
In vivo spectroscopic quantification of the N-acetyl moiety, creatine, and choline from large volumes of brain gray and white matter: effects of normal aging.
Magn Reson Med 41: 276-284
- Pike CJ, Cummings BJ, Cotman CW (1995)
Early association of reactive astrocytes with senile plaques in Alzheimer's disease.
Exp Neurol 132: 172-179

- Pirttilä TR, Hakumäki JM, Kauppinen RA (1993)
 ^1H nuclear magnetic resonance spectroscopy study of cerebral glutamate in an ex vivo brain preparation of guinea pig.
J Neurochem 60: 1274-1282
- Porter RH, Roberts PJ, Briggs RS (1993)
NMDA receptor status in elderly normal individuals and those with Alzheimer's disease.
Ann N Y Acad Sci 659: 50-53
- Pouwels PJW, Frahm J (1998)
Regional Metabolite Concentrations in Human Brain as Determined by Quantitative Localized Proton MRS.
Magn Res Med 39: 53-60
- Proctor WG, Yu FC (1950)
The dependence of nuclear magnetic resonance frequency of chemical compound.
Phy Rev 77: 717
- Prost RW, Mark L, Mewissen M, Li SJ (1997)
Detection of Glutamate/Glutamine Resonances by ^1H Magnetic Resonance Spectroscopy at 0.5 Tesla.
Magn Res Med 37: 615-618
- Provencher SW (1993)
Estimation of metabolite concentration from localized in vivo proton NMR spectra.
Magn Reson Med 30: 672-679
- Provencher SW (1997)
LCModel User's Manual (for Version 5.1-7)
Göttingen 1997
- Provencher SW (2001)
Automatic quantitation of localized in vivo ^1H spectra with LCModel.
NMR Biomed 14: 260-264
- Pu Y, Li QF, Zeng CM, Gao J, Qi J, Luo DX, Mahankali S, Fox PT, Gao JH (2000)
Increased Detectability of Alpha brain Glutamate/Glutamine in Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy.
AJNR Am J Neuroradiol 21: 203-212
- Purcell EM, Torrey HC, Pound RV (1946)
Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid.
Phys Rev 69: 37-38

- Regeur L, Jensen BG, Pakkenberg H, Evans SM, Pakkenberg B (1994)
No Global Neocortical Nerve Cell Loss in Brains From Patients with Senile Dementia of Alzheimer's Type.
Neurobiol Aging 15: 347-352
- Reisberg B, Ferris SH, de Leon MJ, Ferris SH, Crook T (1982)
The Global Deterioration Scale for assessment of primary degenerative dementia.
Am J Psychiatry 139: 1136-1139
- Reisberg B, Doody R, Stöffler A, Schmitt F, Ferris S, Möbius HJ (2003)
Memantine in Moderate-to-Severe Alzheimer's Disease.
N Engl J Med 348: 1333-1341
- Represa A, Duyckaerts C, Tremblay E, Hauw JJ, Ben-Ari Y (1988)
Is senile dementia of the Alzheimer type associated with hippocampal plasticity?
Brain Res 457: 355-359
- Rose SE, de Zubicaray GI, Wang D, Galloway GJ, Chalk JB, Eagle SC, Semple J, Doddrell DM (1999)
A ^1H MRS study of probable Alzheimer's disease and normal aging: implications for longitudinal monitoring of dementia progression.
Magn Reson Imaging 17: 291-219
- Ross BD (1991)
Biochemical Considerations in ^1H Spectroscopy. Glutamate and Glutamine; Myo-inositol and Related Metabolites.
NMR Biomed 4: 59-63
- Ross BD, Jacobson S, Villamil F, Korula J, Kreis R, Ernst T, Shonk T, Moats RA (1994)
Subclinical Hepatic Encephalopathy: Proton MR Spectroscopic Abnormalities.
Radiology 193: 457-463
- Ross BD, Bluml S, Cowan R, Danielsen E, Farrow N, Gruetter R (1997)
In vivo magnetic resonance spectroscopy of human brain: The biophysical basis of dementia.
Biophys Chem 68: 161-172
- Ross BD, Bluml S, Cowan R, Danielsen E, Farrow N, Tan J (1998)
In vivo MR spectroscopy of human dementia.
Neuroimaging Clin N Am 8: 809-822
- Rothman DL
 ^1H NMR Studies of Human Brain Metabolism and Physiology.
In: R. J. Gillies (Hrsg.): *NMR in Physiology and Biomedicine*, 353-372
Academic Press San Diego, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto 1994
- Sahai S (1990)
Glutamate in the mammalian CNS
Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci 240: 121-133

