Aus der Abteilung Neuroradiologie
(Prof. Dr. med. M. Knauth)
im Zentrum Radiologie
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Untersuchung der Effekte einer EPO-Therapie auf
die kortikale Atrophie bei chronisch schizophrenen
Patienten**

Eine MRT-volumetrische Studie

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades

der Medizinischen Fakultät
der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Oliver Maak

aus

Wilhelmshaven

Göttingen 2011

Dekan: Prof. Dr. med. C. Frömmel

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. M. Knauth

2. Berichterstatter/-in: Prof. Dr. med. O. Gruber

3. Berichterstatter/-in: Prof. Dr. med. M. Oppermann

Tag der mündlichen Prüfung: 17.07.2012

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis.....	- 5 -
Abbildungsverzeichnis	- 6 -
1 Einleitung	- 7 -
1.1 Schizophrenie	- 8 -
1.2 Stand der Forschung	- 9 -
1.2.1 Die Schizophrenie in der radiologischen Bildgebung.....	- 9 -
1.2.2 Erythropoetin (EPO)	- 10 -
2 Material und Methoden	- 13 -
2.1 Studiendesign.....	- 13 -
2.2 Messprotokoll	- 14 -
2.2.1 Subgruppe für die globale Volumetrie	- 14 -
2.2.2 Subgruppe für die voxelbasierte Morphometrie (VBM).....	- 14 -
2.3 Datenverarbeitung und -analyse	- 15 -
2.3.1 Allgemeines.....	- 15 -
2.3.2 Pre-Processing	- 15 -
2.3.3 Die voxelbasierte Morphometrie (VBM).....	- 20 -
3 Ergebnisse	- 24 -
3.1 Ergebnisse der globalen Volumetrie.....	- 24 -
3.1.1 Analyse der ICV-Daten	- 24 -
3.1.2 Analyse des Gesamthirnvolumens	- 25 -
3.1.3 Analyse der Segmentvolumina (GM, WM, CSF)	- 28 -
3.2 Ergebnisse der voxelbasierten Morphometrie	- 31 -
3.2.1 Placebo-Gruppe	- 31 -
3.2.2 EPO-Gruppe	- 36 -
3.2.3 Effektstärkenplots der Regionen mit signifikanten Intragruppendifferenzen (nur Placebo-Gruppe).....	- 37 -
3.2.4 Differenzbildung der Gruppen	- 40 -
3.2.5 Effektstärkenplots der Regionen mit signifikanten Intergruppendifferenzen (maskierte Differenz der Gruppen)	- 43 -
3.2.6 Vergleich der Ergebnisareale	- 46 -
4 Diskussion	- 47 -
4.1 Globale Volumetrie	- 47 -
4.2 VBM	- 48 -
	- 3 -

4.3	Die Diskussion und Deutung der Grauwertänderungen	- 54 -
4.4	Schlussfolgerung	- 55 -
4.5	Ausblick.....	- 55 -
5	Zusammenfassung	- 56 -
6	Anhang	- 58 -
6.1	Abkürzungsverzeichnis	- 58 -
6.2	Literaturverzeichnis	- 61 -

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1; Diagnostische Kriterien der Schizophrenie	- 8 -
Tabelle 2 ; Zentren und verwendete MRT-Scanner	- 13 -
Tabelle 3; Technische Daten des Messprotokolls	- 14 -
Tabelle 4; Deskriptive Statistik der ICV-Daten der Placebo-Gruppe	- 24 -
Tabelle 5; Deskriptive Statistik der ICV-Daten der EPO-Gruppe	- 24 -
Tabelle 6; Gepaarter T-Test der ICV-Daten der Placebo-Gruppe	- 25 -
Tabelle 7; Gepaarter T-Test der ICV-Daten der EPO-Gruppe.....	- 25 -
Tabelle 8; Deskriptive Statistik des Gesamthirnvolumens der Placebo-Gruppe	- 26 -
Tabelle 9; Deskriptive Statistik des Gesamthirnvolumens der EPO-Gruppe	- 26 -
Tabelle 10; Gepaarter T-Test der Gesamthirnvolumina der Placebo-Gruppe	- 26 -
Tabelle 11; Gepaarter T-Test der Gesamthirnvolumina der EPO-Gruppe.....	- 26 -
Tabelle 12; Gruppenstatistik der durch MPM erstellten Gesamthirnvolumina	- 27 -
Tabelle 13; T-Test unabhängiger Stichproben der durch MPM erstellten Gesamthirnvolumina	- 27 -
Tabelle 14; Deskriptive Statistik der ICV-korrigierten Segmentvolumina der Placebo-Gruppe	- 28 -
Tabelle 15; Deskriptive Statistik der ICV-korrigierten Segmentvolumina der EPO-Gruppe	- 28 -
Tabelle 16; Gepaarter T-Test der ICV-korrigierten Segmentvolumina der Placebogruppe -	29 -
Tabelle 17; Gepaarter T-Test der ICV-korrigierten Segmentvolumina der EPO-Gruppe .	- 29 -
Tabelle 18; Gruppenstatistik der ICV-korrigierten Segmentvolumina	- 30 -
Tabelle 19; T-Test für unabhängige Stichproben der ICV-korrigierten Segmentvolumina	- 30 -
Tabelle 20; Tabellarische Gegenüberstellung der gruppierten VBM-Effekte	- 46 -
Tabelle 21; Abkürzungsverzeichnis	- 58 -

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1; Coregistrierung und Reslicing	- 16 -
Abbildung 2; Segmentierung	- 18 -
Abbildung 3; Segmentierung und Maximum Probability Map.....	- 19 -
Abbildung 4; Normalisierung und Segmentierung	- 21 -
Abbildung 5; Smoothing	- 22 -
Abbildung 6; Ergebnisbeispiel der inferenzstatistischen Analyse	- 23 -
Abbildung 7; VBM-Effekte in der Placebogruppe I	- 32 -
Abbildung 8; Region 1 der Placebo-Gruppe	- 33 -
Abbildung 9; Region 2 der Placebo-Gruppe	- 33 -
Abbildung 10; Region 3 der Placebo-Gruppe	- 33 -
Abbildung 11; Region 4 der Placebo-Gruppe	- 34 -
Abbildung 12; Region 5 der Placebo-Gruppe	- 34 -
Abbildung 13; Region 6 der Placebo-Gruppe	- 34 -
Abbildung 14; Region 7 der Placebo-Gruppe	- 35 -
Abbildung 15; Region 8 der Placebo-Gruppe	- 35 -
Abbildung 16; Region 9 der Placebo-Gruppe	- 35 -
Abbildung 17; VBM-Effekte in der EPO-Gruppe	- 36 -
Abbildung 18; Effektstärkenplots der Intragruppendifferenzen	- 38 -
Abbildung 19; VBM-Ergebnisse des Gruppenvergleichs von EPO- und Placebo-Gruppe	- 41 -
Abbildung 20; Region 1 der Gruppendifferenz.....	- 41 -
Abbildung 21; Region 2 der Gruppendifferenz.....	- 42 -
Abbildung 22; Region 3 der Gruppendifferenz.....	- 42 -
Abbildung 23; Region 4 der Gruppendifferenz.....	- 42 -
Abbildung 24; Region 5 der Gruppendifferenz.....	- 43 -
Abbildung 25; Region 6 der Gruppendifferenz.....	- 43 -
Abbildung 26; Effektstärkenplots der Intergruppendifferenzen	- 44 -

1 Einleitung

Die Schizophrenie wird in der Psychiatrie als schwerwiegende endogene Psychose definiert. Die Ursachen dieser Krankheit sind trotz extensiver Forschung weitestgehend unklar. Bislang ist es immer noch nicht möglich, zwischen umweltbedingten und genetischen Einflüssen zu unterscheiden, wobei sich Hinweise für beide Genesen finden lassen. Die derzeitigen Forschungsergebnisse zielen in Richtung einer gestörten neuronalen Entwicklung (Gourion et al. 2004; Yücel et al. 2002) sowie einer Neurodegeneration in der ersten Lebenshälfte, welche in einer verminderten kognitiven Fähigkeit (Horan und Blanchard 2003; Sanfilipo et al. 2002) und einer progressiven Atrophie (Van Haren et al. 2008), insbesondere der grauen Substanz, resultieren. In Bezug auf den Substanzverlust in kortikalen Arealen bei der Schizophrenie wird in der vorliegenden Arbeit untersucht, ob und ggf. inwieweit sich die neueren Forschungsergebnisse bestätigen lassen, welche das Glykoproteinhormon Erythropoetin (EPO) neben seiner hämatopoetischen Funktion als neuroprotektiven Faktor beschreiben. Da bis zu diesem Zeitpunkt nur Studien existieren, welche eine Hochdosis-EPO-Therapie bei akuten Krankheiten wie der akuten zerebralen Hypoxie (Apoplex) an Probanden (Ehrenreich et al. 2002a, 2002b) oder bei einem Schädel-Hirn-Trauma (SHT) im Tierversuch einsetzten (Gonzalez et al. 2007, Sirén et al. 2006), prüft diese Arbeit außerdem, ob sich diese neuroprotektive Wirkung auch bei der chronischen Schizophrenie neuroradiologisch und somit morphologisch nachweisen lässt.

Diese doppelblinde, placebo-kontrollierte, randomisierte Phase-2-Multicenterstudie untersucht MRT-Datensätze der Hirne von chronisch schizophrenen männlichen Probanden zum Zeitpunkt vor und nach dreimonatiger intravenöser EPO-Hochdosis-Therapie volumetrisch und morphometrisch.

Es wurden ebenfalls klinische und neuropsychologische Tests an den Probanden seitens des Max-Planck-Institutes für experimentelle Medizin durchgeführt und bereits 2007 veröffentlicht (Ehrenreich et al. 2007). Eine positive therapeutische Beeinflussung der Psychopathologie der Schizophrenie ließ sich darin nicht nachweisen. Die Ergebnisse jener Studie zeigten aber, dass sich unter dem Einfluss von EPO die kognitiven Leistungen der Patienten signifikant verbesserten.

Die in der vorliegenden Arbeit dargestellten neuroradiologischen und statistischen Methoden und Ergebnisse sollen die Frage beantworten, ob eine EPO-Therapie über einen definierten Zeitraum einen morphometrisch nachweisbaren Effekt am Gehirn schizophrener Patienten bewirkt.

1.1 Schizophrenie

Die Schizophrenie ist eine schwerwiegende endogene Psychose, deren Name sich aus dem altgriechischen (*schizein* = abspalten und *phrēn* = Zwerchfell, Seele) ableiten lässt. Die Schizophrenie ist schon seit langem bekannt und wurde von verschiedenen Gelehrten in unterschiedlichen Erscheinungsbildern beschrieben. Im Jahr 1899 formulierte E. Kraepelin eine Zusammenfassung dieser verschiedenen Beobachtungen unter dem Namen der Dementia praecox. Er beschrieb einen chronisch ungünstigen Verlauf durch eine schwere Persönlichkeitsveränderung. Paul Eugen Bleuler bildete auf der Basis seiner eigenen und den Beobachtungen von Kraepelin 1911 den Begriff der Schizophrenie. Bleuler sah in der Bewußtseinsspaltung das Hauptsymptom der Krankheit und definierte Grundsymptome sowie akzessorische Symptome. Kurt Schneider nahm sich ebenfalls der Psychopathologie dieser Krankheit an und legte in den dreissiger Jahren seine eigene Ordnung mit den Symptomen ersten und zweiten Ranges der Schizophrenie vor (Kurt Schneider 1934).

Die Definition und Diagnose der Schizophrenie nach ICD-10 (WHO 2007) und DSM-IV (APA 1994) umfasst heutzutage die Grundsymptome sowie die akzessorischen Symptome des Bleuler'schen Konzepts als auch die Symptome ersten und zweiten Ranges des Schneider'schen Konzepts. Diese finden sich in den diagnostischen Kriterien wieder (s. Tabelle 1).

Tabelle 1; Diagnostische Kriterien der Schizophrenie (Bandelow, S. 28)

Charakteristische Symptome	<ul style="list-style-type: none">• Wahn, Halluzination• desorganisiertes, katatones Verhalten• desorganisierte Sprache• Affektverflachung, Antriebsarmut, Apathie• Alogie, asoziales Verhalten
Soziale Beeinträchtigungen	<ul style="list-style-type: none">• im Beruf und bei der Selbstversorgung• bei zwischenmenschlichen Beziehungen
Dauer	<ul style="list-style-type: none">• mind. 6 Monate, davon• mind. 1 Monat Kriterium-A-Symptome• ggf. prodromale oder residuale Symptome
Ausschluss schizoaffektiver, affektiver Störungen	
Ausschluss von Drogen- bzw. Medikamentenkonsum	

1.2 Stand der Forschung

1.2.1 Die Schizophrenie in der radiologischen Bildgebung

Infolge der Formulierung und Typisierung der Schizophrenie um die Jahrhundertwende durch Kraepelin und Bleuler war es die Aufgabe der Forschung, die Pathophysiologie dieser Krankheit zu ergründen. Neben den behavioralen und kognitiven Tests der Psychiatrie wurde die Forschung von Seiten der Radiologie durch neue bildgebende Verfahren unterstützt. In den späten siebziger Jahren wurde mit Hilfe der computergestützten Tomographie (CT) eine Vergrößerung der lateralen Ventrikel bei schizophrenen Patienten nachgewiesen (Johnstone et al. 1976). Dieses Ergebnis wurde 14 Jahre später mit modernerer Technik nochmals bestätigt (Lewis 1990). Die in der Zwischenzeit weiterentwickelte MRT mit ihren Möglichkeiten der differenzierten Weichteilgewebedarstellung und höheren Auflösung zeigte sich in den folgenden Jahren allerdings als weitaus vorteilhafter als die CT bei der weiteren Evaluierung der Pathomorphologie der Schizophrenie. 1984 begann eine Arbeitsgruppe (Smith et al. 1984) nach morphologischen Veränderungen mithilfe von MRT-basierten Daten zu forschen. Diese frühe Untersuchung lieferte keine signifikanten Ergebnisse. Zahlreiche Arbeiten ab dem Beginn der 90er Jahre bestätigten hingegen die frühen Ergebnisse der CT und wiesen auf neue, im Zuge der Krankheit veränderte Gehirnareale hin. Diese MRT-Studien belegen morphologische Veränderungen an den präfrontalen, temporalen und subkortikalen Arealen des Gehirns (Choi et al. 2005, Sanfilipo et al. 2002, Sullivan et al. 1996, Shenton et al. 1992, Barta et al. 1990 u.a.). Die Gründe hierfür liegen sowohl in der stetigen technischen Weiterentwicklung der radiologischen Apparaturen als auch in der Entwicklung neuer analytischer Methoden.

Im Jahre 2001 wiesen Thompson et al. ebenfalls einen Verlust an grauer Substanz in parietalen, temporalen und frontalen Bereichen bei jugendlichen schizophrenen Patienten nach, dessen Ausmaß mit einer zunehmenden Klinik der Krankheit korrelierte. Grundlagen der Studie waren eine fünfjährige Beobachtung der Probanden, die Akquisition dreier MRT-Datensätze pro Proband (in zeitlichem Abstand von je 60 Monaten) sowie die abschließende softwaregestützte Analyse und Volumetrie. Diese wurde mithilfe der *Deformation-Based Morphometry* (DBM) durchgeführt. Es folgten weitere Publikationen über die Schizophrenie, die sich einer ähnlichen Methode, der *Voxel-Based Morphometry* (VBM) bedienten (Antonova et al. 2005, Whitford et al. 2005). Whitford et al. fanden eine Atrophie des präfrontalen, parietalen, frontalen als auch des temporalen Kortex sowie im Kleinhirn bei schizophrenen Patienten. Eine weitere VBM-Arbeit bestätigte den signifikanten Verlust grauer Substanz an 96 schizophrenen Patienten gegenüber einer gesunden Kontrollgruppe

(van Haren et al. 2008) innerhalb von fünf Jahren. Van Haren et al. postulierten anhand ihrer Ergebnisse einen massiven Zelluntergang grauen Gewebes besonders während der ersten 45 Lebensjahre, während sich der Substanzverlust jenseits dieser Altersgrenze dem physiologischen Gewebeabbau annäherte. Auch Whitford et al. veröffentlichten im Jahre 2006 die Ergebnisse einer longitudinalen VBM-Studie, welche einen fortschreitenden Substanzverlust besonders in den beobachteten 2-3 Jahren nach Auftreten einer ersten schizophrenen Episode gegenüber gesunden Probanden proklamierte.

