

Aus der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin

Klinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. Peter Bartenstein

Validierung der Amyloid-PET Frühphase als Surrogat Parameter für die regionale zerebrale Perfusion bei Patienten mit Kortikobasalem Syndrom

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Julia Katharina Schmitt

aus

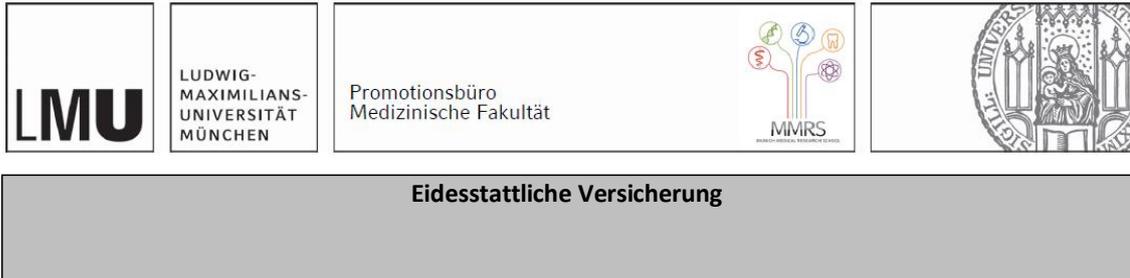
München

2023

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	PD Dr. Matthias Brendel
Mitberichterstatter:	PD Dr. Harun Ilhan PD Dr. Dr. Christian Thieke
Dekan:	Prof. Dr. med. Thomas Gudermann
Tag der mündlichen Prüfung:	15.06.2023

Affidavit



Eidesstattliche Versicherung

Schmitt, Julia Katharina

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

Validierung der Amyloid-PET Frühphase als Surrogat Parameter für die regionale zerebrale Perfusion bei Patienten mit Kortikobasalem Syndrom

selbständig 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.

Julia Schmitt

München, den 23.06.2023

Inhaltsverzeichnis

Affidavit	3
Inhaltsverzeichnis	4
Abkürzungsverzeichnis	6
Publikationsliste	7
1. Beitrag zu den Veröffentlichungen	8
1.1 Beitrag zur Publikation “Dual-Phase β -Amyloid PET Captures Neuronal Injury and Amyloidosis in Corticobasal Syndrome”	8
1.2 Beitrag zur Publikation “Impact of TSPO Receptor Polymorphism on [18 F]GE-180 Binding in Healthy Brain and Pseudo-Reference Regions of Neurooncological and Neurodegenerative Disorders”	8
2. Einleitung	10
2.1 Das kortikobasale Syndrom in der Nuklearmedizin	10
2.1.1 Einführung kortikobasales Syndrom	10
2.1.2 Neuropathologie	11
2.1.3 Bildgebende Verfahren.....	12
2.2 Die Rolle des TSPO-Rezeptor Polymorphismus in der PET-Bildgebung ...	13
3. Inhalt der Arbeiten	18
3.1 Inhalt der Arbeit “Dual-Phase β -Amyloid PET Captures Neuronal Injury and Amyloidosis in Corticobasal Syndrome”	18
3.1.1 Forschungsziel	18
3.1.2 Patientenrekrutierung	19
3.1.3 Analyse	20
3.2 Inhalt der Arbeit “Impact of TSPO Receptor Polymorphism on [18 F]GE-180 Binding in Healthy Brain and Pseudo-Reference Regions of Neurooncological and Neurodegenerative Disorders”	25
3.2.1 Forschungsziel	25
3.2.2 Patientenrekrutierung	26
3.2.3 Analyse	27
4. Zusammenfassung	33
5. Abstract	37
6. Paper I	39
7. Paper II	50
8. Literaturverzeichnis	64

9. Anhang	67
Danksagung	71

Abkürzungsverzeichnis

AD	Alzheimer Demenz
AI	Asymmetrieindex
^{18}F	Fluor-Isotop mit der Massenzahl 18
CBD	Kortikobasale Degeneration
CBL	Cerebellum als Referenzregion der Aktivitätsnormalisierung
CBS	Kortikobasales Syndrom
DaTSCAN	Dopamin Transporter Scan
FDG	Fluordesoxyglucose
GLM	globaler Mittelwert; ganzes Hirn als Referenzregion der Aktivitätsnormalisierung
MRT	Magnetresonanztomographie
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
R	Korrelationskoeffizient
ROI	Region of interest / Zielregion
SUV	standardisierter Uptake-Wert
SUVr	Quotient des standardisierten Uptake-Werts
TSPO	18 kDa Translokator-Protein
VOI	Volume of interest
ZNS	zentrales Nervensystem
(4R)-Tauopathie	(4 Repeat)-Tauopathie

Publikationsliste

Die vorliegende kumulative Dissertation umfasst zwei bereits publizierte Arbeiten:

Schmitt, J., Palleis, C., Sauerbeck, J., Unterrainer, M., Harris, S., Prix, C., Weidinger, E., Katzdobler, S., Wagemann, O., Danek, A., Beyer, L., Rauchmann, B. S., Rominger, A., Simons, M., Bartenstein, P., Pernecky, R., Haass, C., Levin, J., Höglinger, G. U., Brendel, M., ... German Imaging Initiative for Tauopathies (GII4T) (2021). **Dual-Phase β -Amyloid PET Captures Neuronal Injury and Amyloidosis in Corticobasal Syndrome.** *Frontiers in aging neuroscience*, 13, 661284.

<https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.661284>

Vettermann, F. J., Harris, S., **Schmitt, J.**, Unterrainer, M., Lindner, S., Rauchmann, B. S., Palleis, C., Weidinger, E., Beyer, L., Eckenweber, F., Schuster, S., Biechele, G., Ferschmann, C., Milenkovic, V. M., Wetzels, C. H., Rupprecht, R., Janowitz, D., Buerger, K., Pernecky, R., Höglinger, G. U., ... Brendel, M. (2021). **Impact of TSPO Receptor Polymorphism on [18 F]GE-180 Binding in Healthy Brain and Pseudo-Reference Regions of Neurooncological and Neurodegenerative Disorders.** *Life (Basel, Switzerland)*, 11(6), 484. <https://doi.org/10.3390/life11060484>

1. Beitrag zu den Veröffentlichungen

1.1 Beitrag zur Publikation “Dual-Phase β -Amyloid PET Captures Neuronal Injury and Amyloidosis in Corticobasal Syndrome”

Um die Vergleichbarkeit der Verwendung von [^{18}F]flutemetamol und [^{18}F]fluordesoxyglucose (FDG) als PET-Tracer in einem klinischen Umfeld zu analysieren, fand gemeinsam mit dem Betreuer PD Dr. Brendel die Erarbeitung eines grundlegenden Studienkonzepts statt. Die Patientenrekrutierung erfolgte in Zusammenarbeit mit Kolleginnen und Kollegen der Abteilung für Neurologie, Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität München im Rahmen der Activity of Cerebral Networks, Amyloid and Microglia in Alzheimer’s Disease (ActiGliA) Studie.

Hauptbestandteil der Arbeit stellte neben der Rekrutierung und dem Datenbankmanagement die aufwändige Datenaufbereitung mittels der PMOD-Software dar (Version 3.9, PMOD Technologies Ltd., Zürich, Schweiz). Quantitative Ergebnisse der PET-Bildgebung wurden dabei für multiple Zielregionen erhoben. Die anschließende Datenanalyse wurde eigenständig ausgeführt: für eine objektive quantitative Beurteilung wurde eine statistische Auswertung mittels SPSS (V.25, IBM statistics, New York) durchgeführt, gefolgt von der Aufbereitung und Interpretation der Ergebnisse. Ebenso wurde eine visuelle Beurteilung zum Vergleich beider Modalitäten durchgeführt und die Ergebnisse ausgewertet und interpretiert. Dafür wurden die Bilder in digitalem Druckformat in zufälliger Reihenfolge und verblindet den Ärzten der Nuklearmedizin zur Bewertung bereitgestellt. Zuletzt erfolgte das Verfassen des Entwurfs des Papers und die Überarbeitung nach Rücksprache mit dem Betreuer sowie den Ko-Autoren bis zur finalen Version.

1.2 Beitrag zur Publikation “Impact of TSPO Receptor Polymorphism on [^{18}F]GE-180 Binding in Healthy Brain and Pseudo-Reference Regions of Neurooncological and Neurodegenerative Disorders”

In dieser zweiten Arbeit - die ein sich mit der ersten Veröffentlichung überschneidendes Patientenkollektiv der ActiGliA Kohorte beinhaltet - wurde die Rolle der genetisch bedingten individuellen Varianz der Bindungsaffinität des mitochondrialen Transmembranproteins TSPO für das Aktivitätssignal in der TSPO-PET-Bildgebung untersucht. Hier

bestand der persönliche Beitrag darin, das Team bei der praktischen Durchführung der PET-Scans und dem Datenbankmanagement zu unterstützen sowie Teile der PET-Datenanalyse zu übernehmen. Dazu wurden manuell in der zuvor genannten PMOD-Software entsprechende Hirnregionen definiert und die Aufnahmewerte der Traceraktivität je nach Bindungsstatus (niedrige, mittlere, hohe Affinität) analysiert.

Schließlich folgte die Interpretation der erhobenen Daten und die kritische Auseinandersetzung mit dem Entwurf im Austausch mit den Ko-Autoren.

2. Einleitung

2.1 Das kortikobasale Syndrom in der Nuklearmedizin

2.1.1 Einführung kortikobasales Syndrom

Einhergehend mit einer immer älter werdenden Gesellschaftsstruktur werden neurodegenerative Erkrankungen in den kommenden Jahrzehnten eine gravierende sozioökonomische Herausforderung darstellen und sind deshalb schon lange ein wichtiges Thema weltweiter Forschung in Wissenschaft und Industrie (Bourdenx et al., 2017). Die Gesamtzahl von Patienten mit einer neurodegenerativen Erkrankung in Deutschland wird aufgrund des demographischen Wandels Schätzungen zufolge von etwa zwei Millionen heute bis zum Jahr 2050 um die Hälfte ansteigen (Volk & Kubisch, 2018). So litten im Jahr 2010 rund 30 Millionen Menschen weltweit an der weit verbreiteten Alzheimer-Demenz, diese Zahl wird bis 2050 voraussichtlich dramatisch auf etwa 106,2 Millionen ansteigen (Si, Sun, & Wang, 2021). Genetische Risikofaktoren sind praktisch bei allen neurodegenerativen Erkrankungen bekannt, wobei deren Bedeutung für Diagnostik und Familienberatung je nach Krankheitsentität variiert (Volk & Kubisch, 2018). Dabei kann der Verlust der physiologischen Mikrogliafunktion die Ausbreitung neurodegenerativer Erkrankungen fördern (Shahidehpour et al., 2021). In Anbetracht der starken Zunahme der Fallzahlen sind eine Untersuchung der Ätiologie, der Risiken und möglicher Früherkennungsmethoden sowie die Krankheitsprävention und ein effizientes Management für die betroffenen Patienten essenziell und stehen darum vermehrt im Zentrum der Aufmerksamkeit (Reith, 2018).

Als neurodegenerative Erkrankungen des Syndromkreises Parkinson haben die atypischen Parkinson-Syndrome wie die kortikobasale Degeneration, die progressive supranukleäre Blickparese, die Multisystematrophie oder die Lewy-Body-Demenz die abnorme Ablagerung von Proteinstrukturen gemeinsam (Strzelczyk, Möller, Stamelou, Matusch, & Oertel, 2008). Klinisch steht eine Kernsymptomatik aus Rigor, Tremor, Bradykinese und posturaler Instabilität im Vordergrund. Sie sind dabei im Vergleich zur Parkinson-Krankheit durch einen maligneren Verlauf und ein schlechteres Ansprechen auf medikamentöse Therapien gekennzeichnet (Luschnig, 2021). Trotz intensiver Forschung gibt es jedoch aktuell noch für keine dieser Krankheiten eine etablierte kausale Therapie, die vorhandenen symptomatischen Behandlungen sind in ihrer Wirkung limitiert und nur wenig evidenzbasiert (Levin, Kurz, Arzberger, Giese, & Höglinger, 2016a; Levin, Nübling, Giese, Janzen, & Oertel, 2021).

Wichtig ist hierbei, nomenklatorisch das kortikobasale Syndrom (CBS) von der kortikobasalen Degeneration (CBD) zu unterscheiden. Lange wurden die Begriffe kortikobasale Degeneration (CBD), die sich auf die pathologische Entität einer spezifischen 4-Wiederholung (4R)-Tauopathie bezieht, und das kortikobasale Syndrom (CBS), das sich auf den Phänotyp der CBD - aber auch anderer Pathologien - bezieht, synonym verwendet und haben so für Unsicherheit im klinischen Sprachgebrauch gesorgt (Constantinides, Paraskevas, Paraskevas, Stefanis, & Kapaki, 2019).

Mit einer Prävalenz von etwa 0.62–0.92 pro 100 000 ist die CBD eine seltene neurodegenerative Störung (Coughlin, Dickson, Josephs, & Litvan, 2021) mit Beginn nach dem 60. Lebensjahr, die mit einer Degeneration der frontalen und temporalen Lappen des Gehirns verbunden ist. Sie manifestiert sich typischerweise in der oben bereits genannten Kernsymptomatik, sowie in einer kognitiven Störung, ideomotorischer und ideatorischer Apraxie, kortikalen sensorischen Defiziten (Astereognosie, Graphanästhesie) und dem sogenannten Alien-Limb-Phänomen, dem Empfinden einer körpereigenen Extremität als fremd. Letzteres kann die Motorik so stark stören, dass die Gliedmaßen „fremdgesteuerte“ Bewegungen auszuführen scheinen. Neben einer verringerten Gangstabilität sind im Verlauf auch das Auftreten von Dysarthrie, Dysphagie, Myoklonus, eine fixierte dystone Armhaltung (Hand-/Unterarmbeugung, Oberarmadduktion), Aktions-/Haltetremor, supranukleäre Blickparese, Blepharospasmus und Demenz mit Symptomen einer frontalen Dysfunktion bekannt (Cummings, 2021; Rohkamm & Kermer, 2017).

Im Unterschied dazu können dem kortikobasalen Syndrom Erscheinungsbilder von Pathologien verschiedener Krankheitsentitäten - einschließlich der kortikobasalen Degeneration - zugrunde liegen. Es ist gekennzeichnet durch einen akinetisch-rigiden Parkinsonismus, ein dystonisches und myoklonisches Bewegungsmuster verbunden mit kortikalen Symptomen wie z.B. einer ideomotorischen Apraxie, Alien-Limb Phänomenen, einer Aphasie oder sensorischer Vernachlässigung. Um die Diagnose eines CBS zu stellen, gibt es viele Kriterien, die sich zum Teil jedoch auch erheblich unterscheiden (Coughlin et al., 2021; Parmera, Rodriguez, Studart Neto, Nitrini, & Brucki, 2016).

2.1.2 Neuropathologie

Neuropathologisch stellen die atypischen Parkinson-Syndrome neurodegenerative Krankheiten mit intrazellulärer Ablagerung amyloidogener Proteine dar. Während die Lewy-Body-Demenz und die Multisystematrophie durch das Protein α -Synuclein gekennzeichnet sind - man spricht also von Synucleinopathien - tritt das Tau-Protein bei den sogenannten Tauopathien sowohl bei der kortikobasalen Degeneration als auch bei der progressiven supranukleären Blickparese auf (Coon & Singer, 2020; Levin et al.,

2021). Auch bei der Lokalisation der abgelagerten Proteine unterscheiden sich die verschiedenen Entitäten: Bei der Lewy-Body-Demenz befinden sich die α -Synuclein-Aggregate in Nervenzellen, bei der Multisystematrophie vorzugsweise in Oligodendrozyten. Bei der kortikobasalen Degeneration und der progressiven supranukleären Blickparese dagegen aggregiert das Tau-Protein nicht nur in Nervenzellen, sondern auch in Oligodendrozyten und Astrozyten; dabei unterscheidet die Morphologie der astrozytären Tau-Ablagerungen die beiden Erkrankungen (Levin et al., 2016a). Die verschiedenen Krankheitsentitäten befallen typischerweise charakteristische Hirnregionen. Die Fehlfaltung und Aggregation dieser Proteine können dabei eine Degeneration der betroffenen Zellpopulationen bewirken; auch die Ausbreitung in anatomisch verbundene Hirnregionen und damit ein weiteres Fortschreiten der Krankheit kann daraus resultieren. (Levin, Kurz, Arzberger, Giese, & Höglinger, 2016b; Lim & Yue, 2015). Um das Fortschreiten dieser bisher unheilbaren Krankheiten durch neue Ansatzpunkte kausal ausgerichteter Therapien aufzuhalten, ist ein besseres Verständnis der Pathophysiologie essenziell (Levin et al., 2016b).

Patienten mit klinischem CBS zeigen eine hohe Variabilität der zugrunde liegenden Proteinfehlfaltung, so können beispielsweise 4R-Tauopathien, eine TDP43-positive frontotemporale Demenz, sowie die Erkrankung mit Lewy-Körpern und die Alzheimer-Krankheit (AD) ursächlich sein. Die größte autopsiekontrollierte Studie fand als ursächliche Pathologie in 35 % der Fälle eine kortikobasale Degeneration (CBD), gefolgt von AD in 23 %, progressiver supranukleärer Parese in 13 % und TDP43-positive frontotemporale lobäre Degeneration in 13 % der untersuchten Fälle (Lee et al., 2011). Während also die Mehrheit der CBS-Patienten durch eine 4R-Tauopathie gekennzeichnet ist, gibt es auch eine relevante Patientenzahl mit gleichzeitiger 3/4R Tau und β -Amyloid ($A\beta$) Pathologie (Rosler et al., 2019). Hinsichtlich der Häufigkeit einer ursächlichen AD-Neuropathologie bei klinischem CBS variieren die Angaben mit Auftretenswahrscheinlichkeiten zwischen 10 und 50 % deutlich zwischen verschiedenen Autopsiekohorten (Parmera et al., 2016).

2.1.3 Bildgebende Verfahren

Für alle genannten Erkrankungen werden zur Diagnosestellung klinische, bildgebende und nuklearmedizinische Befunde herangezogen. Dabei wird als bildgebendes Verfahren die Durchführung einer zerebralen MRT-Untersuchung bei Krankheitsbeginn grundsätzlich empfohlen, um strukturelle Ursachen für die Krankheitssymptome auszuschließen und typische Frühzeichen für das Vorliegen einer MSA, PSP und auch CBD zu erkennen. Eine häufig eingesetzte nuklearmedizinische Methode ist die Positronen-Emissionstomographie (PET), die dabei helfen kann, die oben genannten degenerativen Parkinson-Syndrome voneinander abzugrenzen (Luschnig 2021).

In der PET haben neben onkologischen vor allem auch neurologische Fragestellungen in Deutschland seit Jahren einen festen Stellenwert (Zhu & Zhu, 2019). Für die Durchführung der PET werden Positronenstrahler wie ^{11}C , ^{14}O oder ^{18}F als Tracer verwendet; diese radioaktiven Markierungsstoffe müssen in einem Zyklotron aufwendig produziert werden, dabei muss sich das Gerät wegen der Kurzlebigkeit der Tracer in der Nähe (bzw. für ^{18}F in 3-4h Entfernung) des PET-Gerätes befinden. Je nach verwendetem PET-Tracer können regionaler Blutfluss, diverse Rezeptoren, Aminosäuretransport, zerebraler Glukosemetabolismus, fibrilläres Beta-Amyloid (A β -Plaques) oder Tau-Ablagerungen dargestellt werden (Mattle & Fischer, 2021).

Aufgrund eines wachsenden pathophysiologischen Verständnisses und somit der Identifikation neuer möglicher Zielstrukturen für Tracer konnten die letzten Jahre viele neue Substanzen erprobt werden. Einige der Tracer haben sich beispielsweise bereits bei der Diagnostik von Demenzerkrankungen, Bewegungsstörungen, Epilepsien und Hirntumoren etabliert, darüber hinaus werden kontinuierlich Forschungstracer für die klinische Anwendung in spezialisierten Zentren erforscht (Beyer & Rominger, 2018). So konnte festgestellt werden, dass der Tracer [^{18}F]flutemetamol der A β -PET-Bildgebung gut geeignet ist, um in vivo fibrilläre A β Plaques zu erkennen. FDG kann durch das Aufzeigen eines verminderten Glukosestoffwechsels metabolische Defizite nachweisen und so neuronale Schäden darstellen (Beyer & Rominger, 2018).

Da bei neurodegenerativen Erkrankungen bisher eine definitive Diagnosestellung nur post mortem möglich ist, ist dieser Forschungsbereich der neuen Biomarker von besonders großem Interesse und kann Patienten zukünftig ggf. eine spezialisierte Therapie ermöglichen. Diese Tracer können die zugrunde liegenden pathologischen Prozesse visuell objektiv darstellen und machen es so möglich, Therapien gegen Tau und Alzheimer-Proteine, welche derzeit entwickelt und klinisch getestet werden, zielgerichtet einzusetzen. Dabei ist die Feststellung der Pathologie unabdingbar (Parmera et al., 2016).

2.2 Die Rolle des TSPO-Rezeptor Polymorphismus in der PET-Bildgebung

Chronische mikrogliale Neuroinflammation bei neurodegenerativen Erkrankungen

Bei einer Reihe von neurodegenerativen Erkrankungen deuten neue Erkenntnisse darauf hin, dass sie mit einer Neuroinflammation in Verbindung stehen. Dabei bezieht sich der Begriff Neuroinflammation im allgemeinen Sprachgebrauch auf eine anhaltende

chronische Schädigung mit neurodestruktiven Auswirkungen und nicht auf akute neuronale Ereignisse - wie beispielsweise einem Schädel-Hirn-Trauma - die ebenfalls zu einer Mikroglia-Aktivierung führen können (Streit, Mrak, & Griffin, 2004). Die Mikroglia ist dabei zusammen mit Astrozyten ausschlaggebend für die angeborene Immunität im ZNS. Dabei stellen die residenten Glia-Zellen des Zentralnervensystems zwischen fünf und 20 % der gesamten Gliazellmasse. Sie besitzen die Fähigkeit - wie ihre Verwandten außerhalb des ZNS, die Makrophagen - sich im Gehirn fortzubewegen und dabei verschiedene Aufgaben zu übernehmen, da auch sie der myeloischen Zellreihe zugeordnet werden. Bereits in der Embryonalperiode spielen sie eine Rolle, des Weiteren sind sie an der Modulation von physiologischen und pathologischen Prozessen beteiligt und mitverantwortlich für die Regeneration von Defekten (Brück & Daniel, 2019). Als weitere wichtige Funktion ist die frühe Kontrolle der Erregerreplikation zu nennen, die für die direkte Verstärkung und Aktivierung des adaptiven Immunsystems wichtig ist; dies ist für die Erkennung und Beseitigung von Erregern erforderlich (Streit et al., 2004; Trudler, Farfara, & Frenkel, 2010). Durch diese Eigenschaften tragen Mikroglia zur Homöostase im zentralen Nervensystem bei (Brück & Daniel, 2019).

Neurodegenerative Erkrankungen wie die Alzheimer-Krankheit oder die Parkinson-Krankheit gehen mit einer anhaltenden mikroglialen und astrozytären Aktivierung einher. Dabei führt die chronische Aktivierung der Mikroglia als hirneigenes angeborenes Immunsystem durch eine Entzündungsreaktion zu pathologischen Folgerscheinungen, wie der neuronalen Dysfunktion oder Schädigung. Somit trägt die neuronale Inflammation wiederum zum Fortschreiten dieser Erkrankungen bei. Im ZNS von Patienten mit neurodegenerativen Erkrankungen weisen zahlreiche Hinweise darauf hin, dass hier viele Substanzen vorhanden sind, die an der Förderung von Entzündungsprozessen beteiligt sind. Der weitaus größte Teil dieser Belege bezieht sich auf Studien zur Alzheimer-Krankheit, bei der die krankheitstypischen Amyloidablagerungen im Gehirn eine Entzündung auslösen (Streit et al., 2004). Denn die A β -Komplexe der Plaques können das Komplementprotein C1q binden und damit eine Antikörper-unabhängige Komplementreaktion bewirken. Zudem werden in der Umgebung des Amyloids die Mikrogliazellen aktiviert, vermutlich über eine Bindung von A β an Toll-like-Rezeptoren, die dafür zuständig sind, konservierte pathogen-assoziierte molekulare Muster von Bakterien, Viren, Hefen, Pilzen und Parasiten zu erkennen (Trudler et al., 2010). Die von der Mikroglia ausgeschütteten Proteasen, Sauerstoffradikale u. a. Stoffe, die für eine Entzündung charakteristisch sind, tragen dabei vermutlich zum Untergang der Neurone bei (Rassow, 2016; Streit et al., 2004).

Entwicklung von TSPO-Liganden

Um eine Neuroinflammation nachzuweisen wurden Radiotracer entwickelt, welche sich als nichtinvasive molekulare Bildgebungsinstrumente zur Beurteilung bewährt haben. In den letzten Jahren wurden mehrere neuroinflammatorische Targets identifiziert und entsprechende Radioliganden etabliert. Das Translokatorprotein 18 kDa (TSPO) hat sich dabei als Goldstandard für das beste PET-Imaging-Target für die Detektion neuroinflammatorischer Ereignisse bei neurodegenerativen Erkrankungen erwiesen (Alam, Lee, & Lee, 2017).

TSPO ist ein kernkodiertes Protein, das in Geweben hauptsächlich an der äußeren Mitochondrienmembran lokalisiert ist. Es war früher bekannt unter dem Namen Benzodiazepin-Rezeptor vom peripheren Typ, da es erstmals als Rezeptor für Benzodiazepin-Medikamente in peripheren Geweben entdeckt wurde (Fan, Lindemann, GJ Feuilley, & Papadopoulos, 2012). Das Protein spielt vermutlich eine Schlüsselrolle bei dem Cholesterintransport in die Mitochondrien und somit bei dem limitierenden Schritt der Steroidhormonsynthese, es ist aber auch bei verschiedenen anderen intrazellulären Prozessen beteiligt (Batarseh & Papadopoulos, 2010). So wird es bei metastasierenden Krebserkrankungen sowie bei entzündlichen und neurologischen Erkrankungen wie der Alzheimer-Krankheit und der Parkinson-Krankheit stark exprimiert. Der komplexe Mechanismus, durch den seine Expression reguliert wird, ist jedoch noch nicht vollständig verstanden (Batarseh & Papadopoulos, 2010; Li, Liu, Zheng, Garavito, & Ferguson-Miller, 2015).

Mitte der 1980er Jahre begann mit den kurzlebigen Positronenemitter-Isotopen ^{11}C und ^{18}F die Entwicklung neuartiger Liganden, die das Translokatorprotein markieren können; so wurden eine Reihe dieser radiomarkierten TSPO-Liganden für die in-vivo-Bildgebung entwickelt (Alam et al., 2017), deren Fortschritt im Folgenden kurz umrissen wird.

Ro5-4864 war der erste Ligand, der den peripheren vom zentralen Benzodiazepin-Rezeptor (CBR) unterscheiden konnte. Die ersten PET-Studien mit $[^{11}\text{C}]$ -Ro5-4864 bei Patienten mit Hirntumoren zeigten jedoch zu Beginn aufgrund der unspezifischen Bindung und der geringen in-vitro-Affinität im menschlichen Hirngewebe keine überzeugenden Ergebnisse (Junck et al., 1989). Das alternativ an $[^3\text{H}]$ gebundene Ro5-4864 konnte ebenfalls nicht die Maßstäbe eines zuverlässigen Tracers erfüllen, da sich die Bindungsaffinität von $[^3\text{H}]$ -Ro5-4864 sowohl temperatur- als auch speziesabhängig darstellte. 1984 wurde als ein weiterer Tracer der ersten Generation PK11195 entwickelt und stellt dabei die erste nicht-benzodiazepinartige Verbindung dar, die durch das Isotop ^{11}C radioaktiv markiert wurde; mit seiner hohen Affinität und Selektivität zu TSPO hat er sich seitdem in einer Reihe von Tier- und klinischen Studien bewährt, aber auch dieser Tracer

ist in seiner Anwendung limitiert: Er zeigt ein schlechtes Signal-Rausch-Verhältnis (Owen et al., 2011) und eine geringe Spezifität bei der PET-Bildgebung wegen seiner relativ geringen Rezeptoraffinität und der Tendenz, unspezifische Bindungen einzugehen. Ein weiteres Problem in der klinischen Anwendung ist unter anderem die sehr kurze Halbwertszeit, die ^{11}C im Vergleich zu ^{18}F aufweist (Alam et al., 2017).

Um diese Nachteile zu verbessern, wurden TSPO-Liganden der zweiten Generation mit überlegenen Bildgebungseigenschaften entwickelt, die sich durch höhere Affinität und geringere Lipophilie in einem verbesserten Signal-Rausch-Verhältnis auszeichneten (Edison, Donat, & Sastre, 2018). Allerdings zeigte sich, dass ihre Bindungspotenziale aufgrund der genetisch bedingten individuellen Varianz der Bindungsaffinitäten für TSPO stark schwanken:

Das TSPO-Gen ist im menschlichen Genom auf dem Chromosom 22q13.31 in einer einzigen Kopie lokalisiert und kodiert 169 Aminosäuren. Von besonderem Interesse ist dabei ein menschlicher Einzelnukleotid-Polymorphismus rs6971 in einer Region von TSPO, die evolutionsgeschichtlich von Bakterien bis zu Säugetieren hoch konserviert ist und Alanin durch Threonin (Ala147Thr) ersetzt. Die Mutation wird mit einem verminderten Cholesterinstoffwechsel und einer erhöhten Inzidenz von Angstzuständen beim Menschen in Verbindung gebracht (Li et al., 2015). Allerdings wirkt sich die genetisch bedingte individuelle Varianz auch auf eine veränderte Ligandenbindung an TSPO in der PET-Bildgebung aus und führt abhängig von Homo- oder Heterozygotie des Allels zu drei Mustern der Bindungsaffinität: hochaffine Binder (HABs), mittelaaffine Binder (MABs) und niedrigaffine Binder (LABs) (Li et al., 2015; Vettermann et al., 2021). Durch diese Tatsache unterschätzen PET-Signale von Patienten mit MAB- oder LAB-Status die TSPO-Expression, so dass zur Relativierung der TSPO-Bindungsstatus genetisch bestimmt werden muss. Diese Empfindlichkeit der zweiten Generation der Tracer auf die verschiedenen Polymorphismen im TSPO-Gen trieb die Entwicklung eines weiteren neuartigen Tracers voran.

