

Aus der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. P. Bartenstein

Neuroinflammation und ihr prädiktiver Einfluss auf die kognitive Leistung im Alzheimer-Mausmodell

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München



vorgelegt von
Carola Focke
aus Landshut

2022

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Matthias Brendel

Mitberichterstatter: Priv.-Doz. Dr. Sven Lammich
Priv.-Doz. Dr. Christof Haffner
Prof. Dr. Dieter Edbauer

Mitbetreuung durch
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. Leonie Beyer

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen
Promotionsprüfung: 27.10.2022

Für meinen geliebten Papa

Inhaltsverzeichnis

1. Publikationsliste.....	1
1.1. Eigenanteil an der Publikation „Time Courses of Cortical Metabolism and Microglial Activity Across the Life-Span of Wild-Type Mice: A PET Study“.....	1
1.2. Eigenanteil an der Publikation „Early and longitudinal microglial activation but not amyloid accumulation predicts cognitive outcome in PS2APP mice“	2
2. Abkürzungsverzeichnis	3
3. Einführung	4
3.1 Pathophysiologie der Alzheimer-Krankheit.....	4
3.2 <i>In vivo</i> PET Bildgebung bei Alzheimer-Krankheit	6
3.3 Mausmodelle der Alzheimer-Krankheit.....	7
3.4 Kognitive Verhaltenstests von Kleintieren.....	9
3.5 Zielsetzung.....	9
4. Inhalte der Promotionsarbeit	12
4.1 Altersabhängigkeit von Glukosestoffwechsel und Neuroinflammation	12
4.2 Mikrogliaaktivierung als prädiktiver Parameter für die kognitive Leistung	15
5. Zusammenfassung	23
6. Summary	26
7. Danksagung	28
8. Lebenslauf.....	29
9. Eidesstattliche Versicherung	31
10. Literaturverzeichnis	32

1. Publikationsliste

Die vorliegende kumulative Dissertation umfasst gemäß § 4a der Promotionsordnung folgende bereits publizierte Manuskripte:

Brendel M.*; **Focke C.***; Blume T.; Peters F.; Deussing M.; Probst F.; Jaworska A.; Overhoff F.; Albert N.; Lindner S.; von Ungern-Sternberg B.; Bartenstein P.; Haass C.; Kleinberger G.; Herms J.; Rominger A. **Time Courses of Cortical Glucose Metabolism and Microglial Activity Across the Life-Span of Wild-Type Mice: A PET Study**. Journal of Nuclear Medicine. 2017. 60(4):548-554.

Focke C*, Blume T*, Zott B*, Shi Y*, Deussing M, Peters F, Schmidt C, Kleinberger G, Lindner S, Gildehaus FJ, Beyer L, von Ungern-Sternberg B, Bartenstein P, Ozmen L, Baumann K, Dorostkar MM, Haass C, Adelsberger H, Herms J, Rominger A, Brendel M. **Early and longitudinal microglial activation but not amyloid accumulation predicts cognitive outcome in PS2APP mice**. Journal of Nuclear Medicine. 2018. 58(12):1984-1990.

* Geteilte Erstautorenschaft

1.1. Eigenanteil an der Publikation „Time Courses of Cortical Metabolism and Microglial Activity Across the Life-Span of Wild-Type Mice: A PET Study“

Konzeption des Studiendesigns gemeinsam mit dem Arbeitsgruppen-Leiter. Selbständige Durchführung aller Positronen-Emissions-Tomographie(PET)-Experimente sowie anschließende Analyse und statistische Auswertung der erhobenen PET-Daten. Abschließend selbständige Interpretation der ausgewerteten PET-Daten sowie Verfassung des ersten Manuskript-Entwurfs. Beteiligung an der Überwachung der Pflege und Gesundheit der Versuchstiere.

1.2. Eigenanteil an der Publikation „Early and longitudinal microglial activation but not amyloid accumulation predicts cognitive outcome in PS2APP mice“

Selbständige primäre Konzeption des Studiendesigns unter Supervision des Arbeitsgruppen-Leiters. Selbständige Durchführung aller PET-Experimente sowie anschließende Analyse und statistische Auswertung der erhobenen PET-Daten. Selbständige statistische Auswertung der erhobenen histochemischen und biochemischen Daten sowie der erhobenen Daten der Verhaltensversuche. Abschließend selbständige Interpretation aller ausgewerteten Daten sowie Verfassung des ersten Manuskript-Entwurfs.

2. Abkürzungsverzeichnis

AA	<i>Alzheimer's Association</i>
Abb.	Abbildung
A β	β -Amyloid
APP	<i>amyloid precursor protein</i> (A β -Vorläuferprotein)
AUC	<i>area under the curve</i> (Fläche unter der Kurve, mathematisch bestimmtes Integral)
BL	<i>baseline</i> (Ausgangszustand zu Studienbeginn)
DAM	<i>degeneration- or disease-associated microglia</i> (Degenerations- oder Krankheitsassoziierte Mikrogliazellen)
EOAD	<i>early-onset Alzheimer's disease</i> (früh einsetzende Alzheimer-Krankheit)
FBB	Florbetaben
FDA	U.S. <i>Food and Drug Administration</i> (US-amerikanische Behörde für Lebensmittelüberwachung und Arzneimittel)
FDG	Fluordesoxyglukose
IBA1	<i>ionized calcium-binding adaptor molecule 1</i>
LOAD	<i>late-onset Alzheimer's disease</i> (spät einsetzende Alzheimer-Krankheit)
MCI	<i>mild cognitive impairment</i> (leichte kognitive Beeinträchtigung)
NIA	<i>National Institute on Aging</i>
n. s.	nicht signifikant
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PiB	Pittsburgh Compound B
PS1	Presenilin-Gen 1
PS2	Presenilin-Gen 2
SUV	<i>Standardized Uptake Value</i> (standardisierter Aufnahmewert)
SUVR	<i>Standardized Uptake Value Ratio</i> (Verhältnis standardisierter Aufnahmewerte)
TSPO	18-kD-Translokatorprotein
TREM2	<i>triggering receptor expressed on myeloid cell type 2</i>
VOI	<i>volume of interest</i> (Zielvolumen)
WM	Water Maze
WT	Wildtyp
ZNS	Zentrales Nervensystem

3. Einführung

Bei der Alzheimer-Krankheit handelt es sich um die häufigste Demenzform überhaupt. Sie zählt zu den neurodegenerativen Erkrankungen (Lobo et al. 2000). Klinisch ist Alzheimer-Krankheit sowohl durch kognitive als auch durch verhaltensbezogene Symptome charakterisiert. Bei Fortschreiten der Erkrankung sind typischerweise mehrere kognitive Bereiche betroffen und es treten Gedächtnisstörungen, Orientierungslosigkeit, Sprachstörungen und Verhaltensveränderungen auf (Alzheimer's 2013). Durch die Progredienz der Symptome beeinträchtigt die Alzheimer-Krankheit das alltägliche Leben der Patienten, ihrer Familien sowie ihr berufliches und soziales Umfeld erheblich (McKhann et al. 2011; Dubois et al. 2014). Ein hohes Lebensalter gilt als Hauptrisikofaktor für das Auftreten der Alzheimer-Krankheit: Bei den über 60-Jährigen liegt die Prävalenz bei 0,7 % und steigt bei den über 90-Jährigen auf über 17% (Lobo et al. 2000). Im Zuge der weltweit steigenden Lebenserwartung sind Demenzerkrankungen eine der größten sozioökonomischen Herausforderungen für die öffentliche Gesundheitsversorgung und Altenpflege in unserer Gesellschaft geworden. 2015 waren weltweit fast 47 Millionen Menschen an Demenz erkrankt. Die Anzahl der Demenzkranken soll Schätzungen zufolge 2030 auf 75 Millionen und 2050 auf 131 Millionen weltweit ansteigen (Prince M 2015). Angesichts dieser zunehmenden globalen Belastung ist die weitere intensive Forschung in der Diagnostik und Therapie der Alzheimer-Krankheit von enormer Wichtigkeit.

3.1 Pathophysiologie der Alzheimer-Krankheit

Extrazelluläre β -Amyloid ($A\beta$) Ablagerungen (Hardy and Selkoe 2002), intrazelluläre hyperphosphorylierte Tau-Bündel (LaFerla 2010) sowie die Aktivierung von Mikrogliazellen (Monson et al. 2014) stellen entscheidende Merkmale in der Pathophysiologie der Alzheimer-Krankheit dar. Durch diese pathologischen Veränderungen kommt es zu einer fortschreitenden Neurodegeneration einhergehend mit synaptischer Dysfunktion, Verlust von Synapsen und Neuronen (Canter, Penney, and Tsai 2016). Diese Prozesse führen schließlich zu einer cerebralen Atrophie (Mavroudis 2019). Eine definitive Diagnosestellung war lange nur *post mortem* möglich, jedoch befinden sich die Diagnosekriterien durch die Entwicklung neuer Biomarker im Umbruch (Carrillo et al. 2013). So überarbeitete ein Forschungskomitee aus dem *National Institute on Aging* (NIA) und der *Alzheimer's Association* (AA) die Diagnosekriterien der Alzheimer-Krankheit. Nach der NIA-AA-Definition kann die Diagnose Alzheimer-Krankheit nun

bereits bei asymptomatischen Patienten gestellt werden, wenn ein positiver Amyloid-PET-Scan oder niedrige A β ₄₂-Werte im Liquor in Kombination mit einem pathologischen Tau-Nachweis in der PET oder erhöhten pTau-Liquorwerten auftreten (Jack et al. 2018).

Die Hauptkomponente der Amyloid-Plaques, das A β -Peptid, ist ein heterogenes Spaltprodukt des A β -Vorläuferproteins (APP, engl. *amyloid precursor protein*), das durch die β - und γ -Sekretasen erzeugt wird. Von den verschiedenen A β -Varianten gilt die A β ₄₂-Form als ein Hauptfaktor für die Entstehung und den Progress der Alzheimer-Erkrankung (Haass and Selkoe 2007).

Bei Tau handelt es sich um ein Mikrotubuli assoziiertes Protein, das zur Stabilisierung der Mikrotubuli beiträgt (Buee et al. 2000). Die Hyperphosphorylierung führt letztendlich zur Aggregation neurofibrillärer Tau-Bündel und zur neuronalen Degeneration und ist stark mit der Alzheimer-Krankheit assoziiert (Graham, Bonito-Oliva, and Sakmar 2017).

Reaktive Mikrogliazellen, die die Amyloid-Plaques umgeben, gelten ebenfalls als Kennzeichen der Alzheimer-Erkrankung (Itagaki et al. 1989). Mikrogliazellen sind multifunktionale Gliazellen und fungieren als Makrophagen des zentralen Nervensystems (ZNS). Sie machen etwa 10-15% aller Gliazellen aus und sind die häufigsten angeborenen Immunzellen des ZNS (Ginhoux et al. 2010). Sie haben dabei eine wichtige Homöostase- und Abwehrfunktion (Wolf, Boddeke, and Kettenmann 2017). In vielen neurodegenerativen Vorgängen verändern Mikrogliazellen ihr Transkriptionsprofil, ihre Morphologie und ihre Funktion auf ähnliche Weise. Daher werden diese aktivierten Zellen als Degenerations- oder krankheitsassoziierte Mikrogliazellen (DAM, engl. *degeneration- or disease-associated microglia*) bezeichnet. Diese DAM können in verschiedenen Mausmodellen sowohl positive als auch negative Effekte auf das Fortschreiten neurodegenerativer Prozesse haben (Song and Colonna 2018). Aktuelle Studien zufolge dient dabei der Oberflächenrezeptor TREM2 (engl. *triggering receptor expressed on myeloid cell type 2*) als Schlüsselregulator, der es Mikrogliazellen ermöglicht von einem Ruhezustand in einen aktivierten, krankheitsassoziierten Zustand zu wechseln (Krasemann et al. 2017; Keren-Shaul et al. 2017). Bei der Alzheimer-Krankheit besteht die Funktion der Mikrogliazellen unter anderem darin, lösliches und fibrilläres A β zu erkennen, zu phagozytieren, Amyloid-Plaques zu verdichten und damit die A β -Neurotoxizität zu verringern (Butovsky and Weiner 2018; Sarlus and Heneka 2017). Mit fortschreitendem Krankheitsverlauf verlieren Mikrogliazellen zunächst ihre

Fähigkeit, A β zu phagozytieren und entwickeln sich von nützlichen zu funktionsgestörten und schließlich schädlichen Zellen (Hickman et al. 2018). Die anhaltende Produktion von A β und die chronische Wechselwirkung mit Mikrogliazellen führen zu weiteren Amyloidablagerungen (Venegas et al. 2017). Eine anhaltende Aktivierung der Mikrogliazellen und chronische Entzündungsprozesse führen zur Neurotoxizität, die schließlich zur Neurodegeneration beitragen kann (Heneka, Kummer, and Latz 2014; Hong et al. 2016).

3.2 *In vivo* PET Bildgebung bei Alzheimer-Krankheit

Es gibt mehrere nuklearmedizinische Radiotracer, also radioaktiv markierte Substanzen, die in der *in vivo* Diagnostik der Alzheimer-Krankheit und der Forschung eine wichtige Rolle spielen. Eine etablierte Methode in der Bildgebung zur Differentialdiagnostik neurodegenerativer Erkrankungen ist die ^{18}F -Fluordesoxyglukose(FDG)-PET, die zur Beurteilung neuronaler Dysfunktion dient. Die ^{18}F -FDG-PET spiegelt den cerebralen Glukosestoffwechsel und damit die synaptische Aktivität wider (Sokoloff 1981). So spricht ein Hypometabolismus in den parieto-temporalen Gehirnarealen für das Vorliegen einer Alzheimer-Krankheit (Kato et al. 2016; Mosconi et al. 2008).

Außerdem wird diagnostisch die Amyloid-PET-Bildgebung genutzt. Da der erste A β Tracer ^{11}C -Pittsburgh Compound B (PiB) aufgrund seiner kurzen Halbwertszeit von 20 Minuten nur in Zentren mit angeschlossenem Zyklotron genutzt werden konnte, etablierten sich Fluor-markierte Substanzen mit größerer Verfügbarkeit und einer Halbwertszeit von knapp 110 Minuten. Mittlerweile sind drei Wirkstoffe für die Amyloid-PET zugelassen (Barthel and Sabri 2017). ^{18}F -Florbetapir, ^{18}F -Flutemetamol und ^{18}F -Florbetaben (FBB) binden fibrilläres A β und korrelieren eng mit der Belastung durch A β in *post mortem* Untersuchungen (Clark et al. 2011; Ikonomic et al. 2016; Sabri et al. 2015).