Eine weitere Methode zur Erfassung von morphologischen Gewebeveränderungen ist die *Surface-Based Morphometry* (SBM), welche ebenfalls wie die VBM eine Verringerung der grauen Substanz in einer definierten Region nachweisen kann. Dieser Oberflächenvergleich anatomischer Strukturen beschränkt sich auf die Messung der Tiefe des Kortex im Submillimeterbereich. Das Ergebnis war eine bilaterale Reduktion im Durchmesser des anterioren cingulären Kortex (ACC) innerhalb der paralimbischen Region und eine begleitende Vergrößerung der Oberfläche des limbischen als auch des paralimbischen ACC (Fornito et al. 2008; Choi et al. 2005).

Aus den aufgelisteten Ergebnissen lässt sich zusammenfassen, dass sich trotz unterschiedlicher Methodik der Analyseverfahren kongruente Ergebnisse bei der Lokalisation pathomorphologisch verdächtiger Areale in Bezug auf die Hirnmorphologie schizophrener Patienten finden ließen.

1.2.2 Erythropoetin (EPO)

Das Glykoproteinormon Erythropoetin (aus dem Altgriechischen von *erythros* = rot und *poiein* = machen) wurde 1957 von Jacobson und Goldwasser erstmals als das Produkt der menschlichen Niere nachgewiesen (Jacobson et al. 1957). Etwa 20 Jahre später gelang ihnen die Isolierung dieses Hormons. Die Abkürzung EPO hat sich in Fachkreisen durchgesetzt und wird im Weiteren verwendet. EPO ist vor allem als Wachstumsfaktor für die Bildung der Erythrozyten während der Hämatopoese bekannt und zählt somit zu den Erythropoiesis Stimulating Agents (ESA), denen noch andere Zytokine und Interleukine angehören.

In der klinischen Therapie wird biotechnologisch hergestelltes rekombinantes humanes Erythropoetin (rhEPO) verwendet. Dabei kommt es vorwiegend als Therapeutikum der Anämie bei Dialysepatienten oder bei der fortgeschrittenen Niereninsuffizienz zum Einsatz. Diese Patienten leiden unter der Anämie aufgrund der aufgehobenen bzw. eingeschränkten Erythropoetinbildung infolge eines kompletten oder teilweisen Nierenversagens. Als ein

weiteres klinisches Anwendungsgebiet ist die Folgetherapie mit EPO nach aggressiven Chemotherapiezyklen zu nennen, um eine sich anbahnende Anämie zu therapieren.

In der Forschung hat Erythropoetin neben den oben erwähnten klinischen Einsatzgebieten Einzug in weitere Bereiche der Therapie erhalten. Somit ist EPO längst nicht mehr ausschließlich als Steuerungshormon der Hämatopoese bekannt.

Eine Studie der Arbeitsgruppe Klinische Neurowissenschaften des Max-Planck-Instituts für Experimentelle Medizin ergab ein verbessertes klinisches und radiologisches „Outcome“ bei Patienten, die einem akuten Infarkt der Arteria cerebri media erlagen (Ehrenreich et al. 2002b). Tierexperimentelle Studien bestätigten das Ergebnis der neuroprotektiven Wirkung (Gonzalez et al. 2007) und wiesen an P-10-Ratten nach, dass sich EPO günstig auf die Verhinderung des Zelltods und die Neuro- bzw. Gliagenese nach artifiziellm Infarkt auswirkt. Ähnliche Ergebnisse sind bei Mäusen beobachtet worden (Sirén et al. 2006). Die Erforschung der neurophysiologischen und biochemischen Ursachen, die dieser Neuroprotektion durch EPO zugrunde liegen, brachte verschiedene Ergebnisse zutage. Es wurde eine antiinflammatorische Wirkung durch die Modulation der Mikroglia, Astrozyten und Leukozyten sowie durch die Inhibition der Produktion proinflammatorischer Zytokine (wie etwa TNF) postuliert (Chong et al. 2003, Villa et al. 2003). Außerdem wurde EPO sowohl eine Schutzfunktion vor oxidativem Stress (Chong et al. 2003) als auch eine Verminderung des Lecks in der Blut-Hirn-Schranke bei akuter Ischämie zugesprochen (Bahcekapili et al. 2007). Ebenfalls neueren Datums ist die Erkenntnis, dass EPO die Angiogenese in den Gebieten fokaler Ischämie bei Mäusen nachweislich fördert und so zu einer Regeneration des Blutflusses im betroffenen Gebiet führt. Dem zugrunde liegt anscheinend die verstärkte Expression des EPO-Rezeptors (EPO-R) in den neurovaskulären Zellen der Nekroserandzone, der so genannten Penumbra (Li et al. 2007). Basierend auf den oben genannten Forschungsergebnissen wird EPO ein neuroprotektiver und antiinflammatorischer Effekt zugeschrieben.

Weitere Forschungsschwerpunkte der letzten Jahre beschäftigten sich mit der Expression von EPO sowie seines Rezeptors (EPO-R) im Zusammenhang mit der neonatalen Neurogenese (Tsai et al. 2006) und mit der Regeneration und Protektion der retinalen Ganglienzellen bei einem Glaukom oder einer Hypoxie (Grimm et al. 2006; Zhong et al. 2007).

Ein weiteres Forschungsgebiet stellt die Kardiologie dar. Im Bereich des Kardio-Renalen Anämie-Syndroms (CRA) wurde mit EPO eine ernstzunehmende Therapiesäule erschaffen (Silverberg et al. 2006). Im Falle der experimentellen autoimmunen Myokarditis bei Ratten ließ sich die Entzündungsreaktion abschwächen und gleichzeitig die kardiale Funktion durch EPO verbessern (Hirose et al. 2007, Mitsuma et al. 2006).

Auf der Grundlage dieser Forschungsergebnisse zu der Wirkung und Expression dieses Hormons ist es nicht verwunderlich, dass der Bildungsort von EPO oder seinem Rezeptor (EPO-R) sich nicht mehr ausschließlich auf die Niere beschränken lässt. In den unten genannten Reviews lässt sich nachlesen, dass zu den Bildungsorten auch ZNS, Magen-Darm-Trakt, Muskulatur, Uterus, Retina, Pankreas, Gonaden und Lunge gehören (Noguchi et al. 2007, Erbayraktar et al. 2003a).

In Bezug auf die Durchführbarkeit dieser Arbeit gilt es ebenfalls als gesichert, dass intravenös appliziertes EPO die Blut-Hirnschranke überwinden und an die im ZNS gebildeten EPO-Rezeptoren binden kann (Li et al. 2007, Hasselblatt et al. 2006, Knabe et al. 2004). Jene Arbeiten zeigten über diesen Ansatz hinaus, dass EPO sowie EPO-R praktisch von jeder Zelle des Gehirns gebildet werden können (Hasselblatt et al. 2006).

Neuere Studien erforschten EPO-Analoga namens Asialoerythropoetin oder C-EPO (carbamylated EPO) und kamen zu dem Ergebnis, dass deren neuroprotektive Wirkung im Tierexperiment weiter bestand, die Nebenwirkung der Polyzythämie und die daraus resultierende Gefahr der Thrombose / Thromboembolie allerdings signifikant minimiert wurde (Erbayraktar et al. 2003b, Wang et al. 2004, Mahmood et al. 2007).

2 Material und Methoden

2.1 Studiendesign

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine doppelblinde, randomisierte, placebokontrollierte Phase-2-Versuchsreihe im Rahmen einer Multicenter-Studie. An der radiologischen Datenerhebung waren vier Zentren beteiligt (s. Tabelle 2). Insgesamt 39 ausschließlich männliche Versuchspersonen (Alter 29-54 Jahre) haben im Rahmen der zweijährigen EPO-Schizophrenie-Studie teilgenommen. Allen Patienten gemeinsam war das klinische Krankheitsbild der chronischen Schizophrenie nach DSM-IV mit definiertem kognitiven Defizit (gemessen nach der *Repeatable Battery for the Assessment of Neuropsychological Status* (RBANS), Randolph et al 1998), stabilem Krankheitsverlauf (keine akute Periode in den letzten 6 Monaten), regelmäßiger Medikamenteneinnahme und guter Compliance.

Die Patienten wurden ausführlich über den experimentellen Charakter und die Risiken (z.B. Thrombose durch Polyzythämie) dieser Studie aufgeklärt sowie einer sorgfältigen präklinischen Untersuchung und einer 16 wöchigen klinischen Beobachtung nach Behandlung zugeführt.

Diese 39 männlichen chronisch schizophrenen Probanden erhielten über 12 Wochen einmal wöchentlich eine intravenöse Kurzinfusion von 40.000 IU des rekombinanten Erythropoetins (n=20) bzw. eines Placebos (n=19). Die Messzeitpunkte bzw. die Erhebung der MRT-Datensätze fand vor Beginn der Infusionen (PRÄ) bzw. nach Erhalt der zwölften Infusion (POST) statt.

Die Patienten waren zu jedem Zeitpunkt einem Zentrum zugeteilt und wurden von den dort ansässigen Ärzten betreut.

Tabelle 2 ; Zentren und verwendete MRT-Scanner (1,5 Tesla)

Göttingen	Philips Gyroscan Intera
Kiel	Siemens Vision
Köln	Philips Gyroscan Intera
Homburg	Siemens Sonata

Für die Organisation und die Rekrutierung der Zentren sowie der Probanden war die Abteilung der klinischen Neurowissenschaften des Max-Planck-Institutes für experimentelle

Medizin in Göttingen verantwortlich. Die Auswertung der MRT-Datensätze wurde in der neuroradiologischen Abteilung der Universitätsmedizin Göttingen durchgeführt.

2.2 Messprotokoll

Um die verschiedenen MRT-Scanner der teilnehmenden Zentren dieser Multicenterstudie zu normieren, wurde ein Messprotokoll formuliert, in welchem die wichtigsten Einstellungen standardisiert wurden. Bei allen Geräten handelte es sich um Geräte mit einer Magnetfeldstärke von 1,5 Tesla. Die weiteren Einstellungen waren wie folgt.

Tabelle 3; Technische Daten des Messprotokolls

Schichtdicke	3 mm / 1,5 mm	Echozeit (TE)	4,6 ms
Scan Sequenz	Gradientenecho	Bilderfrequenz	63,9 Hz
Field of view (FOV)	256 x 256 x 150	Magnetfeldstärke	1,5 Tesla
Repetitionszeit (TR)	30 ms	Flip angle	30°
Voxelgröße	1 x 1 x 1,5 mm ³		

2.2.1 Subgruppe für die globale Volumetrie

Von den ursprünglichen 39 teilnehmenden Patienten dieser Studie konnten insgesamt elf mit dem Verfahren der globalen Volumetrie nicht ausgewertet werden. Fünf dieser Datensätze waren aus technischen Gründen für diese volumetrische Analyse nicht verwertbar (N=5). Sie wiesen eine differente Auflösung der Matrix auf. Weitere Datensätze wiesen starke Bewegungsartefakte (N=1) oder eine so schwere Verletzung des Messprotokolls (N=1) auf, dass sie mit keiner der beiden Methoden, weder der globalen Volumetrie noch der VBM, ausgewertet werden konnten. Darüber hinaus war bei vier Patienten (N=4) die zweite MRT-Messung nicht generiert worden. Für das Verfahren der globalen Volumetrie lagen somit die anatomischen MRT-Aufnahmen aus den Zeitpunkten PRÄ und POST von 28 Patienten vor (EPO: N=15 und Placebo: N=13).

2.2.2 Subgruppe für die voxelbasierte Morphometrie (VBM)

Für diesen Vergleich standen die Daten von 32 Patienten zur Verfügung, da zusätzlich zu den 28 Patienten der globalen Volumetrie weitere vier Patienten, welche eine unterschiedliche Auflösung der Rohdatensätze aufwiesen, in die statistische Analyse der VBM mit einbezogen werden konnten. Dieser Unterschied innerhalb des Messprotokolls konnte durch die

stereotaktische Normalisierung der Daten (s.2.3.3.2) aufgehoben werden. Jede der resultierenden zwei Gruppen bestand aus 16 Patienten (EPO: N=16 und Placebo: N=16).

2.3 Datenverarbeitung und –analyse

2.3.1 Allgemeines

Die radiologische Volumetrie wurde seit ihrem Bestehen vielfältig diskutiert. Inzwischen sind verschiedene Modelle und Methoden wissenschaftlich etabliert, um bestimmte Strukturen oder Gewebetypen in ihrer Quantität oder ihrer Morphologie vergleichen zu können.

Die Grundlage der radiologischen Volumetrie bildet das Voxel. Der Begriff Voxel setzt sich aus den Wörtern „volumetric“ und „pixel“ zusammen. Mit anderen Worten bezeichnet er die räumliche Variante des zweidimensionalen Pixels und stellt in der radiologischen Bildgebung die kleinste Einheit der Daten dar. Diese Daten sind in der Regel in zwei oder dreidimensionalen Matrizen angeordnet. Die in einer Voxelmatrix enthaltenen Daten ermöglichen die räumliche Visualisierung des MRT-Datensatzes durch Darstellung der verschiedenen Gewebeklassen bzw. anatomischen Strukturen anhand unterschiedlicher Graustufen.

In dieser Arbeit wurde das auf der Software-Plattform MatLab (Mathworks, Inc., Natick, MA, USA – <http://www.mathworks.com>) zu verwendende SPM2 (Statistical Parametric Mapping – <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm>) angewendet. Dieses Programm eignet sich dazu, die einzelnen Voxel in den MRT-Datensätzen des Kopfes mit einer definierten Wahrscheinlichkeit den drei Gewebeklassen des Hirns (graue und weiße Substanz sowie Liquor) zuzuweisen (Segmentierung, s. 2.4.2.1) und zu volumetrieren. Die statistische Auswertung der globalen Volumetrie erfolgte mittels SPSS, Version 11.5.

Darüber hinaus können mittels statistischer Analysen im Rahmen der VBM lokale morphologische Unterschiede zwischen zwei oder mehreren Datensätzen intra- und interindividuell charakterisiert werden. Das in dieser Arbeit angewandte SPM-Tool zeigt eine hohe Genauigkeit in Reproduzierbarkeit und Bestimmung der grauen Substanz (Good et al 2001; Ashburner, Friston 2000).

2.3.2 Pre-Processing

Alle Datensätze wurden aus dem radiologischen Dicom-Format in das mathematische Analyze-Format überführt. Das Zentrum des Referenz-Koordinatensystems wurde auf die Commissura anterior zentriert. Da bei diesem Schritt nicht die Unterschiede der Datensätze

bei der Orientierung im dreidimensionalen Raum beseitigt wurden und deren Schichten bis auf einen Punkt nicht deckungsgleich waren, wurde eine *Coregistrierung* samt einem *Reslicing* durchgeführt. In der Coregistrierung wird ein morphologischer zentraler Bezugspunkt (Commissura anterior) in den Datensätzen PRÄ und POST markiert, wodurch es durch o.g. Verfahren zu einer Angleichung der räumlichen morphologischen Bezugspunkte vom *Target image* (PRÄ) auf das *Source image* (POST) kommt. Um diesen Bezugspunkt wird der lagekorrigierte POST-Datensatz wieder neu aufgebaut (Reslicing), so dass die Schichten 1-100 der beiden Datensätze PRÄ und POST-lagekorrigiert dieselben anatomischen Strukturen zeigen. Die Abbildung 1 zeigt diesen Prozess und dessen Ergebnisse schematisch am Sulcus calcarinus..

Abbildung 1; Coregistrierung und Reslicing

Die axialen Aufnahmen (PRÄ, POST, rPOST) zeigen die Abweichung der beiden Datensätze (PRÄ und POST) vor der Ausrichtung sowie den Ergebnisdatensatz (rPOST – lagekorrigiert). Dieser weist eine räumliche Übereinstimmung mit dem PRÄ-Datensatz auf (vgl. Bereich des Sulcus calcarinus – Pfeil).