- Sarantis M, Attwell D (1990)
Glutamate uptake in mammalian retinal glia is voltage- and potassium-dependent.
Brain Res 516: 322-325
- Sasaki H, Muramoto O, Kanazawa I, Arai H, Kosaka K, Iizuka R (1986)
Regional Distribution of Amino Acid Transmitters in Postmortem Brains of Presenile and Senile Dementia of Alzheimer Type.
Ann Neurol 19: 263-269
- Saunders DE, Howe FA, van den Boogaart A, Griffiths JR, Brown MM (1999)
Aging of the Adult Human Brain: In Vivo Quantification of Metabolite Content With Proton Magnetic Resonance Spectroscopy.
J Magn Reson Imaging 9: 711-716
- Schirmer T, Auer DP (2000)
On the reliability of quantitative clinical magnetic resonance spectroscopy of the human brain.
NMR Biomed 13: 28-36
- Schönknecht P, Pantel J, Hartmann T, Werle E, Volkmann M, Essig M, Amann M, Zanabili N, Bardenheuer H, Aoife H, Schröder J (2003)
Cerebrospinal fluid tau levels in Alzheimer's disease are elevated when compared with vascular dementia but do not correlate with measures of cerebral atrophy.
Psychiatry Res 120: 231-238
- Shonk TK, Ross BD (1995)
Role of increased cerebral myo-Inositol in the dementia of Down-syndrome.
Magn Reson Med 33: 858-861
- Shonk TK, Moats RA, Gifford P, Michaelis T, Mandigo JC, Izumi J, Ross BD (1995)
Probable Alzheimer Disease: Diagnosis with Proton MR Spectroscopy.
Radiology 195: 65-72
- Siegel GJ, Agranoff BW, Fisher SK, Albers RW, Uhler MD (Hrsg)
Basic Neurochemistry. Molecular, Cellular and Medical Aspects.
Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia 1999
- Sijens PE, den Heijer T, Origgi D, Vermeer SE, Breteler MM, Hofman A, Oudkerk M (2003)
Brain changes with aging: MR spectroscopy at supraventricular plane shows differences between women and men.
Radiology 226: 889-896
- Simister RJ, Woermann FG, McLean MA, Bartlett PA, Barker GJ, Duncan JS (2002)
A short-echo-time proton magnetic resonance spectroscopic imaging study of temporal lobe epilepsy.
Epilepsia 43: 1021-31

Simister RJ, McLean MA, Barker GJ, Duncan JS (2003)
Proton MRS reveals frontal lobe metabolite abnormalities in idiopathic generalized epilepsy.
Neurology 61: 897-902

Simpson MDC, Royston MC, Deakin JFW, Cross AJ, Mann DMA, Slater P (1988)
Regional changes in [3H]D-aspartate and [3H]TCP binding sites in Alzheimer's disease
brains.
Brain Res 462: 76-82

Sofroniew MV, Pearson RC (1985)
Degeneration of cholinergic neurons in the basal nucleus following kainic or N-methyl-D-
aspartic acid application to the cerebral cortex in the rat.
Brain Res 399: 186-190

de Stefano N, Matthews PM, Arnold DL (1995)
Reversible decreases in N-acetylaspartate after acute brain injury.
Magn Reson Med 34: 721-727

Stoppe G, Bruhn H, Pouwels PJ, Hänicke W, Frahm J (2000)
Alzheimer Disease: Absolute Quantification of Cerebral Metabolites In Vivo Using Localized
Proton Magnetic Resonance Spectroscopy
Alzheimer Dis Assoc Disord 14: 112-119