Die trizyklische Verbindung des neuen Tracers [^{18}F]GE-180 zeigte in vorausgehenden Studien unserer Forschungsgruppe sowohl bei neuroonkologischen als auch neurodegenerativen und immunologischen Erkrankungen bereits vielversprechende Ergebnisse (Albert et al., 2017; Marcus Unterrainer et al., 2019; M. Unterrainer et al., 2020). Seine Fähigkeit, selektiv und mit hoher Affinität an TSPO zu binden, ist wichtig für die Beurteilung des neuroinflammatorischen Ausmaßes von neurodegenerativen Erkrankungen, wobei das Signal-Rausch-Verhältnis der TSPO-Bildgebung deutlich besser und das unspezifische Signal geringer ist als beim derzeitigen Goldstandard [^{11}C]PK11195. So spiegelte die [^{18}F]GE-180-Bildgebung bei Patienten mit einer klinischen Diagnose von 4R-Tauopathien die erwartete Topologie der Mikrogliaaktivierung genau wider und

zeigte eine frühe Detektion im Krankheitsverlauf (Palleis et al., 2021). Allerdings ist die klinische Relevanz des rs6971-Polymorphismus für unterschiedliche Bindungsaffinitäten für [¹⁸F]GE-180 noch nicht systematisch untersucht worden.

3. Inhalt der Arbeiten

3.1 Inhalt der Arbeit “Dual-Phase β -Amyloid PET Captures Neuronal Injury and Amyloidosis in Corticobasal Syndrome”

3.1.1 Forschungsziel

Es ist bekannt, dass der Tracer [^{18}F]flutemetamol in der A β -PET-Bildgebung gut geeignet ist, um in vivo fibrilläre A β -Plaques zu erkennen. Die FDG-PET dagegen kann verwendet werden, um durch den Nachweis eines beeinträchtigten cerebralen Glukosestoffwechsels metabolische Defizite aufzuzeigen und dadurch auf neuronale Schäden hinzuweisen. Wenn nun die Früh- und somit Perfusionsphase der [^{18}F]flutemetamol A β -PET bei neurodegenerativen Erkrankungen ebenso wie die neuronale Schäden zuverlässig erkennen könnte, wäre dies eine ebenbürtige Alternative zu FDG-PET und ein potenzieller Ersatz für diese Untersuchung. Dies ist insofern von wissenschaftlicher Bedeutung, als dass bei den Patienten mit einer Untersuchung zwei Informationsgewinne erzielt werden können.

Mehrere aktuelle Studien haben schon vergleichbare Reduktionen der A β -PET-Perfusion und metabolische Defizite bei FDG-PET gezeigt, dies ist bislang jedoch noch nicht für die subkortikalen Regionen getestet worden. Daher führten wir die Studie bei Patienten mit CBS durch, da bei dieser Erkrankung sowohl kortikale als auch subkortikale Regionen betroffen sind. In einer vorherigen Studie konnte bereits nicht nur eine starke quantitative Korrelation zwischen ^{18}F -Florbetaben-Perfusion und dem Glukosestoffwechsel, sondern zusätzlich auch eine hervorragende Übereinstimmung der visuellen Interpretation der Hypoperfusion und des Hypometabolismus von Akquisitionen der Frühphase gezeigt werden. Um dies zu bestätigen, analysierten wir semiquantitative Regionalwerte und Asymmetrieindizes (AI) zwischen der Frühphasen-A β -PET mit [^{18}F]flutemetamol als Tracer und der FDG-PET-Untersuchung. Da das kortikobasale Syndrom - wie zuvor beschrieben - unter anderem durch einen asymmetrischen Befall gekennzeichnet ist, wurde als zweiter Untersuchungspunkt analysiert, ob sich dieser asymmetrische Charakter auch in der PET-Bildgebung widerspiegelt und quantitativ erfasst werden kann.

3.1.2 Patientenrekrutierung

Patienten mit der Diagnose eines klinisch möglichen oder wahrscheinlichen CBS nach den aktuellen MDS-Diagnosekriterien (Höglinger et al., 2017) oder den Armstrong-Kriterien (Armstrong et al., 2013) wurden im Rahmen der prospektiven Kohortenstudie Activity of Cerebral Networks, Amyloid and Microglia in Aging and Alzheimer's Disease (ActiGliA) in der Abteilung für Neurologie, Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität München rekrutiert. ActiGliA ist eine Studie der Forschungseinrichtung Munich Cluster for Systems Neurology (SyNergy) an der Ludwig-Maximilians-Universität. Sie wurde von der Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität München (Projektnummern 17-755 und 17-569) in Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki genehmigt. Alle Patienten gaben ihre schriftliche Einwilligung. In die Studie aufgenommen wurden alle CBS-Patienten mit einem verfügbaren FDG-PET-Scan, der in der Klinik für Nuklearmedizin mit einem maximalen zeitlichen Abstand von einem Jahr zum darauf folgenden A β -PET-Scan durchgeführt wurde (siehe dazu **Tabelle 1**). Diese anschließende Zweiphasen- ^{18}F flutemetamol-A β -PET-Untersuchung wurde im Rahmen von ActiGliA durchgeführt. Die Krankheitsdauer wurde als die Zeit vom Auftreten der Symptome bis zum mittleren Zeitpunkt der FDG-PET und A β -PET festgesetzt. Die Kohorte war hinsichtlich des Alters (67 ± 6) und des Geschlechts (10 weiblich, 14 männlich) gematcht.

Studien- gruppe	An- zahl (N)	Alter (Jahre \pm SD)	Geschlecht (m/w)	Schweregrad der Erkran- kung, (beurteilt nach PSPRS)	Kognition (MoCA)	Krankheits- dauer (Mo- nate \pm SD)	Zeitliche Diffe- renz zwischen FDG-PET und A β -PET
Alle CBS-Fälle	20	68 ± 9	9 / 11	28 ± 14	20 ± 8	28 ± 22	$4,9 \pm 7,8$
A β -negative CBS-Fälle	5	69 ± 8	3 / 2	29 ± 10	10 ± 5	35 ± 27	$5,7 \pm 7,1$
A β -positive CBS Fälle	15	68 ± 10	6 / 9	28 ± 16	24 ± 4	26 ± 21	$4,7 \pm 8,1$

Tabelle 1: CBS: Kortikobasales Syndrom; m: männlich; w: weiblich; SD: Standardabweichung; A β : β -Amyloid; MoCA: Montreal Cognitive Assessment; PSPRS: Progressive Supranukleäre Palsy Rating Scale.

Basierend auf Schmitt, Palleis et al. 2021

3.1.3 Analyse

Visuelle Auswertung

Zur visuellen Beurteilung der Hypoperfusion bzw. des Hypometabolismus wurden PET Bilder beider Modalitäten in einem digitalen Druckformat in zufälliger Reihenfolge und verblindet für die Bewerter bereitgestellt. Axiale Schnitte durch die Basalganglien (bei maximaler Intensitätsskalierung) dienten der Bewertung des Striatum und des Thalamus. Für die visuelle Beurteilung der subkortikalen Regionen wurden die Leser geschult, eine FDG-PET-Vorlage einer Vergleichskohorte hinzuzuziehen.

Alle axialen Schichten ($n = 4$ je Proband, standardisierte Lokalisation) wurden nach räumlicher Normalisierung mit dem Hermes-Softwarepaket (FDG-PET-Viewer, V4.17, HERMES medical solutions AD, Stockholm, Schweden) extrahiert und in Form von Z-Score-Maps dargestellt, welche voxelbasiert Normabweichungen der Traceranreicherung farbcodiert darstellen.

Zwei Experten und zwei erfahrene Leser bewerteten bezüglich der Modalität die kortikalen Zielregionen in keine (=0), leichte (=1), mittlere (=2) oder schwere (=3) Ausprägung der Betroffenheit. Die Leser wurden geschult, Z-Scores zwischen 2 und 3 als leicht zu bewerten (grüne Darstellung), Z-Scores zwischen 3 und 4 als mittelschwer (gelbe bis orange Darstellung), und Z-Scores zwischen 4 und 5 als schwer (orange bis rote Darstellung), wie bereits in einer vorausgehenden Veröffentlichung unsere Studiengruppe beschrieben (Beyer et al., 2018; Kreuzer et al., 2021). Beispiele für die dreidimensionalen stereotaktischen Oberflächenprojektionen und die axialen Schnitte, die für die visuelle Einschätzung verwendet wurden, sind in **Abbildung 1** und **Abbildung 2** dargestellt.

Die visuelle Beurteilung über den A β -Status wurde von einem einzelnen Experten durchgeführt - verblindet gegenüber der Probandenidentität und dem verwendeten Radiotracer - und führte zu einer binären Entscheidung (positiv oder negativ).

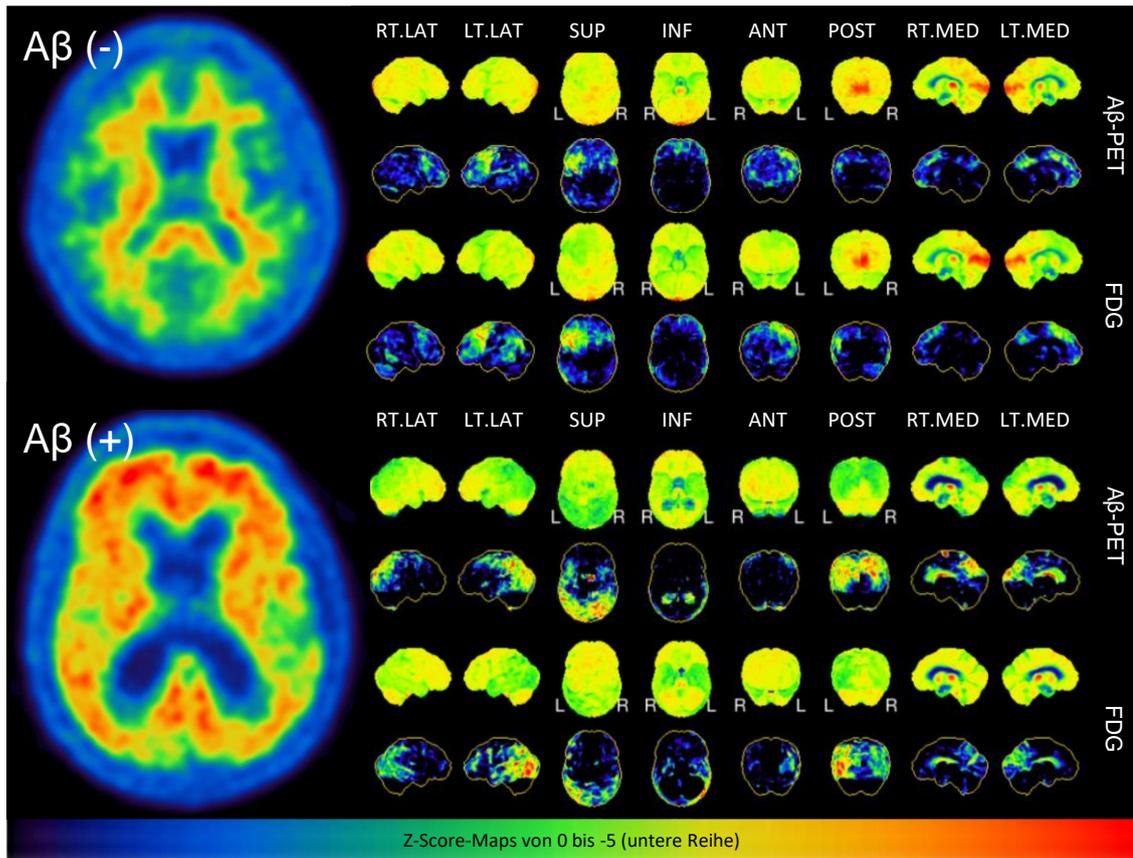


Abbildung 1: Die Bilder zeigen Patientenbeispiele für Aβ-negative und Aβ-positive Fälle. Die linke Seite zeigt eine axiale Schicht des Spätphasen-Aβ-PET, die rechte Seite zeigt 3DSSP-Oberflächenprojektionen für Frühphasen-Aβ-PET und FDG-PET. Die Farbskala der Aβ-PET-Bilder der Spätphase wurde auf 90 % der Signalintensität der Pons festgelegt.

Basierend auf Schmitt, Palleis et al. 2021

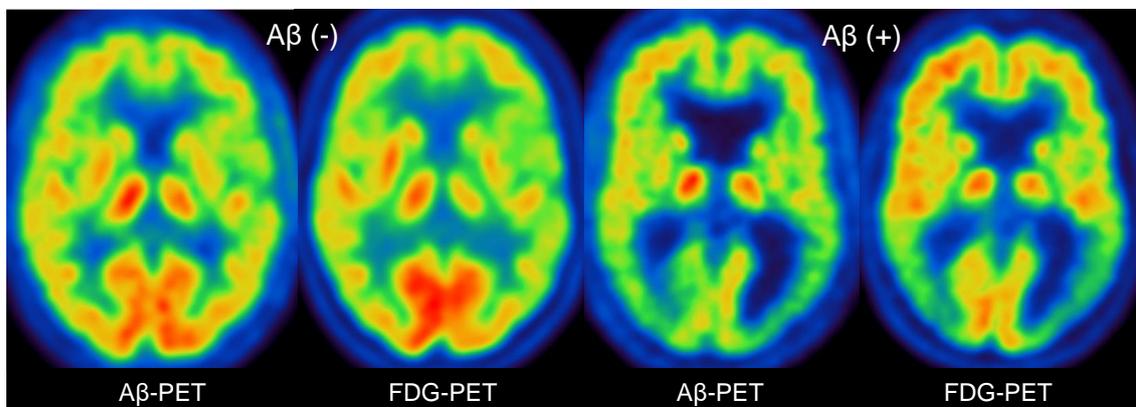


Abbildung 2: Die Bilder in der unteren Reihe zeigen Patientenbeispiele für Aβ-negative und Aβ-positive Fälle. Die Bilder zeigen entsprechende axiale Ebenen für Frühphasen-Aβ-PET und FDG-PET. Die Farbskala der Frühphasen-Aβ-PET- und FDG-PET-Bilder wurde auf die maximale Signalintensität eingestellt.

Basierend auf Schmitt, Palleis et al. 2021

VOI-basierte quantitative Auswertung

Für die räumliche Normalisierung wurden Frühphasen- und Spätphasen-A β -PET-Templates und ein FDG-PET-Template im Raum des Montreal Neurology Institute (MNI) mit Hilfe der PMOD Software (Version 3.9, PMOD Technologies Ltd., Zürich, Schweiz) erstellt.

Zur Template-Erstellung wurden in das NEURO Tool zunächst im ersten Schritt jeweils die [^{18}F]flutemetamol und FDG PET-Bilder von 20 zufällig ausgewählten ActiGliA-Fällen hochgeladen, im zweiten Schritt die dazugehörigen anatomischen (T1-gewichteten) MRT-Bilder. Nach dem Laden der MRT- und PET-Bilder bietet PNEURO eine Zuschneidemöglichkeit an, um überflüssige Bildinformationen außerhalb des Hirns zu minimieren und den Bearbeitungsprozess zu optimieren. Im dritten Schritt erfolgte dann durch das Programm die Berechnung der individuellen gray-matter-map durch Segmentierung des MRT-Bildes in graue Substanz, weiße Substanz und Liquor und ebenfalls die Aufteilung in die Hemisphären. Die gray-matter-map hebt sich hierbei zur visuellen Überprüfung als ein farblisches overlay vom MRT-Bild ab. Beim vierten Schritt wurden im PMOD-Neuro tool nun die PET-Bilder starr an die jeweiligen MRT-Bilder angepasst, fusioniert und die Ausrichtung visuell kontrolliert. Der letzte Berechnungsschritt stellt die räumliche Normalisierung des MRT-Bildes auf ein T1 gewichtetes MRT-Bild im MNI-space dar. So konnten Mittelwerte der einzelnen Bilder nach Normalisierung auf das gesamte Hirn (GBL) gebildet werden, um drei verschiedene PET-templates (für jeweils die Früh- und Spätphase der [^{18}F]flutemetamol A β -PET sowie die FDG-PET) zu generieren.

Alle ausgewerteten PET-Daten dieser Studie wurden anschließend mit dem passenden PET-Templates co-registriert und durch visuelle Beurteilung kontrolliert, wie zuvor beschrieben (Hsiao et al., 2013).

Anschließend wurde der Hammer Atlas angewendet, basierend auf dem Maximum-probability-atlas, der die wahrscheinlichste Position von 83 Hirnbereichen im stereotaktischen MNI Raum kodiert (Montreal Neurologisches Institut). Diese Bereiche wurden auf die Anatomie des Patienten übertragen und die Karte wird als Überlagerung zum MR-Bild visualisiert. Einige der 83 kortikalen und subkortikalen Regionen sind zu den folgenden Regionen -jeweils separat für die linke und rechte Hemisphäre – zusammengefasst: motorischer Cortex, präfrontaler Cortex, parietaler Cortex, Putamen, Thalamus und Pallidum.

Als Referenzregion für die Aktivitätsnormalisierung verwendeten wir sowohl das Kleinhirn (cerebellum=CBL) als auch das ganze Gehirn einschließlich Kleinhirn (=Globaler Mittelwert; GLM). So werden für jede kortikale Hirn-VOI regionale standardisierte Auf-

nahmewerte für CBL oder GLM berechnet, um eine relative quantitative Analyse zu ermöglichen und aktivitätsnormalisierte Bilder zu erzeugen (SUVrCBL- und SUVrGLM-Bilder).

Die Asymmetrie der SUVr wurde für alle Regionen durch Berechnung des Asymmetrieindex ($AI = (L - R)/(L + R)$) (Vernaleken et al., 2007) dargestellt und analysiert. Außerdem wurden FDG- und Frühphasen-A β -PET-Bilder unter Verwendung einer Standard-FDG-PET Normalkohorte (Beyer et al., 2018) mit dreidimensionalen stereotaktischen Oberflächenprojektionen bearbeitet (Minoshima, Frey, Koeppe, Foster, & Kuhl, 1995); die bereits für ¹⁸F-Florbetaben Frühphasenaufnahmen in vorausgehenden Studien angewandt wurden (Daerr et al., 2017).

Für alle statistischen Tests wurde SPSS (V 25, IBM Statistics, New York) verwendet. Für die Berechnung der Normalverteilung der SUVr-Werte wurde der Kolmogorov-Smirnov-Test verwendet. Mittlere regionale SUVr wurden für FDG-PET und Frühphasen-A β -PET berechnet und Korrelationskoeffizienten (R) zwischen den SUVr der beiden Untersuchungsmethoden in allen ausgewählten Regionen, sowie der Asymmetrieindex (AI) von diesen berechnet, wie in **Abbildung 3 und 4 im Anhang** dargestellt ist.

Um das Korrelationsniveau zwischen den beiden möglichen Referenzregionen für die Normalisierung - CBL und GLM - zu vergleichen, wurde ein Paardifferenzierungstest durchgeführt (siehe dazu **Tabelle 2 im Anhang**). Dazu wurde zur Berechnung der Konfidenzintervalle und der Signifikanz der Unterschiede die Fisher z-Transformation angewandt. In der Teilstichprobe von 12 Fällen mit 1-Minuten-Rekonstruktionen der Frühphase der A β -PET wurden die SUVr-Werte der einzelnen Bilder mit den entsprechenden SUVr Werten der FDG-PET korreliert, um die Übereinstimmung zwischen den beiden Modalitäten in Abhängigkeit von der Erfassungszeit der Frühphasen-A β -PET zu untersuchen. Die Interklassenkorrelationskoeffizienten (ICC) wurden berechnet, um die visuelle Übereinstimmung der Einstufung der PET-Bilder beider Modalitäten zu untersuchen - je Modalität in zwei Schnittebenen, um kortikale und subkortikale Regionen abzubilden. Dabei wurde sowohl die Intra-Rater-Reliabilität also auch die Inter-Rater-Reliabilität berücksichtigt. Als eine Variante des ICC wurde dabei mittels SPSS ein two-way-mixed Model angewandt, und die Übereinstimmung mit einem Konfidenzintervall von 95 % und P Werten von < 0.05 geprüft (siehe **Tabelle 3 im Anhang**).

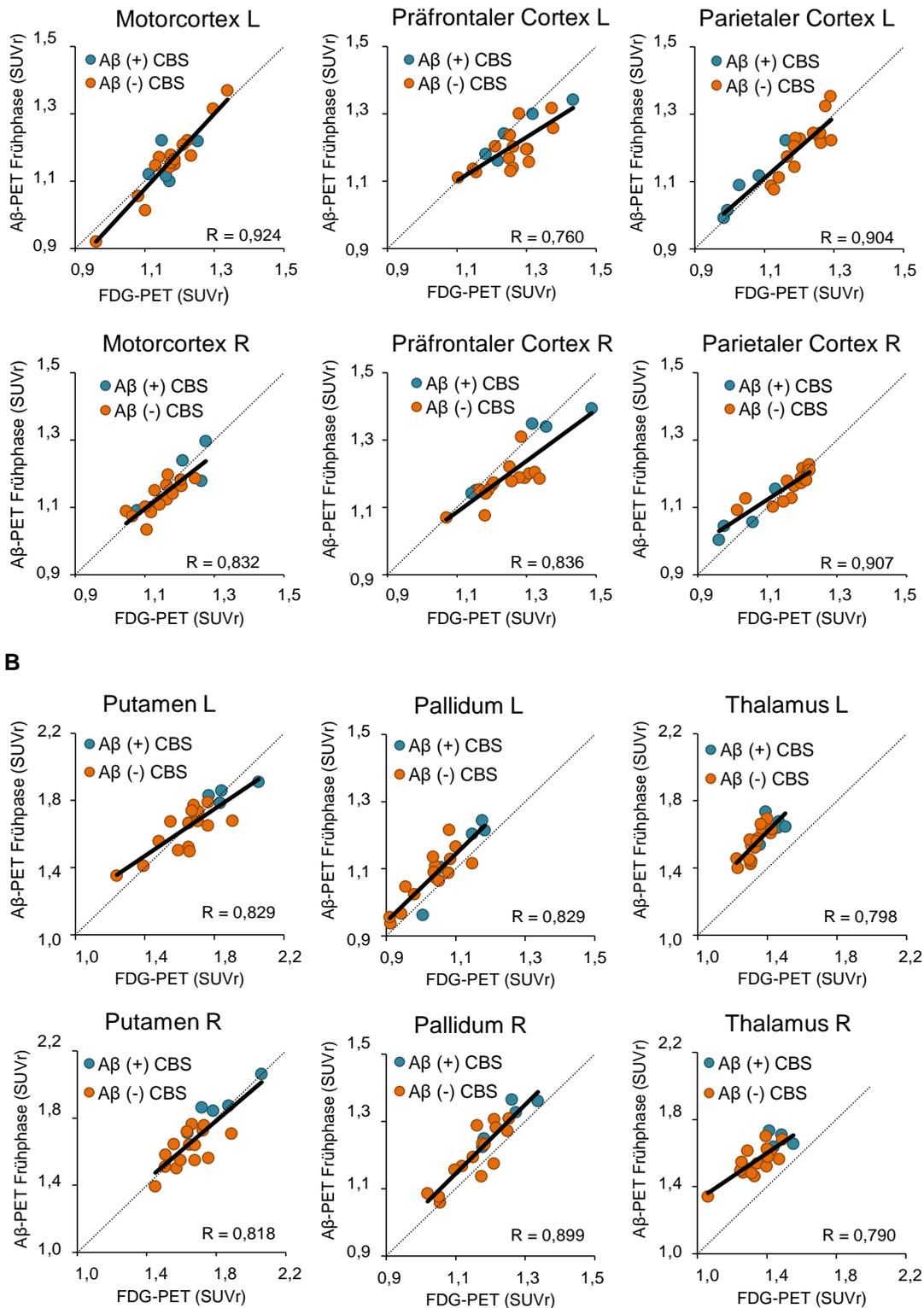


Abbildung 3: Übereinstimmung zwischen Frühphasen-A β -PET und FDG-PET für kortikale (A) und subkortikale Regionen (B). Die Diagramme in den oberen beiden Zeilen zeigen die Korrelation der beiden Modalitäten für alle kortikalen Regionen, die unteren beiden für die subkortikalen Regionen.

Basierend auf Schmitt, Palleis et al.2021

Ergebnisse

Sowohl die VOI-basierte Auswertung der erhobenen Daten als auch der visuelle Vergleich zeigten eindeutige Ergebnisse:

Starke Korrelation fand sich bei den Aufnahmewerten der Frühphase A β -PET und FDG-PET in den kortikalen (mean R = 0,86, range 0,77 - 0,92) und subkortikalen Hirnregionen (mean R = 0,84, range 0,79 - 0,90). Der Aspekt des asymmetrischen Charakters des CBS spiegelte sich in der FDG-PET im motorischen Cortex (Mittelwert |AI| = 2,9%), Parietalen Cortex (Mittelwert |AI| = 2,9%) und Thalamus (Mittelwert |AI| = 5,5%) gut wider. Außerdem korrelierten diese Werte wiederum gut mit dem AI der Frühphase A β -PET (mean R= 0,87, range 0,62 - 0,98). Die Ergebnisse der visuellen Beurteilung von Hypoperfusion und Hypometabolismus durch die Bewerter zeigten ebenfalls eine große Überschneidung unter allen vier Teilnehmern, ohne einen relevanten Unterschied zwischen Experten und erfahrenen Bewertern feststellen zu können. Mittlerer ICC für alle bewerteten Regionen: 0,86 \pm 0,10; 0,85 \pm 0,09; 0,81 \pm 0,12; und 0,75 \pm 0,10; Tabelle 3). Die Übereinstimmung zwischen den Lesern zeigte eine hohe ICC für das Frühphasen-A β -PET (mittlere ICC für alle ausgewerteten Regionen: 0,91 \pm 0,06), die mit der ICC zwischen den Lesern für das FDG-PET vergleichbar war (mittlere ICC für alle ausgewerteten Regionen: 0,92 \pm 0,06). Diesem ähnelte auch ein gemischter ICC, der die vier Bewertungen des Frühphasen-A β -PET und die vier Bewertungen des FDG-PET umfasste (mittlerer ICC für alle ausgewerteten Regionen: 0,93 \pm 0,04).

3.2 Inhalt der Arbeit “Impact of TSPO Receptor Polymorphism on [¹⁸F]GE-180 Binding in Healthy Brain and Pseudo-Reference Regions of Neurooncological and Neurodegenerative Disorders”

3.2.1 Forschungsziel

Wie bereits in der Einleitung beschreiben, ist von Radiotracern der zweiten Generation bekannt, dass diese empfindlich auf den rs6971-Polymorphismus reagieren und somit bei Patienten mit LAB- oder MAB- Status die Expression in der PET-Bildgebung unterschätzen und auf Grund dessen zur Beurteilung eine genetische Bestimmung des TSPO-Bindungsstatus nötig machen. Daher war Ziel der Studie, den Einfluss des rs6971-Polymorphismus auf das in vivo [¹⁸F]GE-180 Signal des neuartigen Radioliganden in einem gesunden Gehirn und in potenziellem Pseudo-Referenzgewebe bei neuroonkologischen und neurodegenerativen Erkrankungen zu analysieren.

3.2.2 Patientenrekrutierung

Von insgesamt 380 Teilnehmern wurden 114 in die Analyse einbezogen. Eine Genotypisierung des Polymorphismus wurde im Universitätsklinikum Regensburg bei allen Probanden durchgeführt, die eine TSPO-PET-Untersuchung in der Abteilung für Nuklearmedizin Medizin des Universitätsklinikums der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) München vorwiesen. Um eine homogene Studienpopulation zu gewährleisten, wurden die Kontrollen und Patienten mit Gliom, Alzheimer-Krankheit (AD) und 4RT zunächst auf LABs untersucht und anschließend alters- und geschlechtsangepasste MABs und HABs für die Kontrollen und alle Krankheitsgruppen einbezogen (siehe Flussdiagramm **Abbildung 5**). In die Gliom-Kohorte wurden Patienten mit neu diagnostiziertem oder später bestätigtem Gliom aufgenommen, in die Diagnosegruppe der 4R-Tauopathie wurden Patienten eingeschlossen, welche die überarbeiteten Armstrong-Kriterien für das wahrscheinliche Vorliegen eines CBS vorwiesen oder alternativ nach den Kriterien der Movement Disorders Society die Kriterien für eine mögliche oder wahrscheinliche PSP oder eine mögliche PSP mit vorherrschender CBS erfüllten. Die AD Spektrum-Patienten mussten die Kriterien für eine typische Alzheimer-Erkrankung erfüllen, mit leichter kognitiver Beeinträchtigung oder Demenz gemäß den Diagnosekriterien des National Institute on Aging und der Alzheimer's Association (Höglinger et al., 2017; Jack et al., 2018).

Die Genotypisierung ergab 12 % LABs (45/380), eingeschlossen in die Auswertung wurden nach Anwendung von Ausschlusskriterien final 24 LABs: 7 Kontrollpersonen, 5 Patienten mit Gliom, 6 Patienten mit einer klinischen Diagnose einer 4R-Tauopathie und 6 Patienten mit der klinischen Diagnose einer Alzheimer-Krankheit. Das Durchschnittsalter betrug 67,9 Jahre (95 % CI: 64,6 - 71,8) mit einem ausgeglichenen Verhältnis von Frauen zu Männern von 12 : 12. Die MAB- und HAB-Patienten wurden durch einen Matching-Algorithmus ausgewählt, der die minimale Anzahl, Alter und Geschlecht berücksichtigte. So wurden 38 MABs einbezogen: 14 Patienten mit Gliom, 8 Patienten mit einer klinischen 4R-Tauopathie, 6 Patienten mit der klinischen Diagnose von AD und 10 Kontrollpatienten mit einem Durchschnittsalter von 70,1 Jahren (95 % CI: 67,2 - 72,9) und einem Verhältnis von Frauen zu Männern von 23 : 15. Des Weiteren wurden 52 HABs mit einem Durchschnittsalter von 70,4 Jahren (95 % CI: 67,9 - 72,8) eingeschlossen, davon 11 Patienten mit Gliom, 21 mit einer klinischen Diagnose einer 4R-Tauopathie, 15 mit einer klinischen AD-Diagnose und 5 Kontrollpersonen; das Verhältnis von Frauen zu Männern betrug 23 : 29. Die diagnosespezifischen Untergruppen unterschieden sich jeweils nicht in Bezug auf Bindungsstatus, Alter oder Geschlecht.

3.2.3 Analyse

TSPO-PET Acquisition und Analyse

Alle TSPO-PET-Scans wurden mit einem Biograph 64 PET/CT-Scanner (Siemens, Erlangen, Deutschland) in der Abteilung für Nuklearmedizin der LMU München durchgeführt, nachdem jeweils ein niedrig dosierter Computertomographie-Scan für die Abschwächungskorrektur durchgeführt wurde. 60-80 min nach der Injektion von 189 ± 12 MBq [^{18}F]GE-180 erhielten alle Patienten und Kontrollen einen statischen Scan (Palleis et al., 2021), für die Bildanalyse wurden die jeweiligen Summationsbilder verwendet (Albert et al., 2017; Marcus Unterrainer et al., 2019). Die Bilder wurden mit einem OSEM3D-Algorithmus rekonstruiert (8 Iterationen, 4 Teilmengen, 4 mm Gauss). Für jeden Scan wurden Standardkorrekturen für Abschwächung, Streuung, Zerfall und Zufallszahlen angewandt.