2.3.2.1 Die Segmentierung

Für eine differenzierte Volumenberechnung ist die Segmentierung der Datensätze in Gewebeklassen nötig. Diese wird mit dem Ziel durchgeführt, die MRT-Rohdaten in intrakranielles und extrakranielles Gewebe zu zerlegen und eine Differenzierung des intrakraniellen Gewebeanteils in seine drei Grundgewebeklassen Graue Substanz (GM), Weiße Substanz (WM) und Liquor (CSF) zu ermöglichen. Diese Zerlegung wird mit Hilfe eines von Ashburner und Friston beschriebenen Klusteralgorithmus realisiert (Ashburner, Friston 1997) und basiert auf drei Grundannahmen:

- (1) GM, WM und CSF werden als distinkte Kluster k verstanden, welche durch die Anzahl der in ihnen enthaltenen Voxel N_k , den mittleren Grauwert dieser Voxel μ_k

und die Varianz σ_k der dem Cluster (der Gewebeklasse) zugeordneten Grauwertverteilung beschrieben werden können (Ashburner, Friston 2000).

- (2) Die konkrete Verteilung der Grauwerte im zu segmentierenden Datensatz hängt von den Parametern der MR-Messung ab und kann innerhalb des Bildes variieren. Dieser Tatsache wird im Prozess der Segmentierung durch eine Wichtung der einzelnen Voxel Rechnung getragen. Die Summe aller Gewichte wird als Empfindlichkeitsmatrix oder skalares Sensitivitätsfeld der MR-Messung bezeichnet.
- (3) Da die Segmentierung mit stereotaktisch normalisierten Datensätzen durchgeführt wird, existieren A-Priori-Informationen über die räumliche Verteilung der einzelnen Gewebeklassen innerhalb des Standardraumes. Diese A-Priori-Informationen liegen in SPM für jede der drei Gewebeklassen in Form von Wahrscheinlichkeitskarten (probabilistic maps) vor. Diese wurden auf der Basis des MNI-152-Template errechnet. Das MNI-152 ist ein Standardgehirnmodell, für dessen Erstellung 152 Probanden bzw. Gehirne verwendet wurden. Dabei ist jedem Voxel dieser Karte die Wahrscheinlichkeit zugeordnet, nach der sich in ihm der betreffende Gewebetyp befindet. Mit anderen Worten, wenn ein Voxel (Koordinaten: x, y, z) aus dem Grenzbereich zwischen den zwei Gewebetypen k_1 und k_2 in der Wahrscheinlichkeitskarte für das erste Cluster den Wert p_{xyzk_1} hat, so wird in der Wahrscheinlichkeitskarte für das zweite Cluster dem gleichen Voxel der Wert $p_{xyzk_2} = 1 - p_{xyzk_1}$ zugeordnet. Die Erzeugung einer probabilistischen Karte für den extrakraniellen Raum erfolgt durch die Subtraktion der Summe aller Wahrscheinlichkeitskarten von einer dreidimensionalen Matrix, deren Elemente alle den Wert 1 besitzen. Die Dimension dieser Matrix entspricht dabei der Dimension der vorhandenen Wahrscheinlichkeitskarten für GM, WM und CSF. Der Wert der Elemente dieser Wahrscheinlichkeitskarte beträgt außerhalb des Hirns 1 und innerhalb des Kраниums annähernd 0.

Zu Beginn des Segmentierungsprozesses sind die Parameter der gewebespezifischen (klusterspezifischen) Grauwertverteilungen, das Sensitivitätsfeld und die wirkliche räumliche Verteilung der Voxel eines Klusters unbekannt. Als Startwerte für das Sensitivitätsfeld wird ein homogenes Skalarfeld angenommen, dessen Wert in jedem Raumpunkt 1 beträgt. Als Ausgangsgröße für die räumliche Verteilung der gewebe- bzw. klusterspezifischen Voxel dienen die unter (3) beschriebenen Wahrscheinlichkeitskarten.

Im Prozess der Segmentierung wird eine alternierende und iterative Schätzung der einzelnen gesuchten Parameter durchgeführt. Dieser Prozess wird erst dann abgebrochen, wenn ein vorher definiertes Konvergenzkriterium erfüllt ist.

Die eindeutige Zuordnung eines Voxels zu einer der drei Gewebeklassen (Kluster) ist aber in manchen Fällen nicht möglich, weil sich einerseits die Grauwertverteilungen überschneiden, andererseits weil es durch die begrenzte räumliche Auflösung der MR-Messung zu Partialvolumenartefakten kommen kann, d.h. dass sich das Signal innerhalb eines Voxels anteilmäßig aus verschiedenen Gewebetypen zusammensetzt. Deshalb ist das Ergebnis der in SPM durchgeführten automatischen Segmentierung eine individuelle gewebespezifische Wahrscheinlichkeitskarte mit einem Wertebereich von 0 bis 1.

Somit ist es möglich, die Kluster standardisiert in Form der Wahrscheinlichkeitskarten darzustellen. Die dem Cluster zugehörige Summe an Voxeln bildet sein Volumen und kann im Analyze-Format dargestellt werden (s. Abb. 2).

Abbildung 2; Segmentierung

2.3.2.2 Maximum Probability Map

Um die Bestimmung der einzelnen Gewebeklassen noch zu optimieren, wurde der Algorithmus des *Maximum Probability Mappings* (MPM) verwendet. Dieser wurde nur für die globale Volumetrie eingesetzt. Er bedient sich der o.g. individuellen gewebespezifischen *probability maps* (Wertebereich 0 bis 1), die bereits in der o.g. Segmentierung erstellt worden sind. Die Maximum Probability Maps mit einem definierten Wert von 0 oder 1 zeigen für jedes Voxel die größtmögliche Wahrscheinlichkeit der Segmentzugehörigkeit (GM, WM oder CSF) an. Infolge dieser Anwendung liquidiert man sogenannte „partial volume effects“, welche diejenigen Voxel beschreiben, die sich z. B. im Bereich zwischen der grauen und der weißen Substanz nicht eindeutig oder nur zum Teil der einen oder anderen Gewebeklasse zuordnen lassen.

Die Abbildung 3 zeigt die oben beschriebenen Schritte der Datenverarbeitung und deren Ergebnisse. Aus der Abbildung ist ersichtlich, dass für den Preis einer höchstmöglichen Sicherheit bei der Bestimmung von Gewebeklassen ein Verlust an absolutem Volumen in Kauf genommen wurde.

Abbildung 3; Segmentierung und Maximum Probability Map

	Segmentierung	MPM
GM
WM
CSF

2.3.3 Die voxelbasierte Morphometrie (VBM)

2.3.3.1 Der Grundalgorithmus

Die voxelbasierte Morphometrie nutzt eine Reihe automatischer Algorithmen für die Ermittlung statistisch signifikanter Unterschiede in der intra- und interindividuellen Hirnmorphologie. Der grundsätzliche Algorithmus der VBM besteht aus 4 Hauptschritten (Ashburner, Friston 2000):

- (1) der stereotaktischen Normalisierung,
- (2) der Segmentierung der normalisierten Datensätze GM, WM und CSF,
- (3) dem räumlichen Glätten (Smoothen) der segmentierten Datensätze und
- (4) der inferenzstatistischen Testung der resultierenden Datensätze auf signifikante Differenzen in der räumlichen Verteilung der einzelnen Gewebeklassen.

2.3.3.2 Die stereotaktische Normalisierung

In den anatomischen MRT-Rohdatensätzen sind die folgenden individuellen morphologischen Charakteristika eines jeden Patienten abgebildet:

- (1) Gehirnvolumen (bzw. intrakranielles Volumen),
- (2) Gehirnform und
- (3) räumliche Verteilung der einzelnen Gewebeklassen im Gehirn.

Gehirnvolumen und –form stellen globale morphologische Größen dar. Im Kontext der VBM machen diesbezügliche interindividuelle Differenzen die Vergleichbarkeit der einzelnen Datensätze unmöglich. Ziel der stereotaktischen Normalisierung ist deshalb die Eliminierung der in den Rohdatensätzen enthaltenen globalen anatomischen Varianz und die Transformation der individuellen Datensätze in einen Standardraum. Diese Transformation erfolgt unter Nutzung linearer und nichtlinearer Algorithmen sowie anatomischer Standardgehirne (Templates). Diese Templates (z.B. das von SPM2 genutzte Template des Montreal Neurological Institute, MNI-Template) orientieren sich dabei weitestgehend am gebräuchlichsten stereotaktischen Atlas, dem „Co-Planar Stereotaxis Atlas of the Human Brain“ (Talairach, Tournoux 1988).

Um den Besonderheiten der untersuchten Patientenstichprobe Rechnung zu tragen, wurde für diese Arbeit ein gruppenspezifisches Template aus den 64 vorhandenen Datensätzen ($n=32 \times 2$)

2; PRÄ+POST) erstellt. Alle Gehirne wurden mit Hilfe dieses eigens angefertigten Standardgehirns („Template64“) normalisiert und anschließend segmentiert.

Die Schätzung der Transformationsparameter erfolgt durch eine Minimierung der Abweichungen (Fehlerquadratsumme, sum of least squares) zwischen Template und individuellem Datensatz. Durch die Anwendung der Transformationsoperationen auf den ursprünglichen Datensatz wird ein neues Bild berechnet (interpoliert), welches weitestgehend dem Template gleicht. Die Normalisierung bildet mit der im Abschnitt 2.3.2.1 erläuterten Segmentierung die kritischsten Schritte der VBM. Diese Tatsache ist im Wesen der Normalisierung selbst begründet, besteht ihr Ziel doch in der bestmöglichen Eliminierung jeglicher anatomischen Varianz. Die VBM untersucht aber gerade diese Varianzen. Aus diesem Grund wurde für die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführte Studie nur eine lineare Normalisierung vorgenommen. Die für diesen Abschnitt nicht interessierende globale Varianz zwischen den Datensätzen wurde somit unter Erhaltung der interessierenden lokalen Varianz eliminiert. Abbildung 4 zeigt die Schritte der Normalisierung und der anschließenden Segmentierung.

Abbildung 4; Normalisierung und Segmentierung

Auf der linken Seite der Abbildung ist der ursprüngliche und segmentierte Datensatz zu sehen, auf der rechten Seite ist der normalisierte Datensatz zu sehen.

2.3.3.3 Die räumliche Glättung (Smoothing)

Die Notwendigkeit die segmentierten Datensätze räumlich zu glätten, resultiert aus der Tatsache, dass die im folgenden Schritt durchzuführenden inferenzstatistischen Tests von normalverteilten Daten ausgehen. Da die Wahrscheinlichkeitskarten der einzelnen Gewebeklassen meist gegen die Extremwerte (1 und 0) tendieren, ist diese Grundannahme bei ungeglätteten Datensätzen nicht gegeben. Ungeglättete Segmente weisen relativ abrupte Intensitätssprünge auf, und die in ihnen enthaltenen Wahrscheinlichkeitsverteilungen sind oftmals asymmetrisch und von geringer Varianz. Durch eine räumliche Glättung (Smoothen) wird die Verteilung der Daten der Normalverteilung angenähert (Ashburner, Friston 2000; Salmond et al. 2002). Das erfolgt durch die Korrektur der Voxelwerte mit den gewichteten Signalwerten der benachbarten Voxel. Dabei entspricht die räumliche Charakteristik der Wichtungsfaktoren (d.h. die Abnahme der anteiligen Signalkorrektur mit zunehmender Entfernung vom zu korrigierenden Voxel) in der Regel einer dreidimensionalen Gaußkurve mit einem maximalen Funktionswert von 1. Die Anzahl der in die Korrektur einbezogenen Voxel ist von der Ausdehnung dieser Kurve entlang der drei Raumrichtungen abhängig. Diese Ausdehnung wird durch die Breite der Glockenkurve beim Funktionswert 0.5 angegeben (full width at half maximum, FWHM). Dieser Wert wird auch als *smoothing kernel* bezeichnet und betrug für die vorliegende Studie 8 mm (8 Voxel). Damit sollte sichergestellt werden, dass die noch vorhandene lokale Varianz in den normalisierten und segmentierten Bildern im Verlauf der Sulci keine artifiziellen Unterschiede in der abschließenden Statistik verursacht. Abbildung 5 zeigt das Ergebnis des *smoothing* der Daten.

Abbildung 5; Smoothing

2.3.3.4 Der inferenzstatistische Test

Mit den vorbereiteten Segmentbildern wurde in der abschließenden statistischen Analyse ein voxelweiser Test auf statistisch signifikante Differenzen innerhalb und zwischen den Patientengruppen durchgeführt. Als Testverfahren kam ein F-Test zur Anwendung. Dabei wurde getestet, inwieweit die Wahrscheinlichkeit für die Anwesenheit der Gewebeklasse k im Voxel (x, y, z) für zwei Gruppen (Placebo=0, EPO=1) durch die Gruppenzugehörigkeit erklärt werden kann. Die Ergebnisbilder zeigen nun diejenigen Regionen, bei denen dies der Fall ist. Dies wird im Kontext der VBM als eine morphologische Veränderung interpretiert.

Abbildung 6 präsentiert das Ergebnis des Vergleichs aller 32 männlichen Patienten und deren PRÄ- und POST-Datensätze getrennt in Gruppen in Form einer sogenannten *Maximum Intensity Projection* (MIP), welches die *effects of interest* (EOI) beinhaltet. Im folgenden Ergebniskapitel werden diese Ergebnisse genauer analysiert und beschrieben (s. Kap. 3.2).

Abbildung 6; Ergebnisbeispiel der inferenzstatistischen Analyse (MIP)

3 Ergebnisse

3.1 Ergebnisse der globalen Volumetrie

Für das Verfahren der globalen Volumetrie lagen die Wertepaare aus den Zeitpunkten PRÄ und POST von 28 Patienten vor. Die von 28 Patienten erhaltenen 56 Datensätze wurden in zwei Gruppen geteilt. Zum einen in die Patienten der Kontrollgruppe (Placebo; N = 13) und zum anderen in die Patienten der Medikamentengruppe (EPO; N = 15).

3.1.1 Analyse der ICV-Daten

Die errechneten Mittelwerte für das intrakranielle Gesamtvolumen aller Patienten ohne Gruppendifferenzierung lagen für ICV_1 (PRÄ) bei 1482 ± 130 ml und für ICV_2 (POST) bei 1484 ± 147 ml im physiologischen Bereich und zeigten lediglich geringe Abweichungen (2ml) in der zeitlichen Abfolge von PRÄ nach POST, die somit als nicht signifikant zu werten sind. Die folgenden Tabelle 4 und 5 zeigen die ICV-Absolutvolumina nach Gruppen getrennt.

Tabelle 4; Deskriptive Statistik der ICV-Daten der Placebo-Gruppe (Absolutvolumina in ml)

	Mittelwert	N	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
ICV_1	1.491,3	13	106,5	29,5
ICV_2	1.494,5	13	135,8	37,7

Tabelle 5; Deskriptive Statistik der ICV-Daten der EPO-Gruppe (Absolutvolumina in ml)

	Mittelwert	N	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
ICV_1	1.474,1	15	150,9	38,9
ICV_2	1.476,1	15	161,9	41,8

Innerhalb der Gruppen zeigte sich ebenfalls eine minimale Differenz von PRÄ nach POST von 3,2 ml in der Placebo-Gruppe und 2 ml in der EPO-Gruppe.

Auf der Grundlage dieser Mittelwerte erfolgte eine T-Test-Analyse für gepaarte Stichproben, in der die intraindividuellen Differenzen von PRÄ nach POST in den Gruppen verglichen wurden (PRÄ-POST; vergleiche Tabelle 6 und Tabelle 7).

Tabelle 6; Gepaarter T-Test der ICV-Daten der Placebo-Gruppe (Absolutvolumina in ml)

Paar	Gepaarte Differenzen					T	df	Sig.
	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes	95% Konfidenzintervall der Differenz				
				Untere	Obere			
ICV_1 – ICV_2	-3,17	50,38	13,97	-33,61	27,27	-0,23	12	0,83

Tabelle 7; Gepaarter T-Test der ICV-Daten der EPO-Gruppe (Absolutvolumina in ml)

Paar	Gepaarte Differenzen					T	df	Sig.
	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes	95% Konfidenzintervall der Differenz				
				Untere	Obere			
ICV_1 – ICV_2	-2	21,67	5,59	-13,99	9,99	-0,35	14	0,73

Dieser Test lieferte für das 5%-Signifikanzniveau kein signifikantes Ergebnis. Ein anschließender T-Test für unabhängige Stichproben, welcher für den Mittelwertsvergleich zwischen den Gruppen durchgeführt wurde, zeigte ein ähnliches Ergebnis ($p \geq 0,7$, n.s.). Das heißt, dass es sowohl zwischen den zwei Messpunkten als auch zwischen den untersuchten Gruppen keinen signifikanten Unterschied im ICV gab.