In der Tau-PET-Bildgebung zeigen sowohl Patienten mit leichter kognitiver Beeinträchtigung (MCI, engl. *mild cognitive impairment*) als auch mit Alzheimer-Krankheit eine erhöhte Tracerbindung im Vergleich zu kognitiv normalen älteren Erwachsenen (Chien et al. 2013; Brier et al. 2016; Ossenkoppele et al. 2016; Johnson et al. 2016). Der Tau-Tracer ^{18}F -T807 (auch Flortaucipir oder ^{18}F -AV-1451 genannt) wurde bislang am genauesten charakterisiert (Marquez and Yassa 2019) und ist seit Kurzem von der US-amerikanischen Behörde für Lebensmittelüberwachung und Arzneimittel (FDA, engl. *U.S. Food and Drug Administration*) offiziell zugelassen (Mattay et al. 2020). Besonders in Kombination mit Liquoruntersuchungen und der Amyloid-PET ist die Tau-PET-

Bildgebung fester Bestandteil der aktuellen diagnostischen NIA-AA Kriterien (Jack et al. 2018).

Wie oben bereits erwähnt, spielen außerdem aktivierte Mikrogliazellen eine wichtige Rolle in der Pathophysiologie der Alzheimer-Krankheit. Das ubiquitär vorkommende 18-kD-Translokatorprotein (TSPO) ist ein Membranprotein an der äußeren Mitochondrienmembran, das im gesunden Gehirn nur in geringen Mengen exprimiert wird (Papadopoulos et al. 2006). Nach Schädigung des Gehirns oder bei neuroinflammatorischen Prozessen wird seine Expression in aktivierten und proliferierenden Mikrogliazellen jedoch hochreguliert (Chen and Guilarte 2008; Banati et al. 2000; Rupprecht et al. 2010). Die unterschiedliche Expression von TSPO in aktivierten Mikrogliazellen ermöglicht es, mittels PET longitudinale neuroinflammatorische Veränderungen zu beobachten und zu quantifizieren (Edison, Donat, and Sastre 2018). So wurden mehrere PET-Tracer für TSPO als Marker für die Aktivierung von Mikrogliazellen und Neuroinflammation bei der Alzheimer-Krankheit entwickelt und untersucht. ^{18}F -GE180, ein Radiotracer der dritten und neuesten Generation (Wickstrom et al. 2014), bewährte sich bei der Darstellung von aktivierten Mikrogliazellen gegenüber seinen Vorgängern (Dickens et al. 2014) und wurde bereits bei Alzheimer-Mausmodellen eingesetzt. Dabei konnte eine altersabhängig erhöhte Neuroinflammation in Alzheimer-Mausmodellen gezeigt werden (Liu et al. 2015; Brendel et al. 2016). Eine andere duale PET-Studie sah in der TSPO-PET einen aussagekräftigen Marker der Früherkennung der Alzheimer-Pathogenese (Lopez-Picon et al. 2018).

3.3 Mausmodelle der Alzheimer-Krankheit

Mausmodelle sind eines der wichtigsten Forschungsinstrumente, um die Pathophysiologie der Alzheimer-Krankheit besser zu verstehen und neue Therapieansätze zu untersuchen (Mangialasche et al. 2010). Die meisten neurodegenerativen Erkrankungen haben eine ausgeprägte genetisch determinierte Komponente. In der präklinischen Alzheimer-Forschung werden bekannte humane Genmutationen oder einzelne Gene, die mit der Alzheimer-Krankheit assoziiert sind, in Maus- oder Rattenstämme eingebracht, um transgene Tiermodelle zu erzeugen.

Bei der früh einsetzenden Alzheimer-Krankheit (EOAD, engl. *early-onset Alzheimer's disease*) handelt es sich typischerweise um seltene familiäre autosomal-dominante Mutationen im APP-Gen oder in den Presenilin-Genen 1 und 2 (PS1 und PS2) (Goate et al. 1991). Dadurch kommt es bereits im mittleren Lebensalter zur Amyloidplaquebildung und zum Auftreten von Demenzsymptomen (Selkoe and Hardy 2016). Alle drei

Gene sind an der Bildung des A β -Peptids, dem Hauptbestandteil der Amyloidplaques, beteiligt. Das APP wird dabei durch einen PS1-/ PS2-Komplex gespalten. Die transgene Überexpression dieser Mutationen in Alzheimer-Mausmodellen verstärkt die A β -Produktion und treibt die Bildung von Amyloidplaques an, was im Laufe der Monate zu einer neuronalen Schädigung führt und die Amyloidlast in frühen Stadien der Alzheimer-Krankheit am besten simuliert (Jankowsky and Zheng 2017).

EOAD macht jedoch mit weniger als fünf Prozent nur einen kleinen Teil aller Alzheimer-Fälle aus. Die häufigere sporadische, spät einsetzende Alzheimer-Krankheit (LOAD, engl. *late-onset Alzheimer's disease*) weist eine ähnliche Pathologie auf, manifestiert sich jedoch Jahrzehnte später (Villemagne et al. 2013). Im Gegensatz zu EOAD, für die eine übermäßige Produktion von A β der Schlüssel zu sein scheint, wird angenommen, dass LOAD auf eine beeinträchtigte A β -Clearance, zurückzuführen ist (Selkoe and Hardy 2016). Die Amyloidakkumulation erfolgt typischerweise ein bis zwei Jahrzehnte vor einer offensichtlichen kognitiven Beeinträchtigung (Weiner et al. 2017). Dementsprechend gibt es Personen mit hoher Amyloidlast, die keine Demenzsymptome aufweisen, da die Plaquebelastung nur geringfügig mit kognitiven Defiziten korreliert (Nelson et al. 2012).

Bisher wurden über 40 risikomodifizierende Allele, die die Entstehung von LOAD begünstigen, identifiziert. Die Allele mit der stärksten bekannten Auswirkung sind bestimmte Varianten des Apolipoproteins E (APOE), bekannt als APOE- ϵ 4 (Holtzman, Herz, and Bu 2012), und seltene Mutationen mit Funktionsverlust in TREM2 (Yeh, Hansen, and Sheng 2017). Bei TREM2 handelt es sich um einen Transmembranoberflächenrezeptor, der hochselektiv durch Mikrogliazellen im menschlichen und Maus-ZNS exprimiert wird. Die Entdeckung, dass Neurodegeneration mit Mutationen in dem im Wesentlichen mikroglia-spezifischen Gen im Gehirn TREM2 einhergeht, hat die Rolle der Mikrogliazellen in der Pathogenese neurodegenerativer Erkrankungen wie der Alzheimer-Krankheit hervorgehoben (Guerreiro et al. 2013; Jonsson et al. 2013). In der vorliegenden Promotionsarbeit wurde das PS2APP Mausmodell verwendet. Dabei handelt es sich um ein Mausmodell mit C57BL/6 als genetischen Hintergrund und einer kombinierten Mutation im APP- und im PS2-Gen (Richards et al. 2003). Bei diesem Modell kommt es bereits im Alter von 5-6 Monaten zu einer altersabhängigen Amyloidplaquebildung im Cortex und Hippocampus (Ozmen et al. 2009). Außerdem wurde eine kognitive Beeinträchtigung ab dem Alter von 8 Monaten sowie reaktive Mikrogliazellen ab einem Alter von 9 Monaten beobachtet (Richards et al. 2003).

Außerdem wurden mittlerweile knock-in Mausmodelle wie APP^{NL-G-F/NL-G-F} entwickelt, bei denen durch Einschleusen einzelner Gene eine erhöhte Produktion vom schädlichen Aβ42 ohne unphysiologische Überexpression von APP erreicht wird (Saito et al. 2014).

3.4 Kognitive Verhaltenstests von Kleintieren

Das Morris Wasserlabyrinth (WM, engl. *Water Maze*) ist ein weit verbreitetes und etabliertes Testverfahren für das räumliche Lernen und Gedächtnis von Nagetieren (Morris et al. 1982). Läsionen in bestimmten, mit dem räumlichen Lernen assoziierten Hirnregionen wie Hippocampus, Striatum und basalem Vorderhirn beeinträchtigen die Leistung im WM. Eine große Anzahl von Alzheimer-Mausmodellen wurde bereits im WM untersucht und die meisten weisen Alzheimer-bezogene kognitive Defizite auf (Webster, Bachstetter, and Van Eldik 2013). Im Rahmen unserer Studie wurden die Tiere einer bereits zuvor beschriebenen modifizierten WM-Aufgabe unterzogen (Busche et al. 2015; Keskin et al. 2017). Die Mäuse mussten zwischen zwei sichtbaren Plattformen in einem offenen Pool unterscheiden, von denen eine schwebte, wenn die Maus darauf kletterte (richtige Wahl) und die andere unterging (falsche Wahl). Die Position der richtigen Plattform im Pool blieb unverändert, während die Position der sinkenden Plattform und der Startpunkt der Maus variiert wurden. Die Tiere mussten an fünf aufeinanderfolgenden Tagen täglich fünfmal die Aufgabe im Abstand von 2 bis 4 Minuten absolvieren. Nach 30 Sekunden oder beim Erreichen der falschen Plattform wurde das Versuchstier vom Experimentator auf die richtige Plattform gesetzt. Die Gedächtnisleistung wurde bewertet, indem an jedem Versuchstag die Fluchtlatenz (Summe der durchschnittlichen Zeit aller Versuche vom Startpunkt bis zum Erreichen einer Plattform) sowie am letzten Versuchstag die zurückgelegte Strecke gemessen wurden. Um robuste Werte für einzelne transgene Tiere zu generieren, wurden Z-Scores der Zielgrößen im Vergleich zu mittleren Wildtyp(WT)-Maus-Werten berechnet.

3.5 Zielsetzung

Im gesunden menschlichen Gehirn zeigten grundlegende Studien einen altersabhängigen Glukosehypometabolismus. Im Gegensatz dazu wurde in früheren präklinischen Studien ein Glukosehypermetabolismus bei gealterten WT-Mäusen im Vergleich zu jüngeren Tieren beobachtet (de Cristobal et al. 2014; Poisnel et al. 2012). Dabei wurde die Aktivierung von Mikrogliazellen als mögliche Ursache für den altersbedingten ¹⁸F-FDG-Hypermetabolismus bei Mäusen gesehen (Backes et al. 2016). Bereits in einer

früher durchgeführten dualen Kleintier-PET-Studie mit ^{18}F -FDG und dem TSPO-Tracer ^{18}F -GE180 fand unsere Arbeitsgruppe Hinweise auf eine Assoziation zwischen altersabhängig erhöhter TSPO-Expression und vermehrter ^{18}F -FDG Aufnahme im transgenen PS2APP Alzheimer-Mausmodell sowie bei WT-Mäusen (Brendel et al. 2016).

Um einen möglichen Zusammenhang zwischen Glukosemetabolismus und Mikrogliaaktivierung in WT-Mäusen besser charakterisieren zu können, führten wir eine breite Querschnittsstudie durch. Es wurden Kleintier-PET-Aufnahmen von C57BL/6 WT-Mäusen in verschiedenen Altersstufen mit ^{18}F -FDG ($n=43$) und ^{18}F -GE180 ($n=58$) angefertigt. Dabei spiegelt die ^{18}F -FDG-PET den cerebralen Glukosestoffwechsel wider und ^{18}F -GE180 zeigt als TSPO-Marker die Aktivierung von Mikrogliazellen und Neuroinflammation an. Ziel unserer Studie war es, Veränderungen der Aufnahme beider Tracer in bestimmten Hirnregionen während des physiologischen Alterns zu untersuchen. Außerdem sollte untersucht werden, ob sich der regionale Glukosehypermetabolismus durch eine altersabhängige Neuroinflammation erklären lässt. Im Anschluss an die PET-Untersuchungen erstellten wir biochemische und immunhistochemischen *ex vivo* Analysen zur Kreuzvalidierung der in der Kleintier-PET gezeigten Mikrogliaaktivierung.

Diese Studie in WT-Mäusen sollte die Grundlage für weitere PET-Studien bezüglich der Neuroinflammation in transgenen Mausmodellen, beispielsweise in Mausmodellen zu neurodegenerativen Erkrankungen wie der Alzheimer-Krankheit, bilden.

Bisherige Studien konnten zeigen, dass in verschiedenen transgenen Alzheimer-Mausmodellen neuroinflammatorische Prozesse zusammen mit der klassischen A β -Pathologie auftreten (Hall and Roberson 2012; Teipel et al. 2011). Die Neuroinflammation wird in aktuellen Krankheitsmodellen als zweiseitiges Schwert betrachtet, da sowohl schützende als auch schädliche Auswirkungen auf die Funktion des Gehirns und die kognitive Leistung bekannt sind (Dansokho and Heneka 2018; Trotta et al. 2018). Die PET-Untersuchung von Alzheimer-Patienten ergab nur eine geringe Korrelation zwischen cerebraler Amyloidlast und kognitiver Leistung (Jagust et al. 2009). Außerdem konnte bei Patienten mit MCI gezeigt werden, dass die Neuroinflammation der A β -Aggregation vorausgeht (Knezevic et al. 2018). Die Auswirkung der Neuroinflammation auf die kognitive Leistung ist allerdings noch nicht ausreichend erforscht und insbesondere kausale und zeitliche Zusammenhänge sind weiter unklar.

Um die zeitliche Abfolge der Amyloidablagerungen und der Mikrogliaaktivierung in Bezug auf das Fortschreiten der kognitiven Beeinträchtigung untersuchen zu können, führten wir eine longitudinale duale PET-Studie im transgenen AD-Mausmodell

PS2APP durch. Mittels serieller Messungen von TSPO- und A β -PET sollten Neuroinflammation und Amyloidlast mit der terminalen kognitiven Leistung im PS2APP-Amyloid-Mausmodell korreliert werden. Außerdem bestimmten wir, ob eine Mikrogliaaktivierung zu Studienbeginn sowie eine anhaltend erhöhte Aktivität von Mikrogliazellen die terminale kognitive Leistung beeinflusst.

4. Inhalte der Promotionsarbeit

4.1 Altersabhängigkeit von Glukosestoffwechsel und Neuroinflammation

Im gesunden menschlichen Gehirn kommt es durch das physiologische Altern zu einem Glukosehypometabolismus (de Cristobal et al. 2014; Poisnel et al. 2012). Im Gegensatz dazu steht der oft beschriebene, aber kontrovers diskutierte Glukosehypermetabolismus bei gealterten WT-Mäusen im Vergleich zu jüngeren Tieren. Für diesen gilt die Aktivierung von Mikrogliazellen als mögliche Ursache. Um den Zusammenhang zwischen Glukosemetabolismus und aktivierten Mikrogliazellen während des physiologischen Alterns näher zu charakterisieren, führten wir im Rahmen meiner Promotionsarbeit in einer Querschnittsstudie PET-Analysen mit ^{18}F -GE180 ($n = 58$) und ^{18}F -FDG ($n = 43$) bei C57BL/6 WT-Mäusen in unterschiedlichen Altersstufen zwischen 5 und 20 Monaten durch.