Bei den neuroonkologischen Patienten mit Gliomen wurde auf der kontralateralen Seite des Tumors eine zusammengefasste VOI, bestehend aus fünf manuell gezeichneten halbmondförmigen ROIs im Frontoparietallappen, einschließlich weißer und grauer Substanz analysiert, wie in **Abbildung 6** zu sehen. Dies erfolgte auf Grundlage der bereits evaluierten und veröffentlichten Methode zur Bewertung der Hintergrundaktivität von [^{18}F]-FET in Gliomen unserer Forschungsgruppe (M. Unterrainer et al., 2017).

Wie ebenfalls in **Abbildung 6** zu erkennen, wurde bei Patienten mit neurodegenerativen Erkrankungen eine manuell gezeichnete Kleinhirn-VOI (HC, 4R-Tauopathie und AD) verwendet, um Amyloid- oder Tau-positive supratentorielle Regionen zu vermeiden. Das Kleinhirn wurde dabei als Pseudo-Referenzgewebe verwendet, da die Krankheitslast dort gering ist und die β -Amyloid- und Tau Pathologie in postmortalen Proben von AD und 4R-Tauopathien wenig ausgeprägt ist. Es wird daher bei der PET-Bildgebung neurodegenerativer Erkrankungen häufig verwendet. Fünf manuell gezeichnete ROIs mit jeweils ~2 ml Volumen wurden halbmondförmig im hinteren Lappen des Kleinhirns gezogen. Dies erfolgte unter Ausschluss des Vermis, des Vorderlappen und des Pedunculus, um einen ausreichenden Abstand zu den Gefäßen zu gewährleisten und um Regionen auszuschließen, die an der Krankheit beteiligt sind. Alle fünf ROIs wurden zu einer einzigen VOI für beide Regionen zusammengeführt (Vettermann et al., 2021).

Zu Vergleichszwecken wurden in allen Gruppen frontoparietale und cerebelläre VOIs gezogen. Dazu wurde jeder Patient fünfmal von einem einzigen Untersucher bewertet, der die Regionen manuell definierte, anschließend wurden die übereinstimmenden Werte gemessen. Gruppenvergleiche der [^{18}F]GE-180 SUVs der Patienten mit Gliom,

4R-Tauopathie oder AD und den Kontrollen sowie innerhalb jeder TSPO-Polymorphis-
musgruppe wurden mittels Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt. Das Signifikanzni-
veau betrug $p < 0,05$ unter Verwendung von Alter und Geschlecht als Kovariaten.

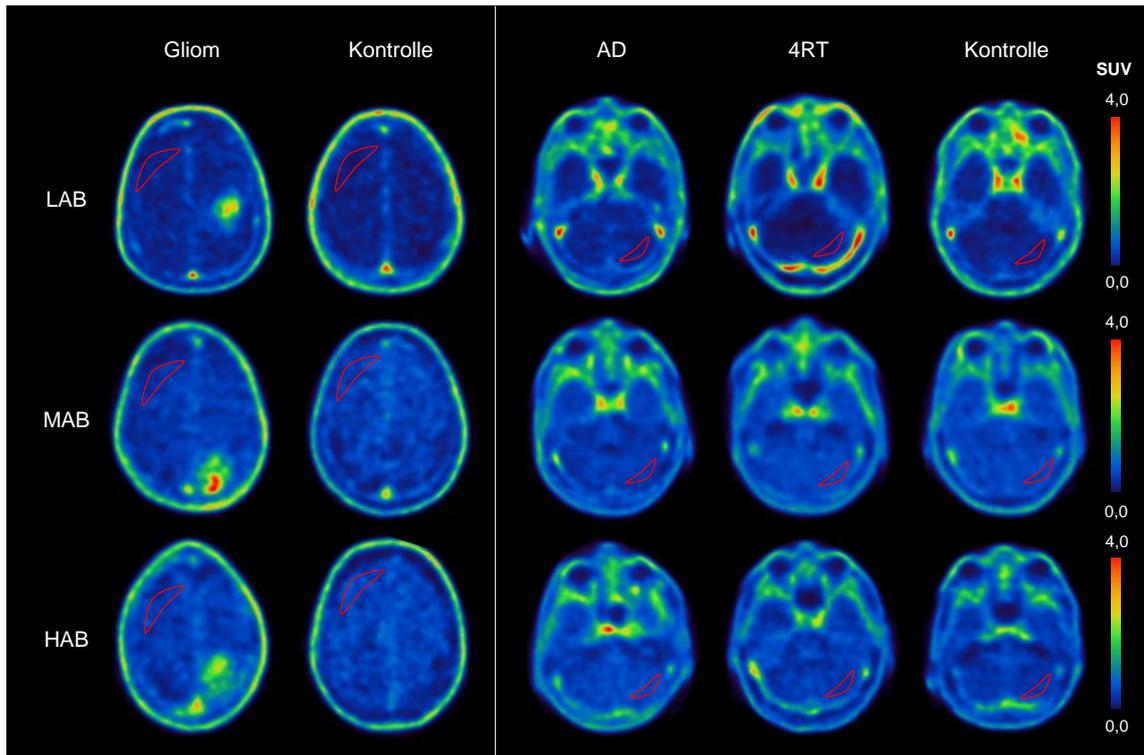


Abbildung 6: Sichelförmige rote Linien stellen eingezeichnete ROIs für die Bewertung von Pseudo-Referenzgewebe dar. Dabei zeigt sich eine unterschiedliche $[^{18}\text{F}]\text{GE-180}$ -Aufnahme in den drei Polymorphismus-Untergruppen (LAB, MAB und HAB), aber eine vergleichbare Intensität bei den Kranken und den Kontrollpersonen innerhalb der rs6971-Polymorphismus-Untergruppen. LAB low-affinity binder; MAB medium affinity binder, HAB high affinity binder; AD Alzheimer Demenz, 4RT4-repeat-tauopathy, SUV standardized uptake value.

Basierend auf Vettermann, Harris et al. 2021

Ergebnisse

Zunächst wurde die [^{18}F]GE-180-Bindung bei den verschiedenen rs6971-Polymorphismus-Untergruppen verglichen. Dabei konnte eine hervorragende Übereinstimmung zwischen wiederholten Berechnungen für die frontoparietalen ($r = 0,987$) und zerebellären ($r = 0,984$) VOI der manuell gezogenen Bereiche festgestellt werden. Insgesamt zeigten die LABs signifikant niedrigere SUVs in den frontoparietalen und zerebellären VOIs im Vergleich zu den MABs und HABs (**Tabelle 4**). Zwischen den MABs und HABs wurde kein signifikanter Unterschied festgestellt. Die konkreten Ergebnisse in den Kontroll- und Krankheitsgruppen werden im Folgenden berichtet.

	Fronto-parietal			
Gruppe	LAB (SUV \pm SD)	MAB (SUV \pm SD)	HAB (SUV \pm SD)	p-Wert
Kontrolle	0,345 \pm 0,025	0,436 \pm 0,021	0,471 \pm 0,031	0,013 * 0,006 ' 0,375 ~
Gliom	0,381 \pm 0,021	0,424 \pm 0,012	0,436 \pm 0,014	0,086 * 0,047 ' 0,511 ~
4RT	0,355 \pm 0,028	0,455 \pm 0,024	0,462 \pm 0,015	0,010 * 0,002 ' 0,826 ~
AD	0,360 \pm 0,039	0,420 \pm 0,039	0,435 \pm 0,025	0,290 * 0,118 ' 0,740 ~
	Cerebellum			
Kontrolle	0,367 \pm 0,027	0,455 \pm 0,023	0,514 \pm 0,034	0,023 * 0,004 ' 0,181 ~
Gliom	0,372 \pm 0,028	0,463 \pm 0,016	0,440 \pm 0,018	0,009 * 0,059 ' 0,338 ~
4RT	0,354 \pm 0,032	0,475 \pm 0,028	0,478 \pm 0,017	0,007 * 0,002 ' 0,930 ~
AD	0,397 \pm 0,038	0,452 \pm 0,038	0,460 \pm 0,024	0,321 * 0,175 ' 0,848 ~

Tabelle 4: TSPO-PET-Quantifizierung auf Gruppenebene. Die Werte stellen regionale Gruppenmittelwerte der frontoparietalen und zerebellären VOIs und deren Standardabweichungen dar. * Spezifischer p-Wert für Unterschiede zwischen den Tracer-Aufnahmen von LABs im Vergleich zu MABs. ' LABs im Vergleich zu HABs. ~ MABs im Vergleich zu HABs. LAB low-affinity binder; MAB medium affinity binder, HAB high affinity binder; AD Alzheimer Demenz, 4RT4-repeat-tauopathy, SUV standardized uptake value, SD Standardabweichung.

Basierend auf Vettermann, Harris et al. 2021

- **Kontrollen**

Der frontoparietale SUV der LAB-Kontrollen war signifikant niedriger ($0,345 \pm 0,025$) verglichen mit den MAB-Kontrollen ($0,436 \pm 0,021$, $p = 0,013$) und den HAB-Kontrollen ($0,471 \pm 0,031$, $p = 0,006$). Ein vergleichbarer Effekt wurde im Kleinhirn festgestellt. Zwischen den MAB- und HAB-Kontrollen gab es keinen erkennbaren Unterschied in den SUVs in beiden Regionen (frontoparietal, $p = 0,375$; Kleinhirn, $p = 0,181$; **Abbildung 7**).

- **Krankheitsgruppen**

Gliom

Die frontoparietalen und cerebellären SUVs in der Gliom-Kohorte unterschieden sich signifikant zwischen den drei TSPO-Bindungs-polymorphismus-Gruppen. Der frontoparietale VOI der LABs zeigte signifikant niedrigere SUVs ($0,381 \pm 0,021$) im Vergleich zu den MABs ($0,424 \pm 0,012$, $p = 0,086$) und HABs ($0,436 \pm 0,014$, $p = 0,047$). Die VOI des Kleinhirns in der Gliomgruppe zeigte ähnliche Ergebnisse. Auch hier ist kein Unterschied bei den SUVs zwischen den MAB- und HAB-Gliompatienten in beiden Regionen nachweisbar (frontoparietal, $p = 0,551$; Kleinhirn, $p = 0,338$).

4RT

Bei Patienten mit 4R-Tauopathie konnten signifikant niedrigere frontoparietale SUVs in den LABs ($0,355 \pm 0,028$) verglichen mit den MABs ($0,455 \pm 0,024$, $p = 0,010$) und HABs ($0,462 \pm 0,015$, $p = 0,002$) festgestellt werden. Ein vergleichbarer Effekt wurde im Kleinhirn festgestellt. Es gab keinen Unterschied zwischen den SUVs bei den MAB- und HAB 4R-Tauopathie Patienten (frontoparietal, $p = 0,826$; cerebellär, $p = 0,930$).

AD

Die Ergebnisse für Patienten mit Alzheimer erreichten zwar keine statistische Signifikanz, zeigten allerdings eine ähnliche Tendenz wie bei den anderen Krankheitsgruppen. So betrug der frontoparietale SUV der LABs $0,360 \pm 0,039$, verglichen mit $0,420 \pm 0,039$ ($p = 0,290$) für die MABs und $0,435 \pm 0,025$ ($p = 0,118$) für die HABs. Ein vergleichbarer Effekt wurde im Kleinhirn festgestellt. Es gab keinen

erkennbaren Unterschied in den SUVs zwischen den MAB und HAB Alzheimer-Patienten für beide Regionen (frontoparietal, $p = 0,740$; Kleinhirn, $p = 0,848$)

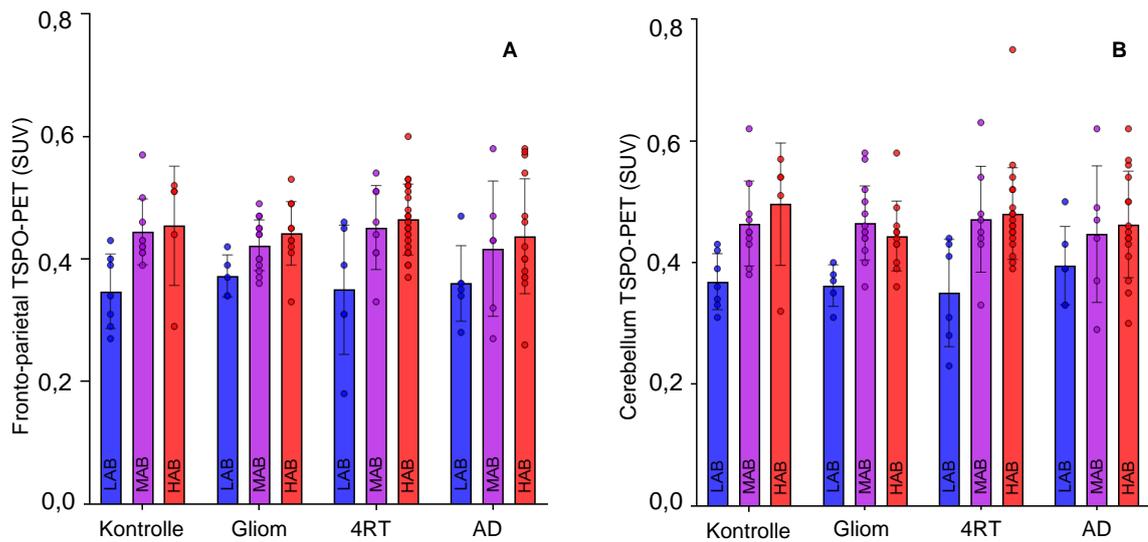


Abbildung 7: SUV-Mittelwertverteilung zwischen den Untergruppen des rs6971-Polymorphismus in den Kontrollen und den neuroonkologischen und neurodegenerativen Erkrankungen für (A) frontoparietale und (B) cerebellare VOI. Fehlerbalken zeigen Standardabweichungen an.

Basierend auf Schmitt, Palleis et al. 2021

Als zweiter Untersuchungspunkt wurde die $[^{18}\text{F}]\text{GE-180}$ -Bindung in frontoparietalen und zerebellären Pseudo-Referenzgeweben in den rs6971 Polymorphismus Untergruppen untersucht. Visuell war innerhalb jeder rs6971-Polymorphismusgruppe die Tracer-Bindung der frontoparietalen und zerebellären VOIs zwischen den Patienten und den gesunden Kontrollen vergleichbar:

- **LABs**

Innerhalb der LABs war der frontoparietale SUV als potenzielles Pseudo-Referenzgewebe für Gliom-TSPO-PET-Bildgebung bei Patienten mit Gliom und bei den Kontrollen ähnlich ($p = 0,599$). Ähnliche Ergebnisse wurden für das zerebelläre SUV erzielt, das als Pseudo-Referenzgewebe für die TSPO-PET-Bildgebung bei Patienten mit Gliomen und neurodegenerativen Krankheiten dient. Es wurde kein signifikanter Unterschied zwischen allen Patienten und Kontrollpersonen festgestellt (Gliom vs. 4R-Tauopathie, $p = 0,817$; Gliom vs. AD, $p = 0,174$; Gliom vs. Kontrolle, $p = 0,837$; 4R-Tauopathie vs. AD, $p = 0,093$; 4R-Tauopathie vs. Kontrolle, $p = 0,626$; AD vs. Kontrolle, $p = 0,184$).

- **MABs und HABs**

In den rs6971-Polymorphismus-Untergruppen der MABs und HABs gab es keine signifikanten Unterschiede in den frontoparietalen SUVs zwischen Patienten mit Gliom und den Kontrollen ($p = 0,405$, $p = 0,908$). Die zerebellären SUVs ergaben ähnliche Ergebnisse, wobei keine signifikanten Unterschiede zwischen den Patienten und den Kontrollpersonen hinsichtlich der MABs und HABs festgestellt wurden (Gliom vs. 4R-Tauopathie, $p = 0,791$, $p = 0,220$; Gliom vs. AD, $p = 0,567$, $p = 0,244$; Gliom vs. Kontrolle, $p = 0,977$, $p = 0,355$; 4R-Tauopathie vs. AD, $p = 0,470$, $p = 0,987$; 4R-Tauopathie vs. Kontrolle, $p = 0,784$, $p = 0,936$; AD vs. Kontrolle, $p = 0,608$, $p = 0,946$).

Schließlich wurde die Gesamtauswirkung des rs6971-Polymorphismus auf die [^{18}F]GE-180-Bindung in einer kombinierten Analyse aller Studiengruppen betrachtet. Die geringe Pathologie im Kleinhirn aller eingeschlossenen Probanden und in der frontoparietalen Region der Gliompatienten sowie der Kontrollgruppe erlaubten es, den Einfluss des rs6971 Polymorphismus auf stabile Weise abzuschätzen. Der gemittelte Unterschied zwischen den SUVs der LABs und der MABs betrug $19,0 \pm 5,9$ %, zwischen den LABs und den HABs betrug er $20,9 \pm 5,3$ %. Die Auswirkungen waren robust, wenn man den quantitativen Varianzkoeffizienten aller vier Studiengruppen betrachtet. Es zeigte sich also, dass der rs6971 Polymorphismus einen erheblichen Einfluss auf die Quantifizierung hat. Aus heutiger Sicht sollte der untersuchte Radiotracer bei LABs nicht zur Anwendung kommen, bei MABs und HABs dagegen kann das [^{18}F]GE-180-Signal interpretiert werden, wenn man - angesichts der kleinen Unterschiede in der Bindung zwischen MABs und HABs - dabei den Polymorphismus rs6971 als Kovariate berücksichtigt.

Außerdem zeigte die Analyse der rs6971-Polymorphismus-Untergruppen, dass die frontoparietale Region und das Kleinhirn als potenzielle Pseudo-Referenzgewebe sowohl für neuroonkologische als auch für neurodegenerative Erkrankungen im Vergleich zu den Kontrollen keine veränderte Bindung aufwiesen, so dass sie für eine relative Quantifizierung geeignet sind.

4. Zusammenfassung

Im Rahmen des Promotionsvorhabens wurden klinisch relevante Aspekte zweier neuartiger Tracer in der nuklearmedizinischen Bildgebung untersucht.

In meiner Erstautorenschaft „**Dual-Phase β -Amyloid PET Captures Neuronal Injury and Amyloidosis in Corticobasal Syndrome**“ beschäftigte ich mich mit der Fragestellung, ob die Verwendung von [^{18}F]flutemetamol als radioaktiver Markierungsstoff im Vergleich zu [^{18}F]fluorodesoxyglucose (FDG) in einem klinischen Umfeld sowohl visuell als auch quantitativ vergleichbar ist. Durchgeführt wurde die Studie bei der seltenen neurodegenerativen Erkrankung CBS, die es ermöglichte, den Schwerpunkt sowohl auf die kortikalen als auch insbesondere subkortikalen Regionen (wie Thalamus, Pallidum oder Putamen) zu legen, die in früheren Studien größtenteils unberücksichtigt blieben. Da ein Merkmal des CBS das asymmetrische Auftreten ist, wurde als zweiter Untersuchungspunkt analysiert, ob sich dieser asymmetrische Charakter auch in der PET-Bildgebung widerspiegelt und quantitativ erfasst werden kann.

Die Patienten wurden dazu im Rahmen der prospektiven Beobachtungsstudie ActiGliA (Activity of Cerebral Networks, Amyloid and Microglia in Aging and Alzheimer's Disease) rekrutiert und im Falle eines klinisch möglichen oder wahrscheinlichen CBS in die Studie eingeschlossen.

Die durchgeführten PET-Untersuchungen beider Modalitäten wurden jeweils von einem Low-Dose-CT begleitet, dabei wurde zwischen den beiden Untersuchungen eine maximale dazwischenliegende Zeitspanne von einem Jahr festgesetzt. Die Aktivitätswerte der A β -PET wurden in der Frühphase in den Minuten 0-10 p.i. erworben, die Spätphase in den Minuten 90-110 p.i., während die FDG-PET-Scans in den Minuten 30-50 p.i. aufgenommen wurden.

Zur visuellen Beurteilung der Hypoperfusion bzw. des Hypometabolismus wurden PET-Bilder beider Modalitäten in einem digitalen Druckformat in zufälliger Reihenfolge und verblindet für die Bewerter bereitgestellt. Je Proband wurden vier axiale Schichten von standardisierten Ebenen nach räumlicher Normalisierung und in Form von Z-Score-Maps dargestellt, welche voxelbasiert Normabweichungen der Traceranreicherung farbcodiert abbilden. Zwei Experten und zwei erfahrene Leser bewerteten anhand der farbkodierten Z-Score-Werte bezüglich der Modalität die kortikalen Zielregionen in keine (=0), leichte (=1), mittlere (=2) oder schwere (=3) Ausprägung der Betroffenheit.

Die quantitative Analyse der Scans erfolgte mit Hilfe der PMOD Software (Version 3.9, PMOD Technologies Ltd., Zürich, Schweiz) in mehreren Bearbeitungsschritten, die im

Folgenden kurz umrissen werden: die PET- und MRT-Bilder wurden jeweils in das System geladen, das MRT-Bild in graue, weiße Substanz und Liquor unterteilt und danach die PET- und MRT-Bilder zusammengeführt. Schließlich wurde das individuelle MRT-Bild auf ein MRT-Template - welches als eine Art Schablone dient - korregistriert. So konnten Mittelwerte der einzelnen PET-Bilder gebildet und drei verschiedene PET-Templates (für jeweils die Früh- und Spätphase der [¹⁸F]flutemetamol A β -PET sowie die FDG-PET) generiert werden, die der räumlichen Normalisierung dienen. Alle ausgewerteten PET-Daten dieser Studie wurden anschließend mit dem passenden PET-Template korregistriert, wobei zwischen den Arbeitsschritten stets eine visuelle Kontrolle erfolgte. Anschließend wurde ein bereits etablierter Atlas, der die wahrscheinlichste Position von 83 Hirnbereichen kodiert, angewandt und durch eine Überlagerung zum MRT-Bild auf die individuelle Anatomie des Patienten übertragen. Zur besseren Übersicht wurden relevante kortikale und subkortikale Bereiche zu Regionen zusammengefasst und jeweils separat für die linke und rechte Hemisphäre und mit Hilfe von Referenzregionen auf die Aktivität normalisiert. So wurden schlussendlich für jede kortikale Hirn-VOI regionale standardisierte Aufnahmewerte erzeugt, die mittels SPSS (V 25, IBM Statistics, New York) ausgewertet wurden.

Sowohl die visuelle als auch die VOI basierte quantitative Auswertung der Übereinstimmung beider PET-Modalitäten zeigten durch hohe Übereinstimmungen hervorragende Ergebnisse. So konnte gezeigt werden, dass A β -PET-Scans im Vergleich zu FDG-PET-Scans bei Patienten mit CBS vergleichbare Informationen über neuronale Schäden liefern können. Darüber hinaus wurde die asymmetrische neuronale Schädigung, die das bildgebende Korrelat der klinischen Asymmetrie bei CBS darstellt, auch von der Frühphasen-A β -PET ausreichend erfasst. Somit kann sowohl der A β -Status als auch die neuronale Schädigung mit einer einzigen Strahlenexposition bei einem einzigen Besuch möglich gemacht werden, was für Patienten eine zeitliche und organisatorische Entlastung bedeutet.

Ein Teil der Patienten, die im Rahmen der ActiGliA-Studie rekrutiert wurden, konnten ebenso in eine zweite Studie in der Abteilung für Nuklearmedizin des Universitätsklinikums der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) eingeschlossen werden. Ein Teil des Projekts wurde in meiner Coautorenschaft "**Impact of TSPO Receptor Polymorphism on [¹⁸F]GE-180 Bin-ding in Healthy Brain and Pseudo-Reference Regions of Neurooncological and Neurodegenerative Disorders**" analysiert und dargestellt: Hier galt zu untersuchen, ob der rs6971-Polymorphismus auf das in vivo [¹⁸F]GE-180 Signal des neuartigen Radioliganden in einem gesunden Gehirn und in potenziellem Pseudo-Referenzgewebe bei neuroonkologischen und neurodegenerativen Erkrankungen eine Rolle spielt. Hintergrund ist, dass für TSPO-Liganden der Vorgängergeneration bekannt ist,

dass ihre Bindungseigenschaften von einem genetischen Polymorphismus im TSPO-Gen abhängig sind. Ursächlich dafür ist ein Einzel-Nukleotid-Polymorphismus (rs6971), der Alanin durch Threonin (Ala147Thr) ersetzt, woraus drei Bindungsstärken der Affinität resultieren: hochaffine Binder (HABs), mittelaffine Binder (MABs) und niedrigaffine Binder (LABs), abhängig von der Homozygotie oder Heterozygotie des Allels. Als Konsequenz wird bei Patienten mit LAB- oder MAB- Satus die Expression in der PET-Bildgebung unterschätzt und auf Grund dessen eine genetische Analyse des Bindungsstatus notwendig.

Da der rs6971-Polymorphismus in der Bevölkerung disproportional verteilt ist, wurde ein Auswahl-Logarithmus eingesetzt, um eine homogene Studienpopulation zu erreichen. So wurden von insgesamt 380 Teilnehmern 114 Teilnehmer in die Analyse einbezogen - davon 24 LABs, 38 MABs und 52 HABs. Zudem wurde eine Reihe von Ausschlusskriterien aufgestellt (wie beispielsweise eine chemotherapeutische Vorbehandlung der Gliom-Patienten), um den Einfluss von Ko-Faktoren möglichst gering zu halten. Die Genotypisierung der Vollblutproben aller eingeschlossenen Patienten erfolgte in der Abteilung für Psychiatrie des Universitätsklinikums Regensburg und resultierte in der Klassifikation in LAB, MAB oder HAB, wie bereits zuvor beschrieben.

Alle Patienten und Kontrollen erhielten einen statischen Scan 60-80 min nach Injektion von 189 ± 12 MBq [^{18}F]GE-180. Die daraus erzeugten Summationsbilder wurden anschließend für die Bildanalyse verwendet.

In allen Gruppen wurden manuell je zwei verschiedene VOIs definiert. Zum einen wurde als potenzielle Referenzregion für neuroonkologische Erkrankungen - hier am Beispiel von Gliom-Patienten - auf der kontralateralen Seite des Tumors eine zusammengefasste VOI manuell erstellt, die jeweils aus fünf halbmondförmigen ROIs im Frontoparietallappen einschließlich weißer und grauer Substanz besteht. Zum anderen diente das Kleinhirn wegen seiner seltenen Betroffenheit bei neurodegenerativen Erkrankungen als zweite untersuchte Referenzregion. Dafür wurde halbmondförmig ein ca. 2 ml umfassendes Volumen im hinteren Lappen des Kleinhirns gewählt, unter Ausschluss des Vermis, des vorderen Lappens und des Pedunculus.

Die Gruppenvergleiche der [^{18}F]GE-180 SUVs zwischen Patienten mit Gliom, 4R-Tauopathie oder AD und den Kontrollen sowie Vergleiche innerhalb jeder TSPO-Polymorphimusgruppe wurden mittels Varianzanalyse (ANOVA) mit einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$ unter Verwendung von Alter und Geschlecht als Kovariaten durchgeführt.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass der rs6971-Polymorphismus einen erheblichen Einfluss auf die Quantifizierung hat, denn der Unterschied zwischen den SUVs der LABs und der MABs betrug durchschnittlich $19,0 \pm 5,9$ %, zwischen den LABs und

den HABs $20,9 \pm 5,3$ %. Als klinische Konsequenz kann daraus gezogen werden, dass nur bei MABs und HABs das [^{18}F]GE-180-Signal auswertbar ist, da auch dieser neuartige Tracer empfindlich auf den rs6971-Polymorphismus reagiert und somit bei Patienten mit LAB-Status die Expression in der PET-Bildgebung unterschätzt wird. Dabei sollte der rs6971-Polymorphismus als Kovariate berücksichtigt werden. Als zweiten Punkt konnte die Studie zeigen, dass die frontoparietale Region und das Kleinhirn als potenzielles Pseudo-Referenzgewebe sowohl für neuroonkologische als auch für neurodegenerative Erkrankungen geeignet sind, da bei den verschiedenen Krankheitsentitäten im Vergleich zu den Kontrollen keine veränderte Bindung auffällig war.

5. Abstract

In this doctoral thesis, clinically relevant aspects of two novel tracers in nuclear medicine imaging were investigated.

First, we analysed whether the use of the PET-tracer [^{18}F]flutemetamol compared with [^{18}F]fluorodeoxyglucose (FDG) in a clinical setting is comparable both visually and quantitatively. Since this has not yet been investigated for subcortical regions such as the thalamus, pallidum, or putamen, patients with corticobasal syndrome - which has both cortical and subcortical affections - were recruited. As a second point, we investigated whether the asymmetric character which is known to be present in many cases of this disease is also reflected in PET imaging and can be quantitatively detected.

For this purpose, patients with a diagnosis of clinically possible or probable CBS were recruited in the prospective cohort study 'Activity of Cerebral Networks, Amyloid and Microglia in Aging and Alzheimer's Disease' (ActiGliA) in the Department of Neurology and Psychiatry and Psychotherapy, Ludwig-Maximilians-University Munich. Activity values of A β -PET were acquired in the early phase at minutes 0-10 min p.i., the late phase at minutes 90-110, whereas FDG-PET was acquired at minutes 30-50 p.i..

Quantitative analysis of the scans was performed using PMOD software (version 3.9, PMOD Technologies Ltd., Zurich, Switzerland) in several processing steps. In this way, regional standardized recording values were generated for each cortical brain VOI, which were then statistically analysed. For visual assessment of hypoperfusion or hypometabolism, PET images of both modalities were provided in a digital print format in random order and blinded to the raters.

The different PET modalities showed both visual and VOI-based quantitative evaluation of the comparability of excellent results by high agreement. Thus, it was shown that A β -PET scans can provide comparable information on neuronal damage compared with FDG-PET scans in patients with CBS. Also, asymmetric neuronal damage, which is the imaging correlate of clinical asymmetry in CBS, is adequately detected by early-phase A β -PET. Thus, detection of A β -status, as well as neuronal damage can be made possible with a single radiation exposure at a single visit, reducing time and organizational burden for patients.

Some of the patients recruited in the ActiGliA study were included in a second study in the Department of Nuclear Medicine of the University Hospital of Munich, Ludwig-Maximilians-University: Here, the aim was to investigate whether the rs6971 polymorphism on the in vivo [^{18}F]GE-180 signal of this novel radioligand plays a role in a healthy brain

and in potential pseudo-reference tissue in neuro-oncological (glioma) and neurodegenerative diseases (Alzheimer's disease, four-repeat tauopathy).