3.1.2 Analyse des Gesamthirnvolumens

Für den folgenden Teil wurden die auf der Basis der Maximum Propability Maps errechneten GM- und WM-Segmentvolumina am ICV des Individuums normiert (ICV-korrigiertes Relativvolumen). Die erhaltenen Relativvolumen wurden in Prozent angegeben.

In dem folgenden Teil wurde geprüft, ob es eine Volumenänderung innerhalb des parenchymalen Anteils des Gehirns gegeben hat. Hierzu wurden die Relativvolumina der Segmente GM und WM addiert und zu dem o.g. ICV in Korrelation gesetzt.. Für den longitudinalen Vergleich wurden die Zeitpunkte PRÄ und POST ($GM+WM_1 = Ges_1$ bzw. $GM+WM_2 = Ges_2$) gegenübergestellt (Tabelle 8 und Tabelle 9).

Tabelle 8; Deskriptive Statistik des Gesamthirnvolumens (erhoben mittels MPM) der Placebo-Gruppe (ICV-korrigierte Relativvolumina in %)

	Mittelwert	N	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Ges_1	47,02	13	5,94	1,65
Ges_2	47,22	13	7,77	2,16

Tabelle 9; Deskriptive Statistik des Gesamthirnvolumens (erhoben mittels MPM) der EPO-Gruppe (ICV-korrigierte Relativvolumina in %)

	Mittelwert	N	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Ges_1	46,81	15	3,89	1
Ges_2	47,28	15	4,90	1,26

Aus diesen Tabellen ist ersichtlich, dass sich die Mittelwerte in der Placebogruppe geringfügig um 0,2 % von PRÄ nach POST erhöhen, während sich das Mittel in der EPO-Gruppe um einen geringen Betrag von 0,47 % erhöht. Beide Werte befinden sich sowohl unterhalb der Standardabweichung als auch unterhalb des Standardfehlers des Mittelwertes.

Im Folgenden wurde ein zweiseitiger T-Test für gepaarte Stichproben auf der Basis der oben dargestellten Mittelwerte gerechnet und in den folgenden

Tabelle 9 und Tabelle 10 dargestellt. Gezeigt wird ein Vergleich der intraindividuellen Differenzen der relativen Gesamthirnvolumina (Ges_1 = PRÄ; Ges_2 = POST) von PRÄ nach POST (PRÄ-POST) innerhalb einer Gruppe.

Tabelle 10; Gepaarter T-Test der Gesamthirnvolumina (MPM) der Placebo-Gruppe (ICV-korrigierte Relativvolumina in %)

Paar	Gepaarte Differenzen					T	df	Sig. 2seitig
	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes	95% Konfidenzintervall der Differenz				
				Untere	Obere			
Ges_1 – Ges_2	-0,20	4,28	1,19	-2,79	2,38	-0,17	12	0,87

Tabelle 11; Gepaarter T-Test der Gesamthirnvolumina (MPM) der EPO-Gruppe (ICV-korrigierte Relativvolumina in %)

Paar	Gepaarte Differenzen					T	df	Sig. 2seitig
	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes	95% Konfidenzintervall der Differenz				
				Untere	Obere			
Ges-1 – Ges-2	-0,47	4,16	1,07	-2,78	1,83	-0,44	14	0,67

Das Ergebnis dieses Tests in Tabelle 11 zeigt, dass es sich bei den festgestellten Veränderungen nicht um systematische Effekte, sondern um eine durch stochastische Faktoren beeinflusste Differenz handelt. Es sind keine signifikanten intraindividuellen Unterschiede innerhalb der Gruppe von PRÄ nach POST nachweisbar.

Anhand der oben genannten Gesamthirnvolumina wurde ebenfalls ein T-Test für unabhängige Stichproben durchgeführt, um zu testen, ob sich die mittlere Volumendifferenz der Placebo-Gruppe signifikant von der mittleren Volumendifferenz der EPO-Gruppe zu den Zeitpunkten PRÄ und POST unterscheidet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 12 und Tabelle 13 zusammengefasst (0 = Placebo; 1 = EPO).

Tabelle 12; Gruppenstatistik der durch MPM erstellten Gesamthirnvolumina (ICV-korrigierte Relativvolumina in %)

	EPO / Placebo	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Ges_1	0	13	47,02	5,94	1,65
	1	15	46,81	3,89	1,00
Ges_2	0	13	47,22	7,77	2,16
	1	15	47,28	4,90	1,26

Tabelle 13; T-Test unabhängiger Stichproben der durch MPM erstellten Gesamthirnvolumina (ICV-korrigierte Relativvolumina in %)

		T-Test für die Mittelwertgleichheit				
		T	df	Sig. (2seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz
Ges_1	Varianzen sind gleich	0,11	26	0,91	0,21	1,87
	Varianzen sind nicht gleich	0,11	20,18	0,91	0,21	1,93
Ges_2	Varianzen sind gleich	-0,03	26	0,98	-0,06	2,42
	Varianzen sind nicht gleich	-0,02	19,68	0,98	-0,06	2,50

Aus der Tabelle 12 ist ersichtlich, dass kein signifikanter Unterschied zwischen der EPO-Gruppe und der Placebo-Gruppe im zeitlichen Verlauf für das zelluläre Gesamthirnvolumen nachgewiesen werden konnte. Die Unterteilung bzw. die Frage, ob die Varianzen gleich oder ungleich sind (s. Tabelle 13), vereint den konservativen mit dem neueren Ansatz des ungerichteten T-Tests und trägt in diesem Fall zu keiner diskussionswürdigen Ergebnisabweichung bei und kann als gleich betrachtet werden.

3.1.3 Analyse der Segmentvolumina (GM, WM, CSF)

In diesem Schritt der Analyse wurden die einzelnen Subvolumina GM, WM und CSF auf eine Volumenänderung untersucht. Als erstes werden die ICV-korrigierten Segmentvolumina GM, WM und CSF zu den Zeitpunkten _1 (PRÄ) und _2 (POST) gepaart und nach Gruppen getrennt (Tabelle 14 und Tabelle 15).

Tabelle 14; Deskriptive Statistik der ICV-korrigierten Segmentvolumina der Placebo-Gruppe (in %)

		Mittelwert	N	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Paar 1	GM_1	29,94	13	4,64	1,29
	GM_2	31,21	13	5,93	1,65
Paar 2	WM_1	17,07	13	2,44	0,68
	WM_2	16,01	13	3,36	0,93
Paar 3	CSF_1	7,63	13	4,03	1,12
	CSF_2	7,25	13	3,08	0,85

Tabelle 15; Deskriptive Statistik der ICV-korrigierten Segmentvolumina der EPO-Gruppe (in %)

		Mittelwert	N	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Paar 1	GM_1	30,63	15	3,05	0,79
	GM_2	30,87	15	4,10	1,06
Paar 2	WM_1	16,18	15	3,75	0,97
	WM_2	16,42	15	3,13	0,81
Paar 3	CSF_1	9,56	15	2,55	0,66
	CSF_2	9,48	15	2,65	0,68

Aus den Tabelle 14 und 15 lässt sich errechnen, dass die Differenz zwischen kleinstem und größtem Mittelwert auf Seiten der Grauen Substanz (GM) in der Placebo-Gruppe 1,27 % beträgt. Um zu verifizieren, ob diese Abweichung das 5%-Signifikanzniveau erreicht, wurden diese Mittelwerte anschließend einem gepaarten T-Test unterzogen. Dieser sollte die intraindividuellen Unterschiede der relativen Segmentvolumina zwischen den Zeitpunkten PRÄ und POST, getrennt nach Gruppen, sichtbar machen (s. Tabelle 16 und Tabelle 17).

Tabelle 16; Gepaarter T-Test der ICV-korrigierten Segmentvolumina der Placebogruppe (in %)

Paar	Gepaarte Differenzen					T	df	Sig. 2seitig
	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes	95% Konfidenzintervall der Differenz				
				Untere	Obere			
GM_1 – GM_2	-1,26	2,95	0,82	-3,05	0,52	-1,54	12	0,15
WM_1 – WM_2	1,06	2,54	0,71	-0,48	2,60	1,50	12	0,16
CSF_1 – CSF_2	0,38	1,85	0,51	-0,74	1,49	0,74	12	0,47

Tabelle 17; Gepaarter T-Test der ICV-korrigierten Segmentvolumina der EPO-Gruppe (in %)

Paar	Gepaarte Differenzen					T	df	Sig. 2seitig
	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes	95% Konfidenzintervall der Differenz				
				Untere	Obere			
GM_1 – GM_2	-0,24	4,21	1,09	-2,57	2,09	-0,22	14	0,83
WM_1 – WM_2	-0,23	0,91	0,23	-0,73	0,27	-0,99	14	0,34
CSF_1 – CSF_2	0,08	1,31	0,34	-0,65	0,80	0,23	14	0,82

Die Ergebnisse der Tabelle 16 und Tabelle 17 zeigen, dass sich die Subvolumina innerhalb der Gruppen im zeitlichen Verlauf nicht signifikant verändert haben. Sowohl für die Placebo-Gruppe als auch die EPO-Gruppe wurde kein Ergebnis erzielt, welches das Signifikanzniveau von 5% ($p = 0,05$) erreichte. Somit wurde gezeigt, dass es über die Zeit von PRÄ nach POST keinen signifikanten intra- bzw. interindividuellen Unterschied in den Segmentvolumina mittels o.g. Methode innerhalb der Gruppen nachweisbar war.

Als nächstes wurden die Mittelwertdifferenzen der ICV-korrigierten Segmentvolumina GM, WM und CSF mittels eines T-Tests für unabhängige Stichproben untersucht. Ziel dieses Tests war der Vergleich zwischen der EPO- und der Placebogruppe. Tabelle 18 zeigt die deskriptive Gruppenstatistik (0 = Placebo; 1 = EPO) als Vorbereitung des durchzuführenden T-Tests für unabhängige Stichproben.

Tabelle 18; Gruppenstatistik der ICV-korrigierten Segmentvolumina (in %)

	Placebo/ EPO	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
GM	0	13	1,26	2,95	0,82
	1	15	0,24	4,21	1,09
WM	0	13	-1,06	2,54	0,71
	1	15	0,23	0,91	0,23
CSF	0	13	-0,38	1,85	0,51
	1	15	-0,08	1,31	0,34

Die folgende Tabelle 19 zeigt den T-Test für unabhängige Stichproben, welcher das Ergebnis des Volumenvergleichs zwischen den beiden Gruppen darstellt.

Tabelle 19; T-Test für unabhängige Stichproben der ICV-korrigierten Segmentvolumina (in %)

		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		T	df	Sig. 2seitig	Mittlere Differenz	Standard- fehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
							Untere	Obere
GM	Varianzen sind gleich	0,73	26	0,47	1,02	1,40	-1,85	3,89
	Varianzen sind nicht gleich	0,75	24,99	0,46	1,02	1,36	-1,78	3,83
WM	Varianzen sind gleich	-1,84	26	0,08	-1,29	0,70	-2,73	0,15
	Varianzen sind nicht gleich	-1,74	14,64	0,10	-1,29	0,74	-2,88	0,29
CSF	Varianzen sind gleich	-0,50	26	0,62	-0,30	0,60	-1,53	0,93
	Varianzen sind nicht gleich	-0,49	21,29	0,63	-0,30	0,61	-1,58	0,98

Aus der Tabelle 19 ist ersichtlich, dass es keinen signifikanten Unterschied zwischen der EPO-Gruppe und der Placebo-Gruppe im zeitlichen Verlauf in Bezug auf eine Volumenänderung der Segmente GM, WM oder CSF gab.

3.2 Ergebnisse der voxelbasierten Morphometrie

Für diesen Vergleich standen die Daten von 32 Patienten zur Verfügung, da zusätzlich zu den 28 Patienten der globalen Volumetrie weitere vier Patienten, welche eine unterschiedliche Auflösung der Rohdatensätze aufwiesen, in die statistische Analyse der VBM mit einbezogen werden konnten. Dieser Unterschied innerhalb des Messprotokolls wurde für diese Methode als unerheblich erachtet, da alle Daten einer stereotaktischen Normalisierung (s.2.3.3.2) unterzogen worden sind und damit die Auflösungsunterschiede kompensiert wurden. Jede der resultierenden zwei Gruppen bestand aus 16 Patienten.

3.2.1 Placebo-Gruppe

Als erstes wurden die Daten der Placebo-Gruppe der voxelbasierten Analyse zugeführt. Dargestellt in der Abb. 7 sind alle ungerichteten Differenzen, die sich in dem intra- und interindividuellen Vergleich von PRÄ nach POST (PRÄ-POST) innerhalb der Gruppe zeigten. Verglichen wurde ausschließlich das GM-Segment. Die folgenden Abbildungen sind statistische Wahrscheinlichkeitskarten und entsprechen den Ergebnissen einer ungerichteten F-Statistik. Für die Analyse dieser Gruppe wurde ein unkorrigierter p-Wert von $p < 0,001$ und eine Mindestklustergöße von 400 Voxeln verwendet, was bedeutet, dass im Folgenden nur Effekte in mehr als 400 zusammenhängenden Voxeln mit einer Wahrscheinlichkeit von $p < 0,001$ angezeigt werden. Die bei den folgenden Abbildungen dargestellten Gehirne und deren Seitenzuordnung stellen 3D-Oberflächenrekonstruktionen (*Render-Bilder*) eines Standardgehirns dar, welche in neurologischer und nicht in radiologischer Konvention (also rechts = rechts, links = links) abgebildet sind und denen die Effekte der VBM überlagert sind (*Effekt-Overlays*).

Abbildung 7; VBM-Effekte in der Placebogruppe I

In den gekennzeichneten Arealen ließ sich eine signifikante GM-Veränderung nachweisen, welche in der Ergebnispräsentation (s. 3.2.3) genauer verifiziert wird. Die folgenden Abbildungen zeigen insgesamt neun betroffene Regionen in der Placebo-Gruppe (mittels SPM-Toolbox Anatomy erstellt: Eickhoff et al. 2005, 2006, 2007) mit nachweisbarer morphologischer Veränderung innerhalb der untersuchten Periode.

1. Gyrus temporalis superior sinister und linkes rolandisches Operculum (s. Abbildung 8)

Abbildung 8; Region 1 der Placebo-Gruppe

2. Thalamus dexter (s. Abbildung 9)

Abbildung 9; Region 2 der Placebo-Gruppe

3. Gyrus frontalis medialis sinister (s. Abbildung 10)

Abbildung 10; Region 3 der Placebo-Gruppe

4. Nucleus accumbens sinister et dexter (Abbildung 11)

Abbildung 11; Region 4 der Placebo-Gruppe

5. Gyrus angularis dexter (s. Abbildung 12)

Abbildung 12; Region 5 der Placebo-Gruppe

6. Gyrus frontalis inferior sinister pars orbitalis (s. Abbildung 13)

Abbildung 13; Region 6 der Placebo-Gruppe

7. Anteriorer cingulärer Kortex (ACC) dexter (s. Abbildung 14)

Abbildung 14; Region 7 der Placebo-Gruppe

8. Linkes Brodmann-Areal 6 (Gyrus praecentralis) und Teile des benachbarten supplementär motorischen Areals (SMA), (s. Abbildung 15)

Abbildung 15; Region 8 der Placebo-Gruppe

9. Gyrus occipitalis medius (s. Abbildung 16)

Abbildung 16; Region 9 der Placebo-Gruppe

3.2.2 EPO-Gruppe

Wie in der vorhergehenden Analyse wurde für die EPO-Gruppe ein unkorrigierter p-Wert von $p < 0,001$ und ein Extent-Threshold von 400 Voxeln in einem ungerichteten F-Test eingesetzt. Mittels dieser statistischen Parameter ließ sich kein signifikantes Ergebnis bezüglich einer stattgefundenen Grauwertänderung zwischen den Zeitpunkten PRÄ und POST zeigen (s. Abbildung 17; n.s. – nicht signifikant).

Abbildung 17; VBM-Effekte in der EPO-Gruppe

Glasbrain	Overlay / Section-Technik

Overlay / Render-Technik	Effektstärkenplots (s. Abbildung 18)
n.s.	n.s.

