

Aus der Abteilung Kognitive Neurologie

(Prof. Dr. rer. nat. M. Wilke)

der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

Bestimmung der zerebralen Atrophie bei neurologischen
Erkrankungen des Marklagers mittels SIENA

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades

der Medizinischen Fakultät der

Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Sara Marques Coelho Leiterholt

aus

Paderborn

Göttingen 2016

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer

Referent: PD Dr. rer. nat. G. Helms

Ko-Referent/in: PD Dr. Katharina Hein

Datum der mündlichen Prüfung: 14.11.2016

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel "Bestimmung der zerebralen Atrophie bei neurologischen Erkrankungen des Marklagers mittels SIENA" eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den 09.06.2016

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
Abbildungsverzeichnis	IV
Tabellenverzeichnis.....	VI
Abkürzungsverzeichnis.....	VII
1 Einleitung	1
1.1 Multiple Sklerose (MS).....	1
1.2 Magnetresonanztomographie (MRT).....	3
1.3 Die MRT als etablierte Methode in der Multiplen Sklerose	3
1.4 Gehirnatrophie als Biomarker des Krankheitsprogresses bei der MS.....	4
1.5 Erfassung der Gehirnatrophie	5
1.6 Fragestellungen.....	6
2 Material und Methoden.....	7
2.1 Studienbeschreibung.....	7
2.1.1 Ziel der Studie	7
2.1.2 Studiendurchführung.....	7
2.1.3 Ethik	8
2.2 MRT	9
2.2.1 Technische Daten.....	9
2.2.2 Messprotokoll	9
2.2.3 <i>Preprocessing</i>	12
2.3 FSL SIENA	12

2.3.1 BET (<i>Brain Extraction Tool</i>).....	13
2.3.2 FLIRT (<i>FMRIB's Linear Image Registration Tool</i>).....	14
2.3.3 FAST (<i>FMRIB's Automated Segmentation Tool</i>)	15
2.3.4 Einschätzung der Hirnvolumenänderung	16
2.4 Untersuchung der Hirnvolumenänderung mittels SIENA	16
2.4.1 Patientenkollektiv	16
2.4.2 Untersuchungsintervalle.....	17
2.4.3 Skalierungskorrektur im MS-Kollektiv	18
2.4.4 Statistische Auswertung	19
2.5 Kontrollierte Auswertung von Individuen.....	19
2.5.1 Einfluss der Kopfposition	19
2.5.2 Starke Atrophierate und hohe Läsionslast	20
2.5.3 Untersuchung eines wachsenden Gehirns	20
3 Ergebnisse	22
3.1 SIENA-Auswertung der verschiedenen Sequenzen.....	22
3.1.1 Hirnvolumenänderung in TFL, TIRM und TSE.....	22
3.1.2 Darstellung der SIENA-Segmentierungsschritte in den einzelnen Sequenzen....	22
3.2 Initiale Auswertung der Gehirnatrophierate (final PBVC [%])	25
3.2.1 Prozentuale Gehirnvolumenveränderung der Patienten und Kontrollen.....	26
3.2.2 Erweiterung der Erstausswertung.....	27
3.2.3 Prozentuale Hirnvolumenänderung: Darstellung nach MS-Verlaufsform	29
3.3 Problemanalyse	30
3.3.1 Einfluss der Kopfposition	30
3.3.2 Fallstudie Marburg-MS.....	30
3.3.3 Darstellung einzelner Patientenbeispiele zur weiteren Illustrierung der SIENA- Ergebnisse.....	33

3.3.4 Fallstudie wachsendes kindliches Gehirn	36
3.3.5 Skalierungskorrektur der MS-Daten.....	39
3.3.5.1 Korrigierte (corr.) prozentuale Hirnvolumenänderung der Patienten und Kontrollen	40
3.3.5.2 Korrigierte (corr.) prozentuale Hirnvolumenänderung: Darstellung nach MS- Verlaufsform	43
3.4 Additivität der Hirnvolumenänderung	43
4 Diskussion.....	46
4.1 Relevanz der Hirnatrophie und Betrachtung ihrer Entwicklung	46
4.2 Quantifizierung der Hirnatrophie mittels SIENA.....	47
4.2.1 Auswahl der Bildwichtung	48
4.2.2 Ergebnisse der Hirnatrophie-Bestimmung	48
4.3 Weitere Auswertungsschritte	49
4.3.1 Untersuchung der Kopfposition	49
4.3.2 Diskussion der Segmentierungsfehler am Beispiel eines Falles mit Marburg- Variante.....	49
4.3.3 Wachsende Gehirne – Untersuchung eines kindlichen Gehirns	50
4.3.4 Skalierungskorrektur aller Ergebnisse	51
4.4 Betrachtung weiterer Einflussfaktoren	52
4.5 Betrachtung der Additivität als Validierungsmethode für SIENA	55
4.6 Ausblick, Verbesserungsmöglichkeiten.....	56
5 Zusammenfassung	59
6 Anhang	61
7 Literaturverzeichnis.....	63

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Bildbeispiel der verwendeten Sequenzen TFL, TIRM und TSE	11
Abbildung 2: BET	14
Abbildung 3: Darstellung der Eckpunktveränderung.....	16
Abbildung 4: Baumdiagramm der Studienteilnehmer	17
Abbildung 5: Segmentierung TFL.....	23
Abbildung 6: Segmentierung TSE.....	24
Abbildung 7: Segmentierung TIRM.....	25
Abbildung 8: Box- und Whiskerplot: prozentuale Hirnvolumenänderung der Patienten; ausgewählte Messabstände 0>2, 0>4 sowie die Vergleichswerte der Kontrollgruppe	26
Abbildung 9: Box- und Whiskerplot: prozentuale Hirnvolumenänderung der Patienten; ausgewählte Messabstände 0>1, 0>2, 0>3, 0>4 sowie die Vergleichswerte der Kontrollgruppe	28
Abbildung 10: Box- und Whiskerplot: Einteilung nach MS-Verlaufsform und den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten	29
Abbildung 11: Darstellung MS-Marburg-Variante: 14. bis 15,5. Lebensjahr.....	31
Abbildung 12: Segmentierung Marburg-MS.....	32
Abbildung 13: Hirnvolumenänderung des Marburg-Patienten.....	32
Abbildung 14: Zeitlicher Verlauf der Hirnvolumenänderung eines MS-Patienten.....	33
Abbildung 15: Zeitlicher Verlauf der Hirnvolumenänderung eines MS-Patienten.....	34
Abbildung 16: Zeitlicher Verlauf der Hirnvolumenänderung eines MS-Patienten.....	35
Abbildung 17: Zeitlicher Verlauf der Hirnvolumenänderung eines MS-Patienten.....	36
Abbildung 18: Gehirnmasken von zwei Untersuchungszeitpunkten.....	37
Abbildung 19: Segmentierung des wachsenden Gehirns	38
Abbildung 20: Hirnvolumenänderung des wachsenden Gehirns	39
Abbildung 21: Box- und Whiskerplot: skalierungskorrigierte Hirnvolumenänderung für die verschiedenen Messzeitpunkte	40
Abbildung 22: Korrelationsplot: nicht korrigierte und korrigierte Volumenänderung zwischen <i>Baseline</i> -Bild und Ein-Jahres-follow-up in der MS-Gruppe.....	42
Abbildung 23: Korrelationsplot: nicht korrigierte und korrigierte final PBVC-Werte der Kontrollgruppe	42

Abbildung 24: Korrigierte Hirnvolumenänderung, Einteilung nach MS-Verlaufsform.....	43
Abbildung 25: Korrelationsplot: MS-Erkrankte Additivität mit Fehlerbalken	44
Abbildung 26: Skalierungskorrigierte Hirnvolumenänderung Marburg-MS mit Fehlerbalken und addierte Hirnvolumenänderung	45

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: McDonald-Kriterien.....	2
Tabelle 2: Untersuchungsprotokoll.....	10
Tabelle 3: Mittelwerte und Standardabweichung der Hirnvolumenänderung im Zwei-Jahres-Zeitraum	28
Tabelle 4: Korrigierte prozentuale Hirnvolumenänderung: Mittelwerte der Gruppen und Standardabweichung	40
Tabelle 5: Atrophieverlauf bei Patienten mit deutlicher Atrophie.....	61
Tabelle 6: Auswertung der verschiedenen Kopfpositionen mit SIENA.....	61
Tabelle 7: Wachsendes Gehirn - Darstellung der Hirnvolumenänderung initial und nach Skalierungskorrektur	62
Tabelle 8: Korrigierte Hirnvolumenänderung Marburg und Additivitätswerte	62

Abkürzungsverzeichnis

2D	zweidimensional
3D	dreidimensional
ax	axial
BET	<i>Brain Extraction Tool</i>
DICOM	<i>Digital Imaging and Communications in Medicine</i>
DTI	Diffusions-Tensor-Bildgebung
EDSS	<i>Expanded Disability Status Scale</i>
f	<i>Fractional Intensity Threshold</i>
FAST	<i>FMRIB's Automated Segmentation Tool</i>
FMRIB	Oxford Centre for Functional Magnetic Resonance Imaging of the Brain
final PBVC	<i>final Percentual Brain Volume Change</i>
FLAIR	<i>Fluid Attenuated Inversion Recovery</i>
FLIRT	<i>Fluid Inversion Recovery Time</i>
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie
FoV	<i>Field of View</i>
GCP	<i>Good Clinical Practice</i>
Gd	Gadolinium
Hz	Hertz
IgG	Immunglobulin G
i.v.	intravenös
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht

KM	Kontrastmittel
m	männlich
MSFC	<i>Multiple Sclerosis Functional Composite</i>
MNI	Montreal Neurological Institute
Mo	Monat(e)
MPRAGE	<i>Magnetization-Prepared Rapid Gradient-Echo</i>
MR	Magnetresonanz
MRS	Magnetresonanztomographie
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Multiple Sklerose
n	Anzahl
NAA	N-Acetyl-Aspartat
NAWM	<i>Normal Appearing White Matter</i>
PBVC	<i>Percentual Brain Volume Change</i>
px	Pixel
r	Korrelationskoeffizient
r^2	Bestimmtheitsmaß
rel.	relativ
RMS	<i>Root Mean Square</i> , quadratisches Mittel
RR	<i>Relapsing Remitting</i> , Englisch für schubförmige MS-Verlaufsform
s.	siehe
S.	Seite

SIENA	<i>Structural Image Evaluation, using Normalization, of Atrophy</i>
SP	<i>Secondary Progressive</i> , Englisch für sekundär-progrediente MS-Verlaufsform
TE	Echozeit
TFL	<i>Turboflash</i>
TI	Inversionszeit
TIRM	<i>Turbo Inversion Recovery Magnitude</i>
TR	Repetitionszeit
TSE	<i>Turbo Spin Echo</i>
w	weiblich

1 Einleitung

1.1 Multiple Sklerose (MS)

Die Multiple Sklerose ist eine immunvermittelte chronisch-entzündliche Erkrankung des zentralen Nervensystems, die histopathologisch in unterschiedlicher Ausprägung zu Demyelinisierung und axonalem Schaden führt. Diese führen wiederum zu einem Verlust an Neuronen und zu einer reaktiven Gliose. Weltweit sind ca. zwei Millionen Menschen betroffen, der Erkrankungsgipfel liegt um das 30. Lebensjahr (DGN-Leitlinie 2012). Klinisch werden vier häufige Verlaufsformen unterschieden (DGN-Leitlinie 2012):

1. Klinisch isoliertes Syndrom
2. Schubförmige MS (RR = *Relapsing Remitting*)
3. Sekundär progrediente MS (SP)
4. Primär progrediente MS.

Am häufigsten findet sich, insbesondere zu Beginn der Erkrankung, die schubförmige Verlaufsform (RR), welche dadurch charakterisiert ist, dass es wiederholt zu klinischen Manifestationen (Schüben) kommt, deren Symptomatik sich jedoch in den Abständen zwischen den Schüben wieder zurückbildet. Im Verlauf kann die Erkrankung in eine sekundär progrediente Form (SP) übergehen, bei der nach jedem Schub neurologische Residuen verbleiben, indem sich die Symptomatik zwischen den Ereignissen nicht vollständig zurückbildet. Ergänzend zu den beschriebenen Verlaufsformen werden weitere, seltenere Varianten unterschieden.

Die Diagnose einer MS wird anhand der sogenannten McDonald-Kriterien gestellt, die nachfolgend dargestellt werden. Neben Symptomen und Liquordiagnostik spielt hier die MRT-Bildgebung eine wichtige Rolle. Die McDonald-Kriterien, die eine Kombination dieser diagnostischen Elemente erfassen, wurden erstmals 2001 erstellt und sind seither kontinuierlich überarbeitet und weitergeführt worden.

Klinik des Patienten	zusätzliche Untersuchungen zur Diagnosestellung einer Multiplen Sklerose
≥ 2 Schübe; objektiver klinischer Nachweis von ≥ 2 Läsionen oder objektiver klinischer Nachweis einer Läsion zusammen mit einem eindeutig zugeordnetem früheren Schub	keine
≥ 2 Schübe; objektiver klinischer Nachweis einer Läsion	räumliche Disseminierung (Nachweis im MRT): ≥ 1 t2-Läsion in mindestens 2 MS-typischen Gehirnregionen (periventrikulär, juxtakortikal, infratentoriell, Rückenmark) oder Abwarten des nächsten Schubes, der eine andere Gehirnregion betrifft
1 Schub und objektiver klinischer Nachweis von ≥ 2 Läsionen	zeitliche Disseminierung (Nachweis im MRT): gleichzeitiger Nachweis einer asymptomatischen Gd-aufnehmenden Läsion und einer nicht Gd-aufnehmenden Läsion oder eine neue Gd-aufnehmende Läsion oder Abwarten des nächsten Schubes
1 Schub und klinischer Nachweis einer Läsion (= klinisch isoliertes Syndrom)	räumliche und zeitliche Disseminierung nach den oben genannten Kriterien
schleichender Verlauf, kompatibel mit primär progredienter MS	Dauer über ein Jahr (retrospektiv oder prospektiv) und zwei der drei folgenden Kriterien: 1. räumliche Disseminierung (Gehirn) 2. räumliche Disseminierung (Rückenmark) 3. positive Liquoruntersuchung (oligoklonale Banden, positives IgG)

Tabelle 1: McDonald-Kriterien: Modifiziert nach Polman et al. 2011.