Stoppe G, Staedt J, Kogler A, Schutze R, Kunert HJ, Sandrock D, Munz DL, Emrich D,
Ruther E (1995)
99mTc-HMPAO-SPECT in the diagnosis of senile dementia of Alzheimer's type--a study
under clinical routine conditions.
J Neural Transm Gen Sect 99: 195-211

Takahashi M, Billups B, Rossi D, Sarantis M, Hamann M, Attwell D (1997)
The role of glutamate transporters in glutamate homeostasis in the brain.
J Exp Biol 200: 401-409

Ueda Y, Obrenovitch TP, Lok SY, Sarna GS, Symon L (1992)
Changes in Extracellular Glutamate Concentration Produced in the Rat Striatum by Repeated
Ischemia.
Stroke 23: 1125-1131

Urenjak J, Williams SR, Gadian DG, Noble M (1992)
Specific Expression of N-Acetylaspartate in Neurons, Oligodendrocyte-Type-2 Astrocyte
Progenitors, and Immature Oligodendrocytes In Vitro.
J Neurochem 59: 55-61

Wilkinson ID, Paley MN, Miszkiel KA, Hall-Craggs MA, Kendall BE, Chinn RJ, Harrison
MJ (1997)
Cerebral volumes and spectroscopic proton metabolites on MR: is sex important?
Magn Reson Imaging 15:243-248

Winblad B, Poritis N (1999)

Memantine in severe dementia: results of the 9M-Best Study (Benefit and efficacy in severely demented patients during treatment with memantine).

Int J Geriatr Psychiatry 14: 135-146

Wolter-Henseler DK (2000)

Die gerontopsychiatrische Versorgungsrealität in einer westdeutschen Großstadt.

Z Gerontol Geriatr 33:471-479

Young AB (1987)

Cortical amino acidergic pathways in Alzheimer's disease.