3.2.3 Effektstärkenplots der Regionen mit signifikanten Intragruppen-differenzen (nur Placebo-Gruppe)

Die bisher genutzten F-Kontraste zeigen nur jene Regionen, in denen eine signifikante morphologische Veränderung im GM-Segment stattgefunden hat, ohne die Richtung dieser Veränderung deutlich zu machen. Um Aussagen über eine Zunahme oder Abnahme kortikaler Gewebemasse machen zu können werden im Folgenden die Schätzungen der Modellparameter betrachtet. Die Abweichungen vom mittleren Grauwert in Bezug auf die Gruppe werden in den folgenden Effektstärken-Balkendiagrammen gezeigt und für diejenigen Voxel erstellt, welche für das betroffene Areal die höchste Differenz zwischen den Gruppen aufwiesen (*statistical local maximum*). Die X-Achse zeigt die Gruppenzugehörigkeit, die Y-Achse zeigt die Effektstärke der morphologischen Veränderung. Ein Balken im positiven Bereich kennzeichnet dabei einen Wert größer als das Gruppenmittel und ein Balken im negativen Bereich einen Wert kleiner als das Gruppenmittel. Da diese Analyse auf den für die graue Substanz erstellten Wahrscheinlichkeitskarten basiert, heißt das, dass ein Balken in positiver y-Achsenrichtung eine im Vergleich zum Gruppenmittel höhere Wahrscheinlichkeit für die GM-Dichte in diesem Voxel kennzeichnet und umgedreht. Der Vergleich ist somit ein Maß für die Grauwertveränderung innerhalb der Gruppen von PRÄ nach POST.

Somit zeigen die folgenden Effektstärkenplots (s. Abbildung 18) einen Abfall der Wahrscheinlichkeit für die GM-Konzentration von PRÄ nach POST in den neun kontraststärksten Arealen (vgl. 3.2.1) innerhalb der Placebo-Gruppe, welche als Atrophie zu interpretieren und zu diskutieren ist.

Abbildung 18; Effektstärkenplots der Intragruppendifferenzen

Fortsetzung Abbildung 18; Effektstärkenplots der Intragruppendifferenzen

Fortsetzung Abbildung 18; Effektstärkenplots der Intragruppendifferenzen

3.2.4 Differenzbildung der Gruppen

Um eine Differenz der beiden Gruppen abzubilden, wurde erneut ein F-Test durchgeführt. In diesem Test wurden die Gruppendifferenzen unter Beachtung der Varianz der Daten verglichen $[(PRÄ-POST)_{Placebo} - (PRÄ-POST)_{EPO}]$. Das Ergebnis zeigt diejenigen Regionen, die im Vergleich der beiden Gruppen einen statistisch signifikanten morphologischen Unterschied entsprechend der angelegten Parameter aufgewiesen haben. Um letztendlich ein Ergebnis im Sinne einer alleinigen Darstellung derjenigen Regionen zu erhalten, die sich unter der EPO-Behandlung signifikant weniger verändert haben als in der Placebo-Gruppe, ist es nur sinnvoll innerhalb der signifikanten Ergebnisse der Placebogruppe $(PRÄ-POST)_{Placebo}$ nach Gruppendifferenzen zu suchen und diese als Maske für die Analyse zu verwenden.

Als statistische Schwelle wurde für die Maske ein unkorrigierter p-Wert von $p < 0,001$ gewählt. Für die darstellende Gesamtstatistik F-Tests wurde ein unkorrigierter p-Wert von $p < 0,01$ und eine minimale Clustergröße von 400 Voxeln gewählt. Die sechs Regionen, welche die Ergebnisse dieser Analyse bildeten, sind in der folgenden Abbildung 19 dargestellt.

Abbildung 19; VBM-Ergebnisse des Gruppenvergleichs von EPO- und Placebo-Gruppe

Die Areale, bei denen es durch die Gabe des Hormons EPO zu einer signifikant verminderten Änderung des Grauwertes gekommen ist, sind im Folgenden aufgezählt und abgebildet (mittels SPM-Toolbox Anatomy).

1. Gyrus temporalis superior sinister (s. Abbildung 20)

Abbildung 20; Region 1 der Gruppendifferenz

2. Nucleus accumbens dexter größer sinister (s. Abbildung 21)

Abbildung 21; Region 2 der Gruppendifferenz

3. Gyrus frontalis inferior sinister pars orbitalis (s. Abbildung 22)

Abbildung 22; Region 3 der Gruppendifferenz

4. Gyrus frontalis medialis sinister (s. Abbildung 23)

Abbildung 23; Region 4 der Gruppendifferenz

5. Thalamus dexter (s. Abbildung 24)

Abbildung 24; Region 5 der Gruppendifferenz

6. Linkes Brodmann-Areal 6 sowie Teile des benachbarten linken SMA (s. Abbildung 25)

Abbildung 25; Region 6 der Gruppendifferenz

3.2.5 Effektstärkenplots der Regionen mit signifikanten Intergruppendifferenzen (maskierte Differenz der Gruppen)

Um die Unterschiede zwischen den Gruppen zu untersuchen, wurden die PRÄ-POST-Differenzen innerhalb jeder Gruppe gegeneinander auf ihre statistische Signifikanz getestet. Da in den Einzeltests (vgl. 3.2.3) nur für die Placebogruppe eine signifikante Reduktion des GM-Anteils in einigen Regionen gezeigt werden konnte, ist es nur sinnvoll innerhalb des so errechneten Unterraumes auf Intergruppendifferenzen zu testen. Dabei bildeten die Voxel dieses Unterraumes ($\text{PRÄ-POST}_{\text{Placebo}}$) die Maske für die weitere Analyse ($\text{PRÄ-POST}_{\text{Placebo}} < \text{PRÄ-POST}_{\text{EPO}}$) (vergl. 3.2.4).

Die X-Achse zeigt die Gruppenzugehörigkeit, die Y-Achse zeigt die Effektstärke der morphologischen Veränderung. Ein Balken im positiven Bereich kennzeichnet dabei einen Wert größer als das Gruppenmittel und ein Balken im negativen Bereich einen Wert kleiner

als das Gruppenmittel. Ein Balken in positiver y-Achsenrichtung bedeutet eine im Vergleich zum Gruppenmittel höhere Wahrscheinlichkeit für die GM-Konzentration in diesem Voxel und umgedreht. Der Vergleich ist somit ein Maß für die Grauwertveränderung innerhalb der Gruppen von PRÄ nach POST.

Die in Abbildung 26 dargestellten Effektstärkenplots zeigen eine signifikant reduzierte Grauwertänderung in der EPO-Gruppe im Vergleich zu der Placebo-Gruppe (s. Abbildung 26).

Abbildung 26; Effektstärkenplots der Intergruppendifferenzen

Fortsetzung Abbildung 26; Effektstärkenplots der Intergruppendifferenzen

3.2.6 Vergleich der Ergebnisareale

Eine abschließende Gegenüberstellung gibt Auskunft über die neun morphologisch veränderten GM-Regionen der Placebo-Gruppe und liefert einen Vergleich mit den sechs Ergebnissen, welche anhand der VBM in Zusammenhang mit der EPO-Behandlung innerhalb dieser Studie erzielt worden sind (Tabelle 20).

Tabelle 20; Tabellarische Gegenüberstellung der gruppierten VBM-Effekte

Nr.	Morphologisch veränderte GM-Regionen der Placebo-Gruppe	Regionen reduzierter Veränderung in der EPO-Gruppe
1	Gyrus temporalis superior sin. Rolandisches Operculum sin.	Gyrus temporalis superior sin. Rolandisches Operculum sin.
2	Thalamus dex.	Thalamus dex.
3	Gyrus frontalis medialis sin.	Gyrus frontalis medialis sin.
4	Nucleus accumbens sin. / dex.	Nucleus accumbens dex. > sin.
5	Gyrus angularis dex.	n.s.
6	Gyrus frontalis inferior sin. Pars orbitalis	Gyrus frontalis inferior sin. Pars orbitalis
7	Gyrus cinguli sin. bzw. Anteriorer cingulärer Cortex (ACC)	n.s.
8	Area 6, Gyrus präcentralis sin. Und supplementär mot. Areal (SMA) sin.	Area 6 (70%) sin. SMA sin.
9	Gyrus occipitalis medius sin.	n.s.

Aus dieser Gegenüberstellung und den obigen Abbildungen wird ersichtlich, dass es bei der angewandten Methode in der EPO-Gruppe zu einer signifikanten Reduzierung der kortikalen Veränderung in fast allen Arealen gekommen ist, welche innerhalb der Placebo-Gruppe einer morphologischen Veränderung über die Zeit unterlagen. Drei von neun Regionen zeigten keine statistisch nachweisbare Beeinflussung durch die EPO-Behandlung.

4 Diskussion

4.1 Globale Volumetrie

Betrachtet man die Ergebnisse der global-volumetrischen Messungen dieser Studie, so wird deutlich, dass sich eine statistisch signifikante Veränderung der untersuchten Volumina (ICV, Gesamthirnvolumen, Subvolumina GM, WM und CSF) anhand der angewandten Methode nicht nachweisen ließ. Um dieses Ergebnis in den richtigen Kontext zu stellen, ist zunächst die Zeitspanne zwischen den zwei Messpunkten PRÄ und POST von 12 Wochen zu berücksichtigen. Es stellt sich im Nachhinein in diesem Zusammenhang die Frage, ob in dieser Zeit mit einer signifikanten Abnahme des Gesamtvolumens oder einzelner Segmente, ausgedrückt in ml oder Prozent, zu rechnen war. In ähnlichen Studien, in denen atrophische Gesamtsegmente bei schizophrenen Patienten globalvolumetrisch nachgewiesen wurden, sind die Probanden über einen Zeitraum von mindestens 10 Monaten (Théberge et al. 2007) oder 12 Monaten (Cahn et al. 2002, u.a.) untersucht worden. Ein weiterer methodischer Unterschied der vorliegenden Arbeit bezüglich der globalen Volumetrie zu anderen Studien besteht darin, dass andere Arbeitsgruppen ROIs definierten, in denen sie einen Volumenunterschied aufgrund anderer Forschungsergebnisse vermuteten (s. 4.2). Die betrachteten Areale und Gruppen waren zum Teil sehr klein und die MR-Datensätze wurden mit unterschiedlichen Methoden des Pre-Processing für diese Analyse vorbereitet. Die Arbeiten unterschieden sich darüber hinaus auch in der voxelbasierten statistisch-analytischen Methode im Vergleich zu dieser Arbeit. So wurde bei der Vielzahl von Möglichkeiten der Analyse mit unterschiedlicher Software gearbeitet. Zum Teil nutzten die Autoren einen selbst entwickelten (Crespo-Facorro et al. 2000) oder einen bereits erprobten Algorithmus wie die *Parcellation-Based Volumetry* (Lopez_Garcia et al. 2006) und die Bestimmung der Kortexdicke (Kuperberg et al. 2003) für die Volumetrie. Des Weiteren war in frühen Studien die Verwendung von Absolutvolumina üblich (Zipursky et al. 1992, Schlaepfer et al. 1994, Portas et al. 1998), während in dieser Arbeit ICV-korrelierte Volumina zum intra- und interindividuellen Vergleich verwendet wurden. Weitere Unterschiede in der Methodik auf diesem Gebiet bestehen in der Verwendung von normalisierten oder nicht normalisierten Datensätzen, sowie im Studiendesign (Querschnittsuntersuchung vs. Verlaufsuntersuchung). Diese Vielfalt der Methodik lässt einen direkten Vergleich der vorliegenden Arbeit mit den bisher veröffentlichten Ergebnissen auf der Ebene der globalen Volumetrie nur eingeschränkt zu.

Ein weiterer Diskussionspunkt auf der Ebene der globalen Volumetrie sind so genannte Partialvolumenartefakte. Diese entstehen, wenn das Gesamtsignal eines Voxels sich aus Signalanteilen verschiedener Gewebekompartimente zusammensetzt. An der Grenze zwischen den einzelnen Gewebeklassen können dann keine zuverlässigen Aussagen über die Zugehörigkeit eines Voxels zu einer der beiden Gewebeklassen getroffen werden. Der in der vorliegenden Studie eingesetzte Algorithmus des *Maximum Probability Mappings* (MPM), welcher sich dem Schritt der Segmentierung und den daraus entstandenen *probability maps* anschloss, diente der Minimierung der numerischen Effekte dieses Phänomens. Da die Priorität auf der Seite der höchstmöglichen Sicherheit einer eindeutigen Cluster- bzw. Segmentzugehörigkeit lag, könnte sich dies auf die Bestimmung der Volumenunterschiede ausgewirkt haben, da durch diese Schritte eine bewusste Untersegmentierung vorgenommen wurde (s. 2.3.2.2).

Nach dreimonatiger Untersuchung ist keine signifikante Änderung bezogen auf das numerisch nachweisbare Volumen der Gesamtsegmente GM, WM oder CSF in dieser Studie gefunden worden. Zudem wurde eine Analyse der Daten mittels der voxelbasierten Morphometrie zur Ermittlung einer Veränderung der Grauwertdichte durchgeführt. Mit dieser Methode wurde der Fokus nicht auf die veränderten Volumina definierter Segmente gelegt, sondern auf lokale morphologische Veränderungen mittels Grauwertverteilung, über die potentielle Rückschlüsse auf das Volumen möglich waren.

4.2 VBM

Bevor die Ergebnisse der VBM in diesem Kapitel diskutiert werden, wird in diesem Absatz kurz auf die in dieser Arbeit häufig verwendeten und zentralen Wörter „Grauwertdichteveränderung“ und die „Atrophie“ eingegangen. Idealerweise wäre der Zustand der Gleichheit. Somit würde die Atrophie gleichzeitig eine Reduzierung der Grauwertdichte bzw. –konzentration bezeichnen und umgekehrt. Da dieser Zusammenhang jedoch nicht so einfach hergestellt werden kann, wird an dieser Stelle auf die weiterführende Diskussion verwiesen (s. 4.3)

Mit Hilfe der VBM ließ sich in der vorliegenden Arbeit eine Grauwertreduzierung innerhalb der Placebo-Gruppe in den beschriebenen anatomischen Regionen nachweisen. Diese Beobachtung bestätigt die Ergebnisse mehrerer vorangegangener Publikationen (s.u.).

Das neue Ergebnis dieser Studie besteht darin, dass sich diese Veränderungen in folgenden Regionen offenbar durch eine Erythropoetintherapie beeinflussen lassen und so zu einer Reduzierung der Grauwertveränderung führen.

Der **Gyrus temporalis superior** (GTS) wurde bereits in VBM-Querschnittstudien bei schizophrenen Patienten als Atrophieregion mit umschriebener Reduzierung der Grauwertkonzentration beschrieben (García-Martí et al. 2008) oder mit einer GM-Reduktion in Verbindung gebracht (O'Daly et al. 2007; Neckelmann et al. 2006). In funktioneller Hinsicht geht der Substanzverlust im Bereich dieser und anderer Regionen einher mit der Psychopathologie akustischer Halluzinationen (Martí-Bonmatí et al. 2007; García-Martí et al. 2008). In einer longitudinalen Studie, welche der GM-Volumetrie erst-episodischer, schizoaffectiver sowie gesunder Patienten galt, wurde ein signifikant progressiver GM-Verlust im GTS im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt (Kasai et al. 2003). Zudem geht der GTS aus einer Meta-Analyse, in welcher die Ergebnisse von 14 Studien herangezogen wurden, als Schlüsselregion der strukturellen Differenz bei schizophrenen Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden hervor (Honea et al. 2005). In Bezug auf die akustischen Halluzinationen zeigte EPO in der klinischen Auswertung dieser Studie keinen Einfluss (Ehrenreich et al. 2007), wohl aber in Bezug auf die GM-Veränderung des GTS. Durch die EPO-Gabe wurde der GTS als ein Areal der reduzierten Veränderung im Vergleich zu der Placebo-Gruppe in der vorliegenden Arbeit ausgewiesen.