Because the rs6971 polymorphism is disproportionately distributed in the population, a selection logarithm was used to achieve a homogeneous study population. Genotyping of whole blood samples from all included patients was performed at the Department of Psychiatry, University Hospital Regensburg, resulting in classification into low, medium and high affinity binder (LAB, MAB, HAB)

All patients and controls received a static scan 60-80 min after injection of 189 ± 12 MBq [^{18}F]GE-180 and the resulting summation images were subsequently used for image analysis.

Two different VOIs were manually drawn in each group. First, as a potential reference region for neuro-oncological disease, using glioma patients as an example, a merged VOI was manually created on the contralateral side of the tumor. Second, the cerebellum served as the second reference region examined because of its mostly unaffected nature in neurodegenerative diseases. For this purpose, a crescent-shaped region of 2 ml in the posterior lobe of the cerebellum was chosen, excluding the vermis, anterior lobe and pedunculus.

Group comparisons of [^{18}F]GE-180 SUVs between patients with glioma, 4R tauopathy or AD and controls were performed and within each TSPO polymorphism group by analysis of variance (ANOVA) with a significance level of $p < 0.05$ using age and sex as covariates.

In conclusion, the rs6971 polymorphism was shown to have a significant impact on quantification. As a clinical consequence, the [^{18}F]GE-180 signal can only be evaluated in MABs and HABs, because this novel tracer is also sensitive to the rs6971 polymorphism and thus underestimates the expression in PET imaging in patients with LAB status. In this regard, the rs6971 polymorphism should be considered as a covariate. Additionally, the study was able to show that the frontoparietal region and the cerebellum are suitable as potential pseudo-reference tissues for both neurooncological and neurodegenerative diseases, as no altered binding was conspicuous in the different disease entities compared with controls.

6. Paper I



Dual-Phase β -Amyloid PET Captures Neuronal Injury and Amyloidosis in Corticobasal Syndrome

Julia Schmitt¹, Carla Palleis², Julia Sauerbeck¹, Marcus Unterrainer¹, Stefanie Harris¹, Catharina Prix², Endy Weidinger², Sabrina Katzdobler², Olivia Wagemann², Adrian Danek², Leonie Beyer¹, Boris-Stephan Rauchmann^{3,4}, Axel Rominger^{1,5,6}, Mikael Simons^{6,7,8}, Peter Bartenstein^{1,6}, Robert Perneczky^{3,6,7,9}, Christian Haass^{6,7,10}, Johannes Levin^{2,6,7}, Günter U. Höglinger^{7,11,12} Matthias Brendel^{1,6*} and the German Imaging Initiative for Tauopathies (GI4T)

¹ Department of Nuclear Medicine, University Hospital of Munich, LMU Munich, Munich, Germany, ² Department of Neurology, University Hospital of Munich, LMU Munich, Munich, Germany, ³ Department of Psychiatry and Psychotherapy, University Hospital, LMU Munich, Munich, Germany, ⁴ Department of Radiology, University Hospital of Munich, LMU Munich, Munich, Germany, ⁵ Department of Nuclear Medicine, University of Bern, Inselspital, Bern, Switzerland, ⁶ Munich Cluster for Systems Neurology (SyNergy), Munich, Germany, ⁷ German Center for Neurodegenerative Diseases (DZNE), Munich, Germany, ⁸ Institute of Neuronal Cell Biology, Technical University Munich, Munich, Germany, ⁹ Ageing Epidemiology Research Unit (AGE), School of Public Health, Imperial College London, London, United Kingdom, ¹⁰ Faculty of Medicine, Chair of Metabolic Biochemistry, Biomedical Center (BMC), Ludwig-Maximilians-Universität München, Munich, Germany, ¹¹ Department of Neurology, Medizinische Hochschule Hannover, Hanover, Germany, ¹² Department of Neurology, Technical University Munich, Munich, Germany

OPEN ACCESS

Edited by:

Taher Darreh-Shori,
Karolinska Institutet (KI), Sweden

Reviewed by:

Elena Rodriguez-Vieitez,
Karolinska Institutet (KI), Sweden
Artur Coutinho,
University of São Paulo, Brazil
Leonardo Iaccarino,
University of California,
San Francisco, United States

*Correspondence:

Matthias Brendel
matthias.brendel@med.uni-
muenchen.de

Received: 30 January 2021

Accepted: 06 April 2021

Published: 13 May 2021

Citation:

Schmitt J, Palleis C, Sauerbeck J, Unterrainer M, Harris S, Prix C, Weidinger E, Katzdobler S, Wagemann O, Danek A, Beyer L, Rauchmann B-S, Rominger A, Simons M, Bartenstein P, Perneczky R, Haass C, Levin J, Höglinger GU, Brendel M and the German Imaging Initiative for Tauopathies (2021) Dual-Phase β -Amyloid PET Captures Neuronal Injury and Amyloidosis in Corticobasal Syndrome. *Front. Aging Neurosci.* 13:661284. doi: 10.3389/fnagi.2021.661284

Objectives: In recent years several ¹⁸F-labeled amyloid PET (A β -PET) tracers have been developed and have obtained clinical approval. There is evidence that A β -PET perfusion can provide surrogate information about neuronal injury in neurodegenerative diseases when compared to conventional blood flow and glucose metabolism assessment. However, this paradigm has not yet been tested in neurodegenerative disorders with cortical and subcortical affection. Therefore, we investigated the performance of early acquisition ¹⁸F-flutemetamol A β -PET in comparison to ¹⁸F-fluorodeoxyglucose (FDG)-PET in corticobasal syndrome (CBS).

Methods: Subjects with clinically possible or probable CBS were recruited within the prospective Activity of Cerebral Networks, Amyloid and Microglia in Aging and Alzheimer's Disease (ActiGliA) observational study and all CBS cases with an available FDG-PET prior to A β -PET were selected. A β -PET was acquired 0–10 min p.i. (early-phase) and 90–110 min p.i. (late-phase) whereas FDG-PET was recorded statically from 30 to 50 min p.i. Semiquantitative regional values and asymmetry indices (AI) were compared between early-phase A β -PET and FDG-PET. Visual assessments of hypoperfusion and hypometabolism were compared between both methods. Late-phase A β -PET was evaluated visually for assessment of A β -positivity.

Results: Among 20 evaluated patients with CBS, 5 were A β -positive. Early-phase A β -PET and FDG-PET SUVR correlated highly in cortical (mean $R = 0.86$, range 0.77–0.92) and subcortical brain regions (mean $R = 0.84$, range 0.79–0.90). Strong asymmetry was observed in FDG-PET for the motor cortex (mean $|AI| = 2.9\%$), the parietal cortex (mean $|AI| = 2.9\%$), and the thalamus (mean $|AI| = 5.5\%$), correlating well

with AI of early-phase A β -PET (mean $R = 0.87$, range 0.62–0.98). Visual assessments of hypoperfusion and hypometabolism were highly congruent.

Conclusion: Early-phase A β -PET facilitates assessment of neuronal injury in CBS for cortical and subcortical areas. Known asymmetries in CBS are captured by this method, enabling assessment of A β -status and neuronal injury with a single radiation exposure at a single visit.

Keywords: amyloid, PET, dual phase, neuronal injury, corticobasal syndrome

INTRODUCTION

Corticobasal syndrome (CBS) is a movement disorder with clinical atypical Parkinsonism and additional cognitive impairment (Alexander et al., 2014; van Eimeren et al., 2019). Neuropathologically, patients with clinical CBS reveal a high variability of underlying protein misfolding, including four-repeat tauopathies, TDP43-positive fronto-temporal dementia, disease with Lewy-bodies and Alzheimer's disease (AD) (Parmera et al., 2016). The largest autopsy-controlled study found corticobasal degeneration (CBD) in 35% of cases, followed by AD in 23%, progressive supranuclear palsy in 13%, and TDP43-positive frontotemporal lobar degeneration in 13% of the studied cases (Lee et al., 2011). Thus, while the majority of CBS patients are characterized by a four repeat (4R) tauopathy there are also relevant numbers of patients with concomitant 3/4R tau and β -amyloid (A β) pathology (Rosler et al., 2019). In this regard, the frequency of AD neuropathology in clinical CBS varies among different autopsy cohorts (Parmera et al., 2016), ranging from 10 to 50%. In spite of intensive research, at present, there is no accepted causal treatment for CBS; the available symptomatic treatments are of limited efficacy and are supported only by low-level evidence (Levin et al., 2016). Assessment of different underlying neuropathologies in neurodegenerative disorders *in vivo* will be necessary to stratify patients into future targeted personalized therapies (Coughlin and Irwin, 2017), and quantification of neuronal injury can serve as an objective progression biomarker. ^{18}F -fluorodeoxyglucose positron-emission-tomography (FDG)-PET can be used to detect neuronal injury in CBS, like in AD (Jack et al., 2018), and is already implemented in current Movement Disorders Society (MDS) diagnosis criteria (Höglinger et al., 2017). However, FDG-PET has limited specificity for the causal neuropathology despite facilitating differential diagnosis between neurodegenerative disorders when using it in clinical routine settings (Bloudek et al., 2011). A β -PET is a powerful tool to detect fibrillar A β plaques *in vivo* (Sabri et al., 2015) and also performs well in detecting A β -positive CBS (Ossenkoppele et al., 2015). Perfusion phase A β -PET was already evaluated in diagnostic workup of neurodegenerative disorders as a surrogate for neuronal injury and potential substitute of FDG-PET. Several recent studies have shown comparable reductions of A β -PET perfusion and metabolic deficits in PET using FDG (Meyer et al., 2011; Hsiao et al., 2012). Our previous study examined the clinical use of ^{18}F -Florbetaben PET by additional visual interpretation of early-phase acquisitions and indicated strong visual and

quantitative correlations between ^{18}F -Florbetaben perfusion and glucose metabolism, irrespective of the A β status (Daerr et al., 2017). Other groups likewise concluded that early-phase A β -PET (^{11}C -PiB, ^{18}F -Florbetaben) can be used to quantify neuronal injury (Chen et al., 2015; Tiepolt et al., 2016). However, this paradigm has not yet been tested in neurodegenerative disorders with cortical and subcortical affection.

Hence, we sought to evaluate the performance of early acquisition ^{18}F -flutemetamol A β -PET in comparison to FDG-PET in CBS. We correlated quantitative regional values of both methods in cortical and subcortical brain areas and we compared the ability of both methods to detect known asymmetries of neuronal injury in CBS.

MATERIALS AND METHODS

Study Design

Patients with a diagnosis of clinically possible or probable CBS according to current MDS diagnostic criteria (Höglinger et al., 2017) or the Armstrong criteria (Armstrong et al., 2013) were recruited within the prospective Activity of Cerebral Networks, Amyloid and Microglia in Aging and Alzheimer's Disease (ActiGliA) observation study. Recruiting sites were located at the department of Neurology and the department of Psychiatry and Psychotherapy at the Ludwig-Maximilians-Universität Munich. ActiGliA is a prospective cohort study of the Munich Cluster for Systems Neurology (SyNergy) at Ludwig-Maximilians-University in Munich, Germany, initiated in 2017 that comprises comprehensive clinical assessment, multimodal prospective imaging *in vivo* and fluid biomarker analyses in AD spectrum and CBS patients and controls, approved by the ethics committee of the Ludwig-Maximilians-University Munich (project numbers 17-755 and 17-569) in line with the declaration of Helsinki. All patients gave their written informed consent. We selected all CBS patients with an FDG-PET scan at the Department of Nuclear Medicine prior to study inclusion (maximum time gap 1 year). Dual phase ^{18}F -flutemetamol A β -PET was performed within ActiGliA. Disease duration was recorded as the time from symptom onset to the midpoint of FDG-PET and A β -PET.

Radiosynthesis and PET Imaging

^{18}F -FDG was purchased commercially and FDG-PET was performed in compliance with the EANM protocol (Boellaard et al., 2015). 137 ± 14 MBq ^{18}F -FDG were administered after

fasting for at least 6 h and patient preparation ≥ 20 min with standardized reduction of noise and visual input. Emission recording was performed 30–50 min p.i. with a Biograph 64 PET/CT system (Siemens Healthcare, Erlangen, Germany) after performing a low dose CT scan for attenuation correction. Iterative reconstruction of a single 20 min frame was performed with three-dimensional ordered-subset expectation maximization/3-D maximum *a posteriori* using four and 21 iterations, respectively. Final voxel-size in the $336 \times 336 \times 109$ matrix was $1.0 \times 1.0 \times 2.0$ mm³.

¹⁸F-flutemetamol was synthesized as described earlier (Senda et al., 2015). ¹⁸F-flutemetamol A β -PET was performed with dual phase 0–10 min (early-phase) and 90–110 min (late-phase) emission recordings after administration of 187 ± 10 MBq ¹⁸F-flutemetamol at the same PET/CT system and with equal reconstruction parameter. The low dose CT scan was performed prior to the late-phase acquisition and this scan also used for attenuation correction of the early-phase data. In a subset of patients with CBS ($n = 12$), 1-min frame reconstructions of early-phase A β -PET were performed for a dedicated time-window evaluation.

PET Imaging Analysis

Preprocessing

For spatial normalization, early-phase and late-phase A β -PET templates and an FDG-PET template were created in the Montreal Neurology Institute (MNI) space using the PMOD software (version 3.9, PMOD Technologies Ltd., Zurich, Switzerland). All templates were generated using 20 randomly selected ActiGliA cases with structural T1-weighted MRI. PET images were rigidly matched to the MRI image, fused and the alignment was controlled by visual assessment. The individual MRI was co-registered to a T1 MRI template in the MNI space by non-linear warping and both transformations were connected to minimize interpolation. Single images were averaged to templates after global mean normalization. All evaluated PET data of this investigation were co-registered to the matching PET templates by non-linear warping and controlled by visual assessment, as described previously (Hsiao et al., 2013).

Analysis of FDG-PET and Early-Phase A β -PET

Predefined volumes of interest (VOIs) of the Hammer Atlas (Hammers et al., 2003) were applied, encoding 83 brain areas in the stereotactic MNI space. Target regions of the 83 cortical and subcortical brain areas were defined as follows and separately for the left and right hemisphere: motor cortex, prefrontal cortex, parietal cortex, putamen, thalamus and pallidum. For activity normalization, we used whole cerebellum (CBL) or whole brain (=global mean; GLM) scaling of all target regions to generate SUV_{CBL} and SUV_{GLM} images. Asymmetry of SUV_r was assessed by calculation of the asymmetry index $AI = (L - R)/(L + R)$ (Vernaleken et al., 2007) for all target regions. FDG-PET and early-phase A β -PET images were also processed by three-dimensional stereotactic surface projection (Minoshima et al., 1995) using the standard in house FDG-PET normal cohort (Beyer et al., 2018) as already established for early-phase ¹⁸F-florbetaben (Daerr et al., 2017). The normal cohort was matched for age (67 ± 6) and sex (10 female, 14

male). Two expert and two experienced readers graded the cortical target regions into no (=0), mild (=1), intermediate (=2) or severe (=3) hypoperfusion/-metabolism. Readers were trained to rate z-scores between 2 and 3 as mild (green presentation), z-scores between 3 and 4 as intermediate (yellow to orange presentation), and z-scores between 4 and 5 as severe (orange to red presentation), as described previously (Beyer et al., 2018; Kreuzer et al., 2021). The reader was blind to the modality and all surface projections were provided in a digital print format. Axial slices through the basal ganglia (maximum intensity scaling) served for equal scoring of the striatum and the thalamus. For subcortical regions, the readers were trained to take an FDG-PET template of a normal cohort into consideration for the visual judgment. All axial slices ($n = 4$ per subject, standardized localization) were extracted after spatial normalization via the Hermes software package (FDG-PET viewer, V4.17, HERMES medical solutions AD, Stockholm, Sweden). Examples of the three-dimensional stereotactic surface projections and the axial slices used for the visual read are provided in **Figure 1** and **Figure 2**, whereas details of the axial slices are provided in **Supplementary Figure 1**.

Analysis of Late-Phase A β -PET

Visual assessment was performed by a single expert reader (blinded to the subject's identity and radiotracer used) resulting in a binary decision of positive or negative A β status.

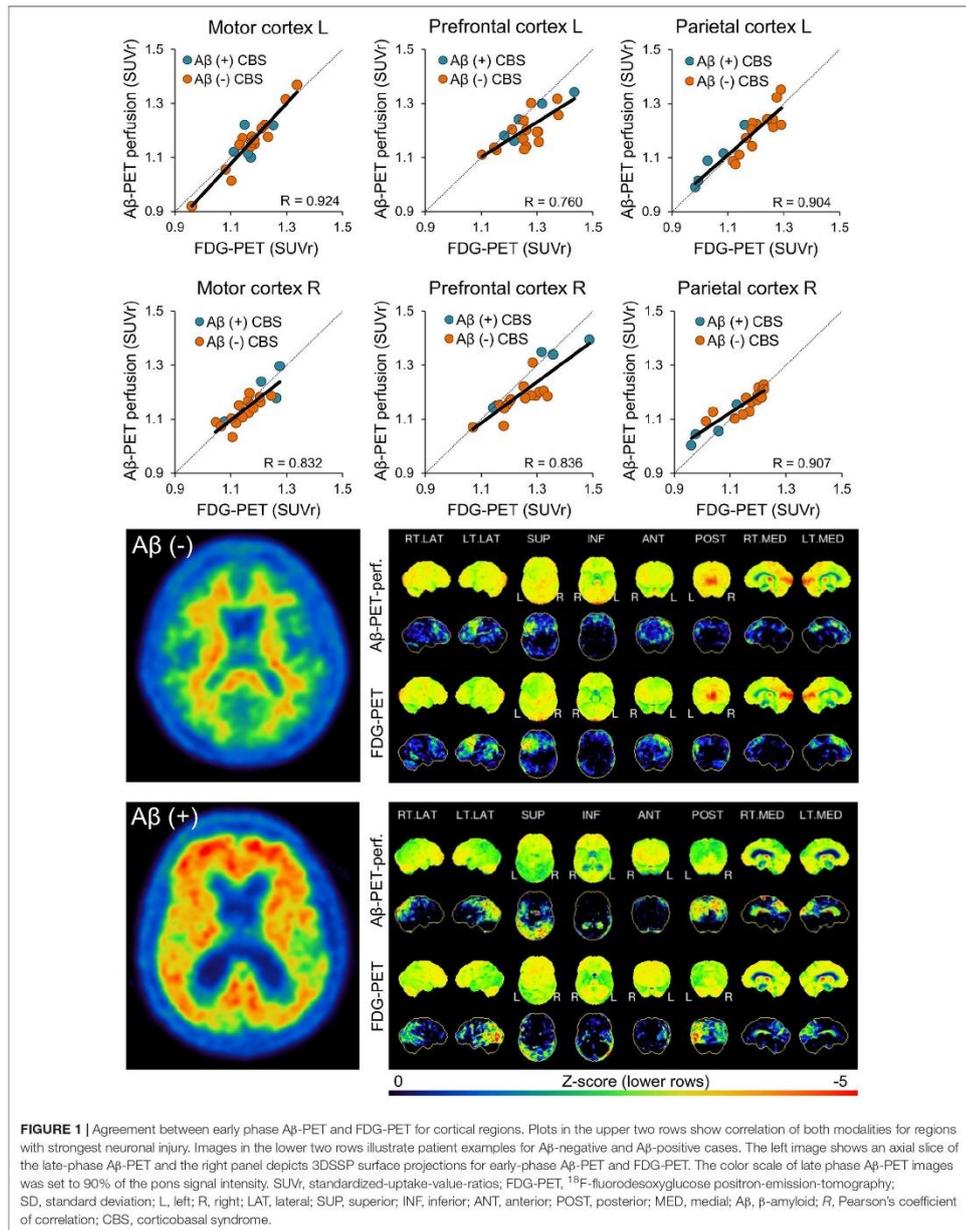
Statistics

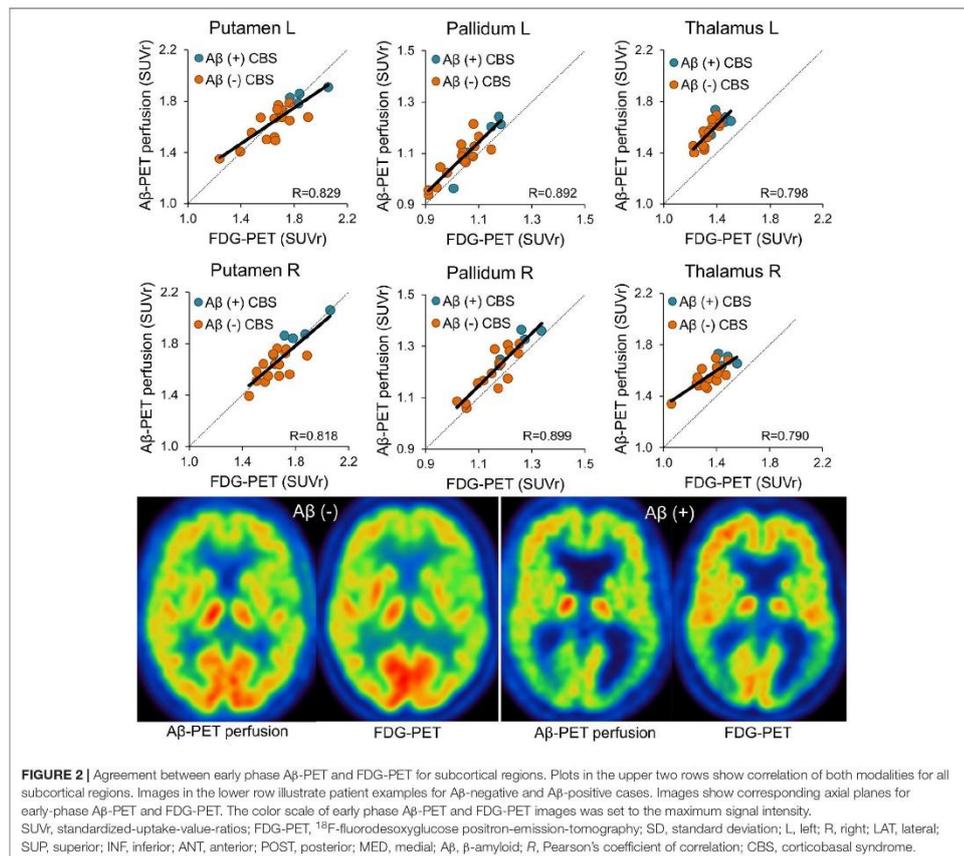
SPSS (V.25, IBM statistics, New York) was used for all statistical testing. Normal distribution of SUV_r values was evaluated by a Kolmogorov-Smirnov test. Mean regional SUV_r were calculated for FDG-PET and early-phase A β -PET. Pearson correlation coefficients (R) were calculated between FDG-PET and early-phase A β -PET SUV_r in all target regions and for AI of all target regions. Levels of correlation in all target regions were compared between global mean and cerebellar normalization by a paired *t*-test, after Fisher's *z*-transformation. In the subsample of 12 cases with 1-min frame reconstruction of early-phase A β -PET, SUV_r values of each frame were correlated with SUV_r values of FDG-PET in order to test the agreement between both modalities as a function of the early-phase A β -PET acquisition time. Interclass correlation coefficients (intra-reader and inter-reader) were calculated to test for agreement between regional grading of surface projections and axial basal ganglia slices. A two-way mixed model was applied by measuring the absolute agreement with a confidence interval of 95%. *p* values < 0.05 were considered significant.

RESULTS

Demographics, Clinical Data and Clinical Routine Assessment of FDG-PET

A total of 20 subjects (nine male, 11 female) were included in the study (**Table 1**). All A β -negative patients fulfilled a clinical diagnosis of CBS according to current MDS criteria (Höglinger et al., 2017). All A β -positive CBS patients fulfilled





the Armstrong criteria (Armstrong et al., 2013). Five out of 20 late-phase 18 F-flutemetamol A β -PETs were visually classified as A β -positive. 14 out of 20 FDG-PETs were classified to show a significant neuronal injury in clinical routine assessment. Most frequently affected cortical regions were the motor cortex (65%), the parietal cortex (60%), and the prefrontal cortex (50%). Subcortical regions revealed abnormalities in 30% and 70% for striatum and thalamus.

VOI-Based Comparison of Early-Phase 18 F-Flutemetamol A β -PET and FDG-PET

Single frames of early-phase A β -PET indicated a constant SUVR agreement with FDG-PET over the 10-min acquisition time of early-phase A β -PET (Supplementary Figure 2). Thus, the full 10-min A β -PET early-phase acquisition was used for all

subsequent analyses. Early-phase A β -PET and FDG-PET SUVR correlated highly in cortical brain regions (mean $R = 0.86$, range 0.77–0.92, all $p \leq 0.001$; Figure 1) when using global mean scaling. Importantly, a strong agreement between early-phase A β -PET and FDG-PET SUVR was also observed in subcortical areas (mean $R = 0.84$, range 0.79–0.90, all $p < 0.001$; Figure 2), when using global mean scaling. Cerebellar normalization mirrored the results of global mean scaling at a slightly lower level of correlation (mean R values: 0.84 ± 0.08 vs. 0.76 ± 0.12 ; paired t -test after Fisher's z -transformation: $p = 0.013$). Results of individual regions are reported in Table 2. Strong asymmetry was observed in FDG-PET for central (mean |AI| = 2.89%) and parietal (mean |AI| = 2.85%) cortices as well as the thalamus (mean |AI| = 5.45%). AI of early-phase A β -PET correlated highly with AI observed in FDG-PET (mean $R = 0.87$, range 0.62–0.98). Agreements of AI measured by early-phase

TABLE 1 | Demographics of the study population.

Study groups	N	Age (y \pm SD)	Sex (m/f)	Disease severity (PSPRS)	Cognition (MoCA)	Disease duration (months \pm SD)	Difference between FDG-PET and A β -PET (months \pm SD)
All patients with CBS	20	68 \pm 9	9/11	28 \pm 14	20 \pm 8	28 \pm 22	4.9 \pm 7.8
A β -positive CBS	5	69 \pm 8	3/2	29 \pm 10	10 \pm 5	35 \pm 27	5.7 \pm 7.1
A β -negative CBS	15	68 \pm 10	6/9	28 \pm 16	24 \pm 4	26 \pm 21	4.7 \pm 8.1

CBS, corticobasal syndrome; m, male; f, female; y, year; SD, standard deviation; A β , β -amyloid; MoCA, Montreal Cognitive Assessment; PSPRS, Progressive Supranuclear Palsy Rating Scale; FDG-PET, 18 F-fluorodesoxyglucose positron-emission-tomography.

TABLE 2 | Semiquantitative results of early-phase A β -PET and FDG-PET.

	Global mean normalization					Cerebellar normalization				
	A β -PET perfusion (SUVr)		FDG-PET (SUVr)		R (ρ)	A β -PET perfusion (SUVr)		FDG-PET (SUVr)		R (ρ)
	Mean	SD	Mean	SD		Mean	SD	Mean	SD	
Motor cortex L	1.158	0.095	1.173	0.078	0.924 (0.000)	0.959	0.125	1.076	0.127	0.868 (0.000)
Motor cortex R	1.142	0.060	1.156	0.062	0.832 (0.000)	0.943	0.087	1.060	0.101	0.733 (0.000)
Prefrontal cortex L	1.206	0.067	1.261	0.079	0.760 (0.000)	0.995	0.086	1.156	0.115	0.619 (0.004)
Prefrontal cortex R	1.199	0.084	1.249	0.092	0.836 (0.000)	0.989	0.085	1.145	0.125	0.667 (0.001)
Parietal cortex L	1.176	0.092	1.172	0.092	0.904 (0.000)	0.975	0.095	1.078	0.150	0.844 (0.000)
Parietal cortex R	1.148	0.062	1.137	0.083	0.907 (0.000)	0.949	0.093	1.045	0.140	0.859 (0.000)
Temporal cortex L	1.149	0.071	1.138	0.073	0.967 (0.000)	0.975	0.095	1.051	0.109	0.907 (0.000)
Temporal cortex R	1.126	0.048	1.108	0.036	0.764 (0.000)	0.949	0.093	1.015	0.079	0.852 (0.000)
Occipital cortex L	1.244	0.081	1.211	0.085	0.839 (0.000)	1.373	0.129	1.110	0.120	0.911 (0.000)
Occipital cortex R	1.237	0.050	1.193	0.060	0.637 (0.003)	1.383	0.119	1.094	0.109	0.867 (0.000)
Putamen L	1.666	0.147	1.680	0.174	0.929 (0.000)	1.373	0.129	1.535	0.154	0.640 (0.002)
Putamen R	1.679	0.153	1.682	0.141	0.818 (0.000)	1.383	0.119	1.537	0.125	0.567 (0.009)
Pallidum L	1.092	0.089	1.049	0.079	0.892 (0.000)	0.900	0.078	0.959	0.077	0.770 (0.000)
Pallidum R	1.225	0.090	1.178	0.079	0.899 (0.000)	1.009	0.076	1.077	0.083	0.733 (0.000)
Thalamus L	1.570	0.095	1.356	0.073	0.798 (0.000)	1.294	0.088	1.240	0.083	0.627 (0.003)
Thalamus R	1.573	0.096	1.363	0.109	0.790 (0.000)	1.296	0.084	1.247	0.120	0.668 (0.001)

All regional standardized-uptake-value-ratios (SUVr) values are given for global mean normalization and cerebellar scaling together with their correlation coefficient. FDG-PET, 18 F-fluorodesoxyglucose positron-emission-tomography; R, Pearson's coefficient of correlation; SD, standard deviation; L, left; R, right.

A β -PET and FDG-PET are visualized as Bland-Altman plots in Figure 3.