Zur objektiven Beurteilung des klinischen Behinderungsgrades werden verschiedene Untersuchungs-Skalen herangezogen. Der EDSS (Expanded Disability Status Scale, Kurtzke 1983) quantifiziert die Behinderung des Patienten in acht funktionellen Systemen, wobei für jedes System ein Behinderungsgrad zwischen 0 und 10 festgelegt wird. Der MSFC (Mul-

Multiple Sclerosis Functional Composite) ist eine Weiterentwicklung des EDSS durch die National Multiple Sclerosis Society (Fischer et al. 2001), in welche Einschränkungen der kognitiven Fähigkeiten in die Patientenbeurteilung mit einfließen.

1.2 Magnetresonanztomographie (MRT)

Die Magnetresonanztomographie (MRT) ist ein bildgebendes Verfahren, welches den Kernspin von Wasserstoffatomen im Gewebe zur Bildgebung nutzt. Die MRT bietet, insbesondere im Gehirn, einen anderen Methoden gegenüber überlegenen Weichteilkontrast, weshalb sie sich zum wichtigsten Verfahren zur Diagnostik und zur Verlaufskontrolle neurodegenerativer Erkrankungen entwickelt hat.

1.3 Die MRT als etablierte Methode in der Multiplen Sklerose

Die Magnetresonanztomographie gilt in dreierlei Hinsicht als zentraler Untersuchungsbaustein in der Multiplen Sklerose. Erstens ist sie Teil der Diagnostik (McDonald-Kriterien) und somit entscheidend für einen frühzeitigen Therapiebeginn. Zweitens lassen sich mittels MRT-Untersuchungen die im Gehirn stattfindenden pathophysiologischen Prozesse wie Ödembildung, Inflammation, Demyelinisierung, Axonverlust, Remyelinisierung und Gliose durch verschiedene Wichtungen bildlich darstellen und nachvollziehen. Drittens können diese Untersuchungen zur Beurteilung des Therapieerfolges herangezogen werden (Lövlad et al. 2010). Ebenfalls lassen sich durch den Einsatz von Gadolinium-haltigem Kontrastmittel Veränderungen der Blut-Hirn-Schranke darstellen, die mit einer Inflammation assoziiert sind und sich als Gadolinium-Anreicherungen in der T1-Wichtung äußern (Lövlad et al. 2010). Die bisherigen MS-Untersuchungsprotokolle sind sehr unterschiedlich, im Allgemeinen werden jedoch sagittale und axiale FLAIR-Aufnahmen und prä- und post-KM T1-Aufnahmen empfohlen (Lövlad et al. 2010). Bei FLAIR-Aufnahmen wird der Liquor unterdrückt, sodass Läsionen, die bei konventionellem T2-Kontrast vom hellen Liquorsignal überlagert sind, sichtbar gemacht werden.

1.4 Gehirnatrophie als Biomarker des Krankheitsprogresses bei der MS

Die Gehirnatrophie wird durch die prozentuale Gehirnvolumenabnahme in einer Zeiteinheit (/ Jahr) beschrieben. Es handelt sich dabei um einen natürlichen Prozess im Rahmen des Alterns, welcher bei neurologisch erkrankten Personen, z.B. bei MS, beschleunigt ablaufen kann (McFarland 2009). Die Atrophie kann durch MRT-Aufnahmen erfasst werden, indem die Veränderung des Gehirnvolumens zwischen zwei Zeitpunkten miteinander verglichen wird. Der Gehirnvolumenverlust wird von Miller et al. (2002) bei MS-Erkrankten mit 0,6 - 1 % / Jahr und bei Gesunden mit 0,3 - 0,6 % / Jahr angegeben, Hedman et al. (2012) beschreiben eine Atrophierate von 0,2 - 0,5 % / Jahr bei gesunden Erwachsenen.

Die Bestimmung der Atrophie erlaubt es, die Auswirkungen pathologischer Prozesse zwischen zwei Zeitpunkten darzustellen und zu quantifizieren. Diese korreliert besser mit dem klinischen Verlauf als eine üblicherweise durchgeführte Messung der Läsionslast oder -aktivität (Miller et al. 2002). Dabei reflektiert sie den Axonverlust, welcher das Substrat von irreversibler und fortschreitender funktioneller Gehirnzerstörung ist (Miller et al. 2002). Auch Popescu et al. (2013) schreiben der Atrophierate neben der Läsionslast eine prädiktive Wertigkeit für die Entwicklung klinischer Defizite im Langzeitverlauf einer MS-Erkrankung zu. Dabei unterscheidet sich der Verlauf der Hirnatrophie bei MS-Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen: Horakova et al. (2008) zeigten bei MS-Kranken im Verlauf von fünf Jahren eine stärkere Atrophie-Zunahme in kortikalen Regionen, in der grauen *deep grey matter* (Basalganglien, Thalamus, Mittelhirnkerne) und in den periventriculären Marklagern der weißen Substanz als bei Gesunden. Trotzdem ist das Ausmaß der Atrophie bei Erkrankten im Vergleich zu Gesunden nur geringfügig größer und der Prozess schreitet im Verlauf der Zeit nur langsam voran (Durand-Dubief et al. 2012). Miller et al. (2002) schreiben der Atrophierate gerade in der Erfassung der neurodegenerativen Komponente einer MS-Erkrankung eine sehr wichtige Rolle zu. Idealerweise wird diese hierfür im Rahmen der Routinediagnostik in Abständen von zwei Monaten nach einer Steroid-Stoßtherapie bestimmt, wodurch kurzfristige therapiebedingte Volumenschwankungen weitgehend ausgeschlossen werden können (Miller et al. 2002).

Zur Messung der Gehirnvolumenänderung ist die Magnetresonanztomographie besonders geeignet, da sie eine hohe 3D-Bildauflösung und einen guten Bildkontrast liefert, beides

elementare Punkte zur akkuraten Erfassung von Volumenänderungen (Miller et al. 2002). Weiterhin sind durch die fehlende Strahlenbelastung repetitive Aufnahmen für engmaschige Verlaufskontrollen möglich. Für die Messung der Gesamthirnatrophie muss das Hirnparenchym segmentiert werden. Hierfür empfiehlt sich eine FLAIR-Aufnahme, da durch die Unterdrückung des Liquors ein schärferer Kontrast zwischen Liquor und anderen Gewebearten (Meningen, Schädelkalotte u.a.) entsteht (Miller et al. 2002). Zur Erfassung einer lokalen Atrophie, beispielsweise in der weißen Substanz, können andere Bildwichtungen herangezogen werden (T1,T2 und protonengewichtete Aufnahmen), da hier der Kontrast zwischen grauer und weißer Substanz stärker ist (Miller et al. 2002).

1.5 Erfassung der Gehirnatrophie

In der vorliegenden Arbeit wurden MRT-Daten der longitudinalen Studie „Untersuchung des mittels MR-Spektroskopie messbaren axonalen Schadens bei Multipler Sklerose im Verlauf von 2 Jahren“ der Neurologie Göttingen verwendet (Studienleitung Ricarda Diem, Projektleitung Muriel Sättler/Gunther Helms). Die teilnehmenden Patienten litten entweder an einer schubförmigen oder einer sekundär progredienten MS. Ziel der Studie war ursprünglich, den Fortschritt der axonalen Schädigung während der RR- und SP-Erkrankungsphase zu vergleichen. Die in jeder Untersuchung erhobenen hochaufgelösten anatomischen Bilddaten wurden in dieser Arbeit zur Untersuchung der individuellen Atrophierate verwendet.

Hierfür wurde das SIENA-Verfahren eingesetzt, welches als „robust und akkurat“ beschrieben wurde (Smith et al. 2002). Insbesondere gegenüber technischen Stör-Faktoren gilt die Methode als relativ unempfindlich (Durand-Dubief et al. 2012). Der methodische Fehler des Programms, überprüft anhand von Einzelmessungen an gesunden Probanden, wird von Smith et al. (2002) mit 0,15 % angegeben. Damit liegt die Fehlerquote unterhalb der in der Literatur beschriebenen Zwei-Jahres-Gehirnatrophierate (Miller et al. 2002; Hedman et al. 2012), sodass der Einsatz des SIENA-Verfahrens in der vorliegenden Arbeit naheliegend erschien. Es wurden hochaufgelöste strukturelle 3D-MRT-Bilder bei 3 Tesla mit 1 mm isotroper Auflösung ausgewertet. Wir verglichen dabei die Gehirnatrophie im Verlauf von zwei

Jahren bei RR-MS-Patienten, SP-MS-Patienten und bei Gesunden. Da die ermittelten Ergebnisse trotz exzellenter Bildqualität mit deutlichen Fehlern behaftet waren, wurde in einem zweiten Schritt eine detaillierte und systematische Fehlersuche durchgeführt. In diesem Zusammenhang wurde ein Fall einer seltenen, besonders rasch fortschreitenden MS-Sonderform, der sogenannten Marburg-Variante untersucht. Die Marburg-Variante wird auch als „maligne MS“ bezeichnet, da sie einen besonders schweren, rasch progredienten Verlauf aufweist und innerhalb von Wochen bis Monaten zu schwersten Behinderungen oder sogar zum Tod führt (Elenein et al. 2011). Darüber hinaus wurden Bilder eines tatsächlich wachsenden Kindergehirns mit SIENA ausgewertet.

1.6 Fragestellungen

Primär: Wie unterscheidet sich die Atrophierate als Ausdruck des Axonverlustes bei RR-MS-Patienten, SP-MS-Patienten und Gesunden im Verlauf von zwei Jahren?

Sekundär: Aus welchem Grund führte das mutmaßlich robuste SIENA-Verfahren zu deutlich fehlerbehafteten Ergebnissen?

2 Material und Methoden

2.1 Studienbeschreibung

Die in dieser Arbeit verwendeten Bilddatensätze stammen aus der Studie „Untersuchung des mittels MR-Spektroskopie messbaren axonalen Schadens bei Multipler Sklerose im Verlauf von 2 Jahren“, die an der Universitätsmedizin Göttingen unter der Leitung von Dr. med. Muriel Sättler (Neurologische Klinik), Dr. med. Ricarda Diem (stellvertretende Projektleitung) und Dr. rer. nat. Gunther Helms (Projektleitung der Abteilung MR-Forschung in der Neurologie und Psychiatrie) durchgeführt wurde.

2.1.1 Ziel der Studie

Primäres Ziel dieser longitudinalen Studie war es, bei Patienten mit Multipler Sklerose den Zeitpunkt im Krankheitsverlauf zu bestimmen, an dem die Zunahme des axonalen Schadens am größten ist. Hintergrund war der Forschungsansatz, die aktuellen antiinflammatorischen Therapiekonzepte um neue neuroprotektive Ansätze zu erweitern, da der neuronale und axonale Schaden für die chronische Behinderung der Patienten entscheidend ist (Siffrin et al. 2010).

Die Läsionslast von MS-Patienten kann durch konventionelle MRT-Aufnahmen festgestellt werden. Diese sagen jedoch wenig über zugrundeliegende pathophysiologische Prozesse wie Inflammation, Demyelinisierung und Axonverlust aus (Fu et al. 1998).

2.1.2 Studiendurchführung

Es wurden Patienten aus der MS-Ambulanz der Universitätsmedizin Göttingen rekrutiert. Alle 45 Teilnehmer (Alter 42 ± 11 Jahre, 30 Frauen und 15 Männer) hatten zum Zeitpunkt des Rekrutierungsbeginns eine nach McDonald-Kriterien gesicherte MS-Diagnose. Eingeschlossen wurden sowohl Patienten mit einer schubförmigen als auch einer sekundär-progredienten Verlaufsform. Als Einschlusskriterium für die Gruppe der schubförmigen MS-Verlaufsform galt weiterhin ein neurologisches Residuum im Sinne eines objektivierbaren neurologischen Defizits. Bei den Patienten mit einer sekundär-progredienten MS musste der Verlauf seit mindestens zwei Jahren chronisch progredient sein. Ebenfalls mussten die

Patienten für die Durchführung der spektroskopischen Untersuchungen geeignete Läsionen aufweisen. In beiden Gruppen wurden zum Zeitpunkt der Aufnahme in die Studie sowie im Laufe von zwei Jahren in ca. halbjährlichem Abstand klinische Untersuchungen (mit Erfassung des EDSS- und des MSFC-Scores) und MRT-Analysen durchgeführt. Akut entzündliche Läsionen wurden mittels Kontrastmittelgabe während der MRT-Untersuchung identifiziert und entsprechende Patienten ggf. von weiteren Untersuchungen ausgeschlossen, da ein lokales, reversibles Ödem die mittels MR-Spektroskopie gemessene NAA-Konzentration verringert (Ge 2006; Helms 2001). Ein Schub mit klinischer Manifestation musste bei den teilnehmenden Patienten mindestens sechs Wochen zurückliegen, da nach dieser Zeitspanne die Kontrastmittel-Aufnahme der Läsionen nicht mehr relevant erscheint: Cotton et al. (2003) eruierten eine mittlere Dauer der Kontrastmittelaufnahme von 3 Wochen. Der Untersuchungszeitpunkt wurde in einigen Fällen entsprechend verschoben, um die Zeitspanne von sechs Wochen zwischen Schub und MRT-Untersuchung zu gewährleisten. Zur Bestimmung der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse wurden zwölf gesunde Probanden zwei Mal im Abstand von einigen Wochen (18 ± 2.3) untersucht. Das Alter in dieser Gruppe betrug 42 ± 12 Jahre.

2.1.3 Ethik

Die beschriebene Studie wurde von der Ethikkommission der Universitätsmedizin Göttingen genehmigt (Ethikantrag 12/10/04) und wurde unter Befolgung der GCP-Prinzipien sowie der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Bei Einschluss in die Studie wurde von jedem Teilnehmer eine schriftliche Einwilligung eingeholt, die Durchführung studienspezifischer Prozeduren erfolgte erst nach der Dokumentation des schriftlichen Einverständnisses. Alle Auswertungen personenbezogener Studiendaten erfolgten pseudonymisiert. Nach Abschluss der Studie wurden die Prüfungsunterlagen gemäß Bestimmungen des Datenschutzes verwaltet und archiviert.

2.2 MRT

2.2.1 Technische Daten

Alle Untersuchungen wurden mit einem 3-Tesla-Magnetresonanztomographen (Magnetom Trio, Siemens Healthcare, Erlangen) an der Serviceeinheit „MR-Forschung in der Neurologie und Psychiatrie“ der Universitätsmedizin Göttingen durchgeführt. Zum Datenempfang kam eine 8-Kanal-Kopfspule (InVivo, Gainesville, FL, USA) zum Einsatz.