Wie im Falle des GTS wurde für den **Gyrus frontalis inferior pars orbitalis** (GFIpo) eine Reduktion der Grauwertänderung unter EPO-Therapie nachgewiesen. Die in der Placebo-Gruppe angeführte morphologische Veränderung des Gyrus frontalis inferior (GFI) wurde in anderen VBM-Studien als degenerative Veränderung gedeutet. Dies zeigten Arbeiten, bei denen die GM-Änderungen des GTS und GFI im Zusammenhang mit auditorischen Halluzinationen nachweisbar waren (Martí-Bonmatí et al. 2007; García-Martí et al. 2008), wenngleich ein Großteil dieses Areals dem Broca-Areal (Brodmann 44, 45), also dem motorischen Sprachzentrum, zugeordnet ist. Das in der vorliegenden Arbeit zum größeren Teil betroffene Areal der Pars orbitalis wurde in einer früheren Querschnittsstudie mittels eigenentwickelter Software bei unmedizierten schizophrenen Patienten ebenfalls als Region der Kortexreduktion beschrieben (Crespo-Facorro et al. 2000). Die in der hier vorliegenden Arbeit gezeigte reduzierte morphologische Veränderung durch Hochdosis-EPO-Therapie könnte ebenfalls als therapieassoziierte reduzierte Atrophie gedeutet werden.

Eine weitere Region, die in dieser Arbeit unter EPO-Einfluss eine reduzierte morphologische Veränderung im Gegensatz zu der Placebo-Gruppe erfuhr, ist der **Gyrus frontalis medialis** (GFM). Die Analyse dieses Areals mittels einer ähnlichen Methode, der *Deformation-Based Morphometry* (DBM), erbrachte bei schizophrenen Patienten Ergebnisse, die erstens den Gyrus frontalis medialis und zweitens den o.g. Gyrus frontalis inferior (GFI) als auch den o.g. GTS als Atrophieregion bei Schizophrenen darstellen (Volz et al. 2000). Des Weiteren

wurden in einer fMRI-Studie Aktivitätsunterschiede im Vergleich von schizophrenen Patienten und Probanden im Bereich des Gyrus frontalis medialis eruiert (Hempel et al. 2003). Die Patienten und Probanden dieser Studie mussten Affekte, ausgedrückt durch Gesichter, diskriminieren und klassifizieren. Neben der erhöhten Aktivität im GFM wurde eine gleichzeitig erniedrigte Aktivität des anterioren cingulären Kortex sowie des Hippokampus samt Amygdala bei den schizophrenen Patienten aufgezeigt. Die erhöhte Aktivität des GFM wurde dort als kompensatorische Antwort auf die genannte basal-limbische Unterfunktion von Hippokampus und Amygdala gewertet. Ein Querschnittvergleich zwischen chronisch-schizophrenen, erst-episodischen Patienten und gesunden Probanden ergab mittels automatisierter ROI-Bestimmung ein reduziertes Volumen in dem medialen frontalen Areal für beide Patientengruppen im Vergleich zu den Gesunden (Lopez-Garcia et al. 2006). Für den GFM lässt sich zusammenfassen, dass er sich als mögliches pathomorphologisches Korrelat der Schizophrenie darstellen ließ. Diesbezügliche Veränderungen zeigten in der vorliegenden Arbeit eine deutliche Beeinflussung durch EPO im Sinne einer verminderten Grauwertveränderung.

Ein ähnlicher Zusammenhang lässt sich in der vorliegenden Studie bezüglich des erzielten Ergebnisses zum **Thalamus** postulieren. Aktuelle VBM-Studien mit chronisch-schizophrenen Patienten und gesunden Probanden wiesen in Übereinstimmung mit den regionalen Ergebnissen dieser Arbeit den Thalamus als Region aus, in der einerseits die Dichte der grauen Substanz im zeitlichen Verlauf stark abnimmt (van Haren et al. 2007) und andererseits eine Volumenminderung im Querschnittsvergleich des rechten und des linken Thalamus (Frazier et al. 2008) nachweisbar ist. Crespo-Facorro et al. (2007) fanden in einer Studie mit Patienten nach einer ersten Episode der Schizophrenie in einem direkten Vergleich zu Gesunden ebenfalls deutlich verkleinerte Thalami. Im selben Jahr wiesen Théberge et al. (2007) in einer weiteren Publikation zunächst eine umschriebene Atrophie nach zehn Monaten, gefolgt von einer ausgedehnten Atrophie nach 30 Monaten anhand einer longitudinalen Studie in diesem Hirnareal nach. Ebenfalls von großem Interesse in Bezug auf die morphologischen Veränderungen des Thalamus ist ein Ergebnis, wonach es ein strukturelles Defizit in den kortikothalamischen Systemen, speziell dem orbitofrontal-thalamischen System, zu geben scheint. Diese Erkenntnis basiert auf einer volumetrischen Studie, welche sowohl das Volumen des orbitofrontalen Kortex (GFI) als auch das Volumen der zugeordneten subthalamischen Region als atrophische Regionen bei schizophrenen Patienten kennzeichnet (Kim et al. 2007). In Bezug auf die vorliegende Arbeit konnten wir eine Änderung des Grauwertes in der Placebo-Gruppe nachweisen, welche sich unter der EPO-Therapie reduzierte.

Der **Nucleus accumbens** (NAC), welcher Teil des Corpus striatum und damit der Basalganglien ist, zeigte in der vorliegenden Studie ebenfalls eine signifikant geringere Grauwertveränderung in der EPO-Gruppe im Vergleich zu der Placebo-Gruppe. Die folgenden Ergebnisse anderer Studien sind in Bezug auf einen morphologischen bzw. auffälligen volumetrischen Befund in dieser Region mittels unterschiedlicher Methoden erstellt worden und lassen den Schluss zu, dass auch dieses Areal eine pathologische Bedeutung in der Genese der Schizophrenie zu haben scheint.

So wurde eine Abweichung der Absolutvolumina, nicht jedoch der ICV-korrigierten Relativvolumina, des NAC in einer longitudinalen Studie postuliert (Glenthøj et al. 2007). Der Forschungsschwerpunkt von Glenthøj lag auf dem Einfluss antipsychotischer Medikamente. Querschnittstudien hingegen, in denen von Anfang an der ICV-Korrekturfaktor für die Volumetrie des NAC verwendet wurde, ergaben keine signifikanten Volumen- oder Formveränderungen (Gunduz et al. 2002; Mamah et al. 2007). Eine in der Methode differente aktuelle Studie, die sich mit dem Volumen, der Neuronendichte und der totalen Neuronenzahl postmortaler schizophrener Patienten anhand histologischer Befunde auseinander setzte, ergab bezüglich des NAC keine Veränderungen (Kreczmanski et al. 2007). Allerdings wurden in derselben Studie in Bezug auf das Putamen ein erniedrigtes Volumen sowie eine erniedrigte Neuronenzahl im Vergleich zur Kontrollgruppe nachgewiesen. Der Nucleus caudatus wies eine reduzierte Neuronenzahl auf. Ein weiterer Ansatz, nämlich die MRT-basierte Untersuchung des gesamten Striatums während des Alterungsprozesses, ergab eine Abnahme des Volumens ohne erkennbare lokale Muster mittels eines eigens entwickelten Analysetools (Koikkalainen et al. 2007). Eine weitere Arbeitsgruppe (Juckel et al. 2006) diskutierte die Möglichkeit, dass die in ihrer Studie bei schizophrenen Patienten nachgewiesenen reduzierten Aktivitäten des Striatums einen Erklärungsansatz der bekannten Negativsymptomatik liefern.

Als letztes Areal, welches sich unter der EPO-Hochdosis-Therapie als Region der eingeschränkten Veränderung darstellte, ist die **Area 6** auf dem **Gyrus praecentralis** (GPC) bzw. das benachbarte **supplementär motorische Areal** (SMA) zu nennen. Im Rahmen einer aktuellen VBM-Querschnittsstudie, welche den Zusammenhang von *Neurological Soft Signs* (NSS) und der Grauwertdichte bei schizophrenen Patienten erforschte, kam es zu einer negativen Korrelation zwischen der Stärke der Ausprägung der NSS und der verringerten Dichte der grauen Substanz (Thomann et al. 2008). Des Weiteren wurden mittels ROI-basierter Volumetrie ein im Volumen verkleinertes Areal im Bereich des SMA im Vergleich zu gesunden Patienten gezeigt (Lopez-Garcia et al. 2006). Eine längere Krankheitsdauer korrelierte negativ mit einem entsprechend verminderten Volumen des SMA.

Bereits zuvor war der Kortex des GPC im Verlauf einer ROI-Querschnittstudie zwischen schizophrenen und gesunden Probanden als Region eines signifikanten Volumenverlustes beschrieben worden (Zhou et al. 2005). Ein Vergleich der Kortexdicke des GPC zwischen chronisch-schizophren Patienten und Probanden wurde von Kuperberg et al. (2003) erstellt. Die Autoren kamen zu dem Ergebnis, dass bei den Patienten im Bereich des motorischen Kortex gegenüber den Gesunden eine signifikante Verdünnung des Kortex erkennbar ist. In Bezug auf die GM-Veränderung der Placebo-Gruppe in der vorliegenden Arbeit lässt sich aufgrund der derzeitigen Forschungslage eine Atrophie vermuten. Diese vorausgesetzt, hätte EPO in diesem Falle zu einer Reduzierung derselben geführt. In jedem Fall lässt sich, wie in den vorangegangenen Beispielen dargestellt, eine Reduzierung der morphologischen Veränderung unter der EPO-Therapie anhand oben beschriebener Methode nachweisen.

Keine Ergebnisse in Richtung einer Reduzierung der Grauwertveränderung lieferten der Gyrus angularis (GAG), der anteriore cinguläre Kortex (ACC), welcher den vorderen GAG beschreibt, sowie der Gyrus occipitalis medius (GOM). In diesen anatomischen Regionen wurde allerdings in der vorliegenden Arbeit mittels VBM eine Abnahme der GM-Konzentration über die Zeit bei den Patienten der Placebo-Gruppe nachgewiesen.

Im Falle des **Gyrus angularis** (GAG) zeigten die Autoren Zhou et al (2007), dass diese ROI des parietalen Lobus im Querschnittsvergleich zwischen chronisch-schizophrenen und gesunden Probanden ein geringeres GM-Volumen bei den Patienten aufwies. Eine weitere Querschnittsstudie mit erst-episodischen Patienten, die dieselbe ROI analysierte, ermittelte ebenfalls kleinere Volumina des GAG bei Schizophrenen (Nierenberg et al. 2005). Ein weiterer statistisch-volumetrischer Querschnittsansatz ergab bei schizophrenen Patienten eine inverse Asymmetrie der Größenverhältnisse des linken und des rechten GAG im Vergleich zu gesunden Probanden (Niznikiewicz et al. 2000).

Der **Gyrus occipitalis medius** (GOM) ist mit volumetrischen voxel-basierten Methoden selten erforscht worden. So wird diese anatomische Region im Zusammenhang mit den bereits oben genannten akustischen Halluzinationen erwähnt (Martí-Bonmatí et al. 2007).

Zusammenfassend lässt sich für diese beiden Regionen (GAG, GOM) feststellen, dass im Gegensatz zu den anderen genannten Gehirnregionen weniger Studien vorliegen, in denen diese Areale untersucht wurden oder als Region der morphologischen Veränderung gekennzeichnet worden sind. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen aber auf morphologische Veränderungen in Zusammenhang mit der chronischen Schizophrenie in diesen Regionen schließen.

Im Falle des **anterioren cingulären Kortex** (ACC), welcher den Gyrus angularis anterior beschreibt, wurde durch Martí-Bonmatí et al (2007) und García-Martí et al (2008) das gleiche Ergebnis wie für den GFI und den GTS nachgewiesen, nämlich eine Atrophie in Korrelation mit akustischen Halluzinationen. Die Schlussfolgerung der Autoren lautete, dass diese Areale (GTS, GFI und ACC) eine pathomorphologische Einheit bei der Entstehung von akustischen Halluzinationen bilden könnten. Laut einer Querschnittstudie, welche unterschiedliche Hirnareale in Bezug auf deren Volumenunterschied zu Gesunden untersuchte, zeigt sich der ACC atroph (Lopez-Garcia et al. 2006). Es wurden weitere morphometrische voxelbasierte Arbeiten publiziert, welche den ACC als ein mögliches pathomorphologisches Korrelat in der Schizophrenie ausweisen (Yücel et al. 2002; Fujiwara et al. 2007). In diesen Arbeiten wurde auf das spezifische Muster zwischen Ausprägung des Sulcus und Faltung des Gyrus eingegangen, welches bei schizophrenen Patienten einer geringeren Faltung und somit einer geringeren Ausprägung des Sulcus unterliegt. Fazit der Autoren ist eine mögliche Störung der neuronalen Entwicklung in diesem Bereich. Die Forschungsgruppe um Fujiwara fand darüber hinaus auch mittels VBM-Analyse einen Verlust grauer Substanz im Bereich des ACC. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen den beiden Ergebnissen, welche zum einen in der geringeren Faltung (pathologische Morphologie) und zum anderen in dem Substanzverlust des ACC bestehen, konnte nicht hergestellt werden. Allerdings ließ sich in jener Studie ein signifikanter Zusammenhang zwischen diesen beiden Beobachtungen und der Progredienz der klinischen Symptome herstellen. Dies veranlasste die Autoren zu der Schlussfolgerung, dass sowohl der Volumenverlust als auch die pathologische Morphologie des Gyrus cingularis anterior unabhängig voneinander Einfluss auf die Psychopathologie der Schizophrenie haben könnten. Chua et al. wiesen 2007 mittels VBM bei niemals medikamentös vorbehandelten schizophrenen Patienten ein geringeres Volumen des ACC neben anderen Regionen im Vergleich zu gesunden Probanden in einer Querschnittstudie nach und erbrachten weitere Evidenz bezüglich dieser Region in der Schizophrenieforschung.

Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen konnte mittels der Surface-Based Morphometrie von einer Arbeitsgruppe eine relative Dicken- und Volumenzunahme des linken ACC-Kortex bei schizophrenen Patienten (Kopelman et al. 2005) nachgewiesen werden. Dieselbe Methode (SBM) ergab allerdings in einer Untersuchung von Fornito et al. Zwei Jahre später eine Reduktion des GM-Anteils bei Schizophrenen im Bereich des ACC (Fornito et al. 2008).

In der hier vorliegenden Studie war der anteriore cinguläre Kortex von einer Grauwertänderung sowohl bei der Placebo-Gruppe als auch bei der EPO-Gruppe betroffen, so dass hier von einer Pathogenese ausgegangen werden kann, welche nicht von der Behandlung mit EPO beeinflusst wurde.

4.3 Die Diskussion und Deutung der Grauwertänderungen

Man könnte wie oben erwähnt (s 4.2) die in dieser Studie nachgewiesene Reduzierung der Grauwertdichte bzw. –konzentration einfach als Atrophie bezeichnen. Mit dieser Interpretation würde man aber den zugrundeliegenden Pathomechanismus übergehen, denn die bloße Reduktion der Konzentration bzw. Dichte kann viele Ursachen haben. Hierzu sei darauf verwiesen, dass der Begriff der Atrophie (neulateinisch: atrophia = Abmagerung, Auszehrung) zum einen die einfache Atrophie mit Verkleinerung der Zellen umfasst oder als numerische Atrophie mit der Reduzierung der Zellzahl einhergeht. Ein entsprechender Nachweis, welches Phänomen in der hier vorliegenden Studie zum Tragen kommt, konnte nicht erbracht werden.

Im Falle der Placebo-Gruppe kann in Bezug auf die erzielten Ergebnisse und in Bezug auf die voran genannten Studien eine Abnahme der Grauwertkonzentration gezeigt werden. Dennoch soll an dieser Stelle darauf verwiesen werden, dass zur weiteren Verifizierung eine Bestimmung der kortikalen Dicke von Vorteil wäre. Die voran genannten Studien sprechen im Zusammenhang mit der Reduzierung der Grauwertkonzentration von einer Atrophie, was korrekt ist. Diese kann aber zum Beispiel in einer abnehmenden Zahl der Neurone pro Voxel begründet oder in einer tatsächlichen Reduzierung des Kortexdurchmessers bzw. des Volumens liegen.

Das eindeutige Ergebnis der vorliegenden Studie ist, dass in der Differenzbildung der Gruppen Areale verminderter morphometrischer Veränderung durch die EPO-Gabe nachzuweisen waren, was für einen neuroprotektiven Effekt der EPO-Therapie am Menschen spricht.