Es wurden für beide Tracer etablierte statische Bilddatensätze (30-60 Minuten nach Injektion für ^{18}F -FDG bzw. 60-90 Minuten nach Injektion für ^{18}F -GE180) akquiriert und nach individueller Bewegungskorrektur benutzerunabhängig auf eine standardisierte anatomische Magnetresonanztomographie-Vorlage eines Mäusegehirns (Dorr, Sled, and Kabani 2007) fusioniert. Für beide Tracer wurde ein bilaterales frontales kortikales Zielvolumen (VOI, engl. *volume of interest*) festgelegt. Für eine standardisierte Auswertung wurden zuvor validierte VOIs als Referenzregion in die Analyse einbezogen. Für ^{18}F -FDG umfasst diese Referenzregion das gesamte Kleinhirn, für ^{18}F -GE180 wurde ein etabliertes ovales VOI verwendet, welches die weiße Substanz des Kleinhirns und des Hirnstamms enthält. Es wurden standardisierte Aufnahmewerte (SUV, engl. *standardized uptake value*) der Ziel- und Referenzregionen bestimmt und zueinander ins Verhältnis gesetzt. Dadurch ergaben sich SUV-Verhältnisse (SUVR, engl. *standardized uptake value ratio*) als Zielgröße entsprechend folgender Formel:

$$SUVR = \frac{SUV_{\text{Zielregion}}}{SUV_{\text{Referenzregion}}}$$

Bereits zwischen 5 bis 6 Monate alten und 8 Monate alten C57BL/6-Mäusen konnte für beide Tracer ein signifikanter Anstieg der Traceraufnahme in der kortikalen Zielregion beobachtet werden (Abb. 1A und 1B). Die 14,5 Monate alten C57BL/6-Mäuse zeigten ebenfalls kortikal sowohl einen erhöhten Glukosestoffwechsel als auch eine vermehrte TSPO-Bindung im Vergleich zu den 5 bis 6 Monate alten Tieren. Mit zuneh-

mendem Alter zeigte sich bei den Mäusen über 14,5 Monate graphisch ein leicht abfallendes Plateau für die ^{18}F -GE180-Aufnahme. Im Gegensatz dazu fiel die ^{18}F -FDG-Aufnahme nach einem Maximum bei den 14,5 Monate alten Tieren wieder bis auf das Niveau der 5-6 Monate alten Gruppe ab.

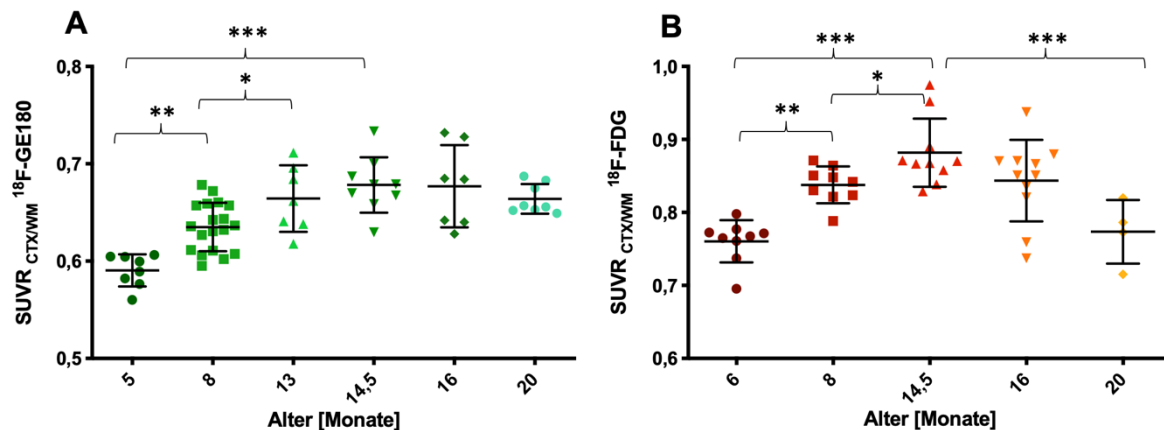


Abbildung 1: Die Diagramme zeigen cortikale SUVR ($\pm$ SD) von ^{18}F -GE180 (A) und ^{18}F -FDG (B) in C57BL/6-Mäusen in verschiedenen Altersstufen. Signifikante Unterschiede zwischen den Untergruppen sind gekennzeichnet durch * P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,001; ANOVA mit Tukey-Post-Hoc-Korrektur.

In einer kleineren Kohorte von jeweils 8 C57BL/6-Mäusen (8 und 14,5 Monate alt) konnten die PET-Messungen mit beiden Tracern innerhalb einer Woche durchgeführt werden. Bei diesen Mäusen korrelierten die cortikalen SUVR-Ergebnisse für ^{18}F -FDG und ^{18}F -GE180 miteinander (Abb. 2). Um herauszufinden, ob der cortikale Glukosestoffwechsel unabhängig vom Alter mit der TSPO-Bindung zusammenhängt, führten wir eine multiple Regressionsanalyse mit dem ^{18}F -FDG SUVR als Ergebnisvariable durch. Der ^{18}F -GE180 SUVR Wert diente dabei als Prädiktor zusammen mit dem Alter als Kovariable. In dieser Analyse zeigte sich nach Anpassung an das Alter eine signifikante Korrelation zwischen ^{18}F -FDG-SUVR und ^{18}F -GE180 SUVR im Cortex ($\beta = 0,61$; P < 0,05). Die Aufnahme im Striatum der beiden Tracer korrelierte jedoch nicht ($\beta = 0,06$, n.s. (nicht signifikant)).

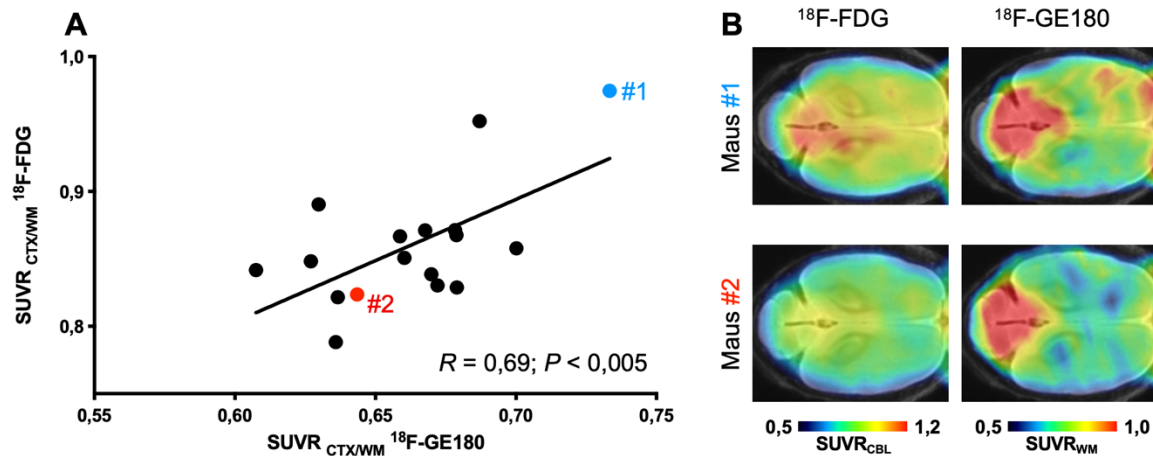


Abbildung 2: (A) Korrelationsanalyse zwischen kortikaler TSPO-Bindung und Glukosestoffwechsel in einer kleinen Kohorte von C57BL/6-Mäusen ($n = 16$), in denen beide PET-Messungen innerhalb einer Woche durchgeführt wurden. Bilder von zwei repräsentativen Mäusen im Alter von 14,5 Monaten (rote und blaue Punkte im Diagramm) sind als horizontale Schnitte durch den Neocortex dargestellt, der mit einer T1-MRI-Vorlage koregistriert ist. (B) Maus 1 zeigt einen hohen kortikalen Glukosestoffwechsel und eine hohe TSPO-Bindung, wohingegen Maus 2 einen vergleichsweise niedrigen kortikalen Glukosestoffwechsel und eine niedrige TSPO-Bindung aufweist.

Außerdem wurden zur Detektion relevanter regionaler Unterschiede voxelbasierte Analysen mittels SPM5 (*statistical parametric mapping; Wellcome Department of Cognitive Neurology*), wie von Sawiak et al. beschrieben (Sawiak et al. 2009), durchgeführt. Diese Analysen weisen auf einen eindeutigen räumlichen Zusammenhang zwischen altersabhängigen neuroinflammatorischen Veränderungen und dem Glukosestoffwechsel hin, der *in vivo* mittels Kleintier-PET gemessen wurde. C57BL/6-Mäuse zeigten kortikal einen ausgeprägten Anstieg der TSPO-Bindung (Abb. 3A) und des Glukosestoffwechsels (Abb. 3B) zwischen 5 bis 6 und 14,5 Monaten. Insbesondere überlappten sich die Regionen, in denen beide Tracer anstiegen, in einem 36 mm³ großen Bereich des gesamten Neocortex (primäre und sekundäre motorische Bereiche, primäre somatosensorische Bereiche, anteriorer cingulärer Cortex, Abb. 3C). Der Glukosestoffwechsel nahm außerdem in einem Bereich von 37 mm³ zu, der hauptsächlich laterale kortikale sowie subkortikale Bereiche (Thalamus, Striatum) umfasste. Ein größeres Volumen zeigte einen spezifischen Anstieg des ¹⁸F-GE180-Signals ohne erhöhte ¹⁸F-FDG-Aufnahme (68 mm³; vorwiegend subkortikale Bereiche: Mittelhirn, Thalamus, Striatum). Der berechnete Sørensen-Dice-Koeffizient von 54,5 % bestätigte eine hohe Übereinstimmung zwischen den regionalen Verteilungsmustern der altersabhängigen Zunahme von ¹⁸F-GE180 und ¹⁸F-FDG.

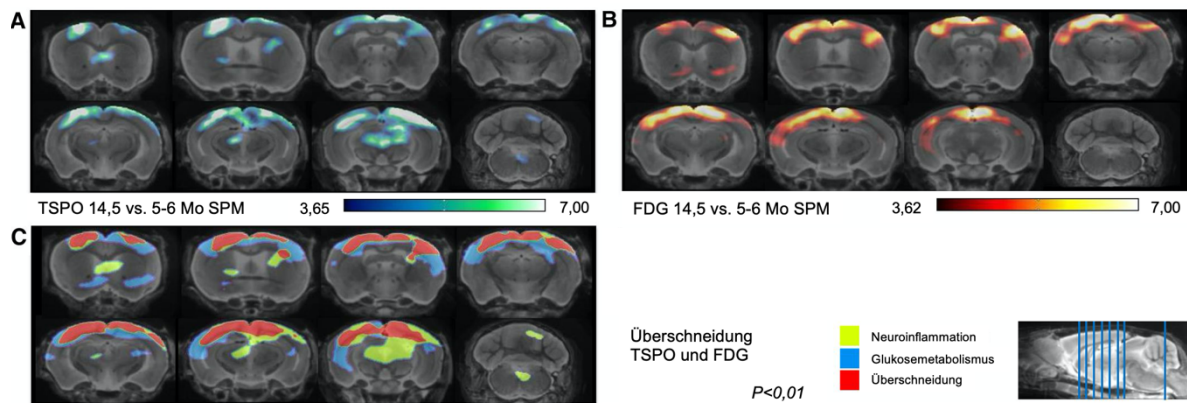


Abbildung 3: Voxelbasierte Analyse des regionalen Anstiegs der Radiotracer-Aufnahme im Vergleich von alten zu jungen C57BL/6-Mäusen hinsichtlich der TSPO-Bindung (A) und des Glukosestoffwechsels (B), durch SPM bewertet. (C) Binärisierte spezifische Zunahme der ^{18}F -GE180-Aufnahme als Korrelat für eine Mikrogliaaktivierung und Neuroinflammation (grün); binärisierter spezifischer Anstieg der ^{18}F -FDG-Aufnahme als Korrelat für einen Hypermetabolismus (blau); und Bereiche mit Zunahme für beide Tracer (rot). Alle Analysen sind auf koronare Schnitte des MRT-Mausatlas projiziert, wie im Sagittalschnitt dargestellt. Alle $P < 0,01$, FDR-korrigiert.

Insgesamt ergaben die PET-Analysen regionale und altersabhängige Korrelationen in der Zunahme beider Tracer. Die immunhistochemischen und biochemischen Analysen der WT-Gehirne sicherten ebenfalls eine zunehmende altersabhängige Neuroinflammation. Dies untermauert die These, dass der zuvor beschriebene kortikale Hypermetabolismus bei gealterten WT-Mäusen mit einer zunehmenden Neuroinflammation einhergeht. Die Mikrogliaaktivierung liefert somit einen entscheidenden Beitrag zur Nettoenergiebilanz des Gehirns bei gealterten WT-Mäusen.

Die hier beschriebenen Ergebnisse unserer Studie wurden im Rahmen meiner geteilten Erstautorenschaft *"Time Courses of Cortical Glucose Metabolism and Microglial Activity Across the Life-Span of Wild-Type Mice: A PET Study"* im Dezember 2017 im Journal of Nuclear Medicine veröffentlicht und bei der 54. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Nuklearmedizin in Dresden vorgestellt.

4.2 Mikrogliaaktivierung als prädiktiver Parameter für die kognitive Leistung

Neuroinflammation tritt sowohl im Rahmen vom physiologischen Alterungsprozess als auch bei neurodegenerativen Erkrankungen wie der Alzheimer-Krankheit auf und nimmt dabei eine wichtige pathophysiologische Rolle ein. Aktuellen Erkenntnissen zufolge sind sowohl schützende als auch schädliche Auswirkungen der Mikrogliaaktivierung auf die Funktion des Gehirns und die kognitive Leistung bekannt (Dansokho and Heneka 2018; Trotta et al. 2018). Mikrogliazellen erfüllen wichtige Aufgaben in der Homöostase- und Abwehrfunktion des ZNS. Unter anderem besteht ihre Aufgabe im

Erkennen von löslichem und fibrillärem A β , dessen Phagozytose sowie der Verdichtung von Amyloid-Plaques, um damit die A β -Neurotoxizität zu verringern (Butovsky and Weiner 2018; Sarlus and Heneka 2017). Die chronische Aktivierung von Mikrogliazellen kann jedoch auch nachteilige Folgen mit sich bringen und zur Neurodegeneration beitragen (Heneka, Kummer, and Latz 2014; Hong et al. 2016). Die genauen Zusammenhänge zwischen Mikrogliaaktivierung, Amyloidablagerungen und ihre Auswirkungen auf die kognitive Leistung sind weiterhin unklar.