2.2.2 Messprotokoll

Die durchgeführten Untersuchungen umfassten MR-Bildgebung und MR-Spektroskopie. 3D-Aufnahmen mit isotroper Auflösung sind besonders für die Bildgebung bei MS geeignet (Mills et al. 2007). Zunächst erfolgten sagittale und transversale T1- und T2-gewichtete 3D-Aufnahmen. Im Anschluss wurde nach Verabreichung gadoliniumhaltigen Kontrastmittels (Gadovist®, Bayer-Schering, i.v.-Verabreichung einer Einzeldosis von 0,1 mmol / kg KG, 1 molare Injektionslösung mit 604,72 mg Gadobutrol / ml) eine weitere Serie axialer T1-gewichteter Aufnahmen aufgezeichnet, mit Hilfe derer eventuell vorliegende akut-entzündliche Prozesse im Sinne sogenannter *loadig lesions* (Kontrastmittel-aufnehmende Läsionen) nachgewiesen werden konnten.

Die MRS beinhaltete spektroskopische Einzelvolumen-Untersuchungen von ausgewählten Läsionen und der weißen Substanz/NAWM.

In Tabelle 1 ist das Untersuchungsprotokoll dargestellt.

	Dauer [Minuten]	Wichtung/Se- quenz/Ebene	TE/TR/ α [ms/ms/°]	Voxelgröße/ Schichtdi- cke [mm]/[mm]
1)	7,54	T1/TFL/sagittal	3,26/2250/9°	1x1x1/ 1
2)	4,40	T2/TSE/transversal	419/2900/-	1x1x1/ 1
3)	7,44	T2/TIRM/sagittal	403/6000/-	1x1x1/ 1
4)	2,25	PD+T2/TSE/transversal	15+104/6250/-	1x1x6/ 6
5)	1,32	T2/FLAIR/transversal	124/10000/-	1x0,8x6/ 6
6)	1,56	T2/TSE/sagittal	125/4790/-	0,8x0,8x3/ 3

Kontrastmittel-Gabe, einmalig 0,1 mmol Gadobutrol/kg KG

7)	4.23	T1/TFL/sagittal	3,26/2250/9°	1x1x1/ 1
8)	4x7	Spektroskopie	Wenn möglich, 2 Volumina in NAWM und 2 in ausgewählten Läsionen	

Tabelle 2: Untersuchungsprotokoll.

Die hier eingesetzte MP-Rage-Sequenz (im Protokoll genannt TFL Turbo-FLASH: *Fast Low Angle Shot*) erzeugt T1-gewichtete Bilder. Die Rohdatenmatrix in einer k-Raum Ebene wird nach einer Inversion der Magnetisierung mit einer Serie von schnellen Gradientenechos (Echoabstand 8,7 ms, Echozeit (TE) 3,26 ms, Bandbreite 200 Hz / px) gemessen, die mit einem kleinen Flipwinkel ausgelesen werden. Der Bildkontrast wird durch die Wartezeit nach dem 180°-Präparationspuls modifiziert, im vorliegenden Fall Inversionszeit TI = 900 ms. Mit dieser Sequenz stellen sich MS-Läsionen hypointens dar. Mit einer T1-Wichtung können nach Kontrastmittelgabe akute Läsionen identifiziert werden, die sich durch die KM-Aufnahme hyperintens darstellen.

In der Akutphase erfolgt eine homogene Kontrastmittelaufnahme, im weiteren Verlauf kann diese ringförmig und randbetont werden, insbesondere wenn es sich um eine alte, reaktivierte Läsion handelt (Ge 2006; Lövblad et al. 2010).

Die TSE-Sequenz (*Turbo-Spin-Echo*), bei welcher eine Serie von 180°- Pulsen appliziert wird, liefert T2-gewichtete Bilder. Sie besitzt eine lange effektive Echozeit von TE = 124 ms. In diesen Bildern sind MS-Läsionen hyperintens (durch verschiedene pathologische Prozesse

wie Ödembildung, De- und Remyelinisierung u.a. (Zettl und Mix 2004)), wobei keine genaue Unterscheidung zwischen akuter und chronischer Läsion erfolgen kann.

Auch in der TIRM-Sequenz (*Turbo Inversion Recovery Magnitude*) wird eine TSE-Sequenz genutzt. Hierbei wird zusätzlich die freie Flüssigkeit des Liquors durch eine *Inversion-Recovery*-Technik mit langer Inversionszeit (FLAIR, *Fluid Attenuated Inversion Recovery*, Inversionszeit $TI = 2100$ ms, *repetition time* $TR = 6000$ ms) unterdrückt. Der Inversionspuls wird so geschaltet, dass die T1-Relaxation des Liquors zum Zeitpunkt TI ihren Nulldurchgang hat, was zu einer Signalauslöschung führt. Auf diese Weise können periventrikuläre Läsionen, die in einer konventionellen T2-Aufnahme schlecht vom Liquorsignal unterschieden werden können, besser sichtbar gemacht werden.

In der folgenden Abbildung ist das Gehirn eines MS-Patienten mit ausgedehnten Läsionen in den drei unterschiedlichen Sequenzen TFL, TIRM und TSE dargestellt. Die Aufnahmen sind jeweils auf ein MNI-Standardgehirn (eine gemittelte Standardaufnahme aus 152 individuellen T1-gewichteten Gehirnbildern mit 1 mm Auflösung des Montreal Neurological Institute) koregistriert (gedreht).

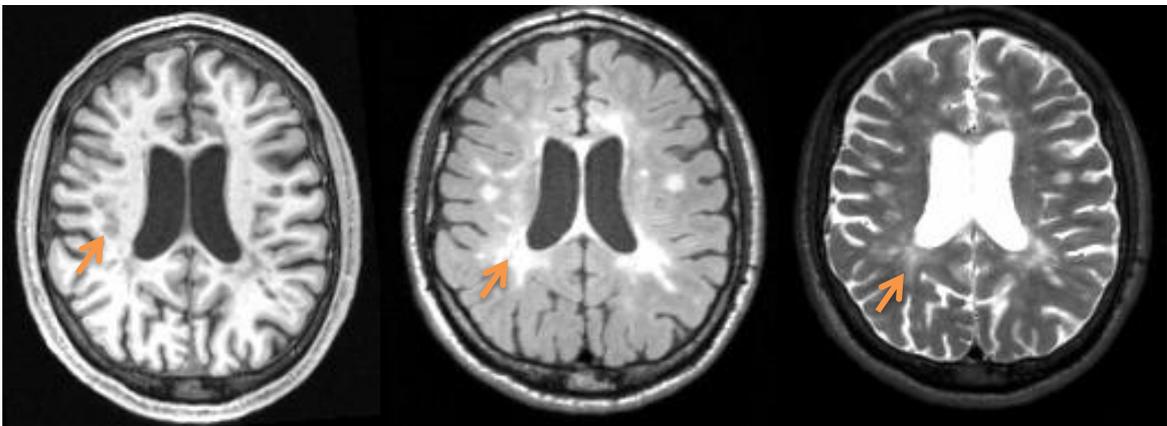


Abbildung 1: Bildbeispiel eines Probanden für die verwendeten Sequenzen; von links nach rechts: TFL, TIRM und TSE. Links in der Abbildung ist die T1-gewichtete TFL-Sequenz dargestellt, Liquor ist dunkel, Fettgewebe ist hell. Die graue Substanz ist hypointenser als die weiße. Die MS-Läsionen zeigen sich in dieser Wichtung als hypointense Areale innerhalb der weißen Substanz (Pfeil). Das 3D-Volumen hebt sich in der TFL-Aufnahme durch einen Rausch-Ausgleich/-*Offset* ab. In der Mitte liegt die TIRM-Sequenz. Die Flüssigkeit (Liquor) wurde supprimiert und stellt sich dunkel dar. Die Läsionen sind gut von den Ventrikelräumen abzugrenzen und stellen sich im Vergleich zur gesunden weißen Substanz deutlich hyperintens dar (Pfeil). Rechts wird

die TSE-Sequenz gezeigt: Liquorräume stellen sich stark hyperintens dar, Läsionen (Pfeil) sind hyperintensere als die weiße Substanz.

2.2.3 Preprocessing

Alle Magnetresonanztomographen erzeugen Daten im DICOM-Format (*Digital Imaging and Communications in Medicine*), welches das Standardformat für Bildgebung in der Medizin ist und einen Datenaustausch unabhängig von Modalität und Gerätehersteller ermöglicht. Ursprünglich wurde dieses Format vom American College of Radiology und dem National Electrical Manufacturers Association entwickelt. Die in dieser Arbeit verwendeten Bilder wurden in das Nifti1-Format (2D auf 3D) umgewandelt. Das Nifti1-Format ist ein adaptiertes Analyse-Format, das klassischerweise aus einer .hdr und einer .img-Datei besteht. Die .hdr-Datei enthält dimensionale, identifizierende und einige Prozessierungsinformation. Die .img-Datei enthält die Voxeldaten, die durch die .hdr-Datei beschrieben werden. Diese Bildumwandlung erfolgte mit dem Programm MRicro, das zur 3D-Visualisierung von Gehirnbildern herangezogen werden kann. MRicro wurde von Chris Rorden (McCausland Center for Brain Imaging, Columbia SC, USA) entwickelt und ist unter <http://www.mccausland-center.sc.edu/mricro/mricro/index.html> frei verfügbar.

Ein weiteres Programm, das zur visuellen Darstellung der Gehirnbilder herangezogen wurde ist fslview, das zum FSL-Paket (s. Abschnitt 2.3) dazu gehört. Es ermöglicht die Überlagerung von registrierten Bildern zur visuellen Überprüfung der Arbeitsschritte.

2.3 FSL SIENA

SIENA (*Structural Image Evaluation, using Normalization, of Atropy*) ist Teil der FMRIB (Oxford Centre for Functional Magnetic Resonance Imaging of the Brain) Software-Bibliothek (www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/). Dieses kostenfrei verfügbare Programmpaket enthält verschiedene Funktionen zur Bearbeitung von fMRT- (funktionelle Magnetresonanztomographie), MRT- und DTI- (Diffusions-Tensor-Bildgebung) Gehirnaufnahmen. Die Software kann unter anderem zur Analyse von Atrophie-bedingten Veränderungen der Gehirnsubstanz eingesetzt werden. Die entsprechenden Analysen können dabei *cross-sectional*, d.h. anhand eines an nur einem Zeitpunkt aufgenommenen Bildes, oder aber anhand mehrerer über einen bestimmten Zeitraum (*longitudinal*) aufgenommener Aufnahmen erfolgen (Smith et

al. 2001a; Smith et al. 2002). Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Version 3.2 des FSL-Pakets und die longitudinale Funktion von SIENA eingesetzt.

SIENA berechnet aus zwei Bild-Datensätzen eine prozentuale Volumenänderung des Hirnparenchyms (*Percentual Brain Volume Change*, PBVC) zwischen den zwei Untersuchungszeitpunkten (Smith et al. 2001a). In der vorliegenden Arbeit wurden dafür TFL-Bilder der einzelnen Studienteilnehmer analysiert, die Auswahl dieser Sequenz wird im Ergebnis-Abschnitt erläutert. Das SIENA-Paket beinhaltet mehrere Funktionen, die nacheinander automatisch ablaufen. Zunächst werden im *input*-Bild die Gehirnabschnitte vom Schädelknochen getrennt (Smith 2002) (s. Abschnitt 2.3.1). Die entstandenen „Gehirnbilder“ werden daraufhin aufeinander registriert, abgeglichen und es wird ein Bild erzeugt, welches genau „auf halbem Weg“ (*halfway-to*) zwischen beiden Ursprungsbildern liegt. So wird sichergestellt, dass beide Bilder einem ähnlichen Grad an interpolationsbedingter Unschärfe unterliegen (Smith et al. 2002) (s. Abschnitt 2.3.2). Es folgt eine Segmentierung in drei Gewebeklassen (graue Substanz, weiße Substanz und Liquor), die es ermöglicht, die Pixel in entsprechende Kategorien einzuteilen (Zhang et al. 2001) (s. Abschnitt 2.3.3). Der Übergang von Liquor (bzw. *non-brain*) zum Hirnparenchym wird interpoliert und so die Grenzflächen identifiziert. An dieser Stelle wird die Hirnvolumenänderung gemessen und in einem letzten Schritt in eine globale prozentuale Hirnvolumenänderung umgerechnet (final PBVC [%]).

Im Folgenden sollen die einzelnen Arbeitsschritte von SIENA erläutert werden. Wird SIENA gestartet, laufen nacheinander automatisch folgende Schritte ab: BET, FLIRT, FAST, Interpolation der Grenzfläche und endgültige Atrophie-Bestimmung (SIENA).

2.3.1 BET (*Brain Extraction Tool*)

Die Entwicklung des BET hatte zum Ziel, eine vollautomatisierte Unterscheidung von Gehirn-Gewebe und „Nicht-Gehirn-Gewebe“ zu ermöglichen (Smith 2002). Dies erfolgt in folgenden Arbeitsschritten: Zunächst wird ein Intensitätshistogramm des *input*-Bildes erstellt, das eine grobe Unterscheidung zwischen Gehirn und Nicht-Gehirn zulässt. Das Zentrum des 3D-Volumens wird ermittelt, danach wird ein kreisförmiges Netz erzeugt, das

sich vom Bildzentrum aus an die Gehirngrenzen herantastet und diese so genau wie möglich bestimmt (s. Abb. 2).