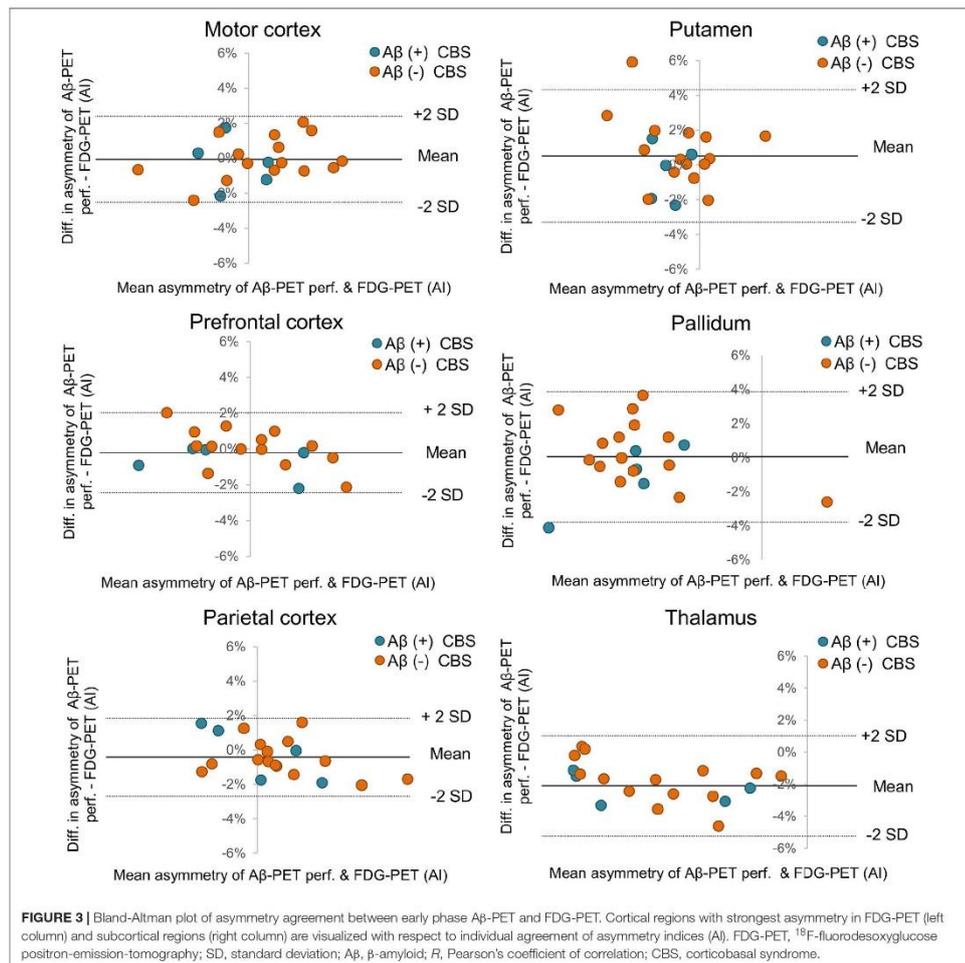
Visual 3D-SSP Comparison of Early-Phase 18 F-Flutemetamol A β -PET and FDG-PET

Visual assessment of target regions showed high ICC between early-phase 18 F-flutemetamol A β -PET and FDG-PET for intra-reader agreement among all four readers (mean ICC for all evaluated regions: 0.86 ± 0.10 ; 0.85 ± 0.09 ; 0.81 ± 0.12 ; and 0.75 ± 0.10 ; Table 3). There was no remarkable difference between experienced and expert readers. Inter-reader agreement indicated high ICC for early-phase A β -PET (mean ICC for all evaluated regions: 0.91 ± 0.06) which was comparable to inter-reader ICC for FDG-PET (mean ICC for all evaluated regions: 0.92 ± 0.06). This was also resembled by a mixed ICC including the four ratings of early-phase A β -PET and the four ratings of FDG-PET (mean ICC for all evaluated regions: 0.93 ± 0.04).

DISCUSSION

We present the first investigation comparing early-phase A β -PET and FDG-PET for the assessment of neuronal injury in CBS. The well-defined prospective cohort of this rare neurodegenerative disorder allowed to test for the value of perfusion phase A β -PET in neurodegeneration of subcortical and cortical brain areas. Keeping potential temporal gaps in the sensitivity of both modalities in mind, our data revealed that dynamic or dual time point imaging of A β -PET can deliver a similar information of neuronal injury when compared to FDG-PET in patients with CBS. Furthermore, asymmetric neuronal injury, representing the imaging correlate of clinical asymmetry in CBS, was also captured sufficiently by early-phase A β -PET.

The value of the propagated dual phase imaging technique is especially high in CBS, since underlying A β pathology is frequently found (23%) in autopsy studies and has associations with the clinical phenotype (Lee et al., 2011). Thus, the information of A β -positivity can help to judge clinical symptoms



of AD-CBS correctly which implicates an increase in the overall accuracy of *ante mortem* diagnosis of CBS. Our cohort comprised 25% A β -positive CBS cases which is in line with 23% AD pathology at autopsy (Lee et al., 2011). We acknowledge that the provided sample size is small, and we note that the frequency of underlying AD neuropathology varies among different CBS autopsy studies (Parmera et al., 2016). Thus, the reported frequency of A β -positivity in our cohort could be biased by both the limited number of patients and the overall variability. We did not put a focus on neuronal injury differences between A β -positive and A β -negative CBS cases, but qualitatively there

was an increased involvement of parieto-temporal regions in A β -positive CBS cases and a more severe affection of subcortical regions in A β -negative CBS cases (see Figures 1, 2), consistent with recently reported FDG-PET patterns in autopsy proven subtypes of CBS (Pardini et al., 2019). These observations also fit to a very recent study that showed prediction of A β -positivity by FDG-PET patterns (Parmera et al., 2020).

The idea of using perfusion phase A β -PET imaging as a surrogate of glucose metabolism is based on earlier studies comparing perfusion SPECT and FDG-PET for assessment of neuronal injury in mild cognitive impairment and AD

TABLE 3 | Visual comparison between surface projections of early-phase Aβ-PET and FDG-PET.

Region	Expert 1 (intra-rater ICC, 95%CI)	Expert 2 (intra-rater ICC, 95%CI)	Experienced 1 (intra-rater ICC, 95%CI)	Experienced 2 (intra-rater ICC, 95%CI)	FDG-PET (inter-rater ICC, 95%CI)	Aβ-PET perfusion (inter-rater ICC, 95%CI)	Combined (inter-rater ICC, 95%CI)
Motor cortex L	0.916 (0.790-0.966)	0.742 (0.566-0.897)	0.905 (0.760-0.962)	0.864 (0.655-0.946)	0.906 (0.809-0.959)	0.864 (0.732-0.940)	0.933 (0.878-0.970)
Motor cortex R	0.942 (0.812-0.979)	0.808 (0.526-0.923)	0.928 (0.815-0.971)	0.758 (0.397-0.904)	0.858 (0.720-0.938)	0.850 (0.703-0.934)	0.834 (0.698-0.924)
Prefrontal cortex L	0.811 (0.524-0.925)	0.749 (0.585-0.899)	0.627 (0.144-0.849)	0.519 (-0.180-0.807)	0.869 (0.939-0.886)	0.867 (0.736-0.942)	0.932 (0.876-0.989)
Prefrontal cortex R	0.950 (0.874-0.980)	0.806 (0.515-0.923)	0.901 (0.750-0.961)	0.882 (0.702-0.953)	0.979 (0.939-0.991)	0.932 (0.867-0.970)	0.972 (0.948-0.987)
Parietal cortex L	0.902 (0.519-0.969)	0.864 (0.428-0.955)	0.915 (0.285-0.977)	0.898 (0.483-0.968)	0.975 (0.952-0.989)	0.982 (0.964-0.992)	0.977 (0.955-0.990)
Parietal cortex R	0.895 (0.564-0.965)	0.824 (0.255-0.943)	0.848 (0.154-0.955)	0.856 (0.508-0.961)	0.899 (0.978-0.995)	0.964 (0.929-0.984)	0.972 (0.942-0.988)
Temporal cortex L	0.938 (0.835-0.976)	0.912 (0.772-0.965)	0.872 (0.685-0.949)	0.831 (0.577-0.933)	0.968 (0.938-0.986)	0.873 (0.946-0.998)	0.976 (0.956-0.989)
Temporal cortex R	0.772 (0.441-0.909)	0.851 (0.622-0.941)	0.846 (0.512-0.944)	0.893 (0.688-0.955)	0.952 (0.905-0.979)	0.970 (0.941-0.987)	0.962 (0.931-0.983)
Occipital cortex L	0.907 (0.715-0.966)	0.537 (-0.074-0.810)	0.750 (0.386-0.900)	0.628 (0.574-0.931)	0.923 (0.841-0.967)	0.910 (0.823-0.960)	0.936 (0.881-0.971)
Occipital cortex R	0.858 (0.631-0.945)	0.714 (0.265-0.888)	0.720 (0.319-0.888)	0.574 (-0.034-0.829)	0.859 (0.719-0.938)	0.837 (0.874-0.872)	0.911 (0.836-0.960)
Striatum L	0.859 (0.632-0.945)	0.705 (0.282-0.881)	0.892 (0.725-0.957)	0.897 (0.741-0.959)	0.947 (0.981-0.977)	0.849 (0.655-0.837)	0.939 (0.886-0.973)
Striatum R	0.579 (-0.22-0.831)	0.730 (0.322-0.893)	0.888 (0.745-0.960)	0.762 (0.397-0.906)	0.803 (0.692-0.915)	0.770 (0.481-0.904)	0.868 (0.750-0.940)
Thalamus L	0.621 (0.061-0.849)	0.617 (0.071-0.846)	0.843 (0.612-0.937)	0.864 (0.681-0.946)	0.843 (0.668-0.933)	0.922 (0.845-0.966)	0.917 (0.845-0.963)
Thalamus R	0.821 (0.557-0.929)	0.634 (0.116-0.853)	0.925 (0.813-0.970)	0.900 (0.748-0.961)	0.898 (0.790-0.956)	0.916 (0.832-0.963)	0.941 (0.889-0.973)

Intraclass correlation coefficients (ICC) are given for intra-rater (early-phase Aβ-PET vs. FDG-PET) and inter-rater (early-phase Aβ-PET/FDG-PET/combined) comparisons together with their 95% confidence interval (CI). L, left; R, right; FDG-PET, ¹⁸F-fluorodesoxyglucose positron-emission tomography.

(Schroeter et al., 2009). Although FDG-PET tends to have higher sensitivity over SPECT for detection of AD like neuronal injury at the single patient level (Bloudek et al., 2011), the patterns of alterations against controls were found to be comparable at the group level (Schroeter et al., 2009). The initial tracer uptake does not reflect Aβ burden *per se* but is rather a surrogate of cerebral blood flow (CBF), due to the high first pass extraction of ¹⁸F-flutemetamol and other lipophilic Aβ-PET tracers (Pike, 2009; Herholz and Ebmeier, 2011). Several studies were already able to prove this concept for different Aβ-PET ligands by showing the similarity of hypoperfusion and hypometabolism in mixed cohorts dominantly consisting of AD-spectrum patients (Meyer et al., 2011; Rostomian et al., 2011; Hsiao et al., 2012; Tiepolt et al., 2016; Daerr et al., 2017). Beyond reporting on the first CBS dataset investigated by dual-phase Aβ-PET, one novelty of our study comprises the evaluation of early-phase Aβ-PET in subcortical regions, which appeared to be important as strong involvement of the thalamus was previously reported in FDG-PET investigations on CBS (Mille et al., 2017; Pardini et al., 2019). Our results show similarly high levels of association between Aβ-PET perfusion and FDG-PET in subcortical areas when compared to cortical brain regions (Figure 2), thus revealing that early-phase Aβ-PET is able to detect commonly observed neuronal injury in subcortical areas of CBS patients. Another novelty is given by the comparison of asymmetry indices between early-phase Aβ-PET and FDG-PET. This is likewise important as CBS often presents with an asymmetric clinical phenotype and asymmetrical neuroimaging findings (Boxer et al., 2006). AI detected by FDG-PET were consistently resembled by perfusion phase Aβ-PET (Figure 3), indicating that this neuroimaging feature can be detected at a comparable accuracy for both neuronal injury assessments. Our data were robust when comparing global mean and cerebellar scaling as the commonly used approaches of relative quantification for FDG-PET and Aβ-PET perfusion imaging. However, global mean scaling indicated a superior level of correlation between FDG-PET and Aβ-PET perfusion when compared to cerebellar normalization. This finding could be related to an involvement of the cerebellum in the neurodegeneration topology of some patients with CBS or to the higher general robustness of global mean scaling. Larger cohorts will be necessary to investigate suitable and optimized pseudoreference tissues for Aβ-PET perfusion imaging in CBS.

As a limitation, we note that the optimal comparison between FDG-PET and Aβ-PET perfusion imaging would additionally comprise a normal cohort imaged with both biomarkers. Nonetheless, the unified use of FDG-PET controls also provided robust results for early-phase Aβ-PET imaging with ¹⁸F-florbetaben when assessed quantitatively and visually (Daerr et al., 2017). Thus, this methodology was adopted in the current investigation. Furthermore, the detection accuracy of neuronal injury patterns in the visual analysis did not suffer from the unified FDG-PET control cohort or from a potential detection gap between both modalities, since ICC revealed high levels for all intra-rater analyses. As an outlook, early-phase tau-PET imaging could also serve for detection of neuronal injury in CBS (Beyer et al., 2020), but we note that this modality needs

to be evaluated in larger cohorts. Standardizations of perfusion imaging across tracers and analytic methods remain open tasks that need to be addressed by the neuroimaging communities. Currently, different recommendations of the used time-window and the used methodology (i.e., SUVr vs. R1) for different tracers hamper standardized application in clinical settings and deserve future unification (Hsiao et al., 2012; Gjedde et al., 2013; Daerr et al., 2017; Peretti et al., 2019; Ponto et al., 2019). Our data of perfusion imaging in CBS revealed a stable agreement between single 1-min frames of ^{18}F -flutemetamol A β -PET and FDG-PET, indicating that the methodology itself is rather robust. Different spatial normalization approaches (i.e., unified versus tracer specific templates) may also have an impact on the agreement between early-phase A β -PET and FDG-PET, but we did not observe major differences in exploratory testing of mixed FDG/perfusion templates (data not shown). Multicenter data analyses could serve to close the gap of missing control cohorts and lacking implementation in standard software packages.

The present study demonstrates that cortical and subcortical neuronal injury can be sufficiently detected by perfusion phase A β -PET. The methodology is also capable to detect asymmetry of neuronal injury in CBS which provides an important neuroimaging feature in the evaluation of suspected CBS. A dual phase ^{18}F -flutemetamol protocol can provide combined biomarker information on neurodegeneration and amyloid pathology, thus reducing radiation exposure and patient effort. Future studies should focus on potential temporal gaps in the detection of neuronal damage by perfusion imaging and FDG-PET.

GERMAN IMAGING INITIATIVE FOR TAUOPATHIES (GII4T)

JL, Jonathan Vöglein, Urban Fietzek, Sonja Schönecker, Georg Nübling, Catharina Prix, Kai Bötzel, Adrian Danek, Carla Palleis, Endy Weidinger, and Sabrina Katzdobler, LMU Munich, Department of Neurology.

MB, Mengmeng Song, Alexander Nitschmann, Maike Kern, Gloria Biechele, Anika Finze, Leonie Beyer, Peter Bartenstein, Stefanie Harris, Julia Schmitt, Florian Eckenweber, Simon Lindner, Franz-Joseph Gildehaus, Emanuel Joseph, Maximilian Scheifele, and Christian Zach, LMU Munich, Department of Nuclear Medicine

RP and Jan Häckert, LMU Munich, Department of Psychiatry and Psychotherapy

B-SR and Sophia Stöcklein, LMU Munich, Department of Radiology

Günter Höglinger and Gesine Respondek, Hannover Medical School, Department of Neurology

Henryk Barthel, Marianne Patt, Andreas Schildan, Osama Sabri, and Michael Rullmann, University of Leipzig, Department Nuclear Medicine

Joseph Classen, Dorothee Saur, and Jost-Julian Rumpf, University of Leipzig, Department of Neurology

Matthias L. Schroeter, Max-Planck-Institute Leipzig

Matthias Höllerhage, Technical University of Munich, Department Neurology

Alexander Drzezga, Thilo van Eimeren, Jochen Hammes, and Bernd Neumaier, University of Cologne, Department of Nuclear Medicine and Forschungszentrum Jülich

Michael T. Barbe and Oezguer Onur, University of Cologne, Department of Neurology

Estrella Morenas-Rodriguez, Jochen Herms, Sigrun Roeber, Thomas Arzberger, CH, and Frank Jessen, DZNE Munich/Bonn

Andrew Stephens, Norman Koglin, and Andre Mueller, Life Molecular Imaging

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

ETHICS STATEMENT

The studies involving human participants were reviewed and approved by Ethics committee of the Ludwig-Maximilians-University Munich (project numbers 17-755 and 17-569). The patients/participants provided their written informed consent to participate in this study. Written informed consent was obtained from the individual(s) for the publication of any potentially identifiable images or data included in this article.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

JSc writing, data analyses, and statistical analyses. CPa, CP, EW, SK, OW, AD, and BR patient recruitment, patient evaluation, and data analyses. JSa, MU, SH, and LB PET scans and PET data analyses. AR, MS, PB, RP, CH, JL, and GH study design and conception. MB writing, drafting, and study conception. All authors added significant scientific input and intellectual content to the manuscript.

FUNDING

The recruitment of the ActiGliA cohort was supported by the presidential fond of the Helmholtz society (to CH). This project was also supported by the German Center for Neurodegenerative Diseases (DZNE, DescribePSP Study), the German Parkinson's Association (DPG, ProPSP Study) and the Hirnliga e.V. (Manfred-Strohscheer-Stiftung). PB, GH, CH, JL, and RP were supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG, German Research Foundation) under Germany's Excellence Strategy within the framework of the Munich Cluster for Systems Neurology (EXC 2145 SyNergy-ID 390857198). GH and CH were also funded by the NOMIS foundation (FTLD project), Volkswagen Stiftung/Lower Saxony Ministry for Science/Petermax-Müller Foundation (Etiology and Therapy of

Synucleinopathies and Tauopathies). The Lüneburg Heritage has supported the work of CP and JL. LB was funded by the Munich-Clinician-Scientist Program.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank all of our patients and their caregivers for making this work possible. Furthermore, we thank the cyclotron,

radiochemistry, the PET imaging crew and the Clinical Trials Unit at DZNE Munich.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

The Supplementary Material for this article can be found online at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnagi.2021.661284/full#supplementary-material>

REFERENCES

- Alexander, S. K., Rittman, T., Xuereb, J. H., Bak, T. H., Hodges, J. R., and Rowe, J. B. (2014). Validation of the new consensus criteria for the diagnosis of corticobasal degeneration. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 85, 925–929. doi: 10.1136/jnnp-2013-307035
- Armstrong, M. J., Litvan, I., Lang, A. E., Bak, T. H., Bhatia, K. P., Borroni, B., et al. (2013). Criteria for the diagnosis of corticobasal degeneration. *Neurology* 80, 496–503. doi: 10.1212/WNL.0b013e31827f0fd1
- Beyer, L., Meyer-Wilmes, J., Schonecker, S., Schnabel, J., Brendel, E., Prix, C., et al. (2018). Clinical routine FDG-PET imaging of suspected progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration: a gatekeeper for subsequent Tau-PET imaging? *Front. Neurol.* 9:483. doi: 10.3389/fneur.2018.00483
- Beyer, L., Nitschmann, A., Barthel, H., Van Eimeren, T., Untertiner, M., Sauerbeck, J., et al. (2020). Early-phase [(18)F]PI-2620 tau-PET imaging as a surrogate marker of neuronal injury. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 47, 2911–2922. doi: 10.1007/s00259-020-04788-w
- Bloudek, L. M., Spackman, D. E., Blankenburg, M., and Sullivan, S. D. (2011). Review and meta-analysis of biomarkers and diagnostic imaging in Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* 26, 627–645. doi: 10.3233/jad-2011-110458
- Bollaard, R., Delgado-Bolton, R., Oyen, W. J. G., Giannarile, F., Tatsch, K., Eschner, W., et al. (2015). FDG PET/CT: EANM procedure guidelines for tumour imaging: version 2.0. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 42, 328–354. doi: 10.1007/s00259-014-2961-x
- Boxer, A. L., Geschwind, M. D., Belfor, N., Gorno-Tempini, M. L., Schauer, G. F., Miller, B. L., et al. (2006). Patterns of brain atrophy that differentiate corticobasal degeneration syndrome from progressive supranuclear palsy. *Arch. Neurol.* 63, 81–86. doi: 10.1001/archneur.63.1.81
- Chen, Y. J., Rosario, B. L., Mowrey, W., Laymon, C. M., Lu, X., Lopez, O. L., et al. (2015). Relative 11C-PiB delivery as a proxy of relative CBF: quantitative evaluation using single-session 15O-water and 11C-PiB PET. *J. Nucl. Med.* 56, 1199–1205. doi: 10.2967/jnumed.114.152405
- Coughlin, D., and Irwin, D. J. (2017). Emerging diagnostic and therapeutic strategies for tauopathies. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 17:72. doi: 10.1007/s11910-017-0779-1
- Daerr, S., Brendel, M., Zach, C., Mille, E., Schilling, D., Zacherl, M. J., et al. (2017). Evaluation of early-phase [(18)F]-florbetaben PET acquisition in clinical routine cases. *Neuroimage Clin.* 14, 77–86. doi: 10.1016/j.nicl.2016.10.005
- Gjedde, A., Aanerud, J., Braendgaard, H., and Rodell, A. B. (2013). Blood-brain transfer of Pittsburgh compound B in humans. *Front. Aging Neurosci.* 5:70. doi: 10.3389/fnagi.2013.00070
- Hammers, A., Allom, R., Koepp, M. J., Free, S. L., Myers, R., Lemieux, L., et al. (2003). Three-dimensional maximum probability atlas of the human brain, with particular reference to the temporal lobe. *Hum. Brain Mapp.* 19, 224–247. doi: 10.1002/hbm.10123
- Herholz, K., and Ebmeier, K. (2011). Clinical amyloid imaging in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* 10, 667–670.
- Höglinger, G. U., Respondek, G., Stamelou, M., Kurz, C., Josephs, K. A., Lang, A. E., et al. (2017). Clinical diagnosis of progressive supranuclear palsy: the movement disorder society criteria. *Mov. Disord.* 32, 853–864.
- Hsiao, I.-T., Huang, C.-C., Hsieh, C.-J., Hsu, W.-C., Wey, S.-P., Yen, T.-C., et al. (2012). Correlation of early-phase 18F-florbetapir (AV-45/Amyvid) PET images to FDG images: preliminary studies. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 39, 613–620. doi: 10.1007/s00259-011-2051-2
- Hsiao, I.-T., Huang, C.-C., Hsieh, C.-J., Wey, S.-P., Kung, M.-P., Yen, T.-C., et al. (2013). Perfusion-like template and standardized normalization-based brain image analysis using 18F-florbetapir (AV-45/Amyvid) PET. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 40, 908–920. doi: 10.1007/s00259-013-2350-x
- Jack, C. R. Jr., Bennett, D. A., Blennow, K., Carrillo, M. C., Dunn, B., Haeberlein, S. B., et al. (2018). NIA-AA research framework: toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 14, 535–562. doi: 10.1016/j.jalz.2018.02.018
- Kreuzer, A., Sauerbeck, J., Scheifele, M., Stockbauer, A., Schonecker, S., Prix, C., et al. (2021). Detection gap of right-asymmetric neuronal degeneration by CERAD test battery in Alzheimer's disease. *Front. Aging Neurosci.* 13: 611595.
- Lee, S. E., Rabinovici, G. D., Mayo, M. C., Wilson, S. M., Seeley, W. W., Dearmond, S. J., et al. (2011). Clinicopathological correlations in corticobasal degeneration. *Ann. Neurol.* 70, 327–340.
- Levin, J., Kurz, A., Arzberger, T., Giese, A., and Höglinger, G. U. (2016). The differential diagnosis and treatment of atypical parkinsonism. *Dtsch. Arztebl. Int.* 113, 61–69.
- Meyer, P. T., Hellwig, S., Amtage, F., Rottenburger, C., Sahn, U., Reuland, P., et al. (2011). Dual-biomarker imaging of regional cerebral amyloid load and neuronal activity in dementia with PET and 11C-labeled Pittsburgh compound B. *J. Nucl. Med.* 52, 393–400. doi: 10.2967/jnumed.110.083683
- Mille, E., Levin, J., Brendel, M., Zach, C., Barthel, H., Sabri, O., et al. (2017). Cerebral glucose metabolism and dopaminergic function in patients with corticobasal syndrome. *J. Neuroimaging* 27, 255–261. doi: 10.1111/jon.12391
- Minoshima, S., Frey, K., Koeppe, R. A., Foster, N. L., and Kuhl, D. E. (1995). A diagnostic approach in Alzheimer's disease using three-dimensional stereotactic surface projections of Fluorine-18-FDG PET. *J. Nucl. Med.* 36, 1238–1248.
- Ossenkopp, R., Jansen, W. J., Rabinovici, G. D., Knol, D. L., Van Der Flier, W. M., Van Berckel, B. N. M., et al. (2015). Prevalence of amyloid PET positivity in dementia syndromes: a meta-analysis. *JAMA* 313, 1939–1949.
- Pardini, M., Huey, E. D., Spina, S., Kreis, W. C., Morbelli, S., Wassermann, E. M., et al. (2019). FDG-PET patterns associated with underlying pathology in corticobasal syndrome. *Neurology* 92, e1121–e1135.
- Parmer, J. B., Coutinho, A. M., Aranha, M. R., Studart-Neto, A., De Godoi Carneiro, C., De Almeida, I. J., et al. (2020). FDG-PET patterns predict amyloid deposition and clinical profile in corticobasal syndrome. *Mov. Disord.* 36, 651–661. doi: 10.1002/mds.28373
- Parmer, J. B., Rodriguez, R. D., Studart Neto, A., Nitirni, R., and Brucki, S. M. D. (2016). Corticobasal syndrome: a diagnostic conundrum. *Dement. Neuropsychol.* 10, 267–275. doi: 10.1590/s1980-5764-2016dn1004003
- Peretti, D. E., Vallez Garcia, D., Reesink, F. E., Van Der Goot, T., De Deyn, P. P., De Jong, B. M., et al. (2019). Relative cerebral flow from dynamic PIB scans as an alternative for FDG scans in Alzheimer's disease PET studies. *PLoS One* 14:e0211000. doi: 10.1371/journal.pone.0211000
- Pike, V. W. (2009). PET radiotracers: crossing the blood-brain barrier and surviving metabolism. *Trends Pharmacol. Sci.* 30, 431–440. doi: 10.1016/j.tips.2009.05.005
- Ponto, L. L. B., Moser, D. J., Menda, Y., Harlynn, E. L., Devries, S. D., Oleson, J. J., et al. (2019). Early phase PIB-PET as a surrogate for global and regional cerebral blood flow measures. *J. Neuroimaging* 29, 85–96. doi: 10.1111/jon.12582

- Rosler, T. W., Tayaraniyan Marvian, A., Brendel, M., Nykanen, N. P., Hollerhage, M., Schwarz, S. C., et al. (2019). Four-repeat tauopathies. *Prog. Neurobiol.* 180:101644. doi: 10.1016/j.pneurobio.2019.101644
- Rostomian, A. H., Madison, C., and Rabinovici, G. D. (2011). Early 11C-PIB frames and 18F-FDG PET measures are comparable: a study validated in a cohort of AD and FTLD patients. *J. Nucl. Med.* 52, 173–179.
- Sabri, O., Seibyl, J., Rowe, C., and Barthelemy, H. (2015). Beta-amyloid imaging with florbetaben. *Clin. Transl. Imaging* 3, 13–26. doi: 10.1007/s40336-015-0102-6
- Schroeter, M. L., Stein, T., Maslowski, N., and Neumann, J. (2009). Neural correlates of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a systematic and quantitative meta-analysis involving 1351 patients. *Neuroimage* 47, 1196–1206. doi: 10.1016/j.neuroimage.2009.05.037
- Senda, M., Brooks, D. J., Farrar, G., Somer, E. J., Paterson, C. L., Sasaki, M., et al. (2015). The clinical safety, biodistribution and internal radiation dosimetry of flutemetamol ((1)(8)F) injection in healthy Japanese adult volunteers. *Ann. Nucl. Med.* 29, 627–635. doi: 10.1007/s12149-015-0986-2
- Tiepol, S., Hesse, S., Patt, M., Luthardt, J., Schroeter, M. L., Hoffmann, K.-T., et al. (2016). Early [18F]florbetaben and [11C]PIB PET images are a surrogate biomarker of neuronal injury in Alzheimer's disease. *Eur. J. Nuclear Med. Mol. Imaging* 43, 1700–1709. doi: 10.1007/s00259-016-3353-1
- van Eimeren, T., Antonini, A., Berg, D., Bohnen, N., Ceravolo, R., Drzezga, A., et al. (2019). Neuroimaging biomarkers for clinical trials in atypical parkinsonian disorders: proposal for a neuroimaging biomarker utility system. *Alzheimers Dement. (Amst.)* 11, 301–309. doi: 10.1016/j.dadm.2019.01.011
- Vernaleken, I., Weibrich, C., Siessmeier, T., Buchholz, H.-G., Rösch, F., Heinz, A., et al. (2007). Asymmetry in dopamine D2/3 receptors of caudate nucleus is lost with age. *Neuroimage* 34, 870–878. doi: 10.1016/j.neuroimage.2006.10.013
- Conflict of Interest:** MB received speaker honoraria from GE healthcare and LMI and is an advisor of LMI. GH has ongoing research collaborations with Prothema; serves as a consultant for AbbVie, AlzProtect, Asceneuron, Biogen, Biohaven, Lundbeck, Novartis, Roche, Sanofi, UCB; received honoraria for scientific presentations from AbbVie, Bial, Biogen, Bristol Myers Squibb, Roche, Teva, UCB, and Zambon; and holds a patent on PERK Activation for the Treatment of Neurodegenerative Diseases (PCT/EP2015/068734). CH is chief scientific advisor of ISAR biosciences and collaborates with DENALI therapeutics. RP is on the advisory board for Biogen, has consulted for Eli Lilly and Roche, is a grant recipient from Janssen Pharmaceutica and Boehringer Ingelheim, and has received speaker honoraria from Janssen-Cilag, Pfizer and Biogen. JL reports speaker fees from Bayer Vital, consulting fees from Axon Neuroscience, author fees from Thieme medical publishers and W. Kohlhammer GmbH medical publishers, non-financial support from Abbvie and compensation for duty as part-time CMO from MODAG GmbH, all outside the submitted work.
- The remaining authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.
- Copyright © 2021 Schmitt, Palleis, Sauerbeck, Unterrainer, Harris, Prix, Weidinger, Katzdobler, Wagemann, Daneš, Beyer, Rauchmann, Rominger, Simons, Bartenstein, Pernecky, Haass, Levin, Höglinger, Brendel and the German Imaging Initiative for Tauopathies. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

7. Paper II



Article

Impact of TSPO Receptor Polymorphism on [¹⁸F]GE-180 Binding in Healthy Brain and Pseudo-Reference Regions of Neurooncological and Neurodegenerative Disorders

Franziska J. Vettermann¹, Stefanie Harris¹, Julia Schmitt¹, Marcus Unterrainer², Simon Lindner¹, Boris-Stephan Rauchmann^{2,3}, Carla Palleis⁴, Endy Weidinger⁴, Leonie Beyer¹, Florian Eckenweber¹, Sebastian Schuster¹, Gloria Biechele¹, Christian Ferschmann¹, Vladimir M. Milenkovic⁵, Christian H. Wetzel⁵, Rainer Rupprecht⁵, Daniel Janowitz⁶, Katharina Buerger⁶, Robert Perneczky^{3,7,8,9}, Günter U. Höglinger^{7,9,10}, Johannes Levin^{4,7,9}, Christian Haass^{7,9,11}, Joerg C. Tonn¹², Maximilian Niyazi^{13,14}, Peter Bartenstein^{1,9}, Nathalie L. Albert^{1,14,†} and Matthias Brendel^{1,9,14,*†}



Citation: Vettermann, F.J.; Harris, S.; Schmitt, J.; Unterrainer, M.; Lindner, S.; Rauchmann, B.-S.; Palleis, C.; Weidinger, E.; Beyer, L.; Eckenweber, F.; et al. Impact of TSPO Receptor Polymorphism on [¹⁸F]GE-180 Binding in Healthy Brain and Pseudo-Reference Regions of Neurooncological and Neurodegenerative Disorders. *Life* **2021**, *11*, 484. <https://doi.org/10.3390/life11060484>

Academic Editor: Barbara Picconi

Received: 19 April 2021

Accepted: 21 May 2021

Published: 26 May 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

- ¹ Department of Nuclear Medicine, University Hospital of Munich, LMU Munich, 81377 Munich, Germany; Franziska.Vettermann@med.uni-muenchen.de (F.J.V.); Stefanie.Harris@med.uni-muenchen.de (S.H.); Julia.Schmitt@med.uni-muenchen.de (J.S.); Simon.Lindner@med.uni-muenchen.de (S.L.); Leonie.Beyer@med.uni-muenchen.de (L.B.); Florian.Eckenweber@med.uni-muenchen.de (F.E.); Sebastian.Schuster@med.uni-muenchen.de (S.S.); Gloria.Biechele@med.uni-muenchen.de (G.B.); Ferschi@gmx.net (C.F.); Peter.Bartenstein@med.uni-muenchen.de (P.B.); Nathalie.Albert@med.uni-muenche.de (N.L.A.)
 - ² Department of Radiology, University Hospital of Munich, LMU Munich, 81377 Munich, Germany; Marcus.Unterrainer@med.uni-muenchen.de (M.U.); Boris.Rauchmann@med.uni-muenchen.de (B.-S.R.)
 - ³ Department of Psychiatry and Psychotherapy, University Hospital of Munich, LMU Munich, 81377 Munich, Germany; Robert.Perneczky@med.uni-muenchen.de
 - ⁴ Department of Neurology, University Hospital of Munich, LMU Munich, 81377 Munich, Germany; Carla.Palleis@med.uni-muenchen.de (C.P.); Endy.Weidinger@med.uni-muenchen.de (E.W.); Johannes.Levin@med.uni-muenchen.de (J.L.)
 - ⁵ Department of Psychiatry and Psychotherapy, University of Regensburg, 93053 Regensburg, Germany; Vladimir.Milenkovic@ukr.de (V.M.M.); Christian.Wetzel@klinik.uni-regensburg.de (C.H.W.); Rainer.Rupprecht@medbo.de (R.R.)
 - ⁶ Institute for Stroke and Dementia Research, University Hospital of Munich, LMU Munich, 81377 Munich, Germany; Daniel.Janowitz@med.uni-muenchen.de (D.J.); Katharina.Buerger@med.uni-muenchen.de (K.B.)
 - ⁷ German Center for Neurodegenerative Diseases (DZNE), 81377 Munich, Germany; Hoeglinger.Guenter@mh-hannover.de (G.U.H.); Christian.Haass@mail03.med.uni-muenchen.de (C.H.)
 - ⁸ Ageing Epidemiology (AGE) Research Unit, School of Public Health, Imperial College, London SW7 2AZ, UK
 - ⁹ Munich Cluster for Systems Neurology (SyNergy), 81377 Munich, Germany
 - ¹⁰ Department of Neurology, Hannover Medical School, 30625 Hannover, Germany
 - ¹¹ Chair of Metabolic Biochemistry, Biomedical Center (BMC), Faculty of Medicine, LMU Munich, 82152 Planegg, Germany
 - ¹² Department of Neurosurgery, University Hospital of Munich, 81377 Munich, Germany; Joerg.Christian.Tonn@med.uni-muenchen.de
 - ¹³ Department of Radiation Oncology, University Hospital of Munich, LMU Munich, 81377 Munich, Germany; Maximilian.Niyazi@med.uni-muenchen.de
 - ¹⁴ German Cancer Consortium (DKTK), Partner Site Munich, 81377 Munich, Germany
- * Correspondence: Matthias.Brendel@med.uni-muenchen.de; Tel.: +49-089-4400-74650
 † These authors contributed equally to this work.