In meiner zweiten geteilten Erstautorenschaft „*Early and longitudinal microglial activation but not amyloid accumulation predicts cognitive outcome in PS2APP mice*“, die im April 2019 im Journal of Nuclear Medicine veröffentlicht wurde, war unser Ziel longitudinale TSPO- und A β -PET-Untersuchungen bei transgenen PS2APP-Mäusen mit den Ergebnissen einer terminalen Verhaltenstestung zu vergleichen, um die Frage nach den Auswirkungen der Neuroinflammation im Vergleich zur Amyloidlast auf die kognitive Leistung zu untersuchen (Abb. 4).

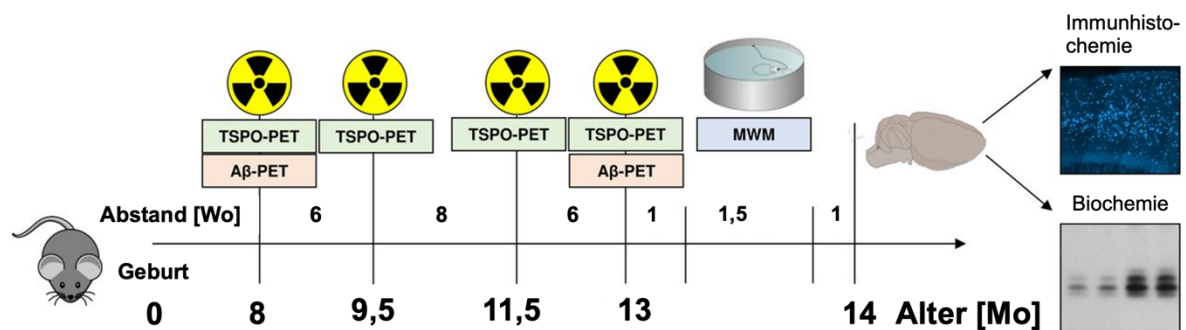


Abbildung 4: Schematische Darstellung des Studiendesigns. Wir führten longitudinale PET-Scans mit zwei Tracern für TSPO und A β (^{18}F -GE180 und ^{18}F -FBB) bei Mäusen zwischen 8 und 13 Monaten durch. Nach dem letzten Scan führten wir Water Maze Verhaltenstests durch. Anschließend erfolgte die intrakardiale Perfusion mit 4% Paraformaldehyd und die Gehirnextraktion für histologische, immunhistologische und biochemische Analysen.

Für die PET-Scans wurde ein standardisiertes und bereits etabliertes Protokoll angewendet (Brendel et al. 2016; Overhoff et al. 2016). Um die cerebrale TSPO-Expression als Korrelat der Mikrogliaaktivierung zu messen, wurden statische Bilddatensätze mit dem Tracer ^{18}F -GE180 (60-90 Minuten nach Injektion) akquiriert. Zur Beurteilung der cerebralen β -Amyloidablagerungen wurden statische Bilddatensätze mit dem Tracer ^{18}F -FBB (30-60 Minuten nach Injektion) akquiriert. Die Normalisierung der Bilder zu SUV- oder SUVR-Bildern wurde mit der zuvor validierten Myokardkorrekturmethode für die TSPO-PET (Deussing et al. 2018) und mit einer Referenzregion in der weißen Substanz des Gehirns für die A β -PET (Overhoff et al. 2016) durchgeführt. Zur besse-

ren Vergleichbarkeit der Bilddaten wurden Z-Score-Abweichungen im Vergleich zu altersentsprechenden WT-Mäusen berechnet und ausgewertet. Nach Abschluss der PET-Experimente wurden die Mäuse einem WM-Verhaltenstest zur Beurteilung ihrer Gedächtnisleistung unterzogen. Zur besseren Vergleichbarkeit wurden Z-Score-Abweichungen der Fluchtzeit und der zurückgelegten Distanz der transgenen Einzeltiere im Vergleich zu mittleren WT-Werten berechnet.

Bei den ^{18}F -GE180-PET-Untersuchungen der PS2APP-Mäuse zeigte sich eine umgekehrte Parabelform für die Traceraufnahme im Alter von 8 bis 13 Monaten mit einem Maximum bei 11,5 Monaten als Korrelat der Mikrogliaaktivierung. Im ^{18}F -FBB-PET zeigte sich wie erwartet ein starker Anstieg der cerebralen β -Amyloidablagerungen im Alter von 8 bis 13 Monaten (Abb. 5A und 5B). Am stärksten ausgeprägt war dieser Anstieg im frontalen und parietalen Cortex, im Hippocampus und im Thalamus. Die Mikrogliaaktivierung war am stärksten im Cortex und im Hippocampus ausgeprägt. Sie war aber auch in subcortikalen Regionen ohne A β , wie dem Striatum, den entorhinalen und piriformen Cortices, zu finden. WM-Verhaltenstests zeigten, dass PS2APP-Mäuse im Vergleich zu WT-Mäusen eine kognitive Beeinträchtigung aufwiesen, was sich in einer erhöhten Fluchtzeit ($F_{(1,15)} = 35,1$ Sekunden., $P < 0,001$) zeigte. Außerdem legten die PS2APP-Tiere im Vergleich eine mehr als vierfach so weite Strecke ($P < 0,01$) zurück (Abb. 5C). Es gab keinen Geschwindigkeitsunterschied zwischen PS2APP- und WT-Mäusen.

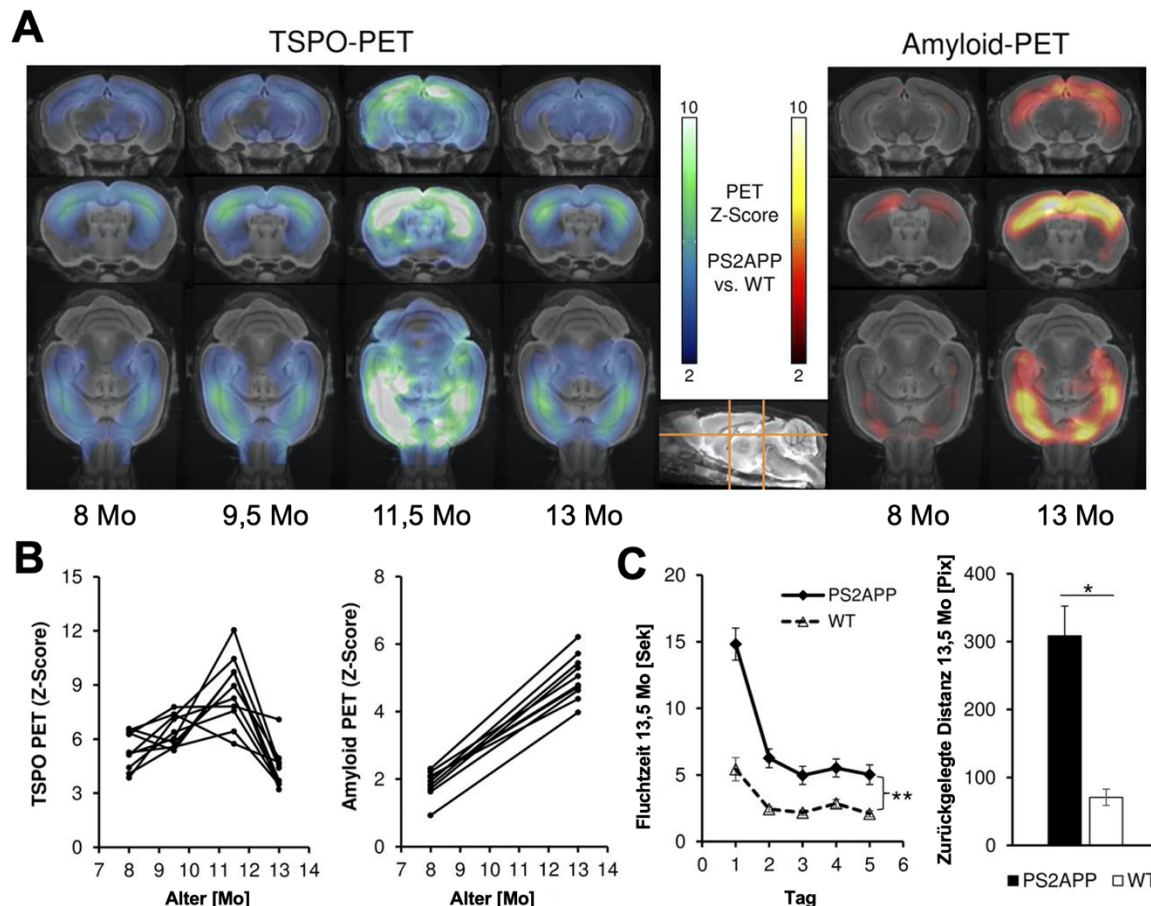


Abbildung 5: Ergebnisse der longitudinalen PET-Untersuchungen und Leistungen in der Verhaltenstestung. (A) Die kortikalen TSPO-PET- und A β -PET-Signalintensitäten von PS2APP-Mäusen in verschiedenen Altersstufen ausgedrückt als Z-Scores im Vergleich zu Befunden bei altersangepassten C57BL/6-Mäusen. Koronare und axiale Schnitte projiziert auf eine T1-gewichtete Schnitte des MRT-Mausatlas. (B) Quantitative Auswertung der einzelnen TSPO- und der A β -PET-Z-Scores im Vorderhirn von PS2APP-Mäusen (n= 10) mit dem Alter. (C) Unterschiede zwischen PS2APP- und C57BL/6 (WT) -Mäusen hinsichtlich der Fluchtzeit (Sek.) und der zurückgelegten Distanz in Pixel (pix) ausgelesen aus dem WM-Verhaltenstest. * P < 0,01. ** P < 0,001.

Als Nächstes untersuchten wir einen möglichen Zusammenhang zwischen den terminalen PET-Analysen oder den immunhistochemischen Ergebnissen und der kognitiven Leistung bei PS2APP-Mäusen im Alter von 13,5 Monaten. Die WM-Leistung zeigte keine Korrelation mit dem A β -PET-Signal im Vorderhirn oder in Bereichen, die spezifisch mit dem räumlichen Lernen assoziiert waren (Abb. 6A). Bei Mäusen mit einem hohen TSPO-PET-Signal im Vorderhin ($R = -0,46$, $P = 0,18$) oder in Regionen, die dem räumlichen Lernen zugeordnet werden ($R = -0,51$, $P = 0,13$), gab es jedoch starke Hinweise auf bessere kognitive Leistungen wie sich in der indirekten Korrelation aus den Z-Scores aus WM-Verhaltenstest und TSPO-PET zeigte. Die Immunhistochemie bestätigte die *in vivo*-Befunde: Die Methoxy-X04-Quantifizierung von fibrillärem A β zeigte keinen Zusammenhang mit der kognitiven Leistung (Abb. 6A), wohingegen die Quantifizierung der Immunfärbung vom mikroglia-spezifischen IBA1 (*ionized calcium-binding*

adaptor molecule 1) einen signifikanten indirekt proportionalen Zusammenhang zwischen der Aktivierung der Mikrogliazellen und den WM-Testergebnissen zeigte (Abb. 6A). Multimodale Befunde bei repräsentativen Mäusen mit guter und schlechter WM-Leistung sind in den Abbildungen 6B und 6C dargestellt.

Darüber hinaus konnten wir nur eine schwache Korrelation zwischen biochemischen Analysen für löslichem A β und der kognitiven Leistung bei transgenen Mäusen feststellen ($R = -0,36$, $P = 0,30$). Insgesamt ergab die multimodale Analyse einen Zusammenhang zwischen einer höheren Mikrogliaaktivität und einer besseren kognitiven Leistung im WM-Verhaltenstest.

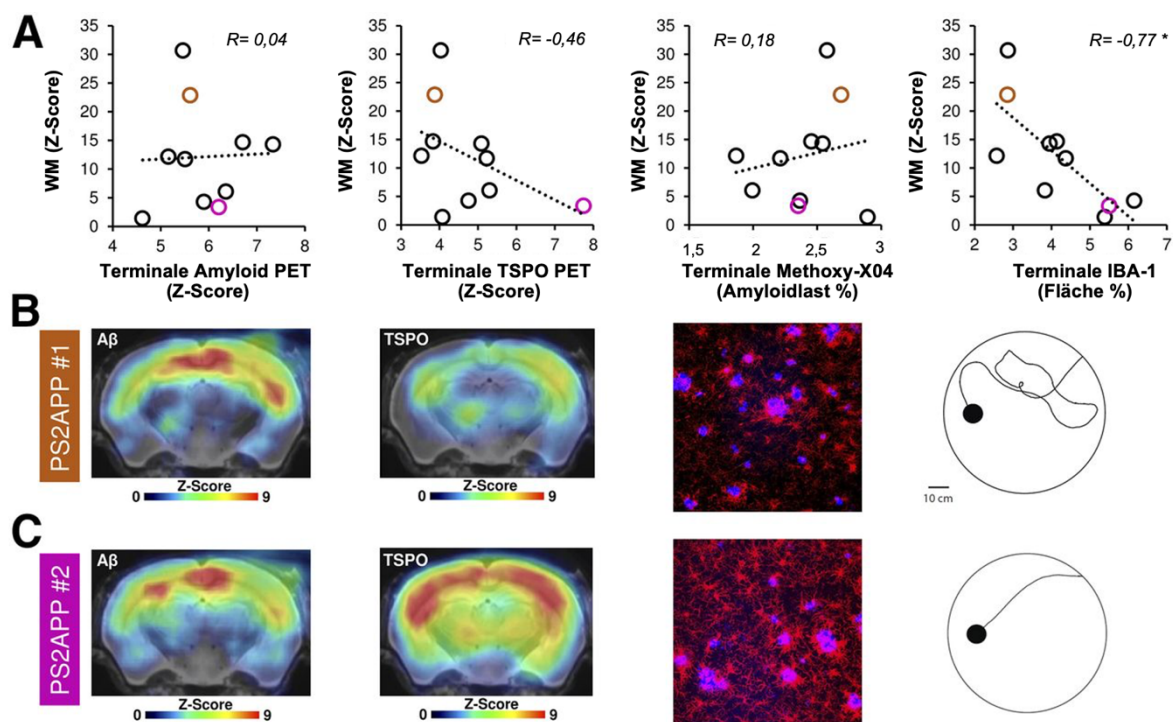


Abbildung 6: Multimodale Korrelationsanalyse der kognitiven Testung mit terminalem PET-Daten und immunohistochemischen Ergebnissen bei PS2APP-Mäusen. (A) Korrelationen zwischen individuellen kognitiven Tests im WM (WM, Z-Score) mit terminalen PET- und immunohistochemischen Analysen. (B und C) Repräsentative PET-Bilder (Z-Score auf MRT-Atlas), Immunohistochemie (fusioniertes Methoxy-X04 [blau] und Iba1 [rot]) und WM-Befunde einzelner Mäuse, die entweder einen niedrigen (B, orange) oder einen hohen Wert (C, magenta) der Marker der Mikrogliaaktivierung bei Studienende aufweisen. Entsprechende Datenpunkte in A sind in Orange (Nr. 1, niedrige Mikrogliaaktivität) und Magenta (Nr. 2, hohe Mikrogliaaktivität) dargestellt. * $P < 0,05$.