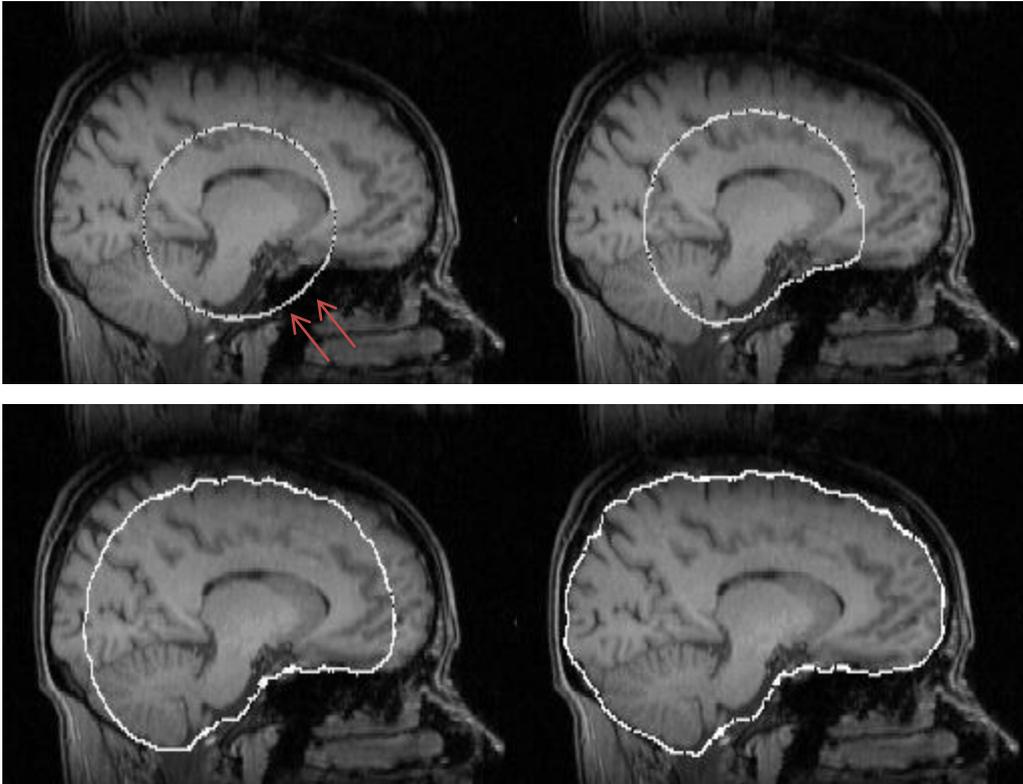


Abbildung 2: BET mod. durch S. Leiterholt, aus Smith 2002, S. 149.

Der initiale Durchmesser des Netzes beträgt den halben ermittelten Radius des Kopfes. An einigen Stellen (rote Pfeile) liegen die Gehirngrenzen bereits zu Beginn innerhalb des Anpassungsnetzes. Dies hat zur Folge, dass sich das Netz an dieser Stelle zurückziehen muss (anstatt sich von innen nach außen an die Gehirngrenzen heranzutasten). Laut Smith (2002) liefert letztere Form der Netzausbreitung schlechtere Ergebnisse. Wie beschrieben, kam es bei den vorliegenden Daten mit 256 mm FoV häufig dazu, dass der Mittelpunkt, von welchem sich das BET-Netz ausbreitet, ventral außerhalb des Gehirns lag. Dies führte zu fehlerhaften Segmentierungen. Um Segmentierungsfehler zu vermeiden, wurde eine manuelle Vorregistrierung der Bilder durchgeführt.

2.3.2 FLIRT (*FMRIB's Linear Image Registration Tool*)

Um Bilder einer Person zu verschiedenen Zeitpunkten miteinander vergleichen zu können, müssen diese registriert (übereinander gelegt) und auf ein identisches Punkteraster

interpoliert werden (Jenkinson und Smith 2001). Dies erfolgte mit Hilfe der sogenannten FLIRT-Funktion, die immer mit zwei Bildern arbeitet und diese in die *halfway-to*-Position bringt. In der vorliegenden Auswertung wurde das Ausgangsbild (Zeitpunkt 0) jedes Studienteilnehmers mit einer MNI-Standard-Aufnahme registriert. Die Registrierung der nachfolgenden Aufnahmen (Zeitpunkte 1-4) erfolgte anschließend mit der bereits registrierten Ausgangs-Aufnahme (Zeitpunkt 0). So konnte sichergestellt werden, dass der Mittelpunkt des Netzes reproduzierbar positioniert wurde.

Die Güte der affinen Transformation, die für beide Bilder benötigt wird, um sie in Übereinstimmung zu bringen, wird von einer intensitätsbasierenden Kostenfunktion beschrieben. Die Kostenfunktion wurde in dieser Arbeit mit Hilfe der Einstellung *mutual information* eingesetzt, um die gemeinsame Information beider Bilder auch bei unterschiedlichem Kontrast zu maximieren (Viola und Wells 1997). Eine lineare räumliche Abbildung (genannt Transformation) wird durch eine Matrix mit 12 Zahlen repräsentiert, die mit Koordinatenvektoren multipliziert wird und so die neuen Koordinaten bildet (Smith et al. 2000). Für die vorbereitenden Registrierungen wurde die Transformation auf *Rigid body 6 Parameter* eingeschränkt, d.h. drei Rotationen und drei Translationen waren möglich. Die Transformationen werden abschließend auf die ursprünglichen Bilder appliziert, sodass am Ende zwei registrierte Kopfbilder und zwei registrierte Gehirnmasken entstehen (Smith et al. 2001a). Diese fließen in die weitere SIENA-Untersuchung ein.

2.3.3 FAST (*FMRIB's Automated Segmentation Tool*)

Der nächste SIENA-Arbeitsschritt ist eine Gewebesegmentation. FAST segmentiert die Pixel der Gehirnmaske, die vorher durch BET erzeugt wurde. Je nach Fokus der Untersuchung wird eine unterschiedliche Anzahl an Gewebeklassen differenziert. In der vorliegenden Arbeit wurden drei Segmentierungsklassen ausgewählt: graue Substanz, weiße Substanz und Liquor. Weiterhin wird eine Korrektur der räumlichen Intensitätsunterschiede durchgeführt (Zhang et al. 2001). Es werden die Eckpunkte der Gehirnoberfläche im Bild ermittelt, die an der Grenze zwischen Hirngewebe und Ventrikel oder „Nicht-Gehirn“ liegen (Smith et al. 2001b). Diese Punkte spannen eine tesselierte Oberfläche auf, an der der letzte Schritt von SIENA erfolgt, die Einschätzung der Hirnvolumenänderung final PBVC [%].

2.3.4 Einschätzung der Hirnvolumenänderung

Da, wie unter 2.3.1 beschrieben, das durch BET erzeugte Netz in den vorliegenden Datensätzen häufig außerhalb des Gehirns lag, wurde dieser Arbeitsschritt vorab manuell durchgeführt. Ebenso wurde FLIRT vorab durchlaufen, sodass alle Bilder mit der ersten Aufnahme registriert wurden. Hierdurch wurde der Mittelpunkt des BET-Prozesses neu definiert, sodass dieser identisch für die seriellen Aufnahmen war. Es folgte die Auswertung mit SIENA, die die prozentuale Volumenänderung (final PBVC) lieferte. An den im letzten Abschnitt erwähnten tesselierten Oberflächen wurden lokal die senkrechten Verschiebungen zwischen beiden Bildern ermittelt und als Bild dargestellt:

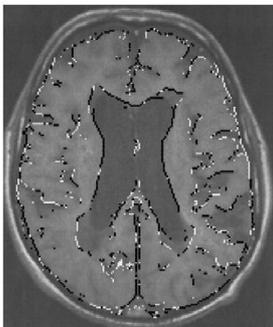


Abbildung 3: Darstellung der Eckpunktveränderung (Smith et al. 2001a, Fig. 4, S. 469. Mit freundlicher Genehmigung durch den Autor).

Dem Originalbild überlagert wird Atrophie dunkel und „Wachstum“ hell dargestellt.

Die mittlere senkrechte Gehirnoberflächenbewegung ergibt sich aus dem Voxelvolumen geteilt durch die Anzahl an Eckpunkten multipliziert mit der Voxelfläche (Smith et al. 2001a). Dieser Wert wird in einem letzten Schritt mit dem Verhältnis von Gehirnvolumen zu Gehirnoberfläche verrechnet, woraus sich schließlich die „PBVC“ ergibt, die prozentuale Gehirnvolumenänderung zwischen den beiden untersuchten Bildern (Smith et al. 2001a).

2.4 Untersuchung der Hirnvolumenänderung mittels SIENA

2.4.1 Patientenkollektiv

Initial lagen Daten von 45 Studienpatienten (30 Frauen, 15 Männer) vor. In die Endauswertung flossen jedoch wegen unzureichender oder fehlender *follow-up*-Untersuchungen nur Aufnahmen von 34 Patienten (23 Frauen, 11 Männer) ein. Von 7 Patienten wurde nur die *Baseline*-Untersuchung durchgeführt, 4 Patienten nahmen nur einen weiteren *follow-up*-

Termin wahr. Unter den 34 ausgewerteten Patienten litten 20 an einer schubförmigen MS (RR), 11 an einer sekundär-progredienten Form (SP), bei 3 Patienten konnte die Verlaufsform nicht sicher bestimmt werden. Die Untersuchungen erfolgten in einem ungefähr halbjährlichen Intervall. Die Kontrollgruppe wurde aus 12 gesunden Personen gebildet (8 Frauen, 4 Männer), von denen insgesamt jeweils zwei MRT-Bilder vorlagen. Diese wurden in einem Abstand von ca. 3 Monaten aufgenommen und dienten der Reproduzierbarkeit und Fehlerermittlung der Methode. Das Patientenkollektiv wird in Abbildung 4 dargestellt.

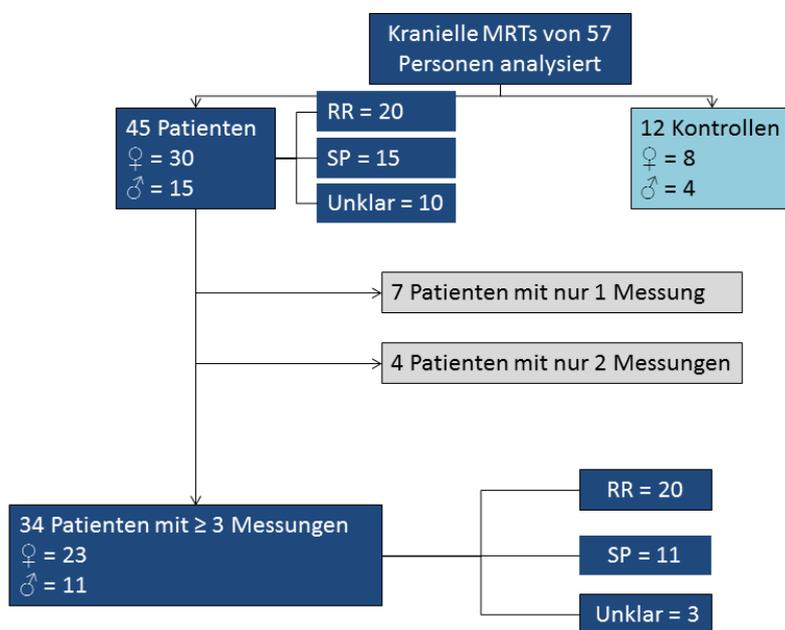


Abbildung 4: Baumdiagramm der Studienteilnehmer.

2.4.2 Untersuchungsintervalle

In der Literatur wird die Gehirnatrophierate üblicherweise in Prozent/Jahr angegeben. Da in einem halben Jahr keine sehr großen Volumenunterschiede zu erwarten sind, wurde im Rahmen dieser Arbeit zunächst die Hirnvolumenänderung innerhalb eines einjährigen und zweijährigen Intervalls betrachtet (Zeitpunkt 0>2 und 0>4). In den weiteren Abschnitten werden die betrachteten Bilder in folgender Nomenklatur dargestellt: „0“ bezieht sich auf das *Baseline*-Bild, die Zahlen 1 bis 4 für die jeweiligen Folgeaufnahmen. Entsprechend meint 0>2 den Vergleich des *Baseline*-Bildes mit der zweiten Folgeaufnahme (nach einem

Jahr) und $0>4$ den Vergleich des *Baseline*-Bildes mit der vierten Folgeaufnahme (nach zwei Jahren).

Weiterhin wurde in Anlehnung an Smith et al. eine Transitivitätsanalyse (Additivitätsanalyse) (Smith et al. 2001a) durchgeführt, bei der überprüft wird, ob die Hirnvolumenänderung zwischen $0>4$ mit der Summe der Intervalle $0>2 + 2>4$ übereinstimmt. Hierzu wurde zusätzlich die Volumenänderung zwischen Zeitpunkt 2 und 4 gemessen. Bei einer aussagekräftigen Untersuchung sollten die Messergebnisse transitiv sein, d.h. die Gehirnatrophierate, die zwischen Bild 0 und 4 (*Baseline* und *Zwei-Jahres-follow-up*) gemessen wird, sollte der Summe der Atrophierate von Bild 0 und 2 (*Baseline* und *Ein-Jahres-follow-up*) + 2 und 4 (*Ein-Jahres-follow-up* und *Zwei-Jahres-follow-up*) entsprechen.

Schließlich wurden im weiteren Verlauf der Auswertung die Betrachtungsintervalle erweitert:

- 1) Die Hirnvolumenänderung wurde im Gesamtverlauf der zwei Studienjahre charakterisiert ($0>1$, $0>2$, $0>3$, $0>4$)
- 2) Ein alternativer Betrachtungszeitraum wurde ausgewählt ($1>2$ und $1>4$), bei welchem das *Baseline*-Bild unberücksichtigt blieb. Der zugrunde liegende Gedanke war, dass SIENA das erste Gehirn (Zeitpunkt 0, *Baseline*) fälschlicherweise (beispielsweise durch einen Segmentierungsfehler) als zu klein eingeschätzt haben könnte, sodass der Vergleich mit einem Folgezeitpunkt nur eine Volumenzunahme ergeben würde. Bei insgesamt neun Probanden waren die Werte der $0>2$ -Messung positiv und zeigten hiermit eine Hirnvolumenzunahme an. Von sechs der neun Probanden gab es ausreichend Bilder (mindestens vier), um die zusätzliche Analyse durchzuführen. Von den sechs Patienten waren einer männlich und fünf weiblich, je drei hatten eine RR-MS und eine SP-MS.