Abstract: TSPO-PET tracers are sensitive to a single-nucleotide polymorphism (rs6971-SNP), resulting in low-, medium- and high-affinity binders (LABs, MABs and HABs), but the clinical relevance of [¹⁸F]GE-180 is still unclear. We evaluated the impact of rs6971-SNP on in vivo [¹⁸F]GE-180 binding in a healthy brain and in pseudo-reference tissue in neuro-oncological and neurodegenerative diseases. Standardized uptake values (SUVs) of [¹⁸F]GE-180-PET were assessed using a manually drawn region of interest in the frontoparietal and cerebellar hemispheres. The SUVs were compared between the LABs, MABs and HABs in control, glioma, four-repeat tauopathy (4RT) and Alzheimer's disease (AD) subjects. Second, the SUVs were compared between the patients and controls within their rs6971-subgroups. After excluding patients with prior therapy, 24 LABs (7 control, 5 glioma, 6 4RT

and 6 AD) were analyzed. Age- and sex-matched MABs (n = 38) and HABs (n = 50) were selected. The LABs had lower frontoparietal and cerebellar SUVs when compared with the MABs and HABs, but no significant difference was observed between the MABs and HABs. Within each rs6971 group, no SUV difference between the patients and controls was detected in the pseudo-reference tissues. The rs6971-SNP affects [¹⁸F]GE-180 quantification, revealing lower binding in the LABs when compared to the MABs and HABs. The frontoparietal and cerebellar ROIs were successfully validated as pseudo-reference regions.

Keywords: microglia; neurodegeneration; Alzheimer's disease; neuro-oncology; 4R-tauopathy; TSPO-PET

1. Introduction

The translocator protein 18 kDa (TSPO), previously known as the peripheral benzodiazepine receptor, is a mitochondrial transporter involved in various intracellular processes. Its expression in the central nervous system (CNS) under physiological conditions is relatively low, but expression is upregulated in activated microglia, macrophages and cancer cells [1]. TSPO has become more important as a positron emission tomography (PET) imaging target for several diseases, including CNS autoimmune diseases, neurodegeneration and glioma [2].

The first-generation TSPO-PET tracer [¹¹C]PK11195 has been used for over 25 years, though its application is limited due to poor pharmacokinetics and carbon-11 radiolabeling [3–5]. Several second-generation TSPO ligands with an improved signal-to-noise ratio, including [¹¹C]PBR28, have been investigated and revealed to have substantial heterogeneity in their binding potentials due to inter-subject variability in the affinity for TSPO [6,7]. Here, the binding properties of second-generation TSPO ligands were found to depend on a genetic polymorphism in the TSPO gene. A single-nucleotide polymorphism (rs6971) that replaces alanine with threonine (Ala147Thr) results in three patterns of binding affinity: high-affinity binders (HABs), medium-affinity binders (MABs) and low-affinity binders (LABs), depending on the homozygosity or heterozygosity of the allele [8]. A loss of binding to TSPO in approximately 10% of the LABs and underestimation of TSPO expression in the LABs and MABs were reported [9]. Similar effects of the rs6971 polymorphism were also demonstrated in initial studies using [¹¹C]PBR28 [10,11], and this phenomenon was subsequently noticed for several second-generation radiotracers [6,11,12]. Thus, the PET signals of patients with the MAB or LAB status significantly underestimate TSPO expression, requiring the TSPO binding status to be determined. The development of next-generation TSPO tracers was a consequence of the sensitivity of the second-generation tracers to this polymorphism in the TSPO gene. Recently, the next-generation TSPO-PET tracer [¹⁸F]GE-180 has received attention due to its fluorine labeling, which makes the tracer available at centers without an on-site cyclotron. Furthermore, recent studies reported a high lesion-to-background ratio and a higher proportion of specific binding (45%) when compared to [¹¹C]PBR28 (33%), as shown by in vivo blocking [13–16].

Our group has studied [¹⁸F]GE-180 in neuro-oncological, neurodegenerative and neuroimmune diseases. Glioma imaging with [¹⁸F]GE-180 has been shown to be valuable in noninvasive grading, with excellent sensitivity for the detection of high-grade gliomas [17–19]. [¹⁸F]GE-180 imaging in patients with a clinical diagnosis of 4R-tauopathy (4RT) closely reflected the expected topology of microglial activation and indicated early detection in the disease's course [20]. These findings were underpinned by strong immunohistochemical correlations of CD68 staining and TSPO-PET signals in a Trem2-deficient amyloid mouse model and in tau transgenic P301S mice [21,22]. However, the clinical relevance of the rs6971 polymorphism to different levels of binding affinity has not yet been systematically determined for [¹⁸F]GE-180.

In this study, we aimed to evaluate the impact of rs6971 on the in vivo [^{18}F]GE-180 signal in a healthy brain and in potential pseudo-reference tissue for studies on neuro-oncological and neurodegenerative diseases. We hypothesized that [^{18}F]GE-180 would be sensitive to the rs6971 polymorphism due to the tracer's specificity to TSPO.

2. Results

2.1. Sample Composition and Demographics

From a total of 380 participants, 113 participants were included in the analysis. Genotyping revealed 12% LABs (45/380), and after applying exclusion criteria, 24 LABs were included: 7 control subjects, 5 patients with glioma, 6 patients with a clinical diagnosis of a 4R-tauopathy and 6 patients with a clinical diagnosis of AD, with a mean age of 67.9 years (95% CI: 64.6–71.8) and a female-to-male ratio of 12:12. The MAB and HAB patients were selected by a matching algorithm including the minimal n, age and sex (Figure 1).

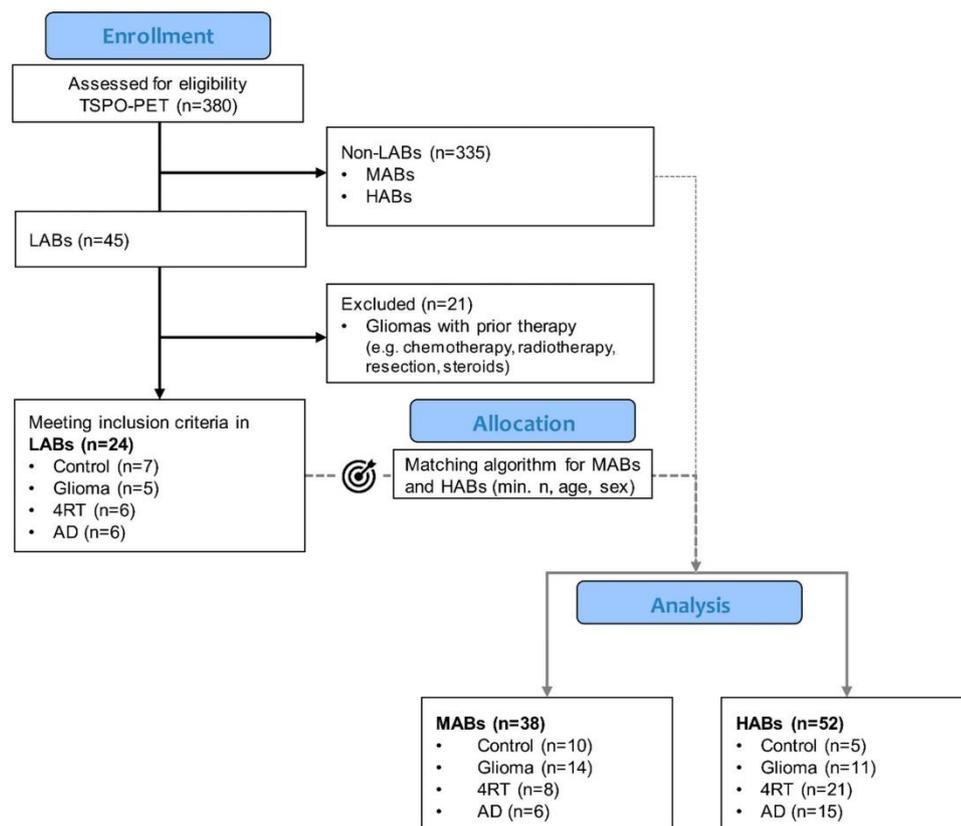


Figure 1. Flowchart of subject selection. LAB: low-affinity binder; MAB: medium-affinity binder; HAB: high-affinity binder; AD: Alzheimer's disease; and 4RT: 4-repeat tauopathy.

There were also 38 MABs included: 14 patients with glioma, 8 patients with a clinical diagnosis of a 4R-tauopathy, 6 patients with a clinical diagnosis of AD and 10 control patients, with a mean age of 70.1 years (95% CI: 67.2–72.9) and a female-to-male ratio of 23:15. Finally, 52 HABs were included: 11 patients with glioma, 21 with a clinical diagnosis of a 4R-tauopathy, 15 with a clinical diagnosis of AD and 5 control subjects, with a mean age of 70.4 (95% CI: 67.9–72.8) and a female-to-male ratio of 23:29 (Table 1). The diagnosis-specific subgroups did not differ in binding status, age or sex. The glioma group consisted of 27 WHO grade IV gliomas with an IDH-wildtype status and one WHO grade II glioma with IDH mutation. As previously described, to assess the maximal tumor-to-background ratio (TBR_{max}), the maximum standardized uptake value (SUV_{max}) of the tumor was divided by the background [18]. The SUV_{max} was 2.8 (95% CI: 2.5–3.1), and the maximum tumor-to-background ratio (TBR_{max}) was 6.6 (95% CI: 5.8–7.5). The analyzed patients with 4R-tauopathies had a PSPRS score of 29.8 (95% CI: 24.8–34.8), a MoCA score of 22.4 (95% CI: 20.6–24.2) and a SEADL score of 60.6 (95% CI: 54.2–67.1). The analyzed patients on the AD continuum had an MMSE score of 24.1 (95% CI: 21.9–26.2), a global CDR score of 0.6 (95% CI: 0.39–0.76) and a CDR-SOB score of 3.2 (95% CI: 2.1–4.3). The controls did not show any signs of cognitive decline (MoCA 29.1 (95% CI: 28.4–29.7)) or motor dysfunction.

2.2. [^{18}F]GE-180 Binding in a Comparison of rs6971 Polymorphism Subgroups

Concordance between repeated quantifications by defined manual regions was excellent for the frontoparietal ($r = 0.987$) and cerebellar ($r = 0.984$) VOI. Overall, the LABs showed significantly lower SUVs in the frontoparietal and cerebellar VOIs compared with the MABs and HABs (Table 2). There was no significant difference observed between the MABs and HABs (Table 2). Specific findings in the control and disease groups are reported below.

2.2.1. Controls

The frontoparietal SUV of the LAB controls was significantly lower (0.345 ± 0.025) compared with the MAB controls (0.436 ± 0.021 , $p = 0.013$) and HAB controls (0.471 ± 0.031 , $p = 0.006$). A comparable effect was detected in the cerebellum, with a significantly lower SUV for the LAB controls (0.367 ± 0.027) compared with the MAB controls (0.455 ± 0.023 , $p = 0.023$) and HAB controls (0.514 ± 0.034 , $p = 0.004$). There was no discernible difference in the SUVs between the MAB and HAB controls in both regions (frontoparietal, $p = 0.375$; cerebellum, $p = 0.181$; Figure 2).

2.2.2. Disease Groups

Glioma

The frontoparietal and cerebellar SUVs in the glioma cohort differed significantly between the three TSPO binding polymorphism groups. The frontoparietal VOI of the LABs revealed significantly lower SUVs (0.381 ± 0.021) compared with the MABs (0.424 ± 0.012 , $p = 0.086$) and HABs (0.436 ± 0.014 , $p = 0.047$).

The cerebellar VOI in the glioma group showed similar results, with lower SUVs in the LABs (0.372 ± 0.028) compared with the MABs (0.463 ± 0.016 , $p = 0.009$) and a trend toward lower SUVs in the HABs (0.440 ± 0.018 , $p = 0.059$). Again, no difference in SUVs between the MAB and HAB glioma patients in both regions was detectable (frontoparietal, $p = 0.551$; cerebellum, $p = 0.338$).

4RT

In patients with 4R-tauopathy, we observed a significantly lower frontoparietal SUV in the LABs (0.355 ± 0.028) compared with the MABs (0.455 ± 0.024 , $p = 0.010$) and HABs (0.462 ± 0.015 , $p = 0.002$). In the cerebellum, the SUV was significantly lower in the LABs (0.354 ± 0.032) compared with the MABs (0.475 ± 0.028 , $p = 0.007$) and HABs (0.478 ± 0.017 ,

$p = 0.002$). There was no difference between the SUVs in the MAB and HAB 4R-tauopathy patients (frontoparietal, $p = 0.826$; cerebellar, $p = 0.930$).

AD

The results for patients with AD trended in the same direction as the other disease groups but did not reach statistical significance. The frontoparietal SUV of the LABs was 0.360 ± 0.039 , compared with 0.420 ± 0.039 ($p = 0.290$) for the MABs and 0.435 ± 0.025 ($p = 0.118$) for the HABs. In the cerebellum, an insignificantly lower SUV was observed in the LABs (0.397 ± 0.038), compared with the MABs (0.452 ± 0.038 , $p = 0.321$) and HABs (0.460 ± 0.024 , $p = 0.175$). There was no discernible difference in SUVs between the MAB and HAB AD patients for both regions (frontoparietal, $p = 0.740$; cerebellum, $p = 0.848$).

2.3. [¹⁸F]GE-180 Binding in Frontoparietal and Cerebellar Pseudo-Reference Tissues in the rs6971 Polymorphism Subgroups

Visually, within each rs6971 polymorphism group, tracer binding of the frontoparietal and cerebellar VOIs was comparable between the patients and healthy controls (Figure 3).

Table 1. Demographics at each group level.

		LAB	MAB	HAB
Number of subjects		24	38	52
Diagnosis	Control (n)	7	10	5
	Glioma (n)	5	14	11
	4R-tauopathy (n)	6	8	21
	AD (n)	6	6	15
Age (y, mean, 95%CI)		68.2 (64.6–71.8)	70.1 (67.2–72.9)	70.4 (67.9–72.8)
Sex (♀/♂)		12♀/12♂	23♀/15♂	23♀/29♂
Control	Age (y, mean, 95% CI)	68.4 (61.9–74.9)	69.1 (63.7–74.6)	72.2 (64.4–79.9)
	Sex (♀/♂)	4/3	7/3	1/4
Glioma	Age (y, mean, 95%CI)	60.9 (51.7–70.0)	70.0 (64.6–75.5)	71.9 (65.7–78.1)
	Sex (♀/♂)	2/3	8/6	4/7
	SUV _{max}	3.3 (2.4–4.1)	2.5 (2.0–3.0)	2.6 (2.1–3.2)
	TBR _{max}	8.7 (6.9–10.5)	6.2 (5.0–7.3)	6.2 (4.9–7.5)
4RT	Age (y, mean, 95% CI)	69.9 (62.4–77.3)	68.1 (61.7–74.6)	68.9 (64.9–72.8)
	Sex (♀/♂)	4/2	5/3	10/11
	PSPRS	23.0 (3.0–42.9)	33.8 (23.8–35.1)	28.9 (22.7–35.1)
	MoCA	21.5 (14.1–28.9)	23.4 (19.7–27.1)	22.0 (19.8–24.3)
AD	SEADL	75.0 (49.3–100.7)	56.3 (43.4–69.1)	61.0 (53.0–68.9)
	Age (y, mean, 95% CI)	72.4 (65.4–79.3)	74.2 (67.3–81.1)	70.8 (66.4–75.1)
	Sex (♀/♂)	2/4	3/3	8/7
	MMSE	23.4 (18.3–28.5)	23.3 (18.7–27.9)	24.6 (21.7–27.5)
CDR	CDR	0.50 (0.06–0.94)	0.75 (0.35–1.15)	0.53 (0.28–0.79)
	CDR-SOB	3.8 (1.4–6.2)	4.6 (2.4–6.8)	2.5 (1.1–3.9)

AD: Alzheimer's disease; CI: confidence interval; MMSE: Mini-Mental State Examination; CDR: clinical dementia rating; SOB: sum of boxes; SEADL: Schwab and England activities of daily living; PSPRS: progressive supranuclear palsy rating scale; MoCA: Montreal cognitive assessment; 4RT: 4-repeat tauopathy; SUV_{max}: maximum standardized uptake value; TBR_{max}: maximum tumor-to-background ratio; LAB: low-affinity binder; MAB: medium-affinity binder; and HAB: high-affinity binder; ♀: female; ♂: male; y: years.

Table 2. Findings at a glance.

Disease Group	Frontal-Parietal				Cerebellum			
	LAB (SUV ± SD)	MAB (SUV ± SD)	HAB (SUV ± SD)	<i>p</i> -Value	LAB (SUV ± SD)	MAB (SUV ± SD)	HAB (SUV ± SD)	<i>p</i> -Value
Control	0.345 ± 0.025	0.436 ± 0.021	0.471 ± 0.031	0.013 * 0.006 † 0.375 #	0.367 ± 0.027	0.455 ± 0.023	0.514 ± 0.034	0.023 * 0.004 † 0.181 #
Glioma	0.381 ± 0.021	0.424 ± 0.012	0.436 ± 0.014	0.086 * 0.047 † 0.511 #	0.372 ± 0.028	0.463 ± 0.016	0.440 ± 0.018	0.009 * 0.059 † 0.338 #
4RT	0.355 ± 0.028	0.455 ± 0.024	0.462 ± 0.015	0.010 * 0.002 † 0.826 #	0.354 ± 0.032	0.475 ± 0.028	0.478 ± 0.017	0.007 * 0.002 † 0.930 #
AD	0.360 ± 0.039	0.420 ± 0.039	0.435 ± 0.025	0.290 * 0.118 † 0.740 #	0.397 ± 0.038	0.452 ± 0.038	0.460 ± 0.024	0.321 * 0.175 † 0.848 #

TSPO PET quantification at the group level. Values represent regional group means of the frontoparietal and cerebellar VOIs and their standard deviations. * Specific *p*-value for differences between the tracer uptakes of LABs compared with MABs. † LABs compared to HABs. # MABs compared to HABs. LAB: low-affinity binder; MAB: medium-affinity binder; HAB: high-affinity binder; AD: Alzheimer's disease; 4RT: 4-repeat tauopathy; SUV: standardized uptake value; and SD: standard deviation.

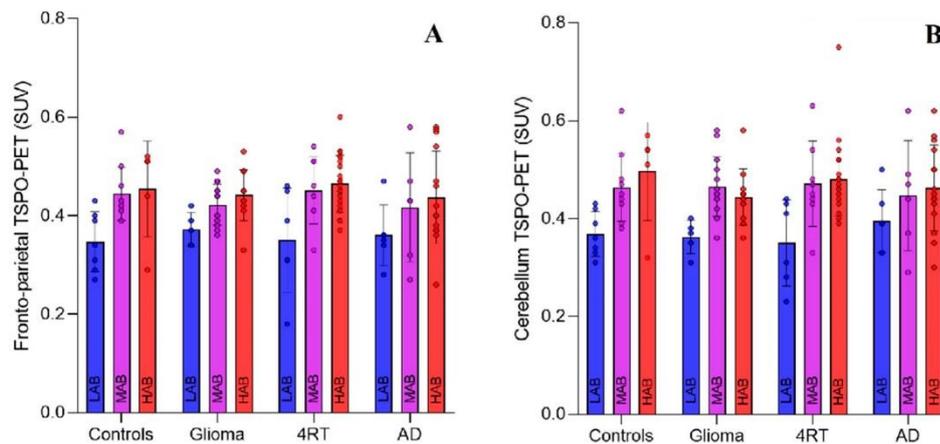


Figure 2. SUV_{mean} distribution among rs6971 polymorphism subgroups in the controls and neuro-oncological and neurodegenerative diseases for (A) frontoparietal and (B) cerebellar VOI. Error bars indicate standard deviations. LAB: low-affinity binder; MAB: medium-affinity binder; HAB: high-affinity binder; AD: Alzheimer's disease; 4RT: 4-repeat tauopathy; and SUV: standardized uptake value.

2.3.1. LABs

Within the LABs, the frontoparietal SUV as a potential pseudo-reference tissue for glioma TSPO-PET imaging was similar between patients with glioma and the controls ($p = 0.599$). Similar results were obtained for cerebellar SUVs, which can be applied as a pseudo-reference tissue for TSPO-PET imaging of patients with glioma and neurodegenerative diseases. No significant difference was detected between all patients and control subjects (glioma vs. 4R-tauopathy, $p = 0.817$; glioma vs. AD, $p = 0.174$; glioma vs. control, $p = 0.837$; 4R-tauopathy vs. AD, $p = 0.093$; 4R-tauopathy vs. control, $p = 0.626$; AD vs. control, $p = 0.184$).

2.3.2. MABs and HABs

In the rs6971 polymorphism subgroups of MABs and HABs, no significant differences in the frontoparietal SUVs were detected between patients with glioma and the controls ($p = 0.405$, $p = 0.908$). The cerebellar SUVs revealed similar results, with no significant differences between all patients and control subjects regarding MABs and HABs (glioma vs. 4R-tauopathy, $p = 0.791$, $p = 0.220$; glioma vs. AD, $p = 0.567$, $p = 0.244$; glioma vs. control, $p = 0.977$, $p = 0.355$; 4R-tauopathy vs. AD, $p = 0.470$, $p = 0.987$; 4R-tauopathy vs. control, $p = 0.784$, $p = 0.936$; AD vs. control, $p = 0.608$, $p = 0.946$).

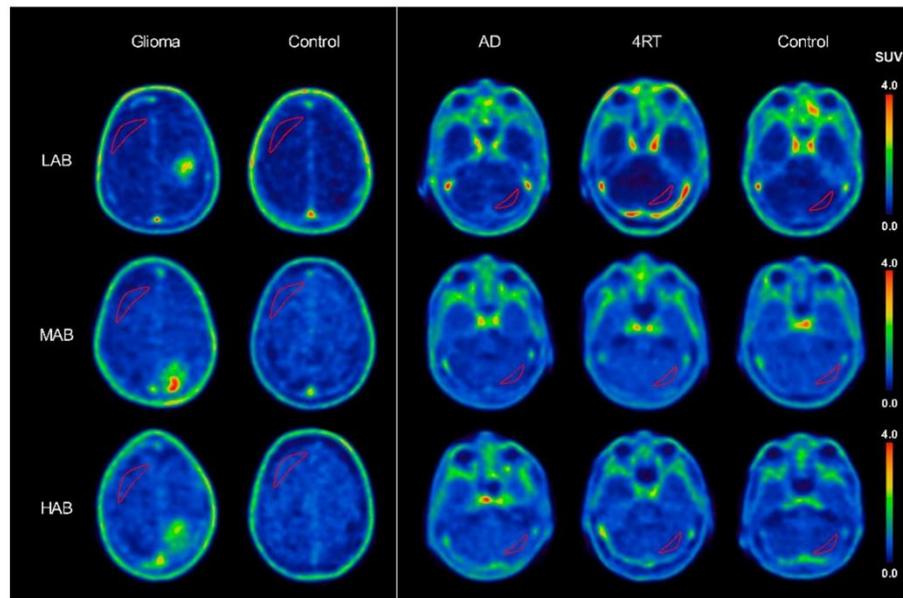


Figure 3. Varying [^{18}F]GE-180 uptake in three polymorphism subgroups (LAB, MAB and HAB) but comparable intensity throughout the disease and control subjects within the rs6971 polymorphism subgroups. Crescent-shaped red lines represent drawn ROIs for pseudo-reference tissue assessment (as described in the Methods section). LAB: low-affinity binder; MAB: medium-affinity binder; HAB: high-affinity binder; AD: Alzheimer's disease; 4RT: 4-repeat tauopathy; and SUV: standardized uptake value.

2.4. Overall Impact of the rs6971 Polymorphism on [^{18}F]GE-180 Binding

Finally, we aimed to determine the quantitative impact of the rs6971 polymorphism on [^{18}F]GE-180 SUV by a combined analysis of all the study groups. Limited pathology in the cerebellum of all included subjects and limited pathology in the frontoparietal region of the patients with glioma and the controls allowed us to estimate the impact of rs6971 polymorphism in a robust fashion. The averaged difference between the SUV of the LABs and the MABs was $19.0 \pm 5.9\%$, and between the LABs and HABs, it was $20.9 \pm 5.3\%$ (Figure 4). The impact was robust when considering the quantitative coefficient of variance of all four study groups.

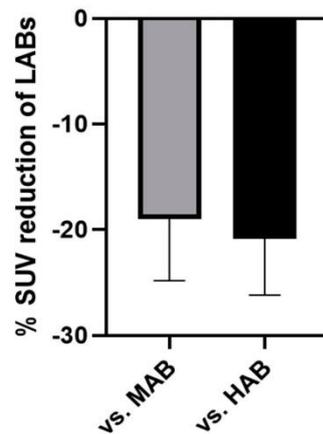


Figure 4. Percentage of $[^{18}\text{F}]\text{GE-180}$ SUV reduction regarding genetically determined LAB status. Mean value \pm standard deviation derived from six comparisons each (frontoparietal: HC and glioma; cerebellum: HC, glioma, 4RT and AD). LAB: low-affinity binder; MAB: medium-affinity binder; HAB: high-affinity binder; and SUV: standardized uptake value.

3. Discussion

In this study, we investigated the tracer binding of $[^{18}\text{F}]\text{GE-180}$ in the three rs6971 polymorphism subgroups by analyzing healthy controls, patients with glioma and patients with neurodegenerative diseases. The aim was to determine if $[^{18}\text{F}]\text{GE-180}$ was sensitive to the rs6971 polymorphism, as is known from other TSPO radioligands, and to evaluate potential pseudo-reference tissues for simplified clinical application of this tracer.

The main strength of our study is the meaningful sample of 24 LABs, after excluding relevant confounding factors such as radiotherapy, chemotherapy or steroid use. Overall, the LABs showed significantly lower $[^{18}\text{F}]\text{GE-180}$ SUVs compared with the MABs and HABs, and the impact of the LAB status was estimated to be a reduction in the SUV of 19% and 21%, respectively. In a study using postmortem tissue for in vitro tracer binding, the TSPO-PET radioligands PBR28 and PBR06 showed a more pronounced difference in binding affinity, with 50- and 17-fold higher affinities of HABs compared with the LABs, respectively. PBR111 and DPA713 indicated a 4-fold higher affinity of the HABs compared with the LABs, and PK11195 showed a negligible difference in binding affinity (0.8-fold) of the HABs compared with the LABs [6,23]. The purpose of our study was to evaluate the impact of the rs6971 polymorphism on $[^{18}\text{F}]\text{GE-180}$ application in vivo. We note that head-to-head studies would be required for a direct comparison of the rs6971 polymorphism's impact on image quantification between different tracers. However, in line with many of the aforementioned studies, we found a sensitivity of this tracer for the rs6971 polymorphism. In conclusion, LABs need to be considered carefully when performing TSPO-PET imaging with $[^{18}\text{F}]\text{GE-180}$ in neuro-oncology and neurology, since the rs6971 polymorphism significantly impacts quantification. From the current perspective, LABs should be excluded, and it should be feasible to include MABs and HABs when considering the rs6971 polymorphism as a covariate, given the minor differences in binding between MABs and HABs.