Zur Überprüfung des Vorhersagewerts früher oder kumulativer Veränderungen der pathologischen Biomarker auf die kognitive Leistung von PS2APP-Mäusen, führten wir longitudinale *in vivo* PET-Untersuchungen der cerebralen Amyloidlast und der Mikrogliaaktivität durch. Zum einen verglichen wir die Z-Scores des TSPO-PET-Scans zu Studienbeginn in unterschiedlichen Regionen mit der terminalen kognitiven Leistung im WM-Verhaltenstest (Abb. 7 A-D). Zum anderen berechneten wir zur Veranschaulichung der longitudinalen Mikrogliaaktivierung die kumulativen Veränderungen der

PET-Werte als bestimmte Integrale (AUC, engl. *area under the curve*) der Verhältnisse aus relativen Z-Scores der Versuchstiere zu altersentsprechenden Kontrolltieren und den zeitlich gewichteten Abständen der Untersuchungen zueinander (Abb. 7 E-H). Wir fanden heraus, dass eine erhöhte Mikrogliaaktivität im Vorderhirn ($R = -0.71$, $P < 0.05$; Abb. 7A) und insbesondere in kognitionsassoziierten Bereichen ($R = -0.82$, $P < 0.01$; Abb. 7B) im PET-Scan der 8 Monate alten Mäuse zu Studienbeginn mit einer besseren terminalen kognitiven Leistung assoziiert war. Auch die longitudinal erhöhte Mikrogliaaktivität in der TSPO-PET im Vorderhirn ($R = -0.45$, n.s.; Abb. 7E) und in kognitionsassoziierten Bereichen ($R = -0.60$, n.s.; Abb. 7F) zeigte Hinweise auf eine bessere terminale kognitive Leistung. Durch voxelbasierte SPM-Analysen wurden die maximalen Werte in einem Bereich der Amygdala, des entorhinalen Cortex und des Hippocampus identifiziert, die besonders starke regionale Korrelationen zwischen hoher Mikrogliaaktivität zu Studienbeginn ($R = -0.95$, $P < 0.001$; Abb. 7C) bzw. kumulativ über den Studienverlauf ($R = -0.68$, $P < 0.05$; Abb. 7G) und besserer kognitiver Leistung zu Studienende ergaben. Dieses Verteilungsmuster wird als Peakcluster bezeichnet. Die stärkste Assoziation erfolgte in Gehirnbereichen, die am räumlichen Lernen beteiligt sind, insbesondere in der Hippocampusformation, im Thalamus und im frontalen Neocortex (Abb. 7D und 7H) (D'Hooge and De Deyn 2001). Entgegen der ursprünglichen Annahme konnte keine Gehirnregion identifiziert werden, in der ein erhöhtes TSPO-Signal zu Studienbeginn mit schlechteren kognitiven Leistungen am Studienende korrelierte.

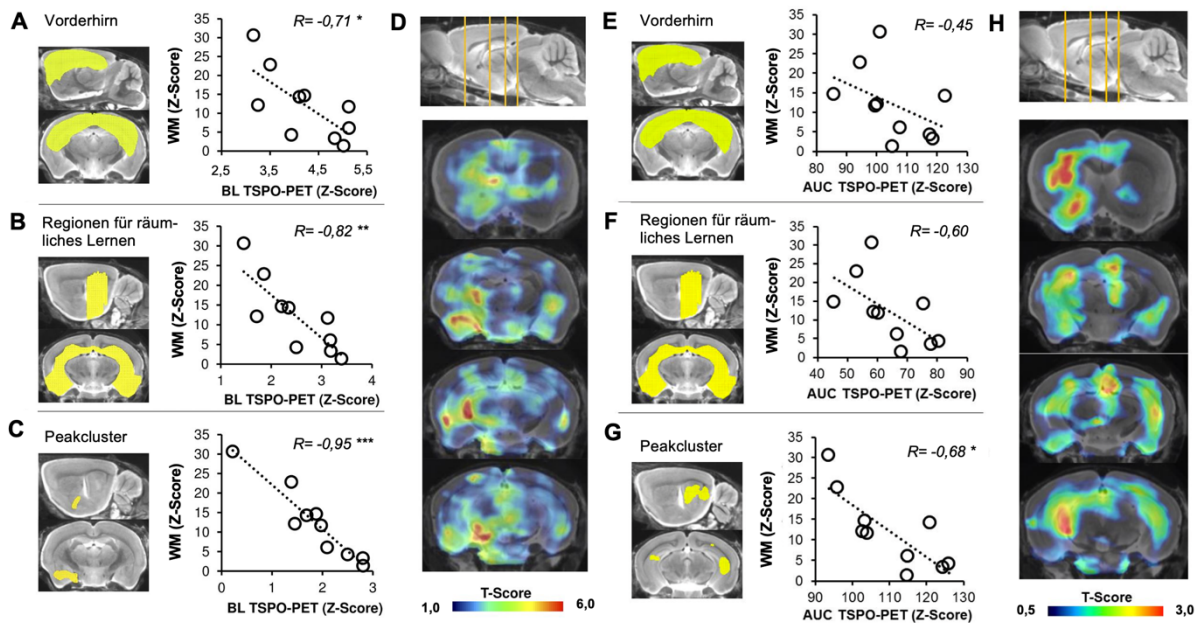


Abbildung 7: Vorhersage der kognitiven Leistung bei PS2APP-Mäusen anhand der Mikrogliaaktivierung zu Studienbeginn (A – C) im Vergleich zu der longitudinalen Mikrogliaaktivierung über die gesamte Studiendauer (E-G). Die Korrelationen zwischen einzelnen Befunden in kognitiven Tests (Z-Scores) mit TSPO-PET zu Beginn der Studie (BL, engl. *baseline*) und als AUC für den Studienverlauf werden in Diagrammen für das Vorderhirn (A und E), für Gehirnregionen, die mit räumlichem Lernen assoziiert sind (B und F) und für das Peakcluster im Bereich der Amygdala (C und G) dargestellt. (D und H) Koronare Schnitte zeigen statistische Verteilungsmuster (T-Scores) der voxelweisen Korrelation zwischen dem TSPO-PET zu Studienbeginn und der Leistung im WM bei Studienende auf einem T1-gewichteten MRT-Atlas. * $P < 0,05$. ** $P < 0,01$. *** $P < 0,001$.

Es ist bekannt, dass eine chronische Aktivierung von Mikrogliazellen mit der Zeit Synapsen schädigt und neurodegenerative Prozesse begünstigt (Heneka, Kummer, and Latz 2014). Daher hätte man bei erhöhten TSPO-PET-Werten schlechtere Ergebnisse im WM-Verhaltenstest erwarten können. Wir beobachteten jedoch, dass eine erhöhte Mikrogliaaktivität mit einer besseren kognitiven Leistung einherging. Außerdem konnten räumliche Verteilungsmuster in Gehirnregionen, die mit dem räumlichen Lernen assoziiert sind, identifiziert werden, in denen die Korrelation des TSPO-Signals im PET zu den WM-Ergebnissen besonders ausgeprägt ist. Im Gegensatz dazu konnten jedoch keine relevanten Assoziationen des A β -PET-Signals zu Studienbeginn oder im longitudinalen Verlauf und der terminalen kognitiven Leistung gezeigt werden.

Weiterhin wurden terminale immunhistochemische Analysen durchgeführt, um nach einem molekularen Korrelat der Assoziation zwischen aktivierten Mikrogliazellen und besserer kognitiver Leistung zu suchen. Die Analysen der synaptischen Dichte zeigten eine Reduktion von VGLUT1 im Gyrus dentatus und im frontalen Cortex der PS2APP Mäuse. Die Ergebnisse der *ex vivo*-Untersuchungen stützen die These, dass eine frühe Aktivierung der Mikrogliazellen bei Auftreten der Amyloid-Pathologie die synaptische Dichte im zeitlichen Verlauf besser erhält.

Zusammenfassend konnten wir zeigen, dass eine erhöhte Aktivität der Mikrogliazellen zu Studienbeginn und im Studienverlauf eine bessere kognitive Leistung zu Studienende vorhersagt. Das Ausmaß der Amyloidlast in frühen Krankheitsstadien eignet sich hingegen nicht als Vorhersageparameter der kognitiven Leistung. Außerdem konnte erneut die Bedeutung von *in vivo* Biomarkern zur longitudinalen Überwachung des Krankheitsverlaufs unterstrichen werden. Darüber hinaus legen die Ergebnisse nahe, dass die Modulation der Mikrogliaaktivität ein relevantes therapeutisches Ziel in Bezug auf den Erhalt der kognitiven Leistung darstellt.

5. Zusammenfassung

Ziel dieser Promotionsarbeit war es zunächst, den altersabhängigen Zusammenhang von Glukosestoffwechsel und Neuroinflammation in Wildtyp-Mäusen zu untersuchen, um diese Erkenntnisse bei künftiger präklinischer Kleintier-Forschung als Grundlage der Analysen heranzuziehen. Nach Erlangen dieses Grundlagenwissens über die physiologische Neuroinflammation galt es in einem nächsten Schritt, die Bedeutung der Neuroinflammation im Alzheimer-Mausmodell und ihre Auswirkungen auf die kognitiven Leistungen zu untersuchen. Von besonderem Interesse war hierbei der Einfluss der Neuroinflammation im Vergleich zur Amyloidlast.

In einer Querschnittstudie mit C57BL/6 Wildtyp-Mäusen verschiedener Altersstufen zwischen 5 und 20 Monaten führten wir PET-Messungen mit dem bewährten Glukosetracer ^{18}F -FDG sowie mit dem neuartigen TSPO-Tracer ^{18}F -GE180 zur Quantifizierung der Mikrogliaaktivität durch. Bereits bei den 8 Monate alten Wildtyp-Mäusen beobachteten wir im Vergleich zu den 5 bis 6 Monate alten Mäusen einen signifikanten Anstieg beider Tracer im Cortex. Für die ^{18}F -GE180-Aufnahme kam es ab dem Alter von 14,5 Monaten zu einem leicht abfallenden Plateau, während die ^{18}F -FDG-Aufnahme nach Erreichen eines Maximums bei 14,5 Monaten wieder bis auf das Niveau der 5 bis 6 Monate alten Gruppe abfiel. In einer Untergruppe von je 8 Einzeltieren im Alter von 8 bzw. 14,5 Monaten wurden die PET-Scans mit beiden Tracern innerhalb einer Woche durchgeführt und anschließend die Ergebnisse bezüglich einer möglichen Korrelation analysiert. Dabei zeigte sich nach Anpassung an das Alter eine signifikante Korrelation zwischen ^{18}F -FDG- und ^{18}F -GE180-Aufnahme in kortikalen Regionen des Gehirns. Außerdem zeigten voxelbasierte Morphometrie-Analysen einen relevanten regionalen Zusammenhang zwischen der altersabhängigen Aktivierung von Mikrogliazellen und dem Glukosestoffwechsel, der mittels *in vivo* Kleintier-PET gemessen wurde.

Immunhistochemische und biochemische Untersuchungen bestätigten die TSPO-PET-Befunde bei Kleintieren und stützten die These, dass der bereits vorbeschriebene kortikale Hypermetabolismus bei gealterten Wildtyp-Mäusen mit einer zunehmenden Neuroinflammation einhergeht. Diese Ergebnisse legen einen relevanten Beitrag der Mikrogliaaktivierung in alternden C57/BL6-Mäusen am Gesamtenergiehaushalt des Gehirns nahe.

Der Beitrag von aktivierten Mikrogliazellen zur Energiebilanz des murinen Gehirns sollte in allen künftigen ^{18}F -FDG-PET-Studien, insbesondere im Rahmen der Forschung zu neurodegenerativen Erkrankungen wie der Alzheimer-Krankheit, berücksichtigt werden. Darüber hinaus unterstreichen die vorliegenden Ergebnisse die absolute Notwendigkeit altersentsprechender Kontrollgruppen bei präklinischen Studien zur TSPO-Aktivität und des Glukosestoffwechsels, ohne die keine Aussagen über physiologische sowie pathophysiologische Prozesse getroffen werden können.

Die zweite Veröffentlichung befasste sich mit der Rolle der Neuroinflammation im Alzheimer-Mausmodell. Besonders spannend war dabei die Frage nach den Auswirkungen der Neuroinflammation im Vergleich zur Amyloidlast auf die kognitive Leistung. Diese Fragestellung untersuchten wir anhand einer longitudinalen PET-Studie mit ^{18}F -FBB als Amyloid- und ^{18}F -GE180 als TSPO-Tracer im transgenen Alzheimer-Mausmodell im Alter zwischen 8 und 13 Monaten. Nach Beendigung der PET-Experimente absolvierten die Mäuse einen Wasserlabyrinth-Test zur Untersuchung ihrer kognitiven Leistung. Abschließend wurden immunhistologische und biochemische Analysen der Gehirne zur Kreuzvalidierung der PET-Ergebnisse durchgeführt.

Wir fanden heraus, dass eine hohe Mikrogliaaktivierung zu Studienbeginn (und Beginn der Amyloidablagerungen) eine bessere kognitive Leistung bei PS2APP-Mäusen 5 Monate später vorhersagt. Darüber hinaus war auch eine anhaltende und terminale Erhöhung der Mikrogliaaktivität mit einem besseren kognitiven Ergebnis am Ende der Studie verbunden. Im Gegensatz dazu zeigte eine früh oder anhaltend erhöhte Amyloidose keinen Zusammenhang mit der kognitiven Leistung. Multimodale immunhistochemische und biochemische Untersuchungen von Mikrogliazellen, Amyloidlast und synaptischer Dichte validierten und erweiterten die Ergebnisse der molekularen *in vivo* Bildgebung. Ebenfalls konnte keine Korrelation zwischen der immunhistochemisch untersuchten Konzentration von löslichem A β in Gehirnextrakten der PS2APP-Mäuse im Alter von 14 Monaten und der kognitiven Leistung gefunden werden. Im Einklang hierzu wurde in einer Übersichtsarbeit zu verschiedenen transgenen Alzheimer-Mausmodelle keine signifikanten Korrelationen zwischen löslichem oder unlöslichem A β und der kognitiven Leistung beschrieben (Foley et al. 2015). Darüber hinaus konnte auch im Alterungsprozess des Menschen gezeigt werden, dass A β nur eine geringe Korrelation mit der kognitiven Leistung aufweist (Jagust et al. 2009).