2.4.3 Skalierungskorrektur im MS-Kollektiv

Die schon früh gemachte Beobachtung, dass SIENA im MS-Patientenkollektiv eine fälschliche Hirnvolumenzunahme feststellte, wurde hypothetisch einem Skalierungsfehler zuschreiben, da SIENA bei der Registrierung auch eine Skalierung des Bildvolumens zulässt. In einem zweiten Auswertungsschritt wurde daher eine Skalierungskorrektur (corr. final PBVC) vorgenommen. Dafür wurden die entsprechenden Transformationskoordinaten x , y ,

z aus der Matrix der FLIRT-Registrierung ermittelt und hieraus die relative (rel.) Volumenänderung durch Multiplikation der Koordinaten kalkuliert ($x*y*z$). Diese wurde wiederum mit den initialen final PBVC-Werten nach folgender Formel verrechnet:

$$\text{Corr. final PBVC [\%]} = ((1 + \text{final PBVC [\%]} / 100) * (\text{rel. Volumenänderung}) - 1) * 100.$$

2.4.4 Statistische Auswertung

Alle Abbildungen zur Ergebnisdarstellung (Boxplots, Scatterplots) wurden mit KaleidaGraph V.3.6, Synergy Software, Reading, PA, USA erstellt.

Die statistische Auswertung erfolgte ebenfalls mit Hilfe von KaleidaGraph. Der t-Test des Programms arbeitet mit einem Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$.

Unterschiede zwischen den Hirnvolumenänderungen des Ein- und Zwei-Jahresintervalls der gleichen Patientengruppe wurden im gepaarten t-Test untersucht. Entsprechend wurden in diese Subanalyse nur jene 24 Patienten eingeschlossen, über deren vollständiges Bildmaterial (fünf Bilder, verteilt über zwei Jahre) verfügt werden konnte.

Weitere Vergleiche zwischen Patienten und Kontrollen, zwischen den MS-Verlaufsformen und zwischen den Geschlechtern, wurden im ungepaarten t-Test untersucht.

2.5 Kontrollierte Auswertung von Individuen

Aufgrund der früh gemachten Beobachtung, dass SIENA im erwachsenen MS-Patientenkollektiv eine Hirnvolumenzunahme feststellte, diente die kontrollierte Auswertung von Individuen der Verifizierung des Verfahrens bzw. der Untersuchung von Fehlerquellen.

2.5.1 Einfluss der Kopfposition

Für die Untersuchung des Einflusses der Kopfposition auf die Messergebnisse wurde eine zusätzliche gesunde Kontrollperson untersucht. Innerhalb einer Sitzung änderte diese Person zwischen den Messungen systematisch die Kopfposition:

1. Kopfposition, die ebenfalls durch die Studienprobanden eingenommen wurde
2. Kopf in der MRT-Spule etwas nach unten verschoben
3. Kopf leicht nach links gedreht

4. Kopf leicht nach hinten geneigt

2.5.2 Starke Atrophierate und hohe Läsionslast

Wir bezogen zusätzlich die Daten eines Patienten mit der sogenannten MS-Marburg-Variante, welche durch einen fulminanten Verlauf gekennzeichnet ist, in unsere Analysen ein. Der Patient war unter vergleichbaren Bedingungen im Rahmen der MS-Epo-Studie (Heilversuch der Marburg-Variante mittels Erythropoietin) am Forschungs-MRT der Universitätsmedizin Göttingen untersucht worden. Durch die für diese Erkrankungsform charakteristische hohe Läsionslast und starker Gehirnatrophie konnte die Segmentierung und Auswertung durch SIENA unter diesen besonderen Umständen untersucht werden. Die Nutzung der MRT-Aufnahmen erfolgte mit freundlicher Genehmigung von Prof. Dr. Dr. H. Ehrenreich (Max-Planck-Institut für experimentelle Medizin Göttingen und Abteilung Neuropädiatrie Universitätsmedizin Göttingen). Es wurden T1-gewichtete Bilder eines 14-jährigen männlichen Patienten evaluiert. Die Untersuchungen wurden in Sedierung durchgeführt, sodass keine Bewegungsartefakte entstehen konnten. Insgesamt lagen sieben Untersuchungen vor, die initial vier Mal im Abstand von sechs Wochen und anschließend zwei Mal nach zwanzig Wochen durchgeführt wurden.

2.5.3 Untersuchung eines wachsenden Gehirns

Weiterhin wurde ein im Gegensatz zu bei Erwachsenen tatsächlich wachsendes Gehirn mit SIENA untersucht. Im Rahmen einer Monitoring-Studie bei subklinischer x-ALD (mit freundlicher Genehmigung durch Prof. Dr. Dr. R. Steinfeld und Dr. S. Dreha-Kulaczewski, Abteilung Neuropädiatrie Universitätsmedizin Göttingen), waren TFL-Bilder eines Kindes untersucht worden, bei welchem eine ALD schon vor Symptombeginn diagnostiziert worden war. Es wurden regelmäßige MRT-Untersuchungen durchgeführt, sodass es sich faktisch um Bilder eines zunächst normal wachsenden Gehirns handelte. Auch in diesem Fall wurden die Aufnahmen in Sedierung durchgeführt, sodass Bewegungsartefakte die Ergebnisse nicht beeinflussen konnten.

Es wurden acht Untersuchungen durchgeführt, die zunächst zweimal im Abstand von einem Jahr und danach in etwa halbjährlich stattfanden. Es folgte die Auswertung der Ge-

hirnvolumenänderung mittels SIENA und eine anschließende Skalierungskorrektur. Letztere wurde vorgenommen, da SIENA die Schädelkalotte als konstante Größe betrachtet hatte, diese sich bei einem wachsenden Gehirn und Kopf wie im vorliegenden Fall eines Kindes jedoch änderte.

3 Ergebnisse

Zunächst werden die Ergebnisse der primären Auswertung dargestellt, gefolgt von den sich aus den Einzeluntersuchungen ergebenden Modifikationen.

3.1 SIENA-Auswertung der verschiedenen Sequenzen

Von allen Studienteilnehmern wurden zu jedem Messzeitpunkt Bilder mit drei verschiedenen MRT-Sequenzen aufgenommen: TSE, TFL und TIRM. Für die Auswertung mit SIENA wurde die TFL-Sequenz eingesetzt, da das Programm mit diesen Bildern im Vergleich die besten Ergebnisse lieferte, wie in der Folge beschrieben wird.

3.1.1 Hirnvolumenänderung in TFL, TIRM und TSE

Um die drei Sequenzen aussagekräftig miteinander vergleichen zu können, wurde zunächst ein Patient selektiert, der eine starke Atrophierate aufwies. Es zeigte sich, dass die Ergebnisse des Zweijahresvergleichs ($0 > 4$) in den einzelnen Sequenzen stark voneinander abwichen: TFL -4,52 %, TSE -0,16 % und TIRM -6,53 %. Da das SIENA-Verfahren auf die Segmentierung unter der intrakraniellen Maske aufbaut, soll diese zunächst betrachtet werden.

3.1.2 Darstellung der SIENA-Segmentierungsschritte in den einzelnen Sequenzen

Die Ergebnisse der Segmentierung unter der Gehirnmaske durch FAST werden in den folgenden Abbildungen dargestellt. Ausgewählt wurden die Bilder des unter 3.1.1 betrachteten Patienten. Bei den Abbildungen handelt es sich immer um einen einzelnen Untersuchungszeitpunkt, gezeigt werden die unterschiedlich gewichteten Bilder in einer identischen Schnittebene.

Insgesamt wurden drei Gewebeklassen (Liquor, graue und weiße Substanz) segmentiert. Dargestellt wird das unsegmentierte Bild (grau), darüber liegt die entsprechende Wahrscheinlichkeit der jeweiligen Gewebeklasse (gelb=hoch/rot=niedrig).

a) Untersuchung der Segmentierung der TFL-Bilder

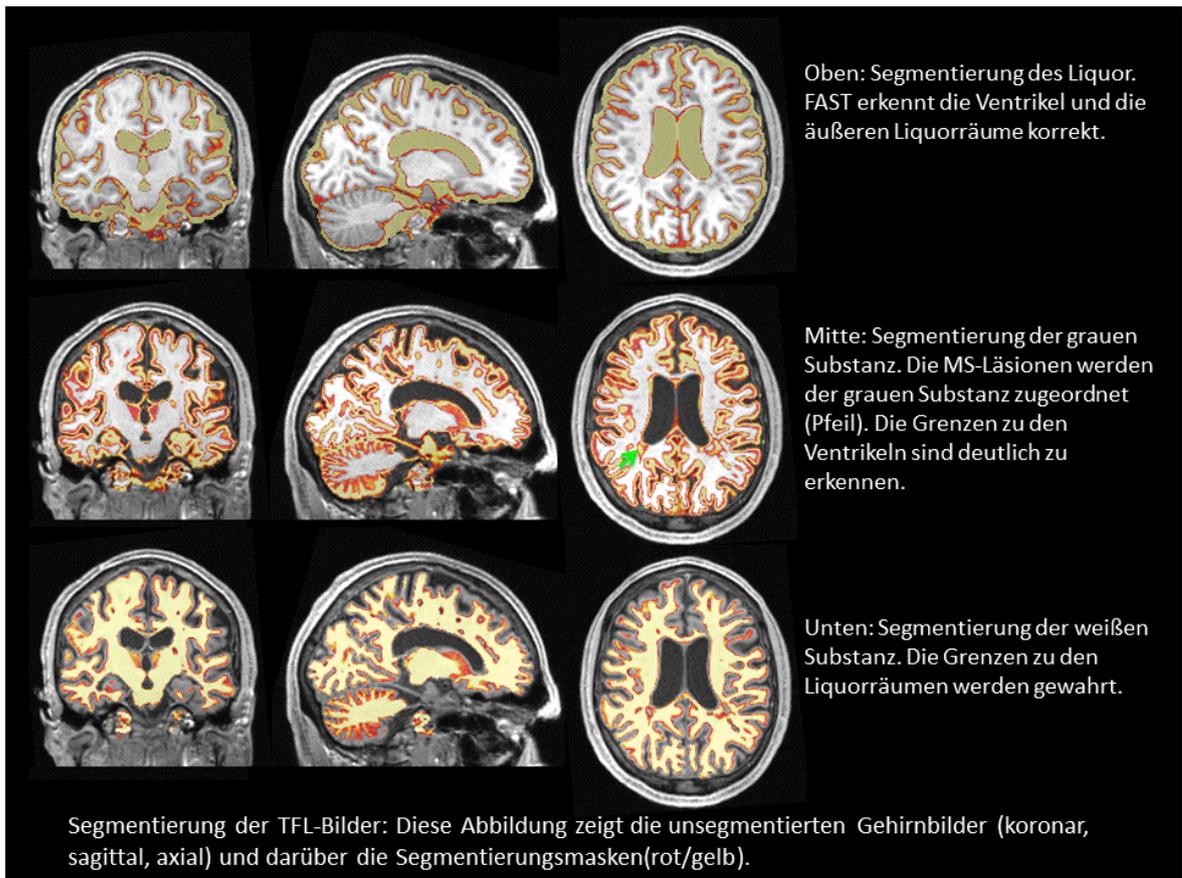


Abbildung 5: Segmentierung TFL.

b) Untersuchung der Segmentierung der TSE-Bilder

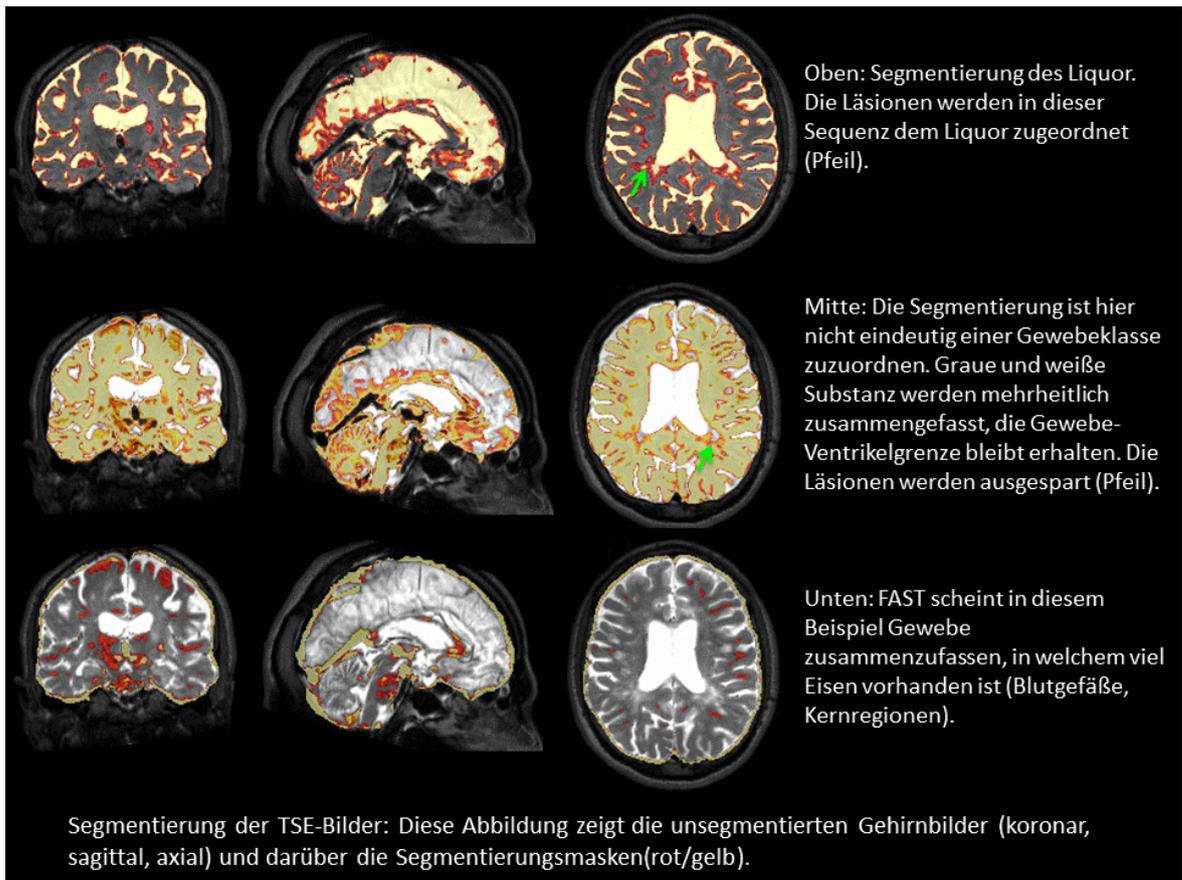


Abbildung 6: Segmentierung TSE.