J Neural Transm 24: 147-152

| <i>Diagn.</i> | <i>Lokal.</i> | <i>Sex</i> | <i>Alter</i> | <i>MMSE</i> | <i>GDS</i> | <i>SKT</i> | <i>Dauer</i> | <i>tCr</i> | <i>%SD tCr</i> | <i>ml</i> | <i>%SD ml</i> | <i>tNAA</i> | <i>%SD tNAA</i> | <i>tCh</i> | <i>%SD tCh</i> | <i>Glx</i> | <i>%SD Glx</i> | <i>Glx/tCr</i> |
|---------------|---------------|------------|--------------|-------------|------------|------------|--------------|------------|--------------------|-----------|-------------------|-------------|---------------------|------------|--------------------|------------|--------------------|----------------|
| NP | PWM | F | 63 | 30 | | | | 8,25 | 13 | 4,14 | 16 | 11,35 | 8 | 2,63 | 12 | 6,73 | 39 | 0,837 |
| NP | PGM | F | 63 | 30 | | | | 10,6 | 12 | 4,27 | 16 | 11,22 | 8 | 3,21 | 12 | 14,41 | 26 | 1,395 |
| NP | PGM | F | 61 | 30 | | | | 10,09 | 10 | 2,91 | 20 | 11,97 | 7 | 2,76 | 11 | 12,83 | 22 | 1,306 |
| NP | PWM | F | 65 | 30 | | | | 7,38 | 15 | 5,17 | 17 | 11,11 | 10 | 2,92 | 15 | 6,22 | 62 | 0,866 |
| NP | PGM | F | 65 | 30 | | | | 7,64 | 11 | 4,49 | 12 | 8,68 | 8 | 2,04 | 12 | 12,98 | 17 | 1,744 |
| NP | PWM | F | 81 | 27 | | | | 7,75 | 11 | 2,83 | 19 | 10,54 | 8 | 2,46 | 12 | 10,65 | 22 | 1,412 |
| NP | PGM | F | 78 | 29 | | | | 11,72 | 8 | 5,1 | 9 | 13,48 | 6 | 3,16 | 10 | 16,56 | 14 | 1,45 |
| NP | PWM | F | 78 | 29 | | | | 7,8 | 14 | 3,17 | 20 | 9,55 | 9 | 2,37 | 14 | 12,64 | 24 | 1,664 |
| NP | PWM | F | 63 | 30 | | | | 6,64 | 11 | 3,45 | 15 | 9,31 | 7 | 2,28 | 11 | 3,62 | 31 | 0,56 |
| NP | PGM | F | 63 | 30 | | | | 10,61 | 8 | 5,1 | 10 | 13,23 | 6 | 2,96 | 10 | 15,82 | 20 | 1,53 |
| NP | PGM | F | 61 | 30 | | | | 8,91 | 12 | 6,35 | 13 | 11,16 | 9 | 2,23 | 15 | 16,94 | 19 | 1,951 |
| NP | PWM | M | 61 | 30 | | | | 7,28 | 13 | 3,95 | 18 | 10,58 | 9 | 2,17 | 16 | 4,07 | 69 | 0,575 |
| NP | PGM | M | 61 | 30 | | | | 10,89 | 9 | 4,69 | 13 | 12,76 | 7 | 2,9 | 12 | 13,42 | 22 | 1,265 |
| NP | PGM | M | 70 | 29 | | | | 10,39 | 7 | 5,61 | 9 | 11,85 | 6 | 2,5 | 9 | 11,85 | 19 | 1,171 |
| NP | PWM | M | 70 | 29 | | | | 9,05 | 9 | 3,91 | 14 | 11,84 | 6 | 3,88 | 7 | 5,54 | 25 | 0,629 |
| NP | PGM | F | 77 | 30 | | | | 9,21 | 15 | 12,24 | 8 | 11,71 | 10 | 2,58 | 15 | 7,74 | 61 | 0,863 |
| NP | PGM | F | 63 | 29 | | | | 8,3 | 11 | 5,53 | 12 | 8,96 | 9 | 1,51 | 18 | 16,87 | 16 | 2,086 |
| NP | PWM | F | 63 | 29 | | | | 7,03 | 15 | 1,1 | 68 | 11,3 | 9 | 2,07 | 16 | 14,55 | 20 | 2,125 |
| NP | PGM | M | 65 | 29 | | | | 10,36 | 9 | 5,34 | 11 | 12,63 | 6 | 2,89 | 11 | 10,91 | 22 | 1,085 |
| NP | PWM | M | 65 | 29 | | | | 9,33 | 13 | 4,69 | 14 | 9,82 | 9 | 2,41 | 15 | 10,67 | 26 | 1,174 |
| NP | PGM | F | 58 | 30 | | | | 10,24 | 8 | 4,86 | 9 | 11,78 | 6 | 2,16 | 12 | 12,51 | 19 | 1,253 |
| NP | PWM | F | 58 | 30 | | | | 6,06 | 11 | 3,44 | 14 | 12,03 | 6 | 2,59 | 10 | 8,87 | 23 | 1,52 |
| NP | PGM | M | 73 | 30 | | | | 10,96 | 12 | 5,12 | 13 | 12,54 | 8 | 2,41 | 16 | 19,4 | 19 | 1,816 |
| NP | PWM | M | 73 | 30 | | | | 3,77 | 15 | 3,02 | 14 | 8,43 | 9 | 1,72 | 13 | 9,9 | 17 | 2,699 |
| NP | PWM | M | 67 | 30 | | | | 6,01 | 13 | 3,78 | 16 | 8,03 | 10 | 2,34 | 13 | 2,26 | 120 | 0,386 |
| NP | PGM | M | 67 | 30 | | | | 10,61 | 10 | 4,9 | 13 | 12,71 | 7 | 3,33 | 11 | 18,83 | 18 | 1,822 |
| NP | PGM | M | 71 | 29 | | | | 9,16 | 13 | 2,51 | 28 | 10,94 | 9 | 1,79 | 18 | 13,42 | 20 | 1,505 |
| NP | PGM | M | 60 | 29 | | | | 12,71 | 10 | 11,1 | 9 | 12,63 | 9 | 3,34 | 13 | 9,54 | 35 | 0,771 |
| NP | PWM | M | 59 | 30 | | | | 7,33 | 13 | 3,81 | 16 | 10,1 | 9 | 2,3 | 14 | 10,15 | 26 | 1,421 |
| NP | PGM | M | 59 | 30 | | | | 8,08 | 9 | 6,08 | 9 | 10,61 | 6 | 2,17 | 11 | 13,62 | 17 | 1,731 |
| DAT | PGM | F | 70 | 20 | | 22 | 1 | 9,64 | 12 | 4,68 | 15 | 12,23 | 8 | 2,67 | 14 | 23,77 | 13 | 2,533 |
| DAT | PGM | F | 70 | 25 | 3 | | 1 | 11,24 | 12 | 5,96 | 16 | 13,75 | 9 | 2,52 | 16 | 10,93 | 32 | 0,998 |
| DAT | PWM | F | 81 | 24 | | 9 | 2 | 7,73 | 8 | 4,29 | 12 | 11,13 | 6 | 2,18 | 11 | 9,64 | 27 | 1,28 |
| DAT | PWM | F | 76 | 25 | 3 | 9 | 1,5 | 5,73 | 15 | 3,89 | 17 | 8,6 | 9 | 1,52 | 17 | 10,48 | 21 | 1,879 |
| DAT | PGM | F | 76 | 25 | 3 | 9 | 1,5 | 11,31 | 12 | 4,29 | 18 | 13,2 | 8 | 2,53 | 15 | 15,27 | 23 | 1,387 |
| DAT | PWM | F | 55 | 18 | 4 | 23 | 5 | 4,97 | 15 | 3,02 | 20 | 4,42 | 14 | 1,74 | 17 | 6,4 | 39 | 1,322 |
| DAT | PGM | F | 55 | 18 | 4 | 23 | 5 | 12,41 | 14 | 9,45 | 13 | 12,09 | 12 | 3,88 | 14 | 17,61 | 20 | 1,457 |