Diese neuen Erkenntnisse legen eine wichtige Rolle der Neuroinflammation in der Pathophysiologie der Alzheimer-Krankheit nahe, welche insbesondere im Zusammenhang mit der kognitiven Leistung der Betroffenen steht. Außerdem konnte gezeigt werden, dass kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Amyloidlast und der kognitiven Leistung im Mausmodell besteht. Insgesamt leistet unsere Studie einen wichtigen Beitrag zum weiteren Verständnis der Rolle der Neuroinflammation. Neueste Studien unterstützen die These, dass es sowohl protektive als auch schädliche Aktivierungszustände von Mikrogliazellen gibt. Eine höhere durch TREM2 vermittelte Mikrogliaaktivierung scheint schützende Wirkungen vor der nachfolgende Amyloidakkumulation sowohl im Mausmodell als auch beim Menschen zu haben (Ewers et al. 2020). Außerdem legen neue Ergebnisse zur Untersuchung von löslichem TREM2 im Liquor von Probanden nahe, dass eine höhere TREM2-bezogene Mikrogliaaktivierung ein langsames Fortschreiten der Alzheimer-Krankheit im symptomatischen Stadium vorhersagen kann (Ewers et al. 2019). Daher ist die Modulation von Mikrogliaaktivierung bzw. TREM2 als möglicher Therapieansatz der Alzheimer-Krankheit Gegenstand aktueller Forschungen.

6. Summary

The first aim of this doctoral thesis was to better characterize the age-dependent relationship between cortical glucose metabolism and neuroinflammation in wildtype mice. The second major aim was to investigate the role of neuroinflammation in Alzheimer's mouse model and its impact on cognitive performance. In particular, this work compared the influence of fibrillar amyloidosis and microglial activation on the cognitive outcome.

First, we have obtained small-animal PET recordings with ^{18}F -FDG and ^{18}F -GE180, a novel tracer for TSPO, in a large series of C57BL/6 wild type mice of various ages between 5 and 20 months of age in a cross-sectional study. For both tracers, a significant cortical increase was already observed between 5- to 6-months-old and 8-months-old C57BL/6 mice. From the age of 14.5 months there was a slowly descending plateau for the ^{18}F -GE180 uptake, whereas ^{18}F -FDG uptake declined from a peak at 14.5 months to the level seen in the youngest group. In a subset of animals (8 and 14.5 months of age) the PET measurements were conducted with both tracers within the same week, and we inquired whether cortical glucose metabolism is directly associated with TSPO-PET binding. After adjustment to age, a significant correlation between cortical uptake of ^{18}F -FDG and ^{18}F -GE180 was found. In addition, voxelwise analyses of PET indicated a clear spatial relationship of age-dependent neuroinflammation and glucose metabolism. Immunohistochemical and biochemical investigations confirmed the TSPO-PET findings and supported the association between cortical neuroinflammation and the previously described cortical hypermetabolism in aged mice. The contribution of activated microglia to the brain energy budget should be considered in all future ^{18}F -FDG studies, especially in Alzheimer's disease models and for other neuroinflammatory conditions. Furthermore, present findings emphasize the need for age-matched controls for valid conclusions in preclinical research of TSPO activity and glucose metabolism.

In the second work-package, we examined the role of neuroinflammation in the PS2APP Alzheimer's mouse model and its impact on cognitive performance. We aimed to correlate serial measures of TSPO- and A β -PET with terminal cognitive assessments. Therefore, we conducted a longitudinal study with dual-tracer PET (^{18}F -FBB and ^{18}F -GE180) between 8 and 13 months of age. After recovering from the last PET scan, the mice underwent a water maze test to examine their cognitive performance.

Finally, we processed the brains for immunohistochemical and biochemical analyses to cross-validate the PET results. We found that high microglial activation at the onset of amyloidosis predicts better cognitive performance in PS2APP mice at a 5-month follow-up. Interestingly, even longitudinally persistent and terminal elevation of microglial activity was associated with a better cognitive outcome at the end of the study. On the other hand, early amyloidosis did not predict cognitive outcome and terminal assessments, nor was there any association between longitudinal amyloidosis and cognition. Multimodal immunohistochemical and biochemical assessments of microglia, amyloidosis, and synaptic density validated and extended the molecular *in vivo* imaging results. We could not find any correlation between terminal soluble A β concentration in brain extracts and cognitive performance in our PS2APP mice at 14 months of age. Likewise, a recent review of different transgenic mouse models of Alzheimer's disease did not find a significant overall correlation between soluble or insoluble levels of A β and cognitive function (Foley et al. 2015).

The combined findings suggest a strong impact of neuroinflammation during the pathophysiological cascade of Alzheimer's disease and in particular for the cognitive performance. Neither longitudinal A β -PET nor terminal immunohistochemistry for detection of fibrillar amyloidosis showed an association with the cognitive performance in individual PS2APP mice. Similarly, quantitative markers of A β had only weak correlations with cognition in aged humans (Jagust et al. 2009).

Overall, our study contributes importantly to the further understanding of the role of neuroinflammation *in vivo*. Latest studies support protective as well as harmful activation states of microglia. Higher microglia activation mediated by TREM2 has protective effects against subsequent amyloid accumulation in both, mice and human (Ewers et al. 2020). Furthermore, new results on the investigation of soluble TREM2 concentrations in cerebrospinal fluid suggest that a higher TREM2-related microglial activation predicts slower disease's progression in a symptomatic state of Alzheimer's disease (Ewers et al. 2019). Therefore, the modulation of microglial activation or TREM2 as a possible target in the therapy of Alzheimer's disease is subject of current research.

7. Danksagung

Insbesondere gilt mein Dank meinem Doktorvater und wissenschaftlichen Mentor Priv.-Doz. Dr. med. Matthias Brendel von der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin der Universität München für seine großartige und intensive Betreuung, sein großes Engagement und seine uneingeschränkte Förderung.

Frau Dr. med. Leonie Bayer von der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin der Universität München, danke ich für die Betreuung dieser Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. med. Peter Bartenstein, Direktor der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin der Universität München, und Prof. Dr. med. Axel Rominger für die Überlassung des Themas und die Ermöglichung dieses Projektes.

Weiterhin danke ich Karin Bormann-Giglmaier und Rosel Oos für die exzellente methodische und technische Unterstützung und die hervorragende Zusammenarbeit bei der Durchführung der Experimente.

Außerdem möchte ich mich von ganzem Herzen bei meinen Eltern Herta und Dieter Focke für ihre stetige liebevolle Unterstützung und motivierenden Worte bedanken.

Ganz besonders möchte ich mich bei meinem Freund Christian bedanken, der mich stets in allen Angelegenheiten unterstützte, viele wilde Theorien und Ideen mit mir diskutierte und mir trotzdem mit Geduld und Rat zur Seite stand.

8. Lebenslauf

Carola Focke

carola.focke@uniklinik-freiburg.de

Ausbildung und Berufserfahrung

01/2021- heute	Universitätsklinikum Freiburg Assistenzärztin in Weiterbildung in der Klinik für Allgemein- und Viszeralchirurgie
01/2020-12/2020	St. Josefskrankenhaus, Freiburg Assistenzärztin in Weiterbildung in der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Gefäßchirurgie
10/2012- 06/2019	Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) München Studium der Humanmedizin Approbation als Ärztin 06/2019 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung 05/2019 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung 04/2018 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung 08/2014
09/2003- 07/2011	Gymnasium Dorfen Allgemeine Hochschulreife 07/2011

Wissenschaftlicher Werdegang

10/2015-heute	Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin, Klinikum der Universität München, LMU Promotionsthema: <i>„Neuroinflammation und ihr prädiktiver Einfluss auf die kognitive Leistung im Alzheimer-Mausmodell“</i> Experimentelle Doktorarbeit in der präklinischen Bildgebung Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. M. Brendel/ Betreuerin: Dr. med. L. Bayer
04/2020	Best basic science article published in Journal of Nuclear Medicine 2019 <i>„Early and longitudinal microglial activation but not amyloid accumulation predicts cognitive outcome in PS2APP mice“</i>
04/2016	54. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Nuklearmedizin, Dresden Vortrag <i>„Age-dependent Glial Activation Explains Controversial Hypermetabolism in Aged Wildtype Mice- A PET study“</i>

Wissenschaftliche Publikationen

1. Sacher C, Blume T, Beyer L, Biechele G, Sauerbeck J, Eckenweber F, Deussing M, **Focke C**, Parhizkar S, Lindner S, Gildehaus FJ, von Ungern-Sternberg B, Baumann K, Tahirovic S, Kleinberger G, Willem M, Haass C, Bartenstein P, Cumming P, Rominger A, Herms J, Brendel M. Asymmetry of fibrillar plaque burden in amyloid mouse models. *Journal of Nuclear Medicine*. 2020. (IF: 7,439)
2. Nack A, Brendel M, Nedelcu J, Daerr M, Nyamoya S, Beyer C, **Focke C**, Deussing M, Hoornaert C, Ponsaerts P, Schmitz C, Bartenstein P, Rominger A, Kipp M. Expression of Translocator Protein and [18F]-GE180 Ligand Uptake in Multiple Sclerosis Animal Models. *Cells*. 2019. (IF: 4,829)
3. Parhizkar S, Arzberger T, Brendel M, Kleinberger G, Deussing M, **Focke C**, Nuscher B, Xiong M, Ghasemigharagoz A, Katzmarski N, Krasemann S, Lichtenthaler SF, Müller SA, Colombo A, Monasor LS, Tahirovic S, Herms J, Willem M, Pettkus N, Butovsky O, Bartenstein P, Edbauer D, Rominger A, Ertürk A, Grathwohl SA, Neher JJ, Holtzman DM, Meyer-Luehmann M, Haass C. Loss of TREM2 function increases amyloid seeding but reduces plaque-associated ApoE. *Nature Neuroscience*. 2019. (IF: 19,912)

4. Blume T*, **Focke C***, Peters F*, Deussing M, Albert NL, Lindner S, Gildehaus FJ, von Ungern-Sternberg B, Ozmen L, Baumann K, Bartenstein P, Rominger A, Herms J, Brendel M. Microglial response to increasing amyloid load saturates with aging: a longitudinal dual tracer in vivo μ PET-study. *Journal of Neuroinflammation*. 2018. (IF: 5,193)
5. **Focke C***, Blume T*, Zott B*, Shi Y*, Deussing M, Peters F, Schmidt C, Kleinberger G, Lindner S, Gildehaus FJ, Beyer L, von Ungern-Sternberg B, Bartenstein P, Ozmen L, Baumann K, Dorostkar MM, Haass C, Adelsberger H, Herms J, Rominger A, Brendel M. Early and longitudinal microglial activation but not amyloid accumulation predict cognitive outcome in PS2APP mice. *Journal of Nuclear Medicine*. 2018. (IF: 7,439)
6. Brendel M, Yousefi BH, Blume T, Herz M, **Focke C**, Deussing M, Peters F, Lindner S, von Ungern-Sternberg B, Drzezga A, Bartenstein P, Haass C, Okamura N, Herms J, Yakushev I, Rominger A. Comparison of ^{18}F -T807 and ^{18}F -THK5117 PET in a Mouse Model of Tau Pathology. *Frontiers In Aging Neuroscience*. 2018. (IF: 3,582)
7. Deussing M, Blume T, Vomacka L, Mahler C, **Focke C**, Todica A, Unterrainer M, Albert NL, Lindner S, von Ungern-Sternberg B, Baumann K, Zwergal A, Bartenstein P, Herms J, Rominger A, Brendel M. Data on specificity of [^{18}F]GE180 uptake for TSPO expression in rodent brain and myocardium. *Data in Brief*. 2018. (IF: 1,13)
8. Deussing M, Blume T, Vomacka L, Mahler C, **Focke C**, Todica A, Unterrainer M, Albert NL, Lindner S, von Ungern-Sternberg B, Baumann K, Zwergal A, Bartenstein P, Herms J, Rominger A, Brendel M. Coupling between physiological TSPO expression in brain and myocardium allows stabilization of late-phase cerebral [^{18}F]GE180 PET quantification. *Neuroimage*. 2018 (IF: 5,426)
9. Brendel M.*; **Focke C.***; Blume T.; Peters F.; Deussing M.; Probst F.; Jaworska A.; Overhoff F.; Albert N.; Lindner S.; von Ungern-Sternberg B.; Bartenstein P.; Haass C.; Kleinberger G.; Herms J.; Rominger A. Time Courses of Cortical Glucose Metabolism and Microglial Activity Across the Life-Span of Wild-Type Mice: A PET Study. *Journal of Nuclear Medicine*. 2017. (IF: 7,439)
10. Kleinberger, G.; Brendel, M.; Mracsko, E.; Wefers, B.; Groeneweg, L.; Xiang, X.; **Focke, C.**; Deußing, M.; Suárez-Calvet, M.; Mazaheri, F.; Parhizkar, S.; Pettkus, N.; Wurst, W.; Feederle, R.; Bartenstein, P.; Mueggler, T.; Arzberger, T.; Knuesel, I.; Rominger, A.; Haass, C. The FTD-like syndrome causing TREM2 T66M mutation impairs microglia function, brain perfusion and glucose metabolism. *The EMBO Journal*. 2017. (IF: 10,557)
11. Overhoff, F.; Brendel, M.; Jaworska, A.; Korzhova, V.; Delker, A.; Probst, F.; **Focke, C.**; Gildehaus, F.-J.; Carlsen, J.; Baumann, K.; Haass C.; Bartenstein, P.; Herms, J.; Rominger, A. Automated spatial brain normalization and hindbrain white matter reference tissue give improved [^{18}F]-florbetaben PET quantitation in Alzheimer's model mice. *Frontiers in Neuroscience*. 2016. (IF: 3,877)

*geteilte Erstautorenschaft

Freiburg, 27.10.2022

9. Eidesstattliche Versicherung

Ich, Carola Focke, erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

Neuroinflammation und ihr prädiktiver Einfluss auf die kognitive Leistung im Alzheimer-Mausmodell

selbstständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Freiburg, den 27.10.2022