c) Untersuchung der Segmentierung der TIRM-Bilder

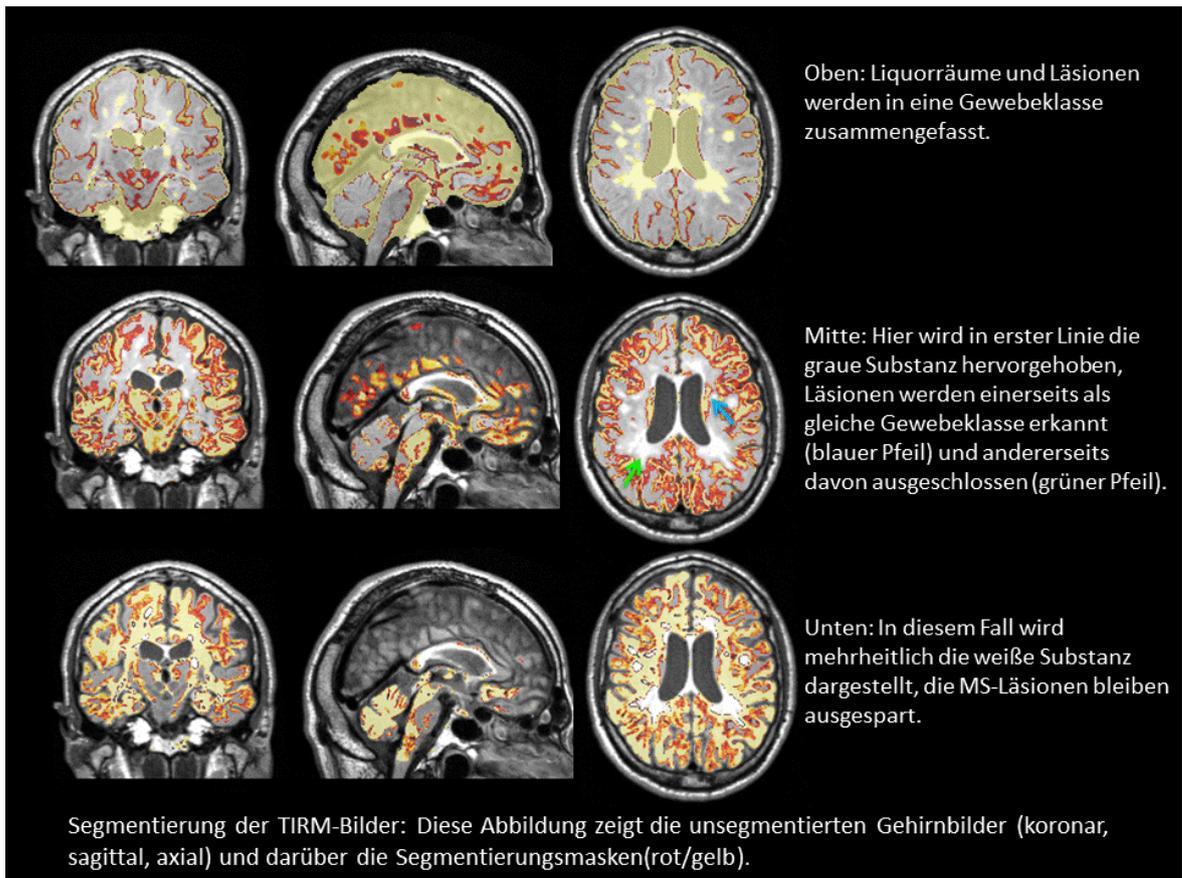


Abbildung 7: Segmentierung TIRM.

Zusammenfassend betrachtet lieferte die TFL-Sequenz die besten Segmentierungsergebnisse: die Grenzen der Liquorräume wurden korrekt erkannt. Graue und weiße Substanz wurden bis auf stark hypointense Läsionen präzise zugeordnet. Hingegen wurden bei TSE und TIRM Läsionen vermehrt dem Liquor zugerechnet. Somit ergab sich, dass TFL insgesamt im Vergleich mit der TSE- und der TIRM- Wichtung die besseren Ergebnisse lieferte und für alle weiteren Analysen eingesetzt wurde.

3.2 Initiale Auswertung der Gehirnatrophierate (final PBVC [%])

Die Datenauswertung begann mit der Messung der Hirnvolumenänderung der TFL-Bilder der Patienten. Die Auswertung der Wiederholungsmessungen an gesunden Kontrollpersonen gab Hinweise auf die Genauigkeit der Methode.

3.2.1 Prozentuale Gehirnvolumenveränderung der Patienten und Kontrollen

Für die ursprüngliche Analyse wurden die Zeitintervalle 0>2 (*Baseline* bis 1 Jahr) und 0>4 (*Baseline* bis 2 Jahre) ausgewählt, da in einem kürzeren Intervall keine relevante Gehirnvolumenveränderung zu erwarten wäre.

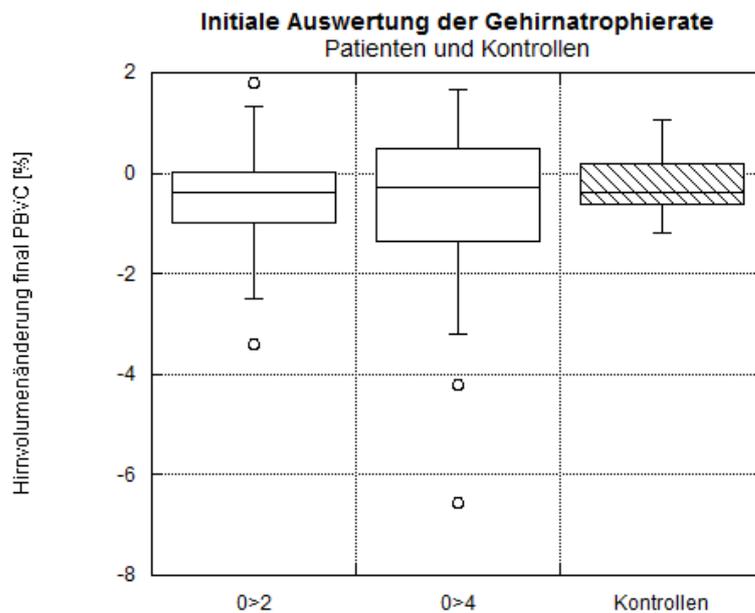


Abbildung 8: Der Box- und Whiskerplot zeigt die prozentuale Hirnvolumenänderung der Patienten in den ausgewählten Messabständen 0>2, 0>4 sowie die Vergleichswerte der Kontrollgruppe.

In den Kästen (=Box) dargestellt sind jeweils die mittleren Quartile (Median \pm 25 %). Die Federn (=whisker) stellen jeweils die oberen und unteren Quartile dar. Punkte, die weiter als der 2,5-fache Abstand der Quartile vom Median abweichen, wurden als Ausreißer identifiziert.

Nach ca. einem Jahr ergab sich für die Patienten ($n=34$) eine mittlere Gehirnvolumenänderung von $-0,45 \pm 1,06$ %. Nach ca. zwei Jahren ($n=24$) waren es $-0,78 \pm 1,99$ %. Für die Kontrollen ($n = 12$) waren es $-0,24 \pm 0,66$ %.

Im Rahmen unserer Auswertung zeigte sich rasch, dass die von uns evaluierte Methode im ausgewählten Zeitintervall keine signifikanten Ergebnisse erbrachte. So zeigte sich in der Gesamtgruppe zwar eine zunehmende Hirnvolumenabnahme über die Zeit, nach einem Jahr im Mittel $-0,45$ % und nach zwei Jahren $-0,78$ %, jedoch fand sich eine extreme Streuung der Ergebnisse. Die Standardabweichung lag mit $\pm 1,06$ % bzw. $\pm 1,99$ % deutlich über dem Mittelwert. Der p-Wert war mit $0,13$ nicht signifikant. Die Streuung ließ zudem auf

eine errechnete, nicht sinnvoll zu erklärende Hirnvolumenzunahme schließen. Bei Sichtung der einzelnen Ergebnisse wurde eine solche in mehr als 25 % der Fälle nachgewiesen (positive final PBVC-Werte von bis zu 1,8 %). Systematische Einflüsse, etwa ausschließlich bei einem Geschlecht oder einer MS-Verlaufsform ließen sich nicht nachweisen. Das Phänomen der Hirnvolumenzunahme trat gleichzeitig in der Untersuchungsgruppe und der Kontrollgruppe auf. Bei einigen Patienten stellte SIENA extreme Volumenabnahme fest (s. Ausreißer Boxplot 0>4), welche stark zu der mittleren Volumenabnahme beitrug.

Für die Kontrollen ergab sich nach ca. vier Monaten eine mittlere Volumenabnahme von $-0,24 \pm 0,66$ %. Diese war statistisch nicht signifikant von Null verschieden ($p = 0,22$). Als angenommenes Maß für den Fehler der Methode lag die Standardabweichung über dem Mittelwert, und auch deutlich oberhalb des von Smith et al. (2000) angegebenen Wertes von 0,15 %.

Nur vier der Patienten (s. S. 61) zeigten eine so deutliche Atrophierate, dass die Ergebnisse im Einstichproben-t-Test statistisch signifikant waren. Die Subgruppe dieser vier Patienten zeigte eine mittlere Gehirnvolumenänderung von $-4,5 \% \pm 1,4 \%$ in zwei Jahren, die mit $p = 0,007$ signifikant von Null verschieden war. Es bleibt jedoch zu beachten, dass trotz statistischer Signifikanz auch in dieser Subgruppe eine sehr große Standardabweichung von $\pm 1,4 \%$ vorlag.

Im Vergleich der Atrophieraten in der Untersuchungsgruppe mit der Kontrollgruppe ergaben sich nach einem Jahr ($p = 0,53$) und nach zwei Jahren ($p = 0,37$) keine signifikanten Unterschiede.

3.2.2 Erweiterung der Erstausswertung

Um einen systematischen Fehler im Sinne eines einzelnen fehlerhaften Untersuchungszeitraumes auszuschließen, wurde die Analyse in einem nächsten Arbeitsschritt um die Zeitzwischenräume 0>1 (0,5 Jahre) und 0>3 (1,5 Jahre) erweitert, um eine Beurteilung der Gehirnatrophie über den gesamten zweijährigen Zeitverlauf zu ermöglichen.

In folgendem Boxplot ist die Hirnvolumenänderung [%] zwischen dem *Baseline*-Bild und den Folgebildern aufgetragen.

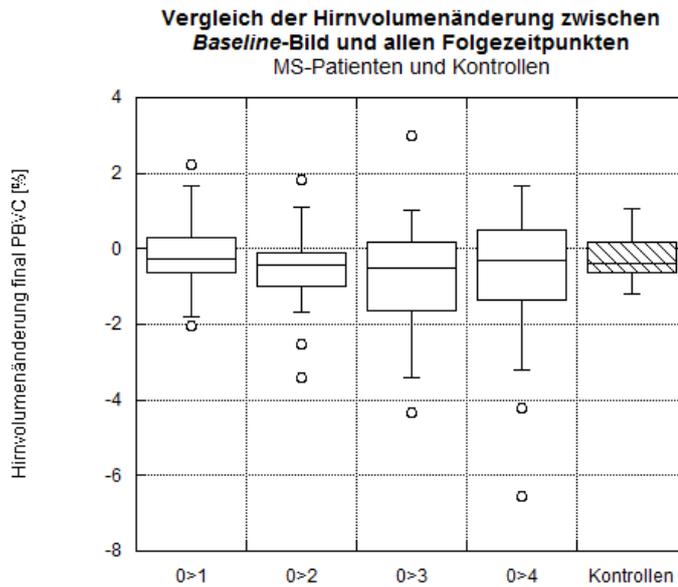


Abbildung 9: Der Boxplot zeigt die prozentuale Hirnvolumenänderung der Patienten in den ausgewählten Messabständen 0>1, 0>2, 0>3, 0>4 sowie die Vergleichswerte der Kontrollgruppe.

In folgender Tabelle sind die Mittelwerte der einzelnen Messungen und die entsprechenden Standardabweichungen dargestellt.

Zeitabstand zwischen <i>Baseline</i> -Bild und Folgezeitpunkt [in Jahren]:	0,5	1,0	1,5	2	Kontrollgruppe
Mittelwert Hirnvolumenänderung [%]	-0,15	-0,50	-0,69	-0,78	-0,24
Standardabweichung	0,91	1,02	1,40	1,99	0,66

Tabelle 3: Mittelwerte und Standardabweichung der Hirnvolumenänderung im Zwei-Jahres-Zeitraum.

Insgesamt zeichnet sich in dieser Übersicht im Mittelwert eine Abnahme des Hirnvolumens über die Zeit ab (von -0,15 auf -0,78 %), jedoch liegen die Werte der Standardabweichung weiterhin deutlich über denen der Ergebnisse, sodass weiterhin eine erhebliche Streuung aufgezeigt wird.

In dieser Seriendarstellung der 33 Patienten zeigten sich 15 Fälle, in denen die Steigung der Verlaufsgeraden des Hirnvolumens ≤ 0 war und/oder maximal ein Ausreißer (sowohl positive als auch negative Tendenz) vorlag. Bei allen anderen Patienten zeigten sich entweder ein positiver Trend in der Hirnvolumenentwicklung (10 Fälle, Steigung ≥ 0) oder zwei oder mehr Ausreißer (8 Fälle) im Gesamtverlauf.

3.2.3 Prozentuale Hirnvolumenänderung: Darstellung nach MS-Verlaufsform

Die prozentuale Hirnvolumenänderung in den unterschiedlichen Gruppen der MS-Verlaufsformen (RR und SP) wird im folgenden Boxplot gezeigt.

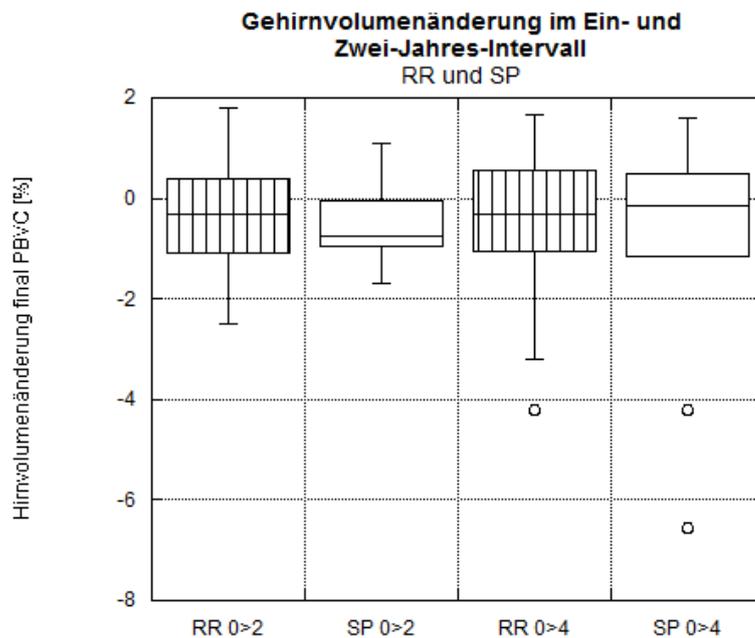


Abbildung 10: Boxplot mit der Einteilung nach MS-Verlaufsform und den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten. Die drei Patienten, denen keine eindeutige MS-Verlaufsform zugeordnet werden konnte, wurden hier nicht berücksichtigt.