Dieser morphometrisch nachweisbare neuroprotektive EPO-Effekt könnte sich zum einen auf die Neurone oder zum anderen auf die Gliazellen der grauen Substanz ausgewirkt haben. Denn die Definition der Atrophie beschreibt einen Zelluntergang beider Zellpopulationen, nämlich den der grauen Substanz als auch den der weißen Substanz, welcher unabhängig von der Gefäßversorgung auftritt. Kreczmanski et al. (2007) untersuchten schizophrene Patienten postmortal unter anderem im Hinblick auf die Neuronenzahl der Basalganglien und kamen zu dem Ergebnis, dass sich in einigen der untersuchten Regionen tatsächlich eine verringerte Neuronenzahl im Vergleich zu Gesunden finden ließ. Fujiwara et al. (2007) zeigten im selben Jahr eine morphologische Abflachung der Gyri und Sulci im Bereich des cingulären Gyrus und Sulcus, welches ebenfalls ein Kriterium der Hirnatrophie darstellt.

Es ließe sich spekulativ aus den erbrachten Ergebnissen der vorliegenden Arbeit ebenfalls ableiten, dass es im Zuge der EPO-Behandlung zu trophischen Einflüssen auf die Gliazellen gekommen sein könnte, welche wiederum für den Stoffwechsel der Neurone und damit für deren einwandfreie Funktion, Zellzahl und Größe verantwortlich sind.

Die Evaluierung, welche Zellpopulationen sich wie unter der EPO-Therapie verhalten, könnte Thema nachfolgender Forschung werden und mehr Licht in das erzielte Ergebnis bringen.

Diese Arbeit beschränkt sich auf den Nachweis des bereits mehrfach nachgewiesenen GM-Substanzverlustes in beschriebenen Regionen und dessen mögliche Eindämmung durch EPO am Menschen.

4.4 Schlussfolgerung

Abschließend lässt sich feststellen, dass:

1. mittels der VBM ein Ergebnis gezeigt wurde, welches eine Eindämmung der Grauwertreduzierung in umschriebenen Hirnregionen bei der EPO-Gruppe im Vergleich zu der Placebo-Gruppe zeigt. Somit lässt sich ein hemmender Einfluss auf die pathomorphologische cerebrale Veränderung, die Atrophie, in der Schizophrenie postulieren.
2. mittels der VBM die pathomorphologische Beteiligung von sieben bekannten Arealen an der Schizophrenie bestätigt werden konnte.
3. mittels der VBM weitere Hinweise für die pathomorphologische Beteiligung der bis jetzt in der Schizophrenieforschung wenig diskutierten Regionen des Gyrus angularis anterior und des Gyrus occipitalis medius geschaffen wurde.

4.5 Ausblick

Um in Zukunft diese Ergebnisse zu verifizieren, ist eine zusätzliche Messung der Kortexdicke erforderlich. Somit könnte ein weiterer Beweis für den mit der VBM messbaren o.g. „EPO-Effekt“ angetreten werden. Hierzu könnten unter anderem die Surface-Based Morphometry oder die Deformation-Based Morphometry dienen. Des Weiteren wären mehr Ergebnisse bezüglich histologischer Untersuchungen wünschenswert, um die radiologischen Forschungsergebnisse in Bezug setzen zu können.

Betreffs der Verwendung von rhEPO ohne erythropoetischen Effekt zur Vermeidung einer Polyzythämie sei erwähnt, dass im Zuge der durchgeführten Hochdosis-EPO-Therapie im Verlauf der gesamten Studie bei insgesamt acht Patienten aufgrund eines erhöhten

Hämatokrits über 50% der therapeutische Aderlass erforderlich war. Obwohl diese Behandlung seitens der Patienten gut toleriert wurde, könnte in Zukunft die Verwendung von den in der Aminosäurenabfolge veränderten EPO-Analoga Asialoerythropoetin oder C-EPO erwogen werden, da diese keine Polyzythämie hervorrufen (Erbayraktar et al. 2003b, Wang et al. 2004, Grasso et al. 2004, Mahmood et al. 2007).

Des Weiteren wären zur statistischen Absicherung eine höhere Patientenzahl sowie eine längere Dauer der EPO-Therapie für zukünftige Evaluierungen in Zukunft von Vorteil.

Die Zusammenführung der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit und der klinischen Ergebnisse von Ehrenreich et al. (2007) lassen vermuten, dass EPO auf der einen Seite einen hemmenden Einfluss auf cerebrale pathomorphologische Veränderungen hat und auf der anderen Seite verbesserte kognitive Leistungen erbringt. Diese Erkenntnisse bergen ein positives Potential für die Forschung und Therapie bezüglich chronisch neurodegenerativer Krankheiten, insbesondere im Falle des Morbus Alzheimer.

5 Zusammenfassung

In der Schizophrenieforschung werden seit über einem Jahrzehnt Ergebnisse veröffentlicht, welche eine Atrophie des Neokortex sowie subkortikaler Areale postulieren. Im Zuge dieser besonders in der ersten Lebenshälfte fortschreitenden Neurodegeneration wurden innerhalb der Patientengruppe erhebliche kognitive Dysfunktionen und verstärkte Krankheitssymptome diagnostiziert.

Die in der EPO-Forschung erlangten Ergebnisse legen neben der bekannten hämatopoetischen Funktion dieses Glykoproteinhormons eine neuroprotektive und antientzündliche Komponente im zentralen Nervensystem bei intravenöser Hochdosis-Therapie nahe.

Ziel dieser Arbeit war es zu prüfen, ob sich diese neuroprotektiven Eigenschaften, welche in vivo an Probanden und Tieren mit akuten Krankheiten (Apoplex, SHT) nachgewiesen wurden, auch auf die chronische Schizophrenie anwenden lassen. Zu diesem Zweck wurde diese randomisierte, doppelblinde, placebo-kontrollierte Multicenter-Phase-2-Studie initiiert, an der 39 chronisch-schizophrene männliche Patienten teilnahmen, welche einer Hochdosis-EPO-Therapie unterzogen wurden. Diese wurden in zwei Gruppen, eine Placebo- und eine EPO-Gruppe, aufgeteilt und vor der ersten Medikation sowie nach 12 Wochen und nach Erhalt der letzten Medikation einer MRT zugeführt.

Für die voxelbasierte Analyse der erhaltenen MRT-Rohdaten wurde in erster Instanz die globale Volumetrie der nicht normalisierten, bewusst untersegmentierten Subvolumina GM, WM und CSF eingesetzt. In der zweiten Instanz wurde die VBM zur Ermittlung regionaler

Grauwertveränderungen verwendet, welche normalisierte Datensätze und einen unkorrigierten p-Wert für den F-Test nutzte.

Die Ergebnisse der globalen Volumetrie zeigten keine signifikanten Volumenunterschiede innerhalb und zwischen den Gruppen.

Die Ergebnisse der lokal-morphologischen Untersuchung mittels der VBM innerhalb der Placebo-Gruppe wiesen in insgesamt neun anatomischen Regionen eine Atrophie über die Zeit nach. Die meisten dieser Regionen sind bereits in ähnlicher oder gleicher Weise in der Literatur mit Bezug zur Schizophrenie beschrieben worden und konnten somit durch unsere Ergebnisse bestätigt werden. Zwei der oben genannten Areale sind bisher jedoch nur wenig in diesem Zusammenhang diskutiert worden.

Im inferenzstatistischen Vergleich der Gruppen konnte eine Reduzierung der morphologischen Veränderung unter der Hochdosis-EPO-Therapie im Vergleich zu der Placebo-Gruppe in sechs Arealen nachgewiesen werden. Drei Areale zeigten keine Beeinflussung seitens der EPO-Therapie.

Zusammenfassend ist somit eine morphologisch-neuroprotektive Komponente des Erythropoetin bei chronisch degenerativer Krankheit am Menschen nachgewiesen worden.

6 Anhang

6.1 Abkürzungsverzeichnis

Tabelle 21; Abkürzungsverzeichnis

ACC	Anteriorer cingulärer Kortex
APA	American Psychiatric Association
C-EPO	Carbamylated Erythropoetin
CSF	Colony Stimulating Factors
CSF	Cerebrospinal Fluid; Liquor
CT	Computertomographie
DBM	Deformation-Based Morphometry
DSM IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
dex.	Dexter
df	Anzahl der Freiheitsgrade (Statistik)
EOI	Effects of Interest
EPO	Erythropoetin
EPO-R	Erythropoetin-Rezeptor
ESA	Erythropoiesis Stimulating Agents
DICOM	Digital Imaging and Communications in Medicine
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
FMRIB	Functional Magnetic Resonance Imaging For Measuring Brain Activity
FSL	FMRIB Software Library
FWHM	Full Width at Half Maximum
GAG	Gyrus angularis
GFI	Gyrus frontalis inferior
GFIpo	Gyrus frontalis inferior pars orbitalis
GFM	Gyrus frontalis medialis
GM	Grey Matter
GMC	Grey Matter Concentration
GMV	Grey Matter Volume

GOM	Gyrus occipitalis medius
GPC	Gyrus praecentralis
GTS	Gyrus temporalis superior
fMRI, fMRT	Funktionelle Magnetresonanztomographie
ICD-10	International Statistical Classification of Diseases (and Related Health Problems)
ICV	Intrakranielles Volumen
inf.	Inferior
IU	International Units
MIP	Maximum Intensity Projection
MNI	Montreal Neurological Institute
MPM	Maximum Probability Map
MR	Magnetresonanz
MRI	Magnetic Resonance Imaging
MRT	Magnetresonanztomographie
N	Anzahl (Statistik)
NAC	Nucleus accumbens
n.s.	nicht signifikant
NSS	Neurological Soft Signs
orb.	Orbitalis
p.	Pars
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
RBANS	Repeatable Battery for the Assessment of Neuropsychological Status
rhEPO	Rekombinantes humanes Erythropoetin
ROI	Region of Interest
SBM	Surface-Based Morphometry
SHT	Schädel-Hirn-Trauma
Sig.	Signifikanz
sin.	Sinister
SMA	Supplementär motorisches Areal
SPM	Statistical Parametric Mapping
sup.	Superior
T1, T2	Zeitpunkte der ersten und der zweiten MRT

TPO	Thrombopoetin
VBM	Voxel-Based Morphometry
WHO	World Health Organization
WM	White Matter
ZNS	Zentrales Nervensystem

6.2 Literaturverzeichnis

Antonova E, Kumari V, Morris R, Halari R, Anilkumar A, Mehrotra R, Sharma T (2005): The relationship of structural alterations to cognitive deficits in schizophrenia: a voxel-based morphometry study. *Biol Psychiatry* 58(6), 457-67.

APA, American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders – DSM-IV. APA, Washington 1994.

Ashburner J, Friston KJ (1997): Multimodal image coregistration and partitioning – A unified framework. *NeuroImage* 6, 209-217.

Ashburner J, Friston KJ (2000): Voxel-Based Morphometry – The Methods. *NeuroImage* 11, 805–21.

Bahcekapili N, Uzüm G, Gökkusu C, Kuru A, Ziylan YZ (2007): The relationship between erythropoietin pretreatment with blood-brain barrier and lipid peroxidation after ischemia/reperfusion in rats. *Life Sci* 80(14), 1245-51.

Bandelow B, Poser W: Göttinger Psychiatrie Script, Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Version 1.03, Göttingen 2005.

Barta PE, Pearlson GD, Powers RE, Richards SS, Tune LE (1990): Auditory hallucinations and smaller superior temporal gyral volume in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 147(11), 1457-62.

Bleuler PE: Dementia praecox oder die Gruppe der Schizophrenien. Deuticke, Leipzig 1911.

Cahn W, Hulshoff Pol HE, Lems EB, van Haren NE, Schnack HG, van der Linden JA, Schothorst PF, van Engeland H, Kahn RS (2002): Brain volume changes in first-episode schizophrenia: a 1-year follow-up study. *Arch Gen Psychiatry* 59(11), 1002-10.

Choi JS, Kang DH, Kim JJ, Ha TH, Roh KS, Youn T, Kwon JS (2005): Decreased caudal anterior cingulate gyrus volume and positive symptoms in schizophrenia. *Psychiatry Res* 139(3), 239-47.

Chong ZZ, Kang JQ, Maiese K (2003): Erythropoietin fosters both intrinsic and extrinsic neuronal protection through modulation of microglia, Akt1, Bad, and caspase-mediated pathways. *Br J Pharmacol* 138(6), 1107-18.

Chua SE, Cheung C, Cheung V, Tsang JT, Chen EY, Wong JC, Cheung JP, Yip L, Tai KS, Suckling J (2007): Cerebral grey, white matter and csf in never-medicated, first-episode schizophrenia. *Schizophr Res* 89(1-3), 12-21.

Crespo-Facorro B, Kim J, Andreasen NC, O'Leary DS, Magnotta V (2000): Regional frontal abnormalities in schizophrenia: a quantitative gray matter volume and cortical surface size study. *Biol Psychiatry* 48(2), 110-9.

Crespo-Facorro B, Roiz-Santiañez R, Pelayo-Terán JM, Rodríguez-Sánchez JM, Pérez-Iglesias R, González-Blanch C, Tordesillas-Gutiérrez D, González-Mandly A, Díez C, Magnotta VA (2007): Reduced thalamic volume in first-episode non-affective psychosis: correlations with clinical variables, symptomatology and cognitive functioning. *Neuroimage* 35(4), 1613-23.

Ehrenreich H, Hasselblatt M, Dembowski C, Cepek L, Lewczuk P, Stiefel M, Rustenbeck HH, Breiter N, Jacob S, Knerlich F (2002 a): Erythropoietin therapy for acute stroke is both safe and beneficial. *Mol Med* 8(8), 495-505.

Ehrenreich H, Hasselblatt M, Piotr L, Dembowski C, Cepek L, Stiefel M, Rustenbeck HH, Jacob S, Knerlich F, Gleiter C (2002 b): Erythropoietin treatment for acute stroke: A randomized double- blind proof-of concept trial in man. *Stroke* 33 (1), 71-71.

Ehrenreich H, Hinze-Selch D, Stawicki S, Aust C, Knolle-Veentjer S, Wilms S, Heinz G, Erdag S, Jahn H, Degner D (2007): Improvement of cognitive functions in chronic schizophrenic patients by recombinant human erythropoietin. *Mol Psychiatry* 12(2), 206-20.

Eickhoff SB, Stephan KE, Mohlberg H, Grefkes C, Fink GR, Amunts K, Zilles K (2005): A new SPM toolbox for combining probabilistic cytoarchitectonic maps and functional imaging data. *NeuroImage* 25 (4), 1325-35.

Eickhoff SB, Heim S, Zilles K, Amunts K (2006): Testing anatomically specified hypotheses in functional imaging using cytoarchitectonic maps. *NeuroImage* 32 (2), 570-82.

Eickhoff SB, Paus T, Caspers S, Grosbras MH, Evans AC, Zilles K, Amunts K (2007): Assignment of functional activations to probabilistic cytoarchitectonic areas revisited. *NeuroImage* 36 (3), 511-21.

Erbayraktar S, Yilmaz O, Gökmen N, Brines M (2003a): Erythropoietin is a multifunctional tissue-protective cytokine. *Curr Hematol Rep* 2(6), 465-70.

Erbayraktar S, Grasso G, Sfacteria A, Xie QW, Coleman T, Kreilgaard M, Torup L, Sager T, Erbayraktar Z, Gokmen N (2003b): Asialoerythropoietin is a nonerythropoietic cytokine with broad neuroprotective activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(11), 6741-6.

Fornito A, Yücel M, Wood SJ, Adamson C, Velakoulis D, Saling MM, McGorry PD, Pantelis C (2008): Surface-based morphometry of the anterior cingulate cortex in first episode schizophrenia. *Hum Brain Mapp* 29(4), 478-89.

Fornito A, Yücel M, Patti J, Wood SJ, Pantelis C (2009): Mapping grey matter reductions in schizophrenia: An anatomical likelihood estimation analysis of voxel-based morphometry studies. *Schizophr Res* 108(1-3), 104-13.

Frazier JA, Hodge SM, Breeze JL, Giuliano AJ, Terry JE, Moore CM, Kennedy DN, Lopez-Larson MP, Caviness VS, Seidman LJ (2008): Diagnostic and Sex Effects on Limbic Volumes in Early-Onset Bipolar Disorder and Schizophrenia. *Schizophr Bull* 34(1), 37-46.

Fujiwara H, Hirao K, Namiki C, Yamada M, Shimizu M, Fukuyama H, Hayashi T, Murai T (2007): Anterior cingulate pathology and social cognition in schizophrenia: a study of gray matter, white matter and sulcal morphometry. *Neuroimage* 36(4), 1236-45.