Carola Focke

10. Literaturverzeichnis

- Alzheimer's, Association. 2013. '2013 Alzheimer's disease facts and figures', *Alzheimers Dement*, 9: 208-45.
- Backes, H., M. Walberer, A. Ladwig, M. A. Rueger, B. Neumaier, H. Endepols, M. Hoehn, G. R. Fink, M. Schroeter, and R. Graf. 2016. 'Glucose consumption of inflammatory cells masks metabolic deficits in the brain', *Neuroimage*, 128: 54-62.
- Banati, R. B., J. Newcombe, R. N. Gunn, A. Cagnin, F. Turkheimer, F. Heppner, G. Price, F. Wegner, G. Giovannoni, D. H. Miller, G. D. Perkin, T. Smith, A. K. Hewson, G. Bydder, G. W. Kreutzberg, T. Jones, M. L. Cuzner, and R. Myers. 2000. 'The peripheral benzodiazepine binding site in the brain in multiple sclerosis: quantitative in vivo imaging of microglia as a measure of disease activity', *Brain*, 123 (Pt 11): 2321-37.
- Barthel, H., and O. Sabri. 2017. 'Clinical Use and Utility of Amyloid Imaging', *J Nucl Med*, 58: 1711-17.
- Brendel, M., F. Probst, A. Jaworska, F. Overhoff, V. Korzhova, N. Albert, R. Beck, S. Lindner, F. J. Gildehaus, K. Baumann, P. Bartenstein, G. Kleinberger, C. Haass, J. Herms, and A. Rominger. 2016. 'Glial Activation and Glucose Metabolism in a Transgenic Amyloid Mouse Model: A Triple Tracer PET Study', *J Nucl Med*.
- Brier, M. R., B. Gordon, K. Friedrichsen, J. McCarthy, A. Stern, J. Christensen, C. Owen, P. Aldea, Y. Su, J. Hassenstab, N. J. Cairns, D. M. Holtzman, A. M. Fagan, J. C. Morris, T. L. Benzinger, and B. M. Ances. 2016. 'Tau and Abeta imaging, CSF measures, and cognition in Alzheimer's disease', *Sci Transl Med*, 8: 338ra66.
- Buee, L., T. Bussiere, V. Buee-Scherrer, A. Delacourte, and P. R. Hof. 2000. 'Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders', *Brain Res Brain Res Rev*, 33: 95-130.
- Busche, M. A., M. Kekus, H. Adelsberger, T. Noda, H. Forstl, I. Nelken, and A. Konnerth. 2015. 'Rescue of long-range circuit dysfunction in Alzheimer's disease models', *Nat Neurosci*, 18: 1623-30.
- Butovsky, O., and H. L. Weiner. 2018. 'Microglial signatures and their role in health and disease', *Nat Rev Neurosci*, 19: 622-35.
- Canter, R. G., J. Penney, and L. H. Tsai. 2016. 'The road to restoring neural circuits for the treatment of Alzheimer's disease', *Nature*, 539: 187-96.
- Carrillo, M. C., R. A. Dean, F. Nicolas, D. S. Miller, R. Berman, Z. Khachaturian, L. J. Bain, R. Schindler, D. Knopman, and Roundtable Alzheimer's Association Research. 2013. 'Revisiting the framework of the National Institute on Aging-Alzheimer's Association diagnostic criteria', *Alzheimers Dement*, 9: 594-601.
- Chen, M. K., and T. R. Guilarte. 2008. 'Translocator protein 18 kDa (TSPO): molecular sensor of brain injury and repair', *Pharmacol Ther*, 118: 1-17.
- Chien, D. T., S. Bahri, A. K. Szardenings, J. C. Walsh, F. Mu, M. Y. Su, W. R. Shankle, A. Elizarov, and H. C. Kolb. 2013. 'Early clinical PET imaging results with the novel PHF-tau radioligand [F-18]-T807', *J Alzheimers Dis*, 34: 457-68.
- Clark, C. M., J. A. Schneider, B. J. Bedell, T. G. Beach, W. B. Bilker, M. A. Mintun, M. J. Pontecorvo, F. Hefti, A. P. Carpenter, M. L. Flitter, M. J. Krautkramer, H. F. Kung, R. E. Coleman, P. M. Doraiswamy, A. S. Fleisher, M. N. Sabbagh, C. H. Sadowsky, E. P. Reiman, S. P. Zehntner, D. M. Skovronsky, and Av A. Study Group. 2011. 'Use of florbetapir-PET for imaging beta-amyloid pathology', *JAMA*, 305: 275-83.
- D'Hooge, R., and P. P. De Deyn. 2001. 'Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory', *Brain Res Brain Res Rev*, 36: 60-90.

- Dansokho, C., and M. T. Heneka. 2018. 'Neuroinflammatory responses in Alzheimer's disease', *J Neural Transm (Vienna)*, 125: 771-79.
- de Cristobal, J., L. Garcia-Garcia, M. Delgado, M. Perez, M. A. Pozo, and M. Medina. 2014. 'Longitudinal assessment of a transgenic animal model of tauopathy by FDG-PET imaging', *J Alzheimers Dis*, 40 Suppl 1: S79-89.
- Deussing, M., T. Blume, L. Vomacka, C. Mahler, C. Focke, A. Todica, M. Unterrainer, N. L. Albert, S. Lindner, B. von Ungern-Sternberg, K. Baumann, A. Zwergal, P. Bartenstein, J. Herms, A. Rominger, and M. Brendel. 2018. 'Coupling between physiological TSPO expression in brain and myocardium allows stabilization of late-phase cerebral [(18)F]GE180 PET quantification', *Neuroimage*, 165: 83-91.
- Dickens, A. M., S. Vainio, P. Marjamaki, J. Johansson, P. Lehtiniemi, J. Rokka, J. Rinne, O. Solin, M. Haaparanta-Solin, P. A. Jones, W. Trigg, D. C. Anthony, and L. Airas. 2014. 'Detection of microglial activation in an acute model of neuroinflammation using PET and radiotracers 11C-(R)-PK11195 and 18F-GE-180', *J Nucl Med*, 55: 466-72.
- Dorr, A., J. G. Sled, and N. Kabani. 2007. 'Three-dimensional cerebral vasculature of the CBA mouse brain: a magnetic resonance imaging and micro computed tomography study', *Neuroimage*, 35: 1409-23.
- Dubois, B., H. H. Feldman, C. Jacova, H. Hampel, J. L. Molinuevo, K. Blennow, S. T. DeKosky, S. Gauthier, D. Selkoe, R. Bateman, S. Cappa, S. Crutch, S. Engelborghs, G. B. Frisoni, N. C. Fox, D. Galasko, M. O. Habert, G. A. Jicha, A. Nordberg, F. Pasquier, G. Rabinovici, P. Robert, C. Rowe, S. Salloway, M. Sarazin, S. Epelbaum, L. C. de Souza, B. Vellas, P. J. Visser, L. Schneider, Y. Stern, P. Scheltens, and J. L. Cummings. 2014. 'Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: the IWG-2 criteria', *Lancet Neurol*, 13: 614-29.
- Edison, P., C. K. Donat, and M. Sastre. 2018. 'In vivo Imaging of Glial Activation in Alzheimer's Disease', *Front Neurol*, 9: 625.
- Ewers, M., G. Biechele, M. Suarez-Calvet, C. Sacher, T. Blume, E. Morenas-Rodriguez, Y. Deming, L. Piccio, C. Cruchaga, G. Kleinberger, L. Shaw, J. Q. Trojanowski, J. Herms, M. Dichgans, Initiative Alzheimer's Disease Neuroimaging, M. Brendel, C. Haass, and N. Franzmeier. 2020. 'Higher CSF sTREM2 and microglia activation are associated with slower rates of beta-amyloid accumulation', *EMBO Mol Med*, 12: e12308.
- Ewers, M., N. Franzmeier, M. Suarez-Calvet, E. Morenas-Rodriguez, M. A. A. Caballero, G. Kleinberger, L. Piccio, C. Cruchaga, Y. Deming, M. Dichgans, J. Q. Trojanowski, L. M. Shaw, M. W. Weiner, C. Haass, and Initiative Alzheimer's Disease Neuroimaging. 2019. 'Increased soluble TREM2 in cerebrospinal fluid is associated with reduced cognitive and clinical decline in Alzheimer's disease', *Sci Transl Med*, 11.
- Foley, A. M., Z. M. Ammar, R. H. Lee, and C. S. Mitchell. 2015. 'Systematic review of the relationship between amyloid-beta levels and measures of transgenic mouse cognitive deficit in Alzheimer's disease', *J Alzheimers Dis*, 44: 787-95.
- Ginhoux, F., M. Greter, M. Leboeuf, S. Nandi, P. See, S. Gokhan, M. F. Mehler, S. J. Conway, L. G. Ng, E. R. Stanley, I. M. Samokhvalov, and M. Merad. 2010. 'Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages', *Science*, 330: 841-5.
- Goate, A., M. C. Chartier-Harlin, M. Mullan, J. Brown, F. Crawford, L. Fidani, L. Giuffra, A. Haynes, N. Irving, L. James, and et al. 1991. 'Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease', *Nature*, 349: 704-6.
- Graham, W. V., A. Bonito-Oliva, and T. P. Sakmar. 2017. 'Update on Alzheimer's Disease Therapy and Prevention Strategies', *Annu Rev Med*, 68: 413-30.
- Guerreiro, R., A. Wojtas, J. Bras, M. Carrasquillo, E. Rogaeva, E. Majounie, C. Cruchaga, C. Sassi, J. S. Kauwe, S. Younkin, L. Hazrati, J. Collinge, J. Pocock, T. Lashley, J. Williams, J. C. Lambert, P. Amouyel, A. Goate, R. Rademakers, K. Morgan, J. Powell, P. St George-Hyslop, A.

- Singleton, J. Hardy, and Group Alzheimer Genetic Analysis. 2013. 'TREM2 variants in Alzheimer's disease', *N Engl J Med*, 368: 117-27.
- Haass, C., and D. J. Selkoe. 2007. 'Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid beta-peptide', *Nat Rev Mol Cell Biol*, 8: 101-12.
- Hall, A. M., and E. D. Roberson. 2012. 'Mouse models of Alzheimer's disease', *Brain Res Bull*, 88: 3-12.
- Hardy, J., and D. J. Selkoe. 2002. 'The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics', *Science*, 297: 353-6.
- Heneka, M. T., M. P. Kummer, and E. Latz. 2014. 'Innate immune activation in neurodegenerative disease', *Nat Rev Immunol*, 14: 463-77.
- Hickman, S., S. Izzy, P. Sen, L. Morsett, and J. El Khoury. 2018. 'Microglia in neurodegeneration', *Nat Neurosci*, 21: 1359-69.
- Holtzman, D. M., J. Herz, and G. Bu. 2012. 'Apolipoprotein E and apolipoprotein E receptors: normal biology and roles in Alzheimer disease', *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2: a006312.
- Hong, S., V. F. Beja-Glasser, B. M. Nfonoyim, A. Frouin, S. Li, S. Ramakrishnan, K. M. Merry, Q. Shi, A. Rosenthal, B. A. Barres, C. A. Lemere, D. J. Selkoe, and B. Stevens. 2016. 'Complement and microglia mediate early synapse loss in Alzheimer mouse models', *Science*, 352: 712-16.
- Ikonomic, M. D., C. J. Buckley, K. Heurling, P. Sherwin, P. A. Jones, M. Zanette, C. A. Mathis, W. E. Klunk, A. Chakrabarty, J. Ironside, A. Ismail, C. Smith, D. R. Thal, T. G. Beach, G. Farrar, and A. P. Smith. 2016. 'Post-mortem histopathology underlying beta-amyloid PET imaging following flutemetamol F 18 injection', *Acta Neuropathol Commun*, 4: 130.
- Itagaki, S., P. L. McGeer, H. Akiyama, S. Zhu, and D. Selkoe. 1989. 'Relationship of microglia and astrocytes to amyloid deposits of Alzheimer disease', *J Neuroimmunol*, 24: 173-82.
- Jack, C. R., Jr., D. A. Bennett, K. Blennow, M. C. Carrillo, B. Dunn, S. B. Haeberlein, D. M. Holtzman, W. Jagust, F. Jessen, J. Karlawish, E. Liu, J. L. Molinuevo, T. Montine, C. Phelps, K. P. Rankin, C. C. Rowe, P. Scheltens, E. Siemers, H. M. Snyder, R. Sperling, and Contributors. 2018. 'NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease', *Alzheimers Dement*, 14: 535-62.
- Jagust, W. J., S. M. Landau, L. M. Shaw, J. Q. Trojanowski, R. A. Koeppe, E. M. Reiman, N. L. Foster, R. C. Petersen, M. W. Weiner, J. C. Price, C. A. Mathis, and Initiative Alzheimer's Disease Neuroimaging. 2009. 'Relationships between biomarkers in aging and dementia', *Neurology*, 73: 1193-9.
- Jankowsky, J. L., and H. Zheng. 2017. 'Practical considerations for choosing a mouse model of Alzheimer's disease', *Mol Neurodegener*, 12: 89.
- Johnson, K. A., A. Schultz, R. A. Betensky, J. A. Becker, J. Sepulcre, D. Rentz, E. Mormino, J. Chhatwal, R. Amariglio, K. Papp, G. Marshall, M. Albers, S. Mauro, L. Pepin, J. Alverio, K. Judge, M. Philiossaint, T. Shoup, D. Yokell, B. Dickerson, T. Gomez-Isla, B. Hyman, N. Vasdev, and R. Sperling. 2016. 'Tau positron emission tomographic imaging in aging and early Alzheimer disease', *Ann Neurol*, 79: 110-9.
- Jonsson, T., H. Stefansson, S. Steinberg, I. Jonsdottir, P. V. Jonsson, J. Snaedal, S. Bjornsson, J. Huttenlocher, A. I. Levey, J. J. Lah, D. Rujescu, H. Hampel, I. Giegling, O. A. Andreassen, K. Engedal, I. Ulstein, S. Djurovic, C. Ibrahim-Verbaas, A. Hofman, M. A. Ikram, C. M. van Duijn, U. Thorsteinsdottir, A. Kong, and K. Stefansson. 2013. 'Variant of TREM2 associated with the risk of Alzheimer's disease', *N Engl J Med*, 368: 107-16.
- Kato, T., Y. Inui, A. Nakamura, and K. Ito. 2016. 'Brain fluorodeoxyglucose (FDG) PET in dementia', *Ageing Res Rev*, 30: 73-84.