The validity of $[^{18}\text{F}]\text{GE-180}$ as an in vivo read out of microglial activation has been discussed extensively, with a focus on the question of whether $[^{18}\text{F}]\text{GE-180}$ uptake is mainly driven by blood–brain barrier disruption [24–27]. In this regard, $[^{18}\text{F}]\text{GE-180}$ revealed a high signal-to-noise ratio in preclinical studies but low brain penetration in the human healthy controls [15,28]. A lack of rs6971 polymorphism differences in diseases [17,29]

has been one major argument questioning the specificity of [¹⁸F]GE-180 binding to the microglial TSPO receptor. Our study demonstrates for the first time a significant impact of rs6971 polymorphism on [¹⁸F]GE-180 uptake *in vivo*, thus refuting the earlier criticism [26]. In line with our data, Sridharan et al. performed a blocking study to quantify the specific binding of [¹⁸F]GE-180 to TSPO and measured a 45% specific signal, concluding that despite low brain penetration, [¹⁸F]GE-180 exhibits a specific signal in the brain [16]. Furthermore, our translational study in P301S mice and patients with 4R-tauopathy indicated microglia-specific uptake of [¹⁸F]GE-180 in a depletion experiment and no dependency of the tracer uptake by markers of blood–brain barrier integrity. Microleakage was claimed to be a potential source of [¹⁸F]GE-180 signal elevation in regions without MRI contrast enhancement [18,19,26,30]. Our current data did not show an elevated [¹⁸F]GE-180 signal in the pseudo-reference regions of patients with glioma or neurodegenerative diseases when compared with the healthy controls, regardless of the rs6971 polymorphism status. Thus, a general disease-related microleakage as the main driver of the [¹⁸F]GE-180 signal seems unlikely. In summary, our data enhance the evidence for a specific [¹⁸F]GE-180 signal *in vivo*.

The second analysis of the current study questioned the use of potential pseudo-reference regions for [¹⁸F]GE-180 PET imaging. Molecular imaging in neuro-oncology is most commonly performed with amino acid tracers, such as [¹⁸F]FET. Our group evaluated the frontoparietal hemisphere as favorable pseudo-reference tissue for the quantification of [¹⁸F]FET tumor uptake in clinical routines [28]. However, a concomitant neuroinflammatory response in brain regions without tumor infiltration could potentially affect TSPO-PET binding in the contralateral pseudo-reference tissue. Here, [¹⁸F]GE-180 SUVs in patients with glioma were not different compared to the healthy controls within each polymorphism subgroup. Thus, the [¹⁸F]GE-180 SUVs did not indicate that the presence of glioma in the contralateral hemisphere had any impact. Studies with other TSPO radioligands reported that TSPO expression in gliomas is predominantly related to neoplastic cells and a lack of TSPO expression in surrounding reactive astrocytes, and we note that further research using step-wise stereotactic biopsies in spatial correlation with PET is warranted to further elucidate the issue of general neuroinflammation in the presence of glioma [31–33]. Taken together, our results support the use of the frontoparietal region as a pseudo-reference region for neurooncological imaging with [¹⁸F]GE-180 analogous to [¹⁸F]FET, at least for primary diagnosis prior to any therapeutic intervention.

The cerebellum is frequently used as pseudo-reference tissue in PET imaging of neurodegenerative diseases due to the low disease burden and limited β -amyloid and tau pathology in postmortem samples of AD and 4R tauopathies, with the exception of the dentate nucleus [34–36]. In addition, our current study did not indicate significant differences in [¹⁸F]GE-180 SUVs in the cerebella of patients with neurodegenerative diseases when compared to the controls within each polymorphism subgroup. This qualifies the cerebellum as a suitable pseudo-reference region for TSPO-PET imaging of neurodegenerative diseases using [¹⁸F]GE-180. Along the same lines, others have also suggested the cerebellum as a suitable pseudo-reference region for [¹¹C]PBR28 imaging of AD [37]. Taken together, our [¹⁸F]GE-180 analysis of dedicated rs6971 polymorphism subgroups revealed that potential pseudo-reference tissues for neurooncological and neurodegenerative diseases did not show altered binding in diseases when compared to the controls, thus making them suitable for relative quantification. Of note, we also did not find significant increases in [¹⁸F]GE-180 binding in the frontoparietal VOIs of patients with AD or 4R-tauopathy when compared to the healthy controls, although microglial activation in these cortical areas is known in AD and 4RT. However, our previous work in 4R-tauopathy indicated that signal elevation of cortical TSPO-PET is phenotype-dependent and regionally heterogeneous in individual patients, with maximum VOI differences of ~15% at the group level [38]. Thus, it was not surprising that the less robust measure of SUV (in terms of variance) did not deliver significant group differences between 4RT or AD and the controls in a manually drawn frontal cortical VOI. We must note that quantitative measures in studies of neurode-

generative disorders commonly use a more robust SUV ratio instead of SUVs. However, we used an SUV in line with our previous work in the neurooncological field with the established pseudo-reference tissue of glioma imaging (frontoparietal crescent-shaped gray matter and white matter VOI), since it was not the purpose of our study to quantify TSPO expression in disease-specific target regions. It remains to be tested if pseudo-reference region normalization facilitates the concomitant use of LAB data together with MAB and HAB data in diseases. This will depend on the presence or absence of disease-specific binding in the target regions of LABs, and the investigation will require similar patient cohorts for the rs6791 polymorphism subgroup.

Limitations of the study need to be considered. Our results were based on static [¹⁸F]GE-180 scans acquired from 60 to 80 min p.i. without arterial blood sampling. Thus, we were not able to consider the impact of kinetic modeling, tracer plasma availability or tracer metabolism in different rs6971 polymorphism subgroups. However, given the low incidence of LABs, we note that large numbers of participants with dynamic scanning or arterial sampling would be required to address such questions. In this regard, stable time-activity curves after 30 min p.i. have been shown in healthy tissues in former studies [19,30]. Another limitation is the small sample size of several of our subgroups, though this is also related to the generally low incidence of LABs. Thus, the statistical power was not sufficient to include several covariates that have been shown to be associated with TSPO-PET binding, such as obesity [39].

The rs6971 polymorphism has an impact on [¹⁸F]GE-180 quantification in vivo, leading to 19% and 21% reductions, respectively, of the SUVs in LABs compared to MABs and HABs. The frontoparietal and cerebellar pseudo-reference regions can be used for patients with glioma and neurodegenerative diseases.

4. Methods

4.1. Study Design, Study Population and Clinical Assessments

The study and data analyses (ethics applications: 17-569, 17-755, 17-656 and 19-022) were approved by the local ethics committee (LMU, Munich, Germany). Genotyping was performed for all subjects who received a TSPO-PET scan at the Department of Nuclear Medicine of the University Hospital of Ludwig Maximilian University (LMU) of Munich. Due to the disproportional distribution of the rs6971 polymorphism, the controls and patients with glioma, Alzheimer's disease (AD) and 4RT were first screened for LABs. Age- and sex-matched MABs and HABs for the controls and all disease groups were included in order to secure a homogeneous study population using a step-wise, demographic-guided selection algorithm. All glioma patients with prior therapy (chemotherapy or radiotherapy) were excluded a priori. All subjects with immunomodulatory therapy (steroids) were excluded a priori. Patients with newly diagnosed and later confirmed glioma were included in the glioma cohort. Diagnosis of 4R-tauopathy was made according to the revised Armstrong criteria of probable CBS or the Movement Disorders Society criteria of possible or probable PSP or possible PSP with predominant CBS [40,41]. The AD continuum patients were required to meet the criteria for typical AD, with mild cognitive impairment or dementia according to the diagnostic criteria of the National Institute on Aging and the Alzheimer's Association [41]. The exclusion criteria were severe neurological or psychiatric disorders other than AD continuum or 4R-tauopathy. The healthy controls had no evidence of cognitive impairment, based on a neuropsychological battery including the ADAS-Cog, a CDR score of 0, no family history of AD or neurological disease associated with dementia and no objective motor symptoms. For all available MAB and HAB cases, the algorithm excluded mismatched cases (in terms of LAB matching) until the age and sex were not different between rs6971 groups ($p > 0.1$). The algorithm was stopped for a group size of ≤ 5 .

4.2. TSPO Genotyping

All individuals underwent genotyping for the genetic polymorphism of the TSPO gene and were classified as LAB, MAB or HAB. As was previously described [19], whole-blood samples were sent to the Department of Psychiatry of the University Hospital Regensburg for polymorphism genotyping. Genomic DNA was extracted from 4 mL of whole blood using a QIAamp DNA Blood Maxi Kit (Qiagen, Hilden, Germany) according to the manufacturer's protocol. The DNA quality was assessed by optical absorbance and gel electrophoresis. Exon 4 of the TSPO gene and the exon/intron junctions were amplified by PCR and sequenced using the Sanger method with the following primers: ex4-F-AGTTGGGCAGTGGGACAG and ex4-R-GCAGATCCTGCAGACGA. Sequencing data were analyzed using SnapGene software (GSL Biotech; <http://snapgene.com>, accessed on 10 May 2021).

4.3. TSPO-PET Acquisition and Analysis

TSPO-PET scans were acquired with a Biograph 64 PET/CT scanner (Siemens, Erlangen, Germany) at the Department of Nuclear Medicine, LMU Munich. A low-dose computed tomography scan preceded the PET acquisition and served as attenuation correction. Automated production of [^{18}F]GE-180 was performed as described previously [42]. After injection of 189 ± 12 MBq [^{18}F]GE-180, all patients and controls received a static 60–80 min p.i. scan [20]. The respective summation images were used for image analysis [18,19]. The images were reconstructed using an OSEM3D algorithm (8 iterations, 4 subsets, 4 mm Gauss). For each scan, standard corrections for attenuation, scatter, decay and random counts were applied.

According to the previously evaluated and published method for assessing the background activity of [^{18}F]FET in glioma [43], a merged VOI consisting of five manually drawn crescent-shaped ROIs in the frontoparietal lobe, including white and gray matter, was assessed on the contralateral side of the tumor.

For patients with neurodegenerative diseases, a manually drawn cerebellar VOI (HC, 4R-tauopathy and AD) was used in order to avoid β -amyloid or tau-positive supratentorial regions. Five manually drawn ROIs containing ~2 mL each were drawn in a crescent shape in the posterior lobe of the cerebellum, excluding the vermis, anterior lobe, peduncle and flocculus to ensure a sufficient distance to any vessels and to exclude regions involved in the disease. All five ROIs were merged into a single VOI for both regions.

For the purpose of comparison, both VOIs were drawn in all groups. In order to evaluate intra-reader variability, each patient was evaluated five times by a single operator. Concordance between repeated quantifications by manual region definition was calculated. Group comparisons of [^{18}F]GE-180 SUVs between patients with glioma, 4R-tauopathy or AD and the controls, as well as within each TSPO polymorphism group, were performed by analysis of variance (ANOVA) with a significance level of $p < 0.05$ using age and sex as covariates.

Author Contributions: Conceptualization, P.B., R.P., C.H., J.L. and G.U.H.; methodology, N.L.A. and M.B.; validation, N.L.A. and M.B.; radiochemistry, PET scans and PET data analyses, F.E., S.S., G.B., C.F., S.L., J.S., M.U., S.H. and L.B.; SNP genotyping, V.M.M., C.H.W. and R.R.; formal analysis, F.J.V.; resources, B.-S.R., C.P., E.W., D.J., K.B., J.C.T. and M.N.; writing—original draft preparation, F.J.V.; writing—review and editing, F.J.V., M.B. and N.L.A.; visualization, F.J.V. and M.B.; supervision, P.B., M.B. and N.L.A. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This work was funded by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG, German Research Foundation) for P.B. and N.A., project number 421887978; for C.W., project number DFG WE2298/10-1, 422182557; and the German Cancer Consortium (DKTK). Recruitment of the ActiGliA cohort was supported by the presidential fund of the Helmholtz Society (for C.H.). This project was also supported by the German Center for Neurodegenerative Diseases (DZNE, DescribePSP Study), the German Parkinson's Association (DPG, ProPSP Study) and the Hirnliga e.V. (Manfred-Strohscheer-Stiftung). P.B., G.U.H., C.H., J.L. and R.P. were supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG, German Research Foundation) under Germany's Excellence Strategy within the framework

of the Munich Cluster for Systems Neurology (EXC 2145 SyNergy, ID 390857198). G.U.H. and C.H. were also funded by the NOMIS Foundation (FTLD project) and Volkswagen Stiftung/Lower Saxony Ministry for Science/Petermax-Müller Foundation (Etiology and Therapy of Synucleinopathies and Tauopathies). The Lüneburg Heritage supported the work of C.P. and J.L. L.B. was funded by the Munich Clinician-Scientist Program.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki and approved by the Ethics Committee of LMU-Munich, Germany (ethics applications: 17-569, 17-755, 17-656 and 19-022).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available upon reasonable request from the corresponding author. The full data are not publicly available due to ethical reasons.

Acknowledgments: We thank all of our patients and their caregivers for making this work possible. Furthermore, we thank the cyclotron, radiochemistry and PET imaging crew and clinical trials unit at DZNE Munich.

Conflicts of Interest: M.B. received speaker honoraria from GE Healthcare and LMI and is an advisor for LMI. G.U.H. has ongoing research collaborations with Prothena; serves as a consultant for AbbVie, AlzProtect, Asceneuron, Biogen, Biohaven, Lundbeck, Novartis, Roche, Sanofi and UCB; received honoraria for scientific presentations from AbbVie, Bial, Biogen, Bristol Myers Squibb, Roche, Teva, UCB and Zambon; and holds a patent on PERK Activation for the Treatment of Neurodegenerative Diseases (PCT/EP2015/068734). C.H. is the chief scientific advisor for ISAR biosciences and collaborates with DENALI therapeutics. R.P. is on the advisory board of Biogen; has consulted for Eli Lilly and Roche; is a grant recipient from Janssen Pharmaceutica and Boehringer Ingelheim; and has received speaker honoraria from Janssen-Cilag, Pfizer and Biogen. J.L. reports speaker fees from Bayer Vital and Roche, consulting fees from Axon Neuroscience, author fees from Thieme medical publishers and W. Kohlhammer GmbH medical publishers, non-financial support from Abbvie and compensation for duty as a part-time CMO from MODAG GmbH, all outside the submitted work. All other authors report no conflict of interest.

References

- Papadopoulos, V.; Baraldi, M.; Guilarte, T.R.; Knudsen, T.B.; Lacapere, J.J.; Lindemann, P.; Norenberg, M.D.; Nutt, D.; Weizman, A.; Zhang, M.R.; et al. Translocator protein (18 kDa): New nomenclature for the peripheral-type benzodiazepine receptor based on its structure and molecular function. *Trends Pharmacol. Sci.* **2006**, *27*, 402–409. [[CrossRef](#)]
- Rupprecht, R.; Papadopoulos, V.; Rammes, G.; Baghai, T.C.; Fan, J.; Akula, N.; Groyer, G.; Adams, D.; Schumacher, M. Translocator protein (18 kDa) (TSPO) as a therapeutic target for neurological and psychiatric disorders. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2010**, *9*, 971–988. [[CrossRef](#)]
- Chauveau, F.; Boutin, H.; Van Camp, N.; Dollé, F.; Tavitian, B. Nuclear imaging of neuroinflammation: A comprehensive review of [¹¹C] PK11195 challengers. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2008**, *35*, 2304–2319. [[CrossRef](#)]
- Shah, F.; Hume, S.P.; Pike, V.W.; Ashworth, S.; McDermott, J. Synthesis of the enantiomers of [N-methyl-¹¹C] PK 11195 and comparison of their behaviours as radioligands for PK binding sites in rats. *Nucl. Med. Biol.* **1994**, *21*, 573–581. [[CrossRef](#)]
- Owen, D.R.; Matthews, P.M. Imaging brain microglial activation using positron emission tomography and translocator protein-specific radioligands. In *International Review of Neurobiology*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2011; Volume 101, pp. 19–39.
- Owen, D.R.; Gunn, R.N.; Rabiner, E.A.; Bennacef, I.; Fujita, M.; Kreisl, W.C.; Innis, R.B.; Pike, V.W.; Reynolds, R.; Matthews, P.M. Mixed-affinity binding in humans with 18-kDa translocator protein ligands. *J. Nucl. Med.* **2011**, *52*, 24–32. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Best, L.; Ghadery, C.; Pavese, N.; Tai, Y.F.; Strafella, A.P. New and old TSPO PET radioligands for imaging brain microglial activation in neurodegenerative disease. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* **2019**, *19*, 24. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Berrotarán-Infante, N.; Tadić, M.; Hacker, M.; Wadsak, W.; Mitterhauser, M. Binding Affinity of Some Endogenous and Synthetic TSPO Ligands Regarding the rs6971 Polymorphism. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 563. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Fujita, M.; Imaizumi, M.; Zoghbi, S.S.; Fujimura, Y.; Farris, A.G.; Suhara, T.; Hong, J.; Pike, V.W.; Innis, R.B. Kinetic analysis in healthy humans of a novel positron emission tomography radioligand to image the peripheral benzodiazepine receptor, a potential biomarker for inflammation. *Neuroimage* **2008**, *40*, 43–52. [[CrossRef](#)]
- Owen, D.R.; Yeo, A.J.; Gunn, R.N.; Song, K.; Wadsworth, G.; Lewis, A.; Rhodes, C.; Pulford, D.J.; Bennacef, I.; Parker, C.A. An 18-kDa translocator protein (TSPO) polymorphism explains differences in binding affinity of the PET radioligand PBR28. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **2012**, *32*, 1–5. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

11. Kreisler, W.C.; Fujita, M.; Fujimura, Y.; Kimura, N.; Jenko, K.J.; Kannan, P.; Hong, J.; Morse, C.L.; Zoghbi, S.S.; Gladding, R.L. Comparison of [¹¹C]-(R)-PK 11195 and [¹¹C] PBR28, two radioligands for translocator protein (18 kDa) in human and monkey: Implications for positron emission tomographic imaging of this inflammation biomarker. *Neuroimage* **2010**, *49*, 2924–2932. [[CrossRef](#)]
12. Vivash, L.; O'Brien, T.J. Imaging microglial activation with TSPO PET: Lighting up neurologic diseases? *J. Nucl. Med.* **2016**, *57*, 165–168. [[CrossRef](#)]
13. Wadsworth, H.; Jones, P.A.; Chau, W.-F.; Durrant, C.; Fouladi, N.; Passmore, J.; O'Shea, D.; Wynn, D.; Morisson-Iveson, V.; Ewan, A. [¹⁸F] GE-180: A novel fluorine-18 labelled PET tracer for imaging translocator protein 18 kDa (TSPO). *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 1308–1313. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Fan, Z.; Calsolaro, V.; Atkinson, R.A.; Femminella, G.D.; Waldman, A.; Buckley, C.; Trigg, W.; Brooks, D.J.; Hinz, R.; Edison, P. Flutriciclamide (18F-GE180) PET: First-in-human PET study of novel third-generation in vivo marker of human translocator protein. *J. Nucl. Med.* **2016**, *57*, 1753–1759. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Feeney, C.; Scott, G.; Raffel, J.; Roberts, S.; Coello, C.; Jolly, A.; Searle, G.; Goldstone, A.; Brooks, D.J.; Nicholas, R.S. Kinetic analysis of the translocator protein positron emission tomography ligand [¹⁸F] GE-180 in the human brain. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2016**, *43*, 2201–2210. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Sridharan, S.; Raffel, J.; Nandoskar, A.; Record, C.; Brooks, D.J.; Owen, D.; Sharp, D.; Muraro, P.A.; Gunn, R.; Nicholas, R. Confirmation of specific binding of the 18-kDa translocator protein (TSPO) radioligand [¹⁸F] GE-180: A blocking study using XBD173 in multiple sclerosis normal appearing white and grey matter. *Mol. Imaging Biol.* **2019**, *21*, 935–944. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Unterrainer, M.; Fleischmann, D.F.; Vettermann, F.; Ruf, V.; Kaiser, L.; Nelwan, D.; Lindner, S.; Brendel, M.; Wenter, V.; Stocklein, S.; et al. TSPO PET, tumour grading and molecular genetics in histologically verified glioma: A correlative ¹⁸F-GE-180 PET study. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2019**, *47*, 1368–1380.
18. Unterrainer, M.; Fleischmann, D.; Diekmann, C.; Vomacka, L.; Lindner, S.; Vettermann, F.; Brendel, M.; Wenter, V.; Ertl-Wagner, B.; Herms, J. Comparison of ¹⁸F-GE-180 and dynamic ¹⁸F-FET PET in high grade glioma: A double-tracer pilot study. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2019**, *46*, 580–590. [[CrossRef](#)]
19. Albert, N.L.; Unterrainer, M.; Fleischmann, D.; Lindner, S.; Vettermann, F.; Brunegrab, A.; Vomacka, L.; Brendel, M.; Wenter, V.; Wetzel, C. TSPO PET for glioma imaging using the novel ligand ¹⁸F-GE-180: First results in patients with glioblastoma. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2017**, *44*, 2230–2238. [[CrossRef](#)]
20. Palleis, C.; Sauerbeck, J.; Beyer, L.; Harris, S.; Schmitt, J.; Morenas-Rodriguez, E.; Finze, A.; Nitschmann, A.; Ruch-Rubinstein, F.; Eckenweber, F. In vivo Assessment of Neuroinflammation in 4-Repeat Tauopathies. *Mov. Disord.* **2021**, *36*, 883–894. [[CrossRef](#)]
21. Eckenweber, F.; Luque, J.M.; Blume, T.; Sacher, C.; Biechele, G.; Wind, K.; Deussing, M.; Briel, N.; Lindner, S.; Boening, G. Longitudinal Microglial Activation in Tau Transgenic P301S Mice Predicts Increased Tau Accumulation and Deteriorated Spatial Learning. *J. Neuroinflamm.* **2020**, *17*, 208. [[CrossRef](#)]
22. Parhizkar, S.; Arzberger, T.; Brendel, M.; Kleinberger, G.; Deussing, M.; Focke, C.; Nuscher, B.; Xiong, M.; Ghasemigharagoz, A.; Katzmarski, N. Loss of TREM2 function increases amyloid seeding but reduces plaque-associated ApoE. *Nat. Neurosci.* **2019**, *22*, 191–204. [[CrossRef](#)]
23. Owen, D.R.; Howell, O.W.; Tang, S.-P.; Wells, L.A.; Bennacef, I.; Bergstrom, M.; Gunn, R.N.; Rabiner, E.A.; Wilkins, M.R.; Reynolds, R. Two binding sites for [³H] PBR28 in human brain: Implications for TSPO PET imaging of neuroinflammation. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **2010**, *30*, 1608–1618. [[CrossRef](#)]
24. Albert, N.L.; Unterrainer, M.; Kaiser, L.; Brendel, M.; Vettermann, F.; Holzgreve, A.; Bartenstein, P. In response to: Anatomy of ¹⁸F-GE180, a failed radioligand for the TSPO protein. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2020**, *47*, 2237–2241. [[CrossRef](#)]
25. Zanutti-Fregonara, P.; Veronese, M.; Pascual, B.; Rostomily, R.C.; Turkheimer, F.; Masdeu, J.C. The validity of ¹⁸F-GE180 as a TSPO imaging agent. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2019**, *46*, 1205–1207. [[CrossRef](#)]
26. Zanutti-Fregonara, P.; Pascual, B.; Rostomily, R.C.; Rizzo, G.; Veronese, M.; Masdeu, J.C.; Turkheimer, F. Anatomy of ¹⁸F-GE180, a failed radioligand for the TSPO protein. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2020**, *22*, 1–4.
27. Albert, N.L.; Unterrainer, M.; Brendel, M.; Kaiser, L.; Zweckstetter, M.; Cumming, P.; Bartenstein, P. In response to: The validity of ¹⁸F-GE180 as a TSPO imaging agent. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2019**, *46*, 1208–1211. [[CrossRef](#)]
28. Zanutti-Fregonara, P.; Pascual, B.; Rizzo, G.; Yu, M.; Pal, N.; Beers, D.; Carter, R.; Appel, S.H.; Atassi, N.; Masdeu, J.C. Head-to-Head Comparison of ¹¹C-PBR28 and ¹⁸F-GE180 for Quantification of the Translocator Protein in the Human Brain. *J. Nucl. Med.* **2018**, *59*, 1260–1266. [[CrossRef](#)]
29. Unterrainer, M.; Mahler, C.; Vomacka, L.; Lindner, S.; Havla, J.; Brendel, M.; Böning, G.; Ertl-Wagner, B.; Kümpfel, T.; Milenkovic, V. TSPO PET with [¹⁸F] GE-180 sensitively detects focal neuroinflammation in patients with relapsing–remitting multiple sclerosis. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2018**, *45*, 1423–1431. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. Vomacka, L.; Albert, N.L.; Lindner, S.; Unterrainer, M.; Mahler, C.; Brendel, M.; Ermoschkin, L.; Gosewisch, A.; Brunegrab, A.; Buckley, C. TSPO imaging using the novel PET ligand [¹⁸F] GE-180: Quantification approaches in patients with multiple sclerosis. *Ejnmri Res.* **2017**, *7*, 1–9. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Su, Z.; Roncaroli, F.; Durrenberger, P.F.; Coope, D.J.; Karabatsou, K.; Hinz, R.; Thompson, G.; Turkheimer, F.E.; Janczar, K.; Du Plessis, D. The 18-kDa mitochondrial translocator protein in human gliomas: An ¹¹C-(R) PK11195 PET imaging and neuropathology study. *J. Nucl. Med.* **2015**, *56*, 512–517. [[CrossRef](#)]

32. Awde, A.R.; Boisgard, R.; Theze, B.; Dubois, A.; Zheng, J.; Dolle, F.; Jacobs, A.H.; Tavitian, B.; Winkeler, A. The translocator protein radioligand 18F-DPA-714 monitors antitumor effect of erufosine in a rat 9L intracranial glioma model. *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **2013**, *54*, 2125–2131. [[CrossRef](#)]
33. Roncaroli, F.; Su, Z.; Herholz, K.; Gerhard, A.; Turkheimer, F.E. TSPO expression in brain tumours: Is TSPO a target for brain tumour imaging? *Clin. Transl. Imaging* **2016**, *4*, 145–156. [[CrossRef](#)]
34. Wooten, D.W.; Guehl, N.J.; Verwer, E.E.; Shoup, T.M.; Yokell, D.L.; Zubcevik, N.; Vasdev, N.; Zafonte, R.D.; Johnson, K.A.; El Fakhri, G. Pharmacokinetic evaluation of the tau PET radiotracer 18F-T807 (18F-AV-1451) in human subjects. *J. Nucl. Med.* **2017**, *58*, 484–491. [[CrossRef](#)]
35. Kimura, Y.; Ichise, M.; Ito, H.; Shimada, H.; Ikoma, Y.; Seki, C.; Takano, H.; Kitamura, S.; Shinotoh, H.; Kawamura, K. PET quantification of tau pathology in human brain with 11C-PBB3. *J. Nucl. Med.* **2015**, *56*, 1359–1365. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Herrmann, M.; Golombowski, S.; Kräuchi, K.; Frey, P.; Mourton-Gilles, C.; Hulette, C.; Rosenberg, C.; Müller-Spahn, F.; Hock, C. ELISA-quantitation of phosphorylated tau protein in the Alzheimer's disease brain. *Eur. Neurol.* **1999**, *42*, 205–210. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Lyoo, C.H.; Ikawa, M.; Liow, J.-S.; Zoghbi, S.S.; Morse, C.L.; Pike, V.W.; Fujita, M.; Innis, R.B.; Kreisl, W.C. Cerebellum can serve as a pseudo-reference region in Alzheimer disease to detect neuroinflammation measured with PET radioligand binding to translocator protein. *J. Nucl. Med.* **2015**, *56*, 701–706. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Brendel, M.; Barthel, H.; van Eimeren, T.; Marek, K.; Beyer, L.; Song, M.; Palleis, C.; Gehmeyr, M.; Fietzek, U.; Respondek, G. Assessment of 18F-PI-2620 as a biomarker in progressive supranuclear palsy. *JAMA Neurol.* **2020**, *77*, 1408–1419. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Tuisku, J.; Plavén-Sigraý, P.; Gaiser, E.C.; Airas, L.; Al-Abdulrasul, H.; Brück, A.; Carson, R.E.; Chen, M.-K.; Cosgrove, K.P.; Ekblad, L. Effects of age, BMI and sex on the glial cell marker TSPO—A multicentre [¹¹C] PBR28 HRRT PET study. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2019**, *46*, 2329–2338. [[CrossRef](#)]
40. Höglinger, G.U.; Respondek, G.; Stamelou, M.; Kurz, C.; Josephs, K.A.; Lang, A.E.; Mollenhauer, B.; Müller, U.; Nilsson, C.; Whitwell, J.L. Clinical diagnosis of progressive supranuclear palsy: The movement disorder society criteria. *Mov. Disord.* **2017**, *32*, 853–864. [[CrossRef](#)]
41. Jack, C.R., Jr.; Bennett, D.A.; Blennow, K.; Carrillo, M.C.; Dunn, B.; Haeberlein, S.B.; Holtzman, D.M.; Jagust, W.; Jessen, F.; Karlawish, J. NIA-AA research framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* **2018**, *14*, 535–562. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Wickstrøm, T.; Clarke, A.; Gausemel, I.; Horn, E.; Jørgensen, K.; Khan, I.; Mantzilas, D.; Rajanayagam, T.; In't Veld, D.J.; Trigg, W. The development of an automated and GMP compliant FASTlab™ Synthesis of [¹⁸F] GE-180; a radiotracer for imaging translocator protein (TSPO). *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2014**, *57*, 42–48. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Unterrainer, M.; Vettermann, F.; Brendel, M.; Holzgreve, A.; Lifschitz, M.; Zähringer, M.; Suchorska, B.; Wenter, V.; Illigens, B.M.; Bartenstein, P. Towards standardization of ¹⁸F-FET PET imaging: Do we need a consistent method of background activity assessment? *Ejnmri Res.* **2017**, *7*, 1–8. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