García-Martí G, Aguilar EJ, Lull JJ, Martí-Bonmatí L, Escartí MJ, Manjón JV, Moratal D, Robles M, Sanjuán J (2008): Schizophrenia with auditory hallucinations: A voxel-based morphometry study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 32(1), 72-80.

Glenthøj A, Glenthøj BY, Mackeprang T, Pagsberg AK, Hemmingsen RP, Jernigan TL, Baaré WF (2007): Basal ganglia volumes in drug-naïve first-episode schizophrenia patients before and after short-term treatment with either a typical or an atypical antipsychotic drug. *Psychiatry Res* 154(3), 199-208.

Gonzalez FF, McQuillen P, Mu D, Chang Y, Wendland M, Vexler Z, Ferriero DM (2007): Erythropoietin enhances long-term neuroprotection and neurogenesis in neonatal stroke. *Dev Neurosci* 29(4-5), 321-30.

Good CD, Johnsrude IS, Ashburner J, Henson RN, Friston KJ, Frackowiak RS (2001): A voxel-based morphometric study of ageing in 465 normal adult human brains. *Neuroimage* 14(1), 21-36.

Gourion D, Gourevitch R, Leprovost JB, Olié H, Lô JP, Krebs MO (2004): Neurodevelopmental hypothesis in schizophrenia. *Encephale* 30(2), 109-18.

Grasso G, Sfacteria A, Cerami A, Brines M (2004): Erythropoietin as a tissue-protective cytokine in brain injury: what do we know and where do we go? *Neuroscientist* 10(2), 93-8.

Grimm C, Wenzel A, Acar N, Keller S, Seeliger M, Gassmann M (2006): Hypoxic preconditioning and erythropoietin protect retinal neurons from degeneration. *Adv Exp Med Biol* 588, 119-31.

Gunduz H, Wu H, Ashtari M, Bogerts B, Crandall D, Robinson DG, Alvir J, Lieberman J, Kane J, Bilder R (2002): Basal ganglia volumes in first-episode schizophrenia and healthy comparison subjects. *Biol Psychiatry* 51(10), 801-8.

Hasselblatt M, Ehrenreich H, Sirén AL (2006): The brain erythropoietin system and its potential for therapeutic exploitation in brain disease. *J Neurosurg Anesthesiol* 18(2), 132-8.

Hempel A, Hempel E, Schönknecht P, Stippich C, Schröder J (2003): Impairment in basal limbic function in schizophrenia during affect recognition. *Psychiatry Res* 122(2), 115-24.

Hirose S, Takahashi M, Ogawa R, Morimoto H, Izawa A, Sato H, Ise H, Hongo M, Ikeda U (2007): Erythropoietin attenuates the development of experimental autoimmune myocarditis. *Cardiovasc Drugs Ther* 21(1), 17-27.

Honea R, Crow TJ, Passingham D, Mackay CE (2005): Regional deficits in brain volume in schizophrenia: a meta-analysis of voxel-based morphometry studies. *Am J Psychiatry* 162(12), 2233-45.

Horan WP, Blanchard JJ (2003): Neurocognitive, social, and emotional dysfunction in deficit syndrome schizophrenia. *Schizophr Res* 65(2-3), 125-37.

Jacobson LO, Goldwasser E, Fried W, Plzak L. (1957): Role of the kidney in erythropoiesis. *Nature* 179(4560), 633-4.

Johnstone EC, Crow TJ, Frith CD, Husband J, Kreel L (1976): Cerebral ventricular size and cognitive impairment in chronic schizophrenia. *Lancet* 1976, 2, 924-6.

Juckel G, Schlagenhauf F, Koslowski M, Wüstenberg T, Villringer A, Knutson B, Wrase J, Heinz A (2006): Dysfunction of ventral striatal reward prediction in schizophrenia. *Neuroimage* 29(2), 409-16.

Kasai K, Shenton ME, Salisbury DF, Hirayasu Y, Lee CU, Ciszewski AA, Yurgelun-Todd D, Kikinis R, Jolesz FA, McCarley RW (2003): Progressive decrease of left superior temporal gyrus gray matter volume in patients with first-episode schizophrenia. *Am J Psychiatry* 160(1), 156-64.

Kim JJ, Kim DJ, Kim TG, Seok JH, Chun JW, Oh MK, Park HJ (2007): Volumetric abnormalities in connectivity-based subregions of the thalamus in patients with chronic schizophrenia. *Schizophr Res* 97(1-3), 226-235.

Knabe W, Knerlich F, Washausen S, Kietzmann T, Sirén AL, Brunnett G, Kuhn HJ, Ehrenreich H (2004): Expression patterns of erythropoietin and its receptor in the developing midbrain. *Anat Embryol* 207(6), 503-12.

Koikkalainen J, Hirvonen J, Nyman M, Lötjönen J, Hietala J, Ruotsalainen U (2007): Shape variability of the human striatum - Effects of age and gender. *Neuroimage* 34(1), 85-93.

Kopelman A, Andreasen NC, Nopoulos P (2005): Morphology of the anterior cingulate gyrus in patients with schizophrenia: relationship to typical neuroleptic exposure. *Am J Psychiatry* 162(10), 1872-8.

Kraepelin E: Psychiatrie. 6. Auflage, Johann Ambrosius Barth, Leipzig 1899.

Kreczmanski P, Heinsen H, Mantua V, Woltersdorf F, Masson T, Ulfing N, Schmidt-Kastner R, Korr H, Steinbusch HW, Hof PR, Schmitz C (2007): Volume, neuron density and total neuron number in five subcortical regions in schizophrenia. *Brain* 130(3), 678-92.

Kuperberg GR, Broome MR, McGuire PK, David AS, Eddy M, Ozawa F, Goff D, West WC, Williams SC, van der Kouwe AJ (2003): Regionally localized thinning of the cerebral cortex in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 60(9), 878-88.

Lewis SW (1990): Computerised tomography in schizophrenia 15 years on. *Br J Psychiatry Suppl* (9), 16-24.

Li Y, Lu Z, Keogh CL, Yu SP, Wei L (2007): Erythropoietin-induced neurovascular protection, angiogenesis, and cerebral blood flow restoration after focal ischemia in mice. *J Cereb Blood Flow Metab* 27(5), 1043-54.

Lopez-Garcia P, Aizenstein HJ, Snitz BE, Walter RP, Carter CS (2006): Automated ROI-based brain parcellation analysis of frontal and temporal brain volumes in schizophrenia. *Psychiatry Res* 147(2-3), 153-61.

Mahmood A, Lu D, Qu C, Goussev A, Zhang ZG, Lu C, Chopp M (2007): Treatment of traumatic brain injury in rats with erythropoietin and carbamylated erythropoietin. *J Neurosurg* 107(2), 392-7.

Mamah D, Wang L, Barch D, de Erausquin GA, Gado M, Csernansky JG (2007): Structural analysis of the basal ganglia in schizophrenia. *Schizophr Res* 89(1-3), 59-71.

Martí-Bonmatí L, Lull JJ, García-Martí G, Aguilar EJ, Moratal-Pérez D, Poyatos C, Robles M, Sanjuán J (2007): Chronic auditory hallucinations in schizophrenic patients: MR analysis of the coincidence between functional and morphologic abnormalities. *Radiology* 244(2), 549-56.

Mitsuma W, Ito M, Kodama M, Fuse K, Okamura K, Minagawa S, Kato K, Hanawa H, Toba K, Nakazawa M, Aizawa Y (2006): Cardioprotective effects of recombinant human erythropoietin in rats with experimental autoimmune myocarditis. *Biochem Biophys Res Commun* 344(3), 987-94.

Neckelmann G, Specht K, Lund A, Ersland L, Smievoll AI, Neckelmann D, Hugdahl K (2006): MR morphometry analysis of grey matter volume reduction in schizophrenia: association with hallucinations. *Int J Neurosci* 116(1), 9-23.

Nierenberg J, Salisbury DF, Levitt JJ, David EA, McCarley RW, Shenton ME (2005): Reduced left angular gyrus volume in first-episode schizophrenia. *Am J Psychiatry* 162(8), 1539-41.

Niznikiewicz M, Donnino R, McCarley RW, Nestor PG, Iosifescu DV, O'Donnell B, Levitt J, Shenton ME (2000): Abnormal angular gyrus asymmetry in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 157(3), 428-37.

Noguchi CT, Asavaritikrai P, Teng R, Jia Y (2007): Role of erythropoietin in the brain. *Crit Rev Oncol Hematol* 64(2), 159-71.

O'Daly OG, Frangou S, Chitnis X, Shergill SS (2007): Brain structural changes in schizophrenia patients with persistent hallucinations. *Psychiatry Res* 156(1), 15-21.

Portas CM, Goldstein JM, Shenton ME, Hokama HH, Wible CG, Fischer I, Kikinis R, Donnino R, Jolesz FA, McCarley RW (1998): Volumetric evaluation of the thalamus in schizophrenic male patients using magnetic resonance imaging. *Biol Psychiatry* 43(9), 649-59.

Randolph C, Tierney MC, Mohr E, Chase TN (1998): The Repeatable Battery for the Assessment of Neuropsychological Status (RBANS): preliminary clinical validity. *J Clin Exp Neuropsychol* 20(3), 310–9.

Salmond CH, Ashburner J, Vargha-Khadem F, Conelly A, Gadian DG, Friston KJ (2002): Distributional Assumptions in Voxel-Based Morphometry. *NeuroImage* 17, 1027-30.

Sanfilipo M, Lafargue T, Rusinek H, Arena L, Loneragan C, Lautin A, Rotrosen J, Wolkin A (2002): Cognitive performance in schizophrenia: relationship to regional brain volumes and psychiatric symptoms. *Psychiatry Res* 116(1-2), 1-23.

Scherk H, Falkai P (2006): Effects of antipsychotics on brain structure. *Curr Opin Psychiatry* 19(2), 145-50.

Schlaepfer TE, Harris GJ, Tien AY, Peng LW, Lee S, Federman EB, Chase GA, Barta PE, Pearlson GD (1994): Decreased regional cortical gray matter volume in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 151(6), 842-8.

Schmitt A, Weber-Fahr W, Jatzko A, Tost H, Henn FA, Braus DF (2001): Current overview of structural magnetic resonance imaging in schizophrenia. *Fortschr Neurol Psychiatr* 69(3), 105-15.

Schneider K: Die psychopathischen Persönlichkeiten, 3. Auflage, Deuticke, Leipzig 1934.

Shenton ME, Kikinis R, Jolesz FA, Pollak SD, LeMay M, Wible CG, Hokama H, Martin J, Metcalf D, Coleman M et al (1992): Abnormalities of the left temporal lobe and thought disorder in schizophrenia. A quantitative magnetic resonance imaging study. *N Engl J Med* 327(9), 604-12.

Silverberg DS, Wexler D, Iaina A, Steinbruch S, Wollman Y, Schwartz D (2006): Anemia, chronic renal disease and congestive heart failure--the cardio renal anemia syndrome: the need for cooperation between cardiologists and nephrologists. *Int Urol Nephrol* 38(2), 295-310.

Sirén AL, Radyushkin K, Boretius S, Kämmer D, Riechers CC, Natt O, Sargin D, Watanabe T, Sperling S, Michaelis T (2006): Global brain atrophy after unilateral parietal lesion and its prevention by erythropoietin. *Brain* 129(2), 480-9.

Smith RC, Calderon M, Ravichandran GK, Largent J, Voulis G, Shvartsburd A, Gordon J, Schoolar JC (1984): Nuclear magnetic resonance in schizophrenia: a preliminary study. *Psychiatry Res* 12(2), 137-47.

Sullivan EV, Shear PK, Lim KO, Zipursky RB, Pfefferbaum A (1996): Cognitive and motor impairments are related to gray matter volume deficits in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 39(4), 234-40.

Talairach J, Tournoux P: Co-Planar Stereotaxis - Atlas of the Human Brain. Thieme, New York 1988.

Théberge J, Williamson KE, Aoyama N, Drost DJ, Manchanda R, Malla AK, Northcott S, Menon RS, Neufeld RW, Rajakumar N (2007): Longitudinal grey-matter and glutamatergic losses in first-episode schizophrenia. *Br J Psychiatry* 191, 325-34.

Thomann PA, Wüstenberg T, Santos VD, Bachmann S, Essig M, Schröder J (2008): Neurological soft signs and brain morphology in first-episode schizophrenia. *Psychol Med* 1-9. Epub ahead of print

Thompson PM, Vidal C, Giedd JN, Gochman P, Blumenthal J, Nicolson R, Toga AW, Rapoport JL (2001): Mapping adolescent brain change reveals dynamic wave of accelerated gray matter loss in very early-onset schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA* 98(20), 11650-5.

Tsai PT, Ohab JJ, Kertesz N, Groszer M, Matter C, Gao J, Liu X, Wu H, Carmichael ST (2006): A critical role of erythropoietin receptor in neurogenesis and post-stroke recovery. *J Neurosci* 26(4), 1269-74.

van Haren NE, Hulshoff Pol HE, Schnack HG, Cahn W, Mandl RC, Collins DL, Evans AC, Kahn RS (2007): Focal gray matter changes in schizophrenia across the course of the illness: a 5-year follow-up study. *Neuropsychopharmacology* 32(10), 2057-66.

van Haren NE, Pol HE, Schnack HG, Cahn W, Brans R, Carati I, Rais M, Kahn RS (2008): Progressive Brain Volume Loss in Schizophrenia Over the Course of the Illness: Evidence of maturational abnormalities in early adulthood. *Biol Psychiatry* 63(1), 106-13.

Villa P, Bigini P, Mennini T, Agnello D, Laragione T, Cagnotto A, Viviani B, Marinovich M, Cerami A, Coleman TR (2003): Erythropoietin selectively attenuates cytokine production and inflammation in cerebral ischemia by targeting neuronal apoptosis. *J Exp Med* 198(6), 971-5.

Volz H, Gaser C, Sauer H (2000): Supporting evidence for the model of cognitive dysmetria in schizophrenia - a structural magnetic resonance imaging study using deformation-based morphometry. *Schizophr Res* 46(1), 45-56.

Wang X, Zhu C, Wang X, Gerwien JG, Schrattenholz A, Sandberg M, Leist M, Blomgren K (2004): The nonerythropoietic asialoerythropoietin protects against neonatal hypoxia-ischemia as potently as erythropoietin. *J Neurochem* 91(4): 900-10.

Whitford TJ, Farrow TF, Gomes L, Brennan J, Harris AW, Williams LM (2005): Grey matter deficits and symptom profile in first episode schizophrenia. *Psychiatry Res* 139(3), 229-38.

Whitford TJ, Grieve SM, Farrow TF, Gomes L, Brennan J, Harris AW, Gordon E, Williams LM (2006): Progressive grey matter atrophy over the first 2-3 years of illness in first-episode schizophrenia: a tensor-based morphometry study. *Neuroimage* 32(2), 511-9.

WHO, World Health Organization: International Classification of Diseases 2007. <http://apps.who.int/classifications/apps/icd/icd10online/>

Yücel M, Stuart GW, Maruff P, Wood SJ, Savage GR, Smith DJ, Crowe SF, Copolov DL, Velakoulis D, Pantelis C (2002): Paracingulate morphologic differences in males with established schizophrenia: a magnetic resonance imaging morphometric study. *Biol Psychiatry* 52(1), 15-23.

Zhong L, Bradley J, Schubert W, Ahmed E, Adamis AP, Shima DT, Robinson GS, Ng YS (2007): Erythropoietin promotes survival of retinal ganglion cells in DBA/2J glaucoma mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 48(3), 1212-8.

Zhou SY, Suzuki M, Hagino H, Takahashi T, Kawasaki Y, Matsui M, Seto H, Kurachi M (2005): Volumetric analysis of sulci/gyri-defined in vivo frontal lobe regions in schizophrenia: Precentral gyrus, cingulate gyrus, and prefrontal region. *Psychiatry Res* 139(2), 127-39.

Zhou SY, Suzuki M, Takahashi T, Hagino H, Kawasaki Y, Matsui M, Seto H, Kurachi M (2007): Parietal lobe volume deficits in schizophrenia spectrum disorders. *Schizophr Res* 89(1-3), 35-48.

Zipursky RB, Lim KO, Sullivan EV, Brown BW, Pfefferbaum A (1992): Widespread cerebral gray matter volume deficits in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 49(3), 195-205.