- Keren-Shaul, H., A. Spinrad, A. Weiner, O. Matcovitch-Natan, R. Dvir-Szternfeld, T. K. Ulland, E. David, K. Baruch, D. Lara-Astaiso, B. Toth, S. Itzkovitz, M. Colonna, M. Schwartz, and I. Amit. 2017. 'A Unique Microglia Type Associated with Restricting Development of Alzheimer's Disease', *Cell*, 169: 1276-90 e17.
- Keskin, A. D., M. Kekus, H. Adelsberger, U. Neumann, D. R. Shimshek, B. Song, B. Zott, T. Peng, H. Forstl, M. Staufenbiel, I. Nelken, B. Sakmann, A. Konnerth, and M. A. Busche. 2017. 'BACE inhibition-dependent repair of Alzheimer's pathophysiology', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 114: 8631-36.
- Knezevic, D., N. P. L. Verhoeff, S. Hafizi, A. P. Strafella, A. Graff-Guerrero, T. Rajji, B. G. Pollock, S. Houle, P. M. Rusjan, and R. Mizrahi. 2018. 'Imaging microglial activation and amyloid burden in amnesic mild cognitive impairment', *J Cereb Blood Flow Metab*, 38: 1885-95.
- Krasemann, S., C. Madore, R. Cialic, C. Baufeld, N. Calcagno, R. El Fatimy, L. Beckers, E. O'Loughlin, Y. Xu, Z. Fanek, D. J. Greco, S. T. Smith, G. Tweet, Z. Humulock, T. Zrzavy, P. Conde-Sanroman, M. Gacias, Z. Weng, H. Chen, E. Tjon, F. Mazaheri, K. Hartmann, A. Madi, J. D. Ulrich, M. Glatzel, A. Worthmann, J. Heeren, B. Budnik, C. Lemere, T. Ikezu, F. L. Heppner, V. Litvak, D. M. Holtzman, H. Lassmann, H. L. Weiner, J. Ochando, C. Haass, and O. Butovsky. 2017. 'The TREM2-APOE Pathway Drives the Transcriptional Phenotype of Dysfunctional Microglia in Neurodegenerative Diseases', *Immunity*, 47: 566-81 e9.
- LaFerla, F. M. 2010. 'Pathways linking Abeta and tau pathologies', *Biochem Soc Trans*, 38: 993-5.
- Liu, B., K. X. Le, M. A. Park, S. Wang, A. P. Belanger, S. Dubey, J. L. Frost, P. Holton, V. Reiser, P. A. Jones, W. Trigg, M. F. Di Carli, and C. A. Lemere. 2015. 'In Vivo Detection of Age- and Disease-Related Increases in Neuroinflammation by 18F-GE180 TSPO MicroPET Imaging in Wild-Type and Alzheimer's Transgenic Mice', *J Neurosci*, 35: 15716-30.
- Lobo, A., L. J. Launer, L. Fratiglioni, K. Andersen, A. Di Carlo, M. M. Breteler, J. R. Copeland, J. F. Dartigues, C. Jagger, J. Martinez-Lage, H. Soininen, and A. Hofman. 2000. 'Prevalence of dementia and major subtypes in Europe: A collaborative study of population-based cohorts. Neurologic Diseases in the Elderly Research Group', *Neurology*, 54: S4-9.
- Lopez-Picon, F. R., A. Snellman, O. Eskola, S. Helin, O. Solin, M. Haaparanta-Solin, and J. O. Rinne. 2018. 'Neuroinflammation Appears Early on PET Imaging and Then Plateaus in a Mouse Model of Alzheimer Disease', *J Nucl Med*, 59: 509-15.
- Mangialasche, F., A. Solomon, B. Winblad, P. Mecocci, and M. Kivipelto. 2010. 'Alzheimer's disease: clinical trials and drug development', *Lancet Neurol*, 9: 702-16.
- Marquez, F., and M. A. Yassa. 2019. 'Neuroimaging Biomarkers for Alzheimer's Disease', *Mol Neurodegener*, 14: 21.
- Mattay, V. S., A. F. Fotenos, C. J. Ganley, and L. Marzella. 2020. 'Brain Tau Imaging: Food and Drug Administration Approval of (18)F-Flortaucipir Injection', *J Nucl Med*, 61: 1411-12.
- Mavroudis, I. 2019. 'Cerebellar pathology in Alzheimer's disease', *Hell J Nucl Med*, 22 Suppl: 174-79.
- McKhann, G. M., D. S. Knopman, H. Chertkow, B. T. Hyman, C. R. Jack, Jr., C. H. Kawas, W. E. Klunk, W. J. Koroshetz, J. J. Manly, R. Mayeux, R. C. Mohs, J. C. Morris, M. N. Rossor, P. Scheltens, M. C. Carrillo, B. Thies, S. Weintraub, and C. H. Phelps. 2011. 'The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease', *Alzheimers Dement*, 7: 263-9.
- Monson, N. L., S. J. Ireland, A. J. Ligocki, D. Chen, W. H. Rounds, M. Li, R. M. Huebinger, C. Munro Cullum, B. M. Greenberg, A. M. Stowe, and R. Zhang. 2014. 'Elevated CNS inflammation in patients with preclinical Alzheimer's disease', *J Cereb Blood Flow Metab*, 34: 30-3.
- Morris, R. G., P. Garrud, J. N. Rawlins, and J. O'Keefe. 1982. 'Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions', *Nature*, 297: 681-3.

- Mosconi, L., W. H. Tsui, K. Herholz, A. Pupi, A. Drzezga, G. Lucignani, E. M. Reiman, V. Holthoff, E. Kalbe, S. Sorbi, J. Diehl-Schmid, R. Perneczky, F. Clerici, R. Caselli, B. Beuthien-Baumann, A. Kurz, S. Minoshima, and M. J. de Leon. 2008. 'Multicenter standardized 18F-FDG PET diagnosis of mild cognitive impairment, Alzheimer's disease, and other dementias', *J Nucl Med*, 49: 390-8.
- Nelson, P. T., I. Alafuzoff, E. H. Bigio, C. Bouras, H. Braak, N. J. Cairns, R. J. Castellani, B. J. Crain, P. Davies, K. Del Tredici, C. Duyckaerts, M. P. Frosch, V. Haroutunian, P. R. Hof, C. M. Hulette, B. T. Hyman, T. Iwatsubo, K. A. Jellinger, G. A. Jicha, E. Kovari, W. A. Kukull, J. B. Leverenz, S. Love, I. R. Mackenzie, D. M. Mann, E. Masliah, A. C. McKee, T. J. Montine, J. C. Morris, J. A. Schneider, J. A. Sonnen, D. R. Thal, J. Q. Trojanowski, J. C. Troncoso, T. Wisniewski, R. L. Woltjer, and T. G. Beach. 2012. 'Correlation of Alzheimer disease neuropathologic changes with cognitive status: a review of the literature', *J Neuropathol Exp Neurol*, 71: 362-81.
- Ossenkoppele, R., D. R. Schonhaut, M. Scholl, S. N. Lockhart, N. Ayakta, S. L. Baker, J. P. O'Neil, M. Janabi, A. Lazaris, A. Cantwell, J. Vogel, M. Santos, Z. A. Miller, B. M. Bettcher, K. A. Vossell, J. H. Kramer, M. L. Gorno-Tempini, B. L. Miller, W. J. Jagust, and G. D. Rabinovici. 2016. 'Tau PET patterns mirror clinical and neuroanatomical variability in Alzheimer's disease', *Brain*, 139: 1551-67.
- Overhoff, F., M. Brendel, A. Jaworska, V. Korzhova, A. Delker, F. Probst, C. Focke, F. J. Gildehaus, J. Carlsen, K. Baumann, C. Haass, P. Bartenstein, J. Herms, and A. Rominger. 2016. 'Automated Spatial Brain Normalization and Hindbrain White Matter Reference Tissue Give Improved [(18)F]-Florbetaben PET Quantitation in Alzheimer's Model Mice', *Front Neurosci*, 10: 45.
- Ozmen, L., A. Albientz, C. Czech, and H. Jacobsen. 2009. 'Expression of transgenic APP mRNA is the key determinant for beta-amyloid deposition in PS2APP transgenic mice', *Neurodegener Dis*, 6: 29-36.
- Papadopoulos, V., M. Baraldi, T. R. Guilarte, T. B. Knudsen, J. J. Lacapere, P. Lindemann, M. D. Norenberg, D. Nutt, A. Weizman, M. R. Zhang, and M. Gavish. 2006. 'Translocator protein (18kDa): new nomenclature for the peripheral-type benzodiazepine receptor based on its structure and molecular function', *Trends Pharmacol Sci*, 27: 402-9.
- Poisnel, G., A. S. Herard, N. El Tannir El Tayara, E. Bourrin, A. Volk, F. Kober, B. Delatour, T. Delzescaux, T. Debeir, T. Rooney, J. Benavides, P. Hantraye, and M. Dhenain. 2012. 'Increased regional cerebral glucose uptake in an APP/PS1 model of Alzheimer's disease', *Neurobiol Aging*, 33: 1995-2005.
- Prince M, Wimo A, Guerchet M, Ali GC, Wu YT, Prina M. 2015. "World Alzheimer report 2015—the global impact of dementia: an analysis of prevalence, incidence, cost and trends." In *London: Alzheimer's Disease International*.
- Richards, J. G., G. A. Higgins, A. M. Ouagazzal, L. Ozmen, J. N. Kew, B. Bohrmann, P. Malherbe, M. Brockhaus, H. Loetscher, C. Czech, G. Huber, H. Bluethmann, H. Jacobsen, and J. A. Kemp. 2003. 'PS2APP transgenic mice, coexpressing hPS2mut and hAPPswe, show age-related cognitive deficits associated with discrete brain amyloid deposition and inflammation', *J Neurosci*, 23: 8989-9003.
- Rupprecht, R., V. Papadopoulos, G. Rammes, T. C. Baghai, J. Fan, N. Akula, G. Groyer, D. Adams, and M. Schumacher. 2010. 'Translocator protein (18 kDa) (TSPO) as a therapeutic target for neurological and psychiatric disorders', *Nat Rev Drug Discov*, 9: 971-88.
- Sabri, O., M. N. Sabbagh, J. Seibyl, H. Barthel, H. Akatsu, Y. Ouchi, K. Senda, S. Murayama, K. Ishii, M. Takao, T. G. Beach, C. C. Rowe, J. B. Leverenz, B. Ghetti, J. W. Ironside, A. M. Catafau, A. W. Stephens, A. Mueller, N. Koglin, A. Hoffmann, K. Roth, C. Reininger, W. J. Schulz-Schaeffer, and Group Florbetaben Phase 3 Study. 2015. 'Florbetaben PET imaging to detect amyloid beta plaques in Alzheimer's disease: phase 3 study', *Alzheimers Dement*, 11: 964-74.
- Saito, T., Y. Matsuba, N. Mihira, J. Takano, P. Nilsson, S. Itohara, N. Iwata, and T. C. Saido. 2014. 'Single App knock-in mouse models of Alzheimer's disease', *Nat Neurosci*, 17: 661-3.

- Sarlus, H., and M. T. Heneka. 2017. 'Microglia in Alzheimer's disease', *J Clin Invest*, 127: 3240-49.
- Sawiak, S. J., N. I. Wood, G. B. Williams, A. J. Morton, and T. A. Carpenter. 2009. 'Voxel-based morphometry in the R6/2 transgenic mouse reveals differences between genotypes not seen with manual 2D morphometry', *Neurobiol Dis*, 33: 20-7.
- Selkoe, D. J., and J. Hardy. 2016. 'The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years', *EMBO Mol Med*, 8: 595-608.
- Sokoloff, L. 1981. 'Localization of functional activity in the central nervous system by measurement of glucose utilization with radioactive deoxyglucose', *J Cereb Blood Flow Metab*, 1: 7-36.
- Song, W. M., and M. Colonna. 2018. 'The identity and function of microglia in neurodegeneration', *Nat Immunol*, 19: 1048-58.
- Teipel, S. J., R. Buchert, J. Thome, H. Hampel, and J. Pahnke. 2011. 'Development of Alzheimer-disease neuroimaging-biomarkers using mouse models with amyloid-precursor protein-transgene expression', *Prog Neurobiol*, 95: 547-56.
- Trotta, T., M. A. Panaro, A. Cianiulli, G. Mori, A. Di Benedetto, and C. Porro. 2018. 'Microglia-derived extracellular vesicles in Alzheimer's Disease: A double-edged sword', *Biochem Pharmacol*, 148: 184-92.
- Venegas, C., S. Kumar, B. S. Franklin, T. Dierkes, R. Brinkschulte, D. Tejera, A. Vieira-Saecker, S. Schwartz, F. Santarelli, M. P. Kummer, A. Griep, E. Gelpi, M. Beilharz, D. Riedel, D. T. Golenbock, M. Geyer, J. Walter, E. Latz, and M. T. Heneka. 2017. 'Microglia-derived ASC specks cross-seed amyloid-beta in Alzheimer's disease', *Nature*, 552: 355-61.
- Villemagne, V. L., S. Burnham, P. Bourgeat, B. Brown, K. A. Ellis, O. Salvado, C. Szoek, S. L. Macaulay, R. Martins, P. Maruff, D. Ames, C. C. Rowe, C. L. Masters, Biomarkers Australian Imaging, and Group Lifestyle Research. 2013. 'Amyloid beta deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer's disease: a prospective cohort study', *Lancet Neurol*, 12: 357-67.
- Webster, S. J., A. D. Bachstetter, and L. J. Van Eldik. 2013. 'Comprehensive behavioral characterization of an APP/PS-1 double knock-in mouse model of Alzheimer's disease', *Alzheimers Res Ther*, 5: 28.
- Weiner, M. W., D. P. Veitch, P. S. Aisen, L. A. Beckett, N. J. Cairns, R. C. Green, D. Harvey, C. R. Jack, Jr., W. Jagust, J. C. Morris, R. C. Petersen, J. Salazar, A. J. Saykin, L. M. Shaw, A. W. Toga, J. Q. Trojanowski, and Initiative Alzheimer's Disease Neuroimaging. 2017. 'The Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative 3: Continued innovation for clinical trial improvement', *Alzheimers Dement*, 13: 561-71.
- Wickstrom, T., A. Clarke, I. Gausemel, E. Horn, K. Jorgensen, I. Khan, D. Mantzilas, T. Rajanayagam, D. J. in 't Veld, and W. Trigg. 2014. 'The development of an automated and GMP compliant FASTlab Synthesis of [(18) F]GE-180; a radiotracer for imaging translocator protein (TSPO)', *J Labelled Comp Radiopharm*, 57: 42-8.
- Wolf, S. A., H. W. Boddeke, and H. Kettenmann. 2017. 'Microglia in Physiology and Disease', *Annu Rev Physiol*, 79: 619-43.
- Yeh, F. L., D. V. Hansen, and M. Sheng. 2017. 'TREM2, Microglia, and Neurodegenerative Diseases', *Trends Mol Med*, 23: 512-33.