| <i>Diagn.</i> | <i>Lokal.</i> | <i>Sex</i> | <i>Alter</i> | <i>MMSE</i> | <i>GDS</i> | <i>SKT</i> | <i>Dauer</i> | <i>tCr</i> | <i>%SD tCr</i> | <i>ml</i> | <i>%SD ml</i> | <i>tNAA</i> | <i>%SD tNAA</i> | <i>tCh</i> | <i>%SD tCh</i> | <i>Glx</i> | <i>%SD Glx</i> | <i>Glx/tCr</i> |
|---------------|---------------|------------|--------------|-------------|------------|------------|--------------|------------|--------------------|-----------|-------------------|-------------|---------------------|------------|--------------------|------------|--------------------|----------------|
| DAT | PWM | M | 75 | 21 | 4 | 10 | 1,5 | 7,55 | 13 | 3,49 | 20 | 9,78 | 9 | 2,65 | 13 | 13,8 | 23 | 1,877 |
| DAT | PGM | F | 74 | 23 | | 11 | 2,5 | 10,26 | 12 | 4,87 | 15 | 11,25 | 9 | 2,92 | 13 | 24,12 | 15 | 2,414 |
| DAT | PWM | F | 74 | 22 | 3 | 6 | 0,5 | 7,4 | 11 | 2,8 | 21 | 9,32 | 8 | 2,06 | 13 | 8,13 | 28 | 1,127 |
| DAT | PGM | F | 74 | 22 | 3 | 6 | 0,5 | 12,2 | 10 | 4,97 | 12 | 14,52 | 6 | 2,95 | 12 | 20,5 | 15 | 1,726 |
| DAT | PWM | F | 64 | 22 | | 16 | 2 | 6,81 | 15 | 6,75 | 13 | 12,38 | 9 | 2 | 17 | 5,2 | 46 | 0,783 |
| DAT | PGM | F | 64 | 22 | 3 | 16 | 2 | 12,28 | 9 | 5,77 | 10 | 11,35 | 7 | 2,62 | 13 | 14,41 | 20 | 1,204 |
| DAT | PGM | M | 80 | 21 | 4 | 21 | 0,5 | 7,9 | 15 | 7,05 | 15 | 8,65 | 13 | 3,33 | 17 | 11,88 | 48 | 1,543 |
| DAT | PWM | M | 77 | | 5 | | 7,5 | 8 | 10 | 4,73 | 11 | 11,65 | 6 | 2,34 | 10 | 10,88 | 16 | 1,395 |
| DAT | PGM | M | 77 | | 5 | | 7,5 | 9,6 | 11 | 7,54 | 11 | 11,59 | 9 | 2,46 | 14 | 18,48 | 13 | 1,976 |
| DAT | PWM | F | 68 | 22 | | 17 | 6 | 6,49 | 16 | 4,65 | 16 | 8,77 | 11 | 2,53 | 14 | 9,57 | 23 | 1,514 |
| DAT | PGM | F | 68 | 22 | | 17 | 6 | 11,63 | 13 | 5,21 | 18 | 9,56 | 12 | 2,69 | 18 | 20,62 | 18 | 1,821 |
| DAT | PWM | F | 58 | 18 | 4 | | 5 | 6,6 | 12 | 3,95 | 14 | 9,86 | 8 | 2,32 | 11 | 9,72 | 23 | 1,512 |
| DAT | PGM | F | 58 | 18 | 4 | | 5 | 8,02 | 11 | 4,42 | 12 | 10,49 | 8 | 1,81 | 17 | 16,69 | 19 | 0,916 |
| DAT | PGM | F | 71 | 27 | | 5 | 2 | 12,5 | 13 | 6,42 | 18 | 12,28 | 10 | 4,02 | 14 | 11,15 | 49 | 2,137 |
| DAT | PWM | M | 71 | 19 | 4,5 | 18 | 4 | 5,81 | 14 | 4,15 | 14 | 8,63 | 9 | 2,01 | 15 | 0,66 | 456 | 0,117 |
| DAT | PGM | F | 83 | 23 | | 16 | 2 | 12,46 | 12 | 6,47 | 14 | 14,08 | 9 | 3,11 | 15 | 15,35 | 29 | 1,264 |