Für die verschiedenen Krankheitsverläufe zeigte sich im Ein-Jahres-Fenster bei den Patienten mit RR-MS eine mittlere Hirnvolumenänderung von $-0,33 \pm 1,06$ %, bei SP eine von $-0,42 \pm 0,80$ %.

Im ungepaarten t-Test zeigte sich für das Ein-Jahresintervall ein p-Wert von 0,81 für die Volumenänderung zwischen Patienten mit RR- und SP-MS. Nach zwei Jahren betrug dieser Wert 0,68. Somit konnte auch in dieser Subanalyse kein signifikanter Unterschied zwischen den untersuchten Gruppen aufgezeigt werden.

3.3 Problemanalyse

Nachdem in der initialen Analyse keine statistisch signifikanten Ergebnisse ermittelt werden konnten, die ermittelten Standardabweichungen weit von den in der Literatur beschriebenen Werten abwichen und bei einem relevanten Anteil der Patienten eine fälschliche Hirnvolumenzunahme ermittelt worden war, erfolgte eine umfassende Untersuchung möglicher Fehlerquellen.

3.3.1 Einfluss der Kopfposition

Um bewegungsbedingte Fehlbestimmungen der Hirnvolumenänderung auszuschließen, wurde eine gesunde Probandin untersucht, die zwischen vier hintereinander durchgeführten Messungen während einer Untersuchung systematisch die Kopfposition änderte.

Alle Bilder wurden mittels SIENA paarweise verglichen (s. S. 61). Der Mittelwert der Hirnvolumenänderung betrug $0,05 \pm 0,16$ %. Der innerhalb dieser einen Untersuchung aufgekommene Fehlerbeitrag von 0,16 % ist deutlich kleiner als die 0,66 % Standardabweichung der Kontrollgruppe, die als Maß für die Genauigkeit der Methode herangezogen wurde.

3.3.2 Fallstudie Marburg-MS

Die Marburg-Variante der MS ist eine rapide fortschreitende Verlaufsform, bei der eine höhere Zahl MS-typischer Läsionen vorliegt und die im Rahmen der MS auftretende Hirnatrophie deutlich schneller erfolgt. Anhand dieser malignen (Elenein et al. 2011) MS-Verlaufsform konnte SIENA bei einer sehr hohen Läsionslast und einer starken Gehirnatrophie eingesetzt werden. Die aufgetretene Hirnvolumenminderung dieses Patienten war bereits visuell bei Betrachtung der MRT-Serien offensichtlich nachvollziehbar. Die Untersuchungen wurden in Narkose durchgeführt, sodass Messfehler durch Bewegungen des Kopfes ausgeschlossen werden konnten.

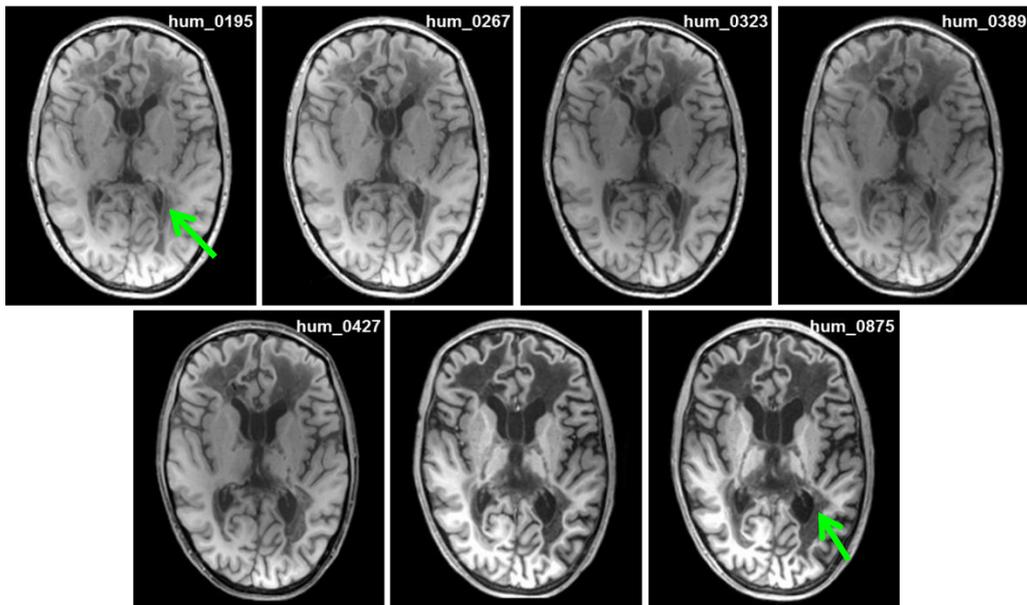


Abbildung 11: Darstellung Marburg-Variante. 14. bis 15.5. Lebensjahr. Abbildung G. Helms.

Die Pfeile in Abbildung 11 verdeutlichen die hohe Läsionslast, die Hirnvolumenabnahme wird durch die eindrückliche Vergrößerung der Hirnventrikel abgebildet.

Bereits beim Arbeitsschritt der Segmentierung in die drei Gewebeklassen graue und weiße Substanz sowie Liquor offenbarte sich, dass die korrekte Differenzierung von grauer und weißer Substanz durch die großen Läsionen mit stark abweichendem Kontrast nicht valide erfolgte.

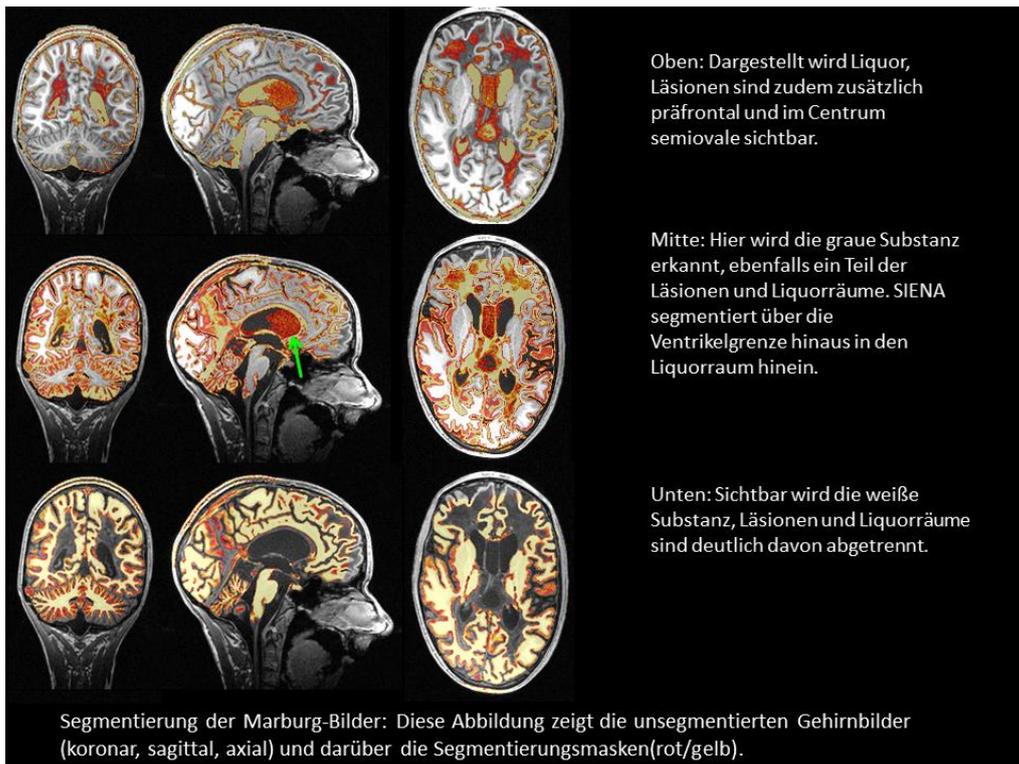


Abbildung 12: Segmentierung Marburg-MS.

Die folgende Graphik zeigt die Hirnvolumenänderung zwischen *Baseline*-Bild und sechs Folgeaufnahmen.

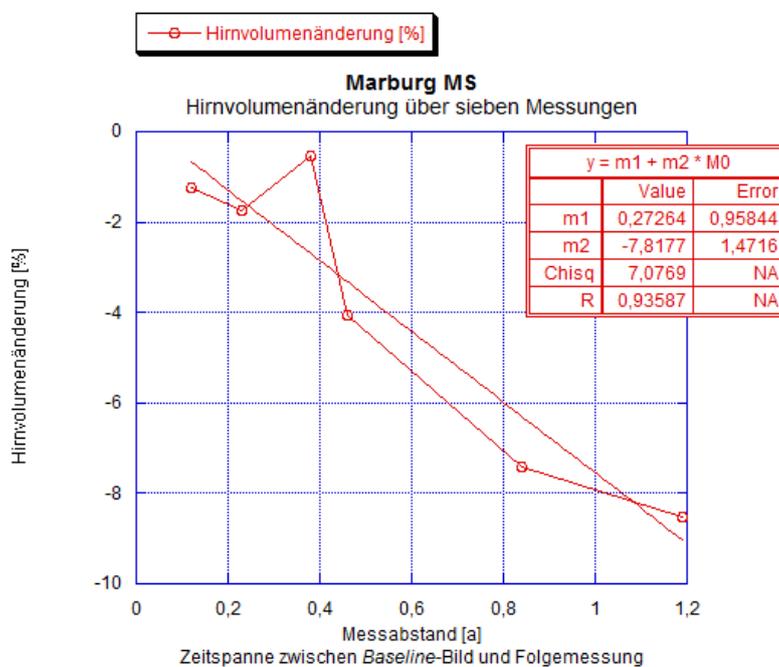


Abbildung 13: Hirnvolumenänderung [%] des Marburg-Patienten.

Auf der X-Achse ist jeweils der Zeitabstand zur Erstuntersuchung angegeben.

Insgesamt errechnet SIENA entsprechend dem visuellen Eindruck einen deutlichen Volumenverlust von -8 % pro Jahr. Der Ausreißer in der Verlaufskurve zeigte jedoch, dass dieser bei isolierter Betrachtung der unmittelbar benachbarten Messungen einen großen Einfluss auf die Ergebnisse haben kann (in diesem Fall eine fälschliche Hirnvolumenzunahme, gefolgt von einer starken Volumenabnahme). Aufgrund der großen Zahl der Messintervalle konnte jedoch in dieser Serie die Fehlmessung nach ca. 0,4 Jahren einfach identifiziert werden. Trotz Fehlmessung ergibt sich eine sinnvolle Korrelation zwischen dem Fortschreiten der Zeit und dem aufgetretenen Hirnvolumenverlust ($r = 0,94$).

3.3.3 Darstellung einzelner Patientenbeispiele zur weiteren Illustrierung der SIENA-Ergebnisse

Um die großen Schwankungen der SIENA-Auswertung zu charakterisieren wurden einzelne Patientenbeispiele im zeitlichen Verlauf dargestellt.

Abbildung 14 zeigt den „Idealfall“ einer SIENA-Auswertung, in dem im Verlauf der zwei Jahre eine stetige Abnahme des Gehirnvolumens im Sinne einer zu erwartenden Gehirnatrophie aufgezeigt wird.

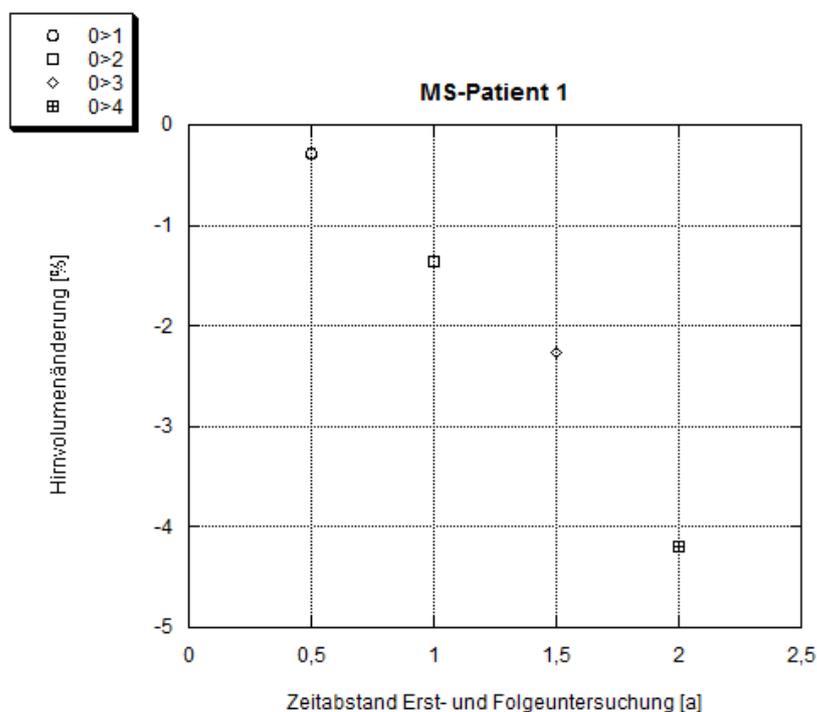


Abbildung 14: Zeitlicher Verlauf der Hirnvolumenänderung eines MS-Patienten.

Dargestellt ist jeweils der Vergleich des *Baseline*-Bildes mit den folgenden Untersuchungszeitpunkten.