8. Literaturverzeichnis

- Alam, M. M., Lee, J., & Lee, S.-Y. (2017). Recent Progress in the Development of TSPO PET Ligands for Neuroinflammation Imaging in Neurological Diseases. *Nuclear medicine and molecular imaging*, *51*(4), 283-296. doi:10.1007/s13139-017-0475-8
- Albert, N. L., Unterrainer, M., Fleischmann, D. F., Lindner, S., Vettermann, F., Brunegraf, A., . . . Niyazi, M. (2017). TSPO PET for glioma imaging using the novel ligand (18)F-GE-180: first results in patients with glioblastoma. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, *44*(13), 2230-2238. doi:10.1007/s00259-017-3799-9
- Armstrong, M. J., Litvan, I., Lang, A. E., Bak, T. H., Bhatia, K. P., Borroni, B., . . . Weiner, W. J. (2013). Criteria for the diagnosis of corticobasal degeneration. *Neurology*, *80*(5), 496-503. doi:10.1212/WNL.0b013e31827f0fd1
- Batarseh, A., & Papadopoulos, V. (2010). Regulation of translocator protein 18 kDa (TSPO) expression in health and disease states. *Molecular and cellular endocrinology*, *327*(1-2), 1-12. doi:10.1016/j.mce.2010.06.013
- Beyer, L., Meyer-Wilmes, J., Schönecker, S., Schnabel, J., Brendel, E., Prix, C., . . . Brendel, M. (2018). Clinical Routine FDG-PET Imaging of Suspected Progressive Supranuclear Palsy and Corticobasal Degeneration: A Gatekeeper for Subsequent Tau-PET Imaging? *Frontiers in neurology*, *9*, 483-483. doi:10.3389/fneur.2018.00483
- Beyer, L., & Rominger, A. (2018). Neuro-PET – ein Update. [Neuro-PET - an update]. *Der Nuklearmediziner*, *41*(03), 253-263.
- Bourdenx, M., Koulakiotis, N. S., Sanoudou, D., Bezard, E., Dehay, B., & Tsarbopoulos, A. (2017). Protein aggregation and neurodegeneration in prototypical neurodegenerative diseases: Examples of amyloidopathies, tauopathies and synucleinopathies. *Progress in Neurobiology*, *155*, 171-193. doi:<https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2015.07.003>
- Brück, M., & Daniel, L. (2019). *Homöostase im Gehirn: Die differentielle Aktivität der Mikroglia*.
- Constantinides, V. C., Paraskevas, G. P., Paraskevas, P. G., Stefanis, L., & Kapaki, E. (2019). Corticobasal degeneration and corticobasal syndrome: A review. *Clin Park Relat Disord*, *1*, 66-71. doi:10.1016/j.prdoa.2019.08.005
- Coon, E. A., & Singer, W. (2020). Synucleinopathies. *Continuum (Minneapolis)*, *26*(1), 72-92. doi:10.1212/con.0000000000000819
- Coughlin, D. G., Dickson, D. W., Josephs, K. A., & Litvan, I. (2021). Progressive Supranuclear Palsy and Corticobasal Degeneration. In B. Ghetti, E. Buratti, B. Boeve, & R. Rademakers (Eds.), *Frontotemporal Dementias : Emerging Milestones of the 21st Century* (pp. 151-176). Cham: Springer International Publishing.
- Cummings, J. (2021). The Role of Neuropsychiatric Symptoms in Research Diagnostic Criteria for Neurodegenerative Diseases. *The American Journal of Geriatric Psychiatry*, *29*(4), 375-383. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jagp.2020.07.011>
- Daerr, S., Brendel, M., Zach, C., Mille, E., Schilling, D., Zacherl, M. J., . . . Rominger, A. (2017). Evaluation of early-phase [(18)F]-florbetaben PET acquisition in clinical routine cases. *Neuroimage Clin*, *14*, 77-86. doi:10.1016/j.nicl.2016.10.005
- Edison, P., Donat, C. K., & Sastre, M. (2018). In vivo Imaging of Glial Activation in Alzheimer's Disease. *Frontiers in neurology*, *9*. doi:10.3389/fneur.2018.00625
- Fan, J., Lindemann, P., GJ Feuilleley, M., & Papadopoulos, V. (2012). Structural and functional evolution of the translocator protein (18 kDa). *Current molecular medicine*, *12*(4), 369-386.
- Höglinger, G. U., Respondek, G., Stamelou, M., Kurz, C., Josephs, K. A., Lang, A. E., . . . Movement Disorder Society-endorsed, P. S. P. S. G. (2017). Clinical diagnosis of progressive supranuclear palsy: The movement disorder society criteria. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, *32*(6), 853-864. doi:10.1002/mds.26987
- Hsiao, I.-T., Huang, C.-C., Hsieh, C.-J., Wey, S.-P., Kung, M.-P., Yen, T.-C., & Lin, K.-J. (2013). Perfusion-like template and standardized normalization-based brain image analysis using 18F-florbetapir (AV-45/Amyvid) PET. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, *40*(6), 908-920. doi:10.1007/s00259-013-2350-x
- Jack, C. R., Jr., Bennett, D. A., Blennow, K., Carrillo, M. C., Dunn, B., Haeberlein, S. B., . . . Sperling, R. (2018). NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, *14*(4), 535-562. doi:10.1016/j.jalz.2018.02.018
- Junck, L., Olson, J. M., Ciliax, B. J., Koeppe, R. A., Watkins, G. L., Jewett, D. M., . . . et al. (1989). PET imaging of human gliomas with ligands for the peripheral benzodiazepine binding site. *Ann Neurol*, *26*(6), 752-758. doi:10.1002/ana.410260611

- Kreuzer, A., Sauerbeck, J., Scheifele, M., Stockbauer, A., Schönecker, S., Prix, C., . . . Beyer, L. (2021). Detection Gap of Right-Asymmetric Neuronal Degeneration by CERAD Test Battery in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 13(5). doi:10.3389/fnagi.2021.611595
- Levin, J., Kurz, A., Arzberger, T., Giese, A., & Höglinger, G. U. (2016a). The Differential Diagnosis and Treatment of Atypical Parkinsonism. *Dtsch Arztebl International*, 113(5), 61-69. Retrieved from <https://www.aerzteblatt.de/int/article.asp?id=174708>
- Levin, J., Kurz, A., Arzberger, T., Giese, A., & Höglinger, G. U. (2016b). Differenzialdiagnose und Therapie der atypischen Parkinson-Syndrome. *Dtsch Arztebl International*, 113(5), 61-69. Retrieved from <https://www.aerzteblatt.de/int/article.asp?id=173707>
- Levin, J., Nübling, G., Giese, A., Janzen, A., & Oertel, W. (2021). Neuroprotektive Therapien bei idiopathischen, genetischen und atypischen Parkinson-Syndromen mit α -Synuklein – Pathologie. *Der Nervenarzt*, 92(12), 1249-1259. doi:10.1007/s00115-021-01220-y
- Li, F., Liu, J., Zheng, Y., Garavito, R. M., & Ferguson-Miller, S. (2015). Protein structure. Crystal structures of translocator protein (TSPO) and mutant mimic of a human polymorphism. *Science (New York, N.Y.)*, 347(6221), 555-558. doi:10.1126/science.1260590
- Lim, J., & Yue, Z. (2015). Neuronal aggregates: formation, clearance, and spreading. *Dev Cell*, 32(4), 491-501. doi:10.1016/j.devcel.2015.02.002
- Luschnig, M. (2021). Parkinson's Disease and Atypical Parkinsonian Disorders: Diagnostic and Therapeutic Considerations Based on Two Case Reports. [Parkinson-Krankheit und atypische Parkinson-Syndrome: Diagnostische und therapeutische Überlegungen anhand von zwei Fallbeispielen]. *Psychopraxis, Neuropraxis*, 1-6. doi:10.1007/s00739-021-00717-0
- Mattle, H., & Fischer, U. (2021). PET. In H. Mattle & U. Fischer (Eds.), *Kurzlehrbuch Neurologie* (5., überarbeitete Auflage ed.): Georg Thieme Verlag KG.
- Minoshima, S., Frey, K., Koeppe, R. A., Foster, N. L., & Kuhl, D. E. (1995). A diagnostic approach in Alzheimer's disease using three-dimensional stereotactic surface projections of Fluorine-18-FDG PET. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, 36, 1238-1248.
- Owen, D. R., Gunn, R. N., Rabiner, E. A., Bennacef, I., Fujita, M., Kreisl, W. C., . . . Parker, C. A. (2011). Mixed-affinity binding in humans with 18-kDa translocator protein ligands. *J Nucl Med*, 52(1), 24-32. doi:10.2967/jnumed.110.079459
- Palleis, C., Sauerbeck, J., Beyer, L., Harris, S., Schmitt, J., Morenas-Rodriguez, E., . . . Brendel, M. (2021). In Vivo Assessment of Neuroinflammation in 4-Repeat Tauopathies. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, 36(4), 883-894. doi:10.1002/mds.28395
- Parrera, J. B., Rodriguez, R. D., Studart Neto, A., Nitrini, R., & Brucki, S. M. D. (2016). Corticobasal syndrome: A diagnostic conundrum. *Dementia & neuropsychologia*, 10(4), 267-275. doi:10.1590/s1980-5764-2016dn1004003
- Rassow, J. (2016). Neurochemie. In J. Rassow, K. Hauser, R. Deutzmann, & R. Netzker (Eds.), *Duale Reihe Biochemie* (4. Auflage ed.): Georg Thieme Verlag.
- Reith, W. (2018). Neurodegenerative Erkrankungen. *Der Radiologe*, 58(3), 241-258. doi:10.1007/s00117-018-0363-y
- Rohkamm, R., & Kermer, P. (2017). Kortikobasale Degeneration (CBD). In R. Rohkamm & P. Kermer (Eds.), *Taschenatlas Neurologie* (4., vollständig überarbeitete Auflage ed.): Georg Thieme Verlag.
- Shahidehpour, R. K., Higdon, R. E., Crawford, N. G., Neltner, J. H., Ighodaro, E. T., Patel, E., . . . Bachstetter, A. D. (2021). Dystrophic microglia are associated with neurodegenerative disease and not healthy aging in the human brain. *Neurobiology of Aging*, 99, 19-27. doi:<https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2020.12.003>
- Si, Z., Sun, L., & Wang, X. (2021). Evidence and perspectives of cell senescence in neurodegenerative diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 137, 111327. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111327>
- Streit, W. J., Mrazek, R. E., & Griffin, W. S. T. (2004). Microglia and neuroinflammation: a pathological perspective. *Journal of Neuroinflammation*, 1(1), 14. doi:10.1186/1742-2094-1-14
- Strzelczyk, A., Möller, J. C., Stamelou, M., Matusch, A., & Oertel, W. H. (2008). Atypische Parkinson-Syndrome. *Der Nervenarzt*, 79(10), 1203. doi:10.1007/s00115-008-2559-2
- Trudler, D., Farfara, D., & Frenkel, D. (2010). Toll-Like Receptors Expression and Signaling in Glia Cells in Neuro-Amyloidogenic Diseases: Towards Future Therapeutic Application. *Mediators of Inflammation*, 2010, 497987. doi:10.1155/2010/497987

- Unterrainer, M., Fleischmann, D. F., Diekmann, C., Vomacka, L., Lindner, S., Vettermann, F., . . . Albert, N. L. (2019). Comparison of ¹⁸F-GE-180 and dynamic ¹⁸F-FET PET in high grade glioma: a double-tracer pilot study. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, *46*(3), 580-590. doi:10.1007/s00259-018-4166-1
- Unterrainer, M., Fleischmann, D. F., Vettermann, F., Ruf, V., Kaiser, L., Nelwan, D., . . . Albert, N. L. (2020). TSPO PET, tumour grading and molecular genetics in histologically verified glioma: a correlative (18)F-GE-180 PET study. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, *47*(6), 1368-1380. doi:10.1007/s00259-019-04491-5
- Unterrainer, M., Vettermann, F., Brendel, M., Holzgreve, A., Lifschitz, M., Zähringer, M., . . . Albert, N. L. (2017). Towards standardization of (18)F-FET PET imaging: do we need a consistent method of background activity assessment? *EJNMMI Res*, *7*(1), 48. doi:10.1186/s13550-017-0295-y
- Vernaleken, I., Weibrich, C., Siessmeier, T., Buchholz, H.-G., Rösch, F., Heinz, A., . . . Gründer, G. (2007). Asymmetry in dopamine D2/3 receptors of caudate nucleus is lost with age. *NeuroImage*, *34*(3), 870-878. doi:<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.10.013>
- Vettermann, F. J., Harris, S., Schmitt, J., Unterrainer, M., Lindner, S., Rauchmann, B. S., . . . Brendel, M. (2021). Impact of TSPO Receptor Polymorphism on [(18)F]GE-180 Binding in Healthy Brain and Pseudo-Reference Regions of Neurooncological and Neurodegenerative Disorders. *Life (Basel)*, *11*(6). doi:10.3390/life11060484
- Volk, A. E., & Kubisch, C. (2018). Neurodegenerative Erkrankungen. *medizinische genetik*, *30*(2), 229-230. doi:10.1007/s11825-018-0195-1
- Zhu, Y., & Zhu, X. (2019). MRI-Driven PET Image Optimization for Neurological Applications. *Frontiers in Neuroscience*, *13*. doi:10.3389/fnins.2019.00782

9. Anhang

Regionen	Aktivitätsnormalisierung auf gesamtes Hirn (GLM)				
	A β -PET Perfusion (SUVR)		FDG-PET (SUVR)		R (p)
Motorcortex L	1,158	0,095	1,173	0,078	0,924 (0,000)
Motorcortex R	1,142	0,060	1,156	0,062	0,832 (0,000)
Präfrontaler Cortex L	1,206	0,067	1,261	0,079	0,760 (0,000)
Präfrontal Cortex R	1,199	0,084	1,249	0,092	0,836 (0,000)
Parietaler Cortex L	1,176	0,092	1,172	0,092	0,904 (0,000)
Parietaler Cortex R	1,148	0,062	1,137	0,083	0,907 (0,000)
Temporaler Cortex L	1,149	0,071	1,138	0,073	0,967 (0,000)
Temporaler Cortex R	1,126	0,048	1,108	0,036	0,764 (0,000)
Occipitaler Cortex L	1,244	0,081	1,211	0,085	0,839 (0,000)
Occipitaler Cortex R	1,237	0,050	1,193	0,060	0,637 (0,003)
Putamen L	1,666	0,147	1,680	0,174	0,929 (0,000)
Putamen R	1,679	0,153	1,682	0,141	0,818 (0,000)
Pallidum L	1,092	0,089	1,049	0,079	0,892 (0,000)
Pallidum R	1,225	0,090	1,178	0,079	0,899 (0,000)
Thalamus L	1,570	0,095	1,356	0,073	0,798 (0,000)
Thalamus R	1,573	0,096	1,363	0,109	0,790 (0,000)
	Aktivitätsnormalisierung auf Cerebellum (CBL)				
Motorcortex L	0,959	0,125	1,076	0,127	0,868 (0,000)
Motorcortex R	0,943	0,087	1,060	0,101	0,733 (0,000)
Präfrontaler Cortex L	0,995	0,086	1,156	0,115	0,619 (0,004)
Präfrontal Cortex R	0,989	0,085	1,145	0,125	0,667 (0,001)
Parietaler Cortex L	0,975	0,095	1,078	0,150	0,844 (0,000)
Parietaler Cortex R	0,949	0,093	1,045	0,140	0,859 (0,000)
Temporaler Cortex L	0,975	0,095	1,051	0,109	0,907 (0,000)
Temporaler Cortex R	0,949	0,093	1,015	0,079	0,852 (0,000)
Occipitaler Cortex L	1,373	0,129	1,110	0,120	0,911 (0,000)
Occipitaler Cortex R	1,383	0,119	1,094	0,109	0,867 (0,000)
Putamen L	1,373	0,129	1,535	0,154	0,640 (0,002)
Putamen R	1,383	0,119	1,537	0,125	0,567 (0,009)
Pallidum L	0,900	0,078	0,959	0,077	0,770 (0,000)
Pallidum R	1,009	0,076	1,077	0,083	0,733 (0,000)
Thalamus L	1,294	0,088	1,240	0,083	0,627 (0,003)
Thalamus R	1,296	0,084	1,247	0,120	0,668 (0,001)

Tabelle 2: Alle regionalen standardisierten Aufnahmewerte (SUVR) sind für die globale Mittelwertnormalisierung und die Kleinhirnskalierung zusammen mit ihrem Korrelationskoeffizienten angegeben.

Basierend auf Schmitt, Palleis et al. 2021

Regionen	Experte 1 (Intra-rater ICC, 95 % CI)	Experte 2 (Intra-rater ICC, 95 % CI)	Erfahrener 1 (Intra-rater ICC, 95 % CI)	Erfahrener 2 (Intra-rater ICC, 95 % CI)
Motorcortex L	0,916 (0,790-0,966)	0,742 (0,368-0,897)	0,905 (0,760-0,962)	0,864 (0,655-0,946)
Motorcortex R	0,942 (0,812-0,979)	0,808 (0,526-0,923)	0,928 (0,818-0,971)	0,758 (0,397-0,904)
Präfrontaler Cortex L	0,811 (0,524-0,925)	0,749 (0,385-0,899)	0,627 (0,144-0,849)	0,519 (-0,180-0,807)
Präfrontal Cortex R	0,950 (0,874-0,980)	0,806 (0,513-0,923)	0,901 (0,750-0,961)	0,882 (0,702-0,953)
Parietaler Cortex L	0,902 (0,519-0,969)	0,864 (0,428-0,955)	0,915 (0,285-0,977)	0,898 (0,483-0,968)
Parietaler Cortex R	0,895 (0,564-0,965)	0,824 (0,253-0,943)	0,848 (0,154-0,955)	0,856 (0,008-0,961)
Temporaler Cortex L	0,938 (0,835-0,976)	0,912 (0,772-0,965)	0,872 (0,683-0,949)	0,831 (0,577-0,933)
Temporaler Cortex R	0,772 (0,441-0,909)	0,851 (0,622-0,941)	0,846 (0,512-0,944)	0,883 (0,688-0,955)
Occipitaler Cortex L	0,907 (0,715-0,966)	0,537 (-0,074-0,810)	0,750 (0,386-0,900)	0,828 (0,574-0,931)
Occipitaler Cortex R	0,858 (0,631-0,945)	0,714 (0,263-0,888)	0,720 (0,319-0,888)	0,574 (-0,034-0,829)
Pallidum L	0,859 (0,632-0,945)	0,705 (0,282-0,881)	0,892 (0,725-0,957)	0,897 (0,741-0,959)
Pallidum R	0,579 (-0,22-0,831)	0,730 (0,322-0,893)	0,898 (0,743-0,960)	0,762 (0,397-0,906)
Thalamus L	0,621 (0,061-0,849)	0,617 (0,071-0,846)	0,843 (0,612-0,937)	0,864 (0,661-0,946)
Thalamus R	0,821 (0,557-0,929)	0,634 (0,116-0,853)	0,925 (0,813-0,970)	0,900 (0,748-0,961)

Regionen	FDG-PET (Inter-rater ICC, 95 % CI)	A β -PET perfusion (Inter-rater ICC, 95 % CI)	Combined (Inter-rater ICC, 95 % CI)
Motorcortex L	0,906 (0,808-0,959)	0,864 (0,732-0,940)	0,933 (0,878-0,970)
Motorcortex R	0,858 (0,720-0,938)	0,850 (0,703-0,934)	0,834 (0,698-0,924)
Präfrontaler Cortex L	0,969 (0,939-0,986)	0,867 (0,736-0,942)	0,932 (0,876-0,969)
Präfrontal Cortex R	0,979 (0,959-0,991)	0,932 (0,867-0,970)	0,972 (0,948-0,987)
Parietaler Cortex L	0,975 (0,952-0,989)	0,982 (0,964-0,992)	0,977 (0,955-0,990)
Parietaler Cortex R	0,989 (0,978-0,995)	0,964 (0,929-0,984)	0,972 (0,942-0,988)
Temporaler Cortex L	0,968 (0,938-0,986)	0,973 (0,946-0,988)	0,976 (0,956-0,989)
Temporaler Cortex R	0,952 (0,905-0,979)	0,970 (0,941-0,987)	0,962 (0,931-0,983)
Occipitaler Cortex L	0,923 (0,841-0,967)	0,910 (0,823-0,960)	0,936 (0,881-0,971)
Occipitaler Cortex R	0,859 (0,719-0,938)	0,937 (0,874-0,972)	0,911 (0,836-0,960)
Pallidum L	0,947 (0,981-0,977)	0,849 (0,655-0,937)	0,939 (0,886-0,973)
Pallidum R	0,803 (0,592-0,915)	0,770 (0,481-0,904)	0,868 (0,750-0,940)
Thalamus L	0,843 (0,668-0,933)	0,922 (0,845-0,966)	0,917 (0,845-0,963)
Thalamus R	0,898 (0,790-0,956)	0,916 (0,832-0,963)	0,941 (0,889-0,973)

Tabelle 3: Visueller Vergleich zwischen Oberflächenprojektionen von Frühphasen-A β -PET und FDG-PET. Interklassenkorrelationskoeffizienten (ICC) werden für Intra-Rater (Frühphasen-A β -PET vs. FDG-PET) und Inter-Rater-Vergleiche (Frühphasen-A β -PET / FDG-PET / kombiniert) zusammen mit ihrem 95%-Konfidenzintervall (CI).

Basierend auf Schmitt, Palleis et al. 2021

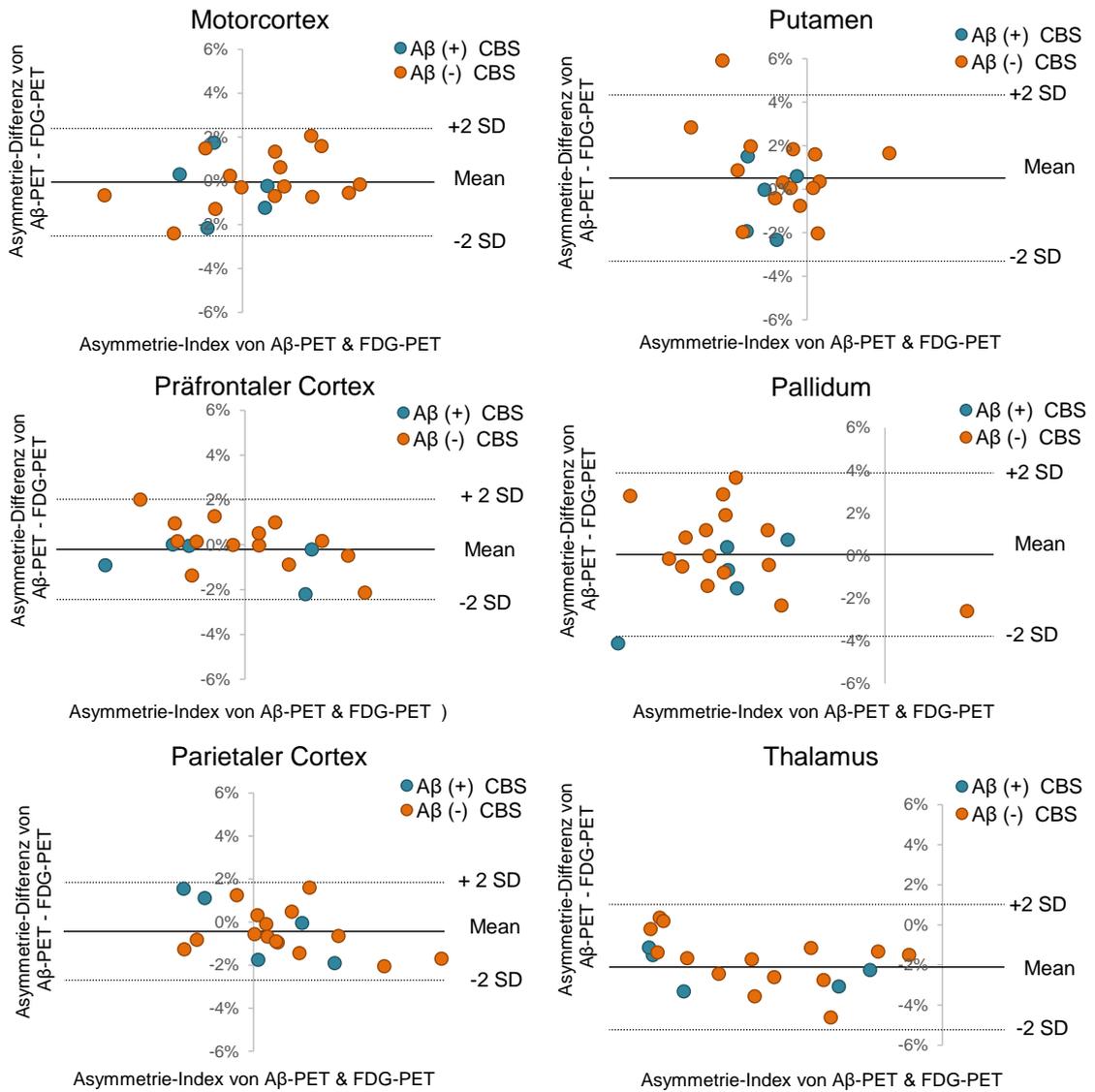


Abbildung 4: Bland-Altman-Diagramm der Asymmetrieübereinstimmung zwischen Frühphasen-Aβ-PET und FDG-PET. Kortikale Regionen mit stärkster Asymmetrie im FDG-PET (linke Spalte) und subkortikale Regionen (rechte Spalte) sind im Hinblick auf die individuelle Übereinstimmung der Asymmetrieindizes (AI) dargestellt.

Basierend auf Schmitt, Palleis et al. 2021

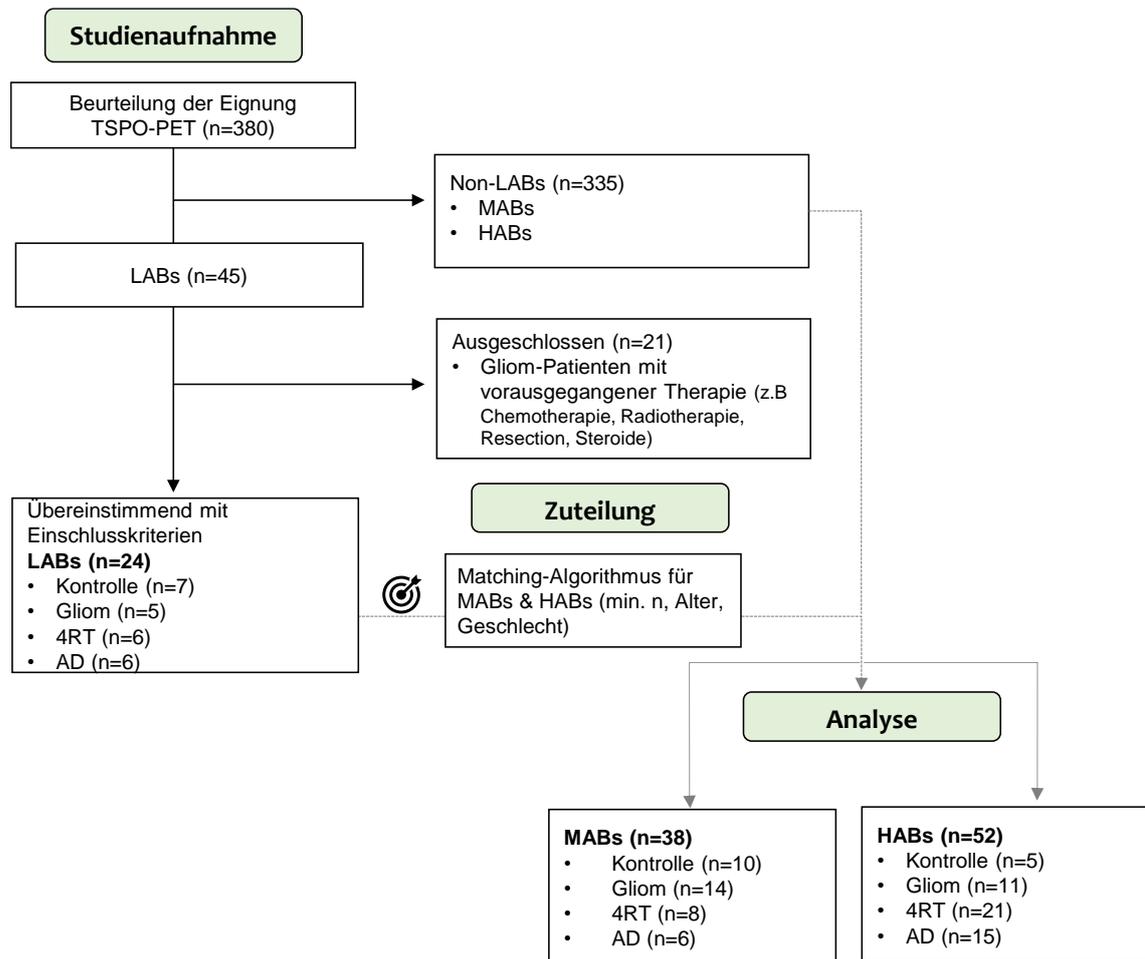


Abbildung 5: Flussdiagramm mit Darstellung der Studienteilnehmer.

Basierend auf Vettermann, Harris et al. 2021

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen beteiligten Personen, die mich bei der Anfertigung meiner Doktorarbeit unterstützt haben, meinen großen Dank aussprechen.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater und Betreuer PD Dr. Matthias Brendel für seine enorme Unterstützung und Geduld während der gesamten Zeit und nicht zuletzt auch für seine mitreißende Begeisterung für die Forschungsarbeit als solche. Die hervorragende Ansprechbarkeit und die unkomplizierten Absprachen waren eine große Erleichterung für die Umsetzung der gesamten Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Bartenstein möchte ich ebenfalls für die gute Zusammenarbeit danken, ebenso wie allen anderen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin in Großhadern.

Herzlich danken will ich auch meiner Doktorandenkollegin Stefanie Harris, mit der ich viele arbeitsreiche, aber auch unterhaltsame Stunden im Doktorandenraum verbracht habe und in ihr nicht nur eine nette und hilfsbereite Kollegin, sondern auch eine Freundin gefunden habe.

An dieser Stelle möchte ich ebenso meine Familie nennen, die mir das Studium ermöglichte und mir zu jeder Zeit sowohl persönliche Unterstützung gab als auch bereitwillig Teile der Arbeit Korrektur las.

Außerdem möchte ich meinem Freund Philip und meinen Freundinnen und Freunden danken, die alle jederzeit ein offenes Ohr für mich hatten und mir während der Arbeit an dieser Dissertation stets mit Ermutigungen und Ratschlägen zur Seite standen.

Zu guter Letzt möchte ich den Patientinnen und Patienten meinen Dank aussprechen, die sich dafür bereit erklärt haben an den Studien teilzunehmen und somit diese Arbeit erst möglich gemacht haben.