| DAT | PGM | M | 70 | 21 | | 16 | 4 | 9,96 | 14 | 8,07 | 13 | 12,38 | 11 | 3,09 | 17 | 15,43 | 29 | 1,59 |
| DAT | PGM | M | 69 | 22 | | 7 | 2 | 9,03 | 13 | 7,73 | 11 | 10,64 | 10 | 2,44 | 16 | 16,92 | 23 | 1,924 |
| DAT | PGM | M | 77 | 11 | 5,5 | | 5 | 8,55 | 10 | 4,97 | 12 | 9,07 | 8 | 1,89 | 15 | 16,32 | 17 | 1,96 |
| DAT | PGM | M | 58 | 20 | 4 | 21 | 4 | 9,66 | 11 | 6 | 13 | 11,8 | 9 | 2,42 | 14 | 19,74 | 12 | 2,098 |
| DAT | PGM | F | 78 | 14 | 4,5 | | 2 | 7,47 | 9 | 4,61 | 9 | 7,29 | 8 | 1,6 | 11 | 14,97 | 10 | 2,058 |
| DAT | PGM | M | 83 | 23 | 3 | | 3 | 9 | 12 | 2,61 | 25 | 11,05 | 8 | 2,3 | 15 | 20,35 | 13 | 2,322 |
| DAT | PWM | M | 77 | 11 | 5,5 | | 5 | 8,11 | 11 | 2,74 | 22 | 11,25 | 7 | 2,36 | 12 | 7,69 | 43 | 0,974 |
| DAT | PWM | M | 58 | 20 | 4 | 21 | 4 | 8,22 | 15 | 5,02 | 17 | 10,11 | 10 | 3,19 | 14 | 9,7 | 31 | 1,212 |
| DAT | PWM | M | 83 | 23 | 3 | | 3 | 9,19 | 11 | 2,48 | 27 | 9,85 | 8 | 2,78 | 11 | 12,2 | 19 | 1,363 |
| DAT | PWM | F | 73 | 23 | | 9 | 2 | 7,76 | 15 | 4,02 | 19 | 10,67 | 9 | 2,83 | 14 | 12,49 | 25 | 1,653 |
| DAT | PWM | F | 77 | 23 | | 6 | 2 | 5,36 | 14 | 4,26 | 13 | 10,78 | 8 | 1,54 | 15 | 12,97 | 13 | 2,483 |
| DAT | PGM | F | 77 | 23 | | 6 | 2 | 11,84 | 8 | 5,65 | 10 | 12,31 | 6 | 2,56 | 11 | 12,97 | 21 | 1,124 |
| DAT | PGM | F | 79 | 25 | | 8 | 2,5 | 11,36 | 9 | 5,67 | 11 | 11,44 | 8 | 2,76 | 13 | 15,83 | 22 | 1,431 |
| DAT | PWM | F | 84 | 19 | 4 | | 2 | 6,9 | 11 | 4,12 | 12 | 8,78 | 7 | 1,89 | 13 | 5,24 | 44 | 0,779 |
| DAT | PWM | M | 60 | 21 | | 12 | 2 | 7,77 | 9 | 6,55 | 8 | 11,65 | 5 | 2,89 | 8 | 3,14 | 37 | 0,414 |
| DAT | PGM | M | 60 | 21 | | 12 | 2 | 10,31 | 13 | 4,69 | 15 | 12,74 | 9 | 2,77 | 16 | 14,79 | 25 | 1,473 |
| DAT | PWM | F | 65 | 22 | 4 | | | 9,24 | 14 | 6,08 | 16 | 10,92 | 9 | 3,67 | 12 | 2,5 | 113 | 0,277 |
| DAT | PGM | F | 65 | 22 | 4 | | | 12,27 | 11 | 10,56 | 9 | 11,32 | 8 | 2,21 | 17 | 4,48 | 84 | 0,375 |
| DAT | PGM | F | 65 | 14 | 4 | | 2 | 10,94 | 13 | 6,25 | 17 | 10,88 | 11 | 3,03 | 16 | 12,9 | 26 | 1,211 |
| DAT | PGM | F | 73 | 23 | | 9 | 2 | 10,56 | 12 | 7,98 | 12 | 13,25 | 9 | 2,57 | 17 | 1,55 | 181 | 0,151 |
| DAT | PWM | F | 79 | 25 | | 8 | 2,5 | 8,62 | 12 | 4,29 | 16 | 11,28 | 9 | 3,16 | 14 | 4,65 | 88 | 0,554 |

Lebenslauf:

Name: Anna du Mesnil de Rochemont, geb. Janošková
Geb. am: 29.03.1966 in Prag (Tschechische Republik)
Eltern: Čestmír Janošek
Eva Janošková, geb. Šedivá
Familienstand: verheiratet mit Dr. med. R. du Mesnil de Rochemont, 3 Kinder
Nationalität: deutsch

Schulischer Werdegang:

1972-76 Städt. Grundschule Köln-Heimersdorf
1976-85 Städt. Gymnasium Fühlinger Weg, Köln
5/1985 Allgemeine Hochschulreife
8/1985-4/1986 Au-pair-Aufenthalt in Frankreich, Sprachschule

Beruflicher Werdegang:

10/1986-4/1991 Studium der chinesischen und japanischen Sprache am Institut für orientalische Sprachen, Universität Bonn
4/1991-10/1997 Studium der Humanmedizin, Universität Köln
begleitend Aushilfstätigkeit im Pflegedienst im Evangelischen Krankenhaus Köln-Weyertal
9/1993 Ärztliche Vorprüfung
8/1994 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
9/1996 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
10/1996-10/1997 Praktisches Jahr, Wahlfach: Kinderheilkunde
10/1997 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
11/1997-1/2004 Erziehungspause
seit 2/2004 AiP in der salus klinik Friedrichsdorf
(Rehabilitationsklinik für Sucht und Psychosomatik)

Schriftliche Erklärung

Ich erkläre, dass ich die dem Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Dissertation mit dem Titel

"¹H-MR-spektroskopische Bestimmung der zerebralen Glutamat- und Glutaminkonzentration bei Patienten mit einer Demenz vom Alzheimer-Typ"

im Institut für Neuroradiologie der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main (Direktor: Prof. Dr. med. F. E. Zanella) unter Betreuung und Anleitung von PD Dr. med. H. Lanfermann mit Unterstützung durch Dr. rer. nat. U. Pilatus und Dr. med. S. Herminghaus ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- oder ausländischen Universität ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht.

Die vorliegende Arbeit wurde bisher nicht als Dissertation eingereicht.

Bad Homburg, den 15.04.2004

Anna du Mesnil de Rochemont