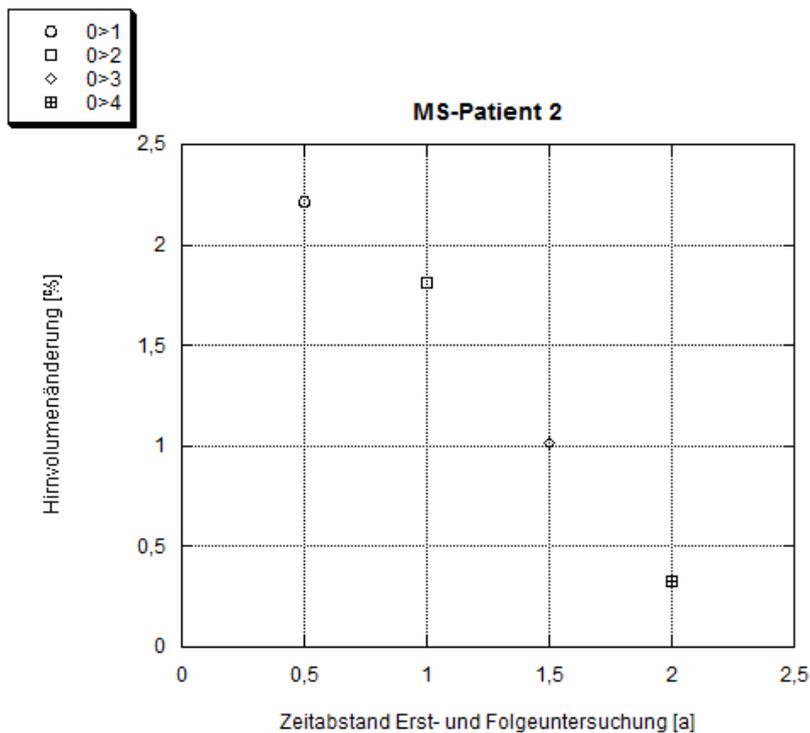


Abbildung 15: Zeitlicher Verlauf der Hirnvolumenänderung eines MS-Patienten.

Dargestellt ist jeweils der Vergleich des *Baseline*-Bildes mit den folgenden Untersuchungszeitpunkten.

Abbildung 15 zeigt, wie durch ein falsch-niedrig gemessenes Hirnvolumen in der *Baseline*-Messung die Werte der Hirnvolumenänderung in den positiven Bereich verschoben werden – sie nehmen jedoch im Zeitverlauf mit $-1,5\% / 2$ Jahre kontinuierlich ab. Im Gesamtergebnis verbleibt nach zwei Jahren insgesamt eine Volumenzunahme von $0,33\%$. Dies verdeutlicht die Abhängigkeit des seriellen SIENA-Verfahrens von der *Baseline*-Messung, also des Ausgangs-Hirnvolumens. Treten bei dieser Messung Fehler, insbesondere falsch-niedrige Ergebnisse auf, sind diese schwer aufzudecken und können im Verlauf im Rahmen der weiteren Mess-Serie kaum mehr ausgeglichen werden.

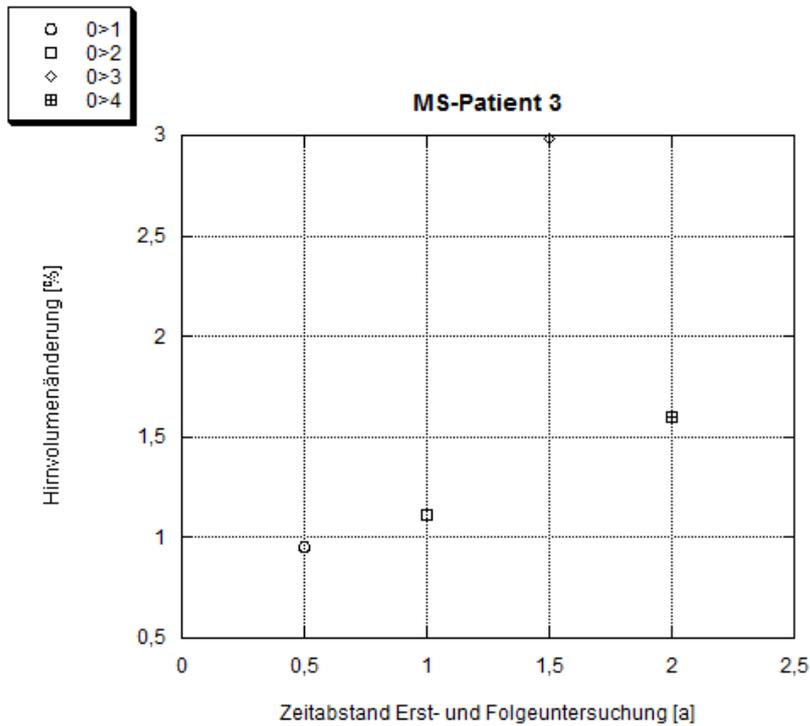


Abbildung 16: Zeitlicher Verlauf der Hirnvolumenänderung eines MS-Patienten.

Dargestellt ist jeweils der Vergleich des *Baseline*-Bildes mit den folgenden Untersuchungszeitpunkten.

In Abbildung 16 zeigt sich ebenfalls in der Summe eine Hirnvolumenzunahme. Auch wenn in diesem Fall der Messwert nach 1,5 Jahren deutlich aus der Reihe fällt, kann die Messreihe in diesem Fall nicht durch die Identifikation und Elimination eines einzelnen Ausreißers korrigiert werden, da selbst ohne den auffälligsten Messwert eine stetige Volumenzunahme bestehen bliebe.

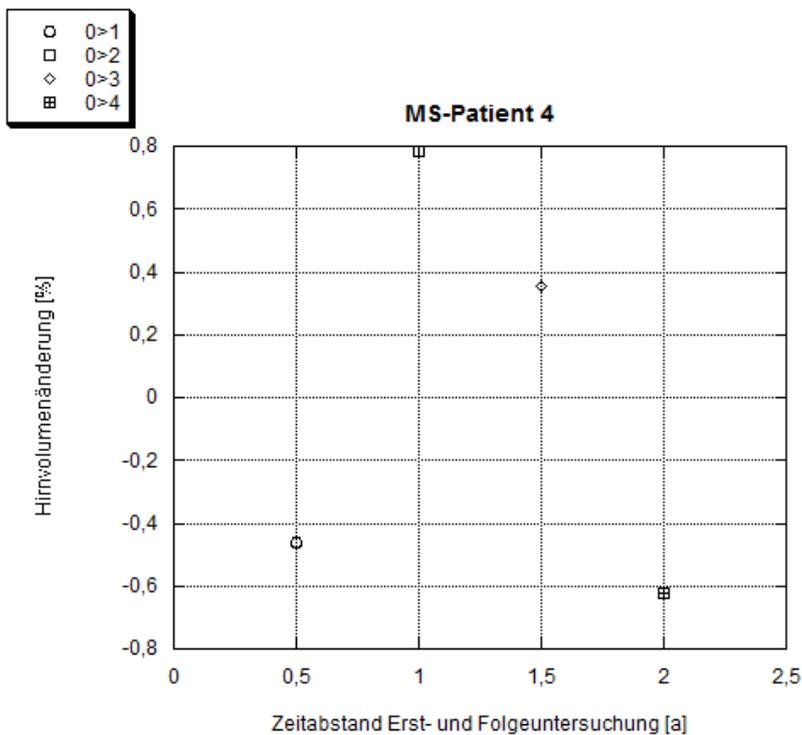


Abbildung 17: Zeitlicher Verlauf der Hirnvolumenänderung eines MS-Patienten.

Dargestellt ist jeweils der Vergleich des *Baseline*-Bildes mit den folgenden Untersuchungszeitpunkten.

In Abbildung 17 wird die Unbeständigkeit der SIENA-Auswertung erneut illustriert. Möglicherweise handelt es sich sowohl bei dem Messpunkt nach 1 Jahr, als auch bei dem nach 1,5 Jahren um Ausreißer. Bei Betrachtung des ersten und letzten Messpunktes wäre immerhin eine Abnahme des Hirnvolumens festzustellen. Dies bedeutete jedoch die Elimination von 50 % der Ergebnisse und ist somit als spekulativ zu betrachten. Insgesamt ist es ohne eindeutigen Trend bei fünf durchgeführten Messungen unmöglich, die Fehlerquelle aufzudecken, wenn mehr als nur ein einziger Ausreißer auftritt.

3.3.4 Fallstudie wachsendes kindliches Gehirn

Um der Frage der durch SIENA in einigen Fällen festgestellten Hirnvolumenzunahme nachzugehen, wurden MRT-Bilder von einem tatsächlich wachsenden, kindlichen Gehirn ausgewertet. Im Verlauf der Fallstudien Marburg-MS und wachsendes Gehirn konnten trotz Sederung und somit Ausschluss von Bewegungsartefakten „reversible“ Abweichungen vom

Hirnvolumen-Trend (Ausreißer) von mehr als 2 % beobachtet werden. Diese sind offensichtlich durch die jeweilige Untersuchung bedingt. Der konsistente Einfluss der *Baseline*-Messung auf die seriell gemessene Hirnvolumenänderung bleibt dabei unberücksichtigt.

Das Gehirnwachstum ist anhand der folgenden Abbildung eindeutig feststellbar:

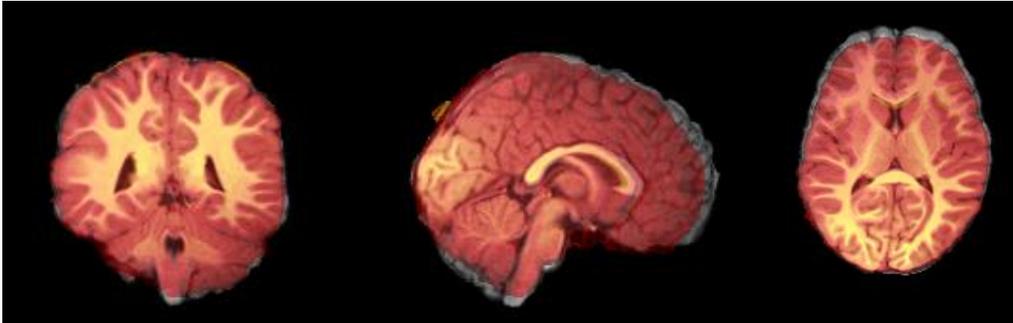


Abbildung 18: Gehirnmasken von zwei Untersuchungszeitpunkten.

Rot ist das Gehirn des ersten Messzeitpunktes, grau das des letzten. Das Gehirn ist beim letzten Messzeitpunkt deutlich größer als beim ersten.

Die Segmentierung durch FAST zeigt eine korrekte Auftrennung der Gewebe in drei Klassen: graue Substanz, weiße Substanz und Liquor. Die folgende Abbildung zeigt das unsegmentierte Gehirnbild (koronar, sagittal, axial) und darüber die Segmentierungsmaske (rot/gelb).

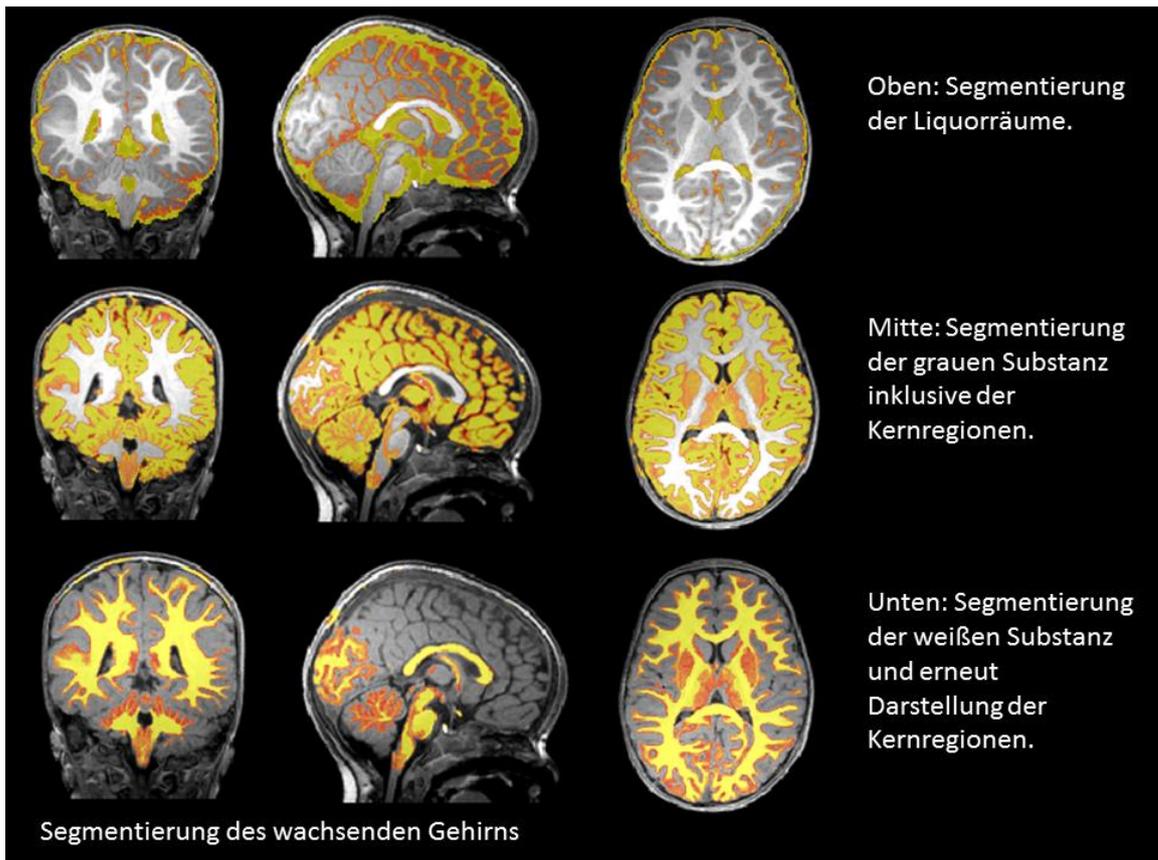


Abbildung 19: Segmentierung des wachsenden Gehirns.

Die initiale Untersuchung der Volumenänderung zwischen *Baseline*-Bild und den folgenden sieben Zeitpunkten zeigte am Ende der achten Messung insgesamt eine Atrophie bei tatsächlich wachsendem Gehirn, wie die überlagerten Gehirnmasken in Abbildung 18 zeigen. Da SIENA den knöchernen Schädel als Konstante annimmt und dieser sich während des kindlichen Kopfwachstums verändert, wurde die durch SIENA erfolgte Skalierung manuell korrigiert, um das Wachstum des kindlichen Schädels in dieser Auswertung zu berücksichtigen. In der folgenden Abbildung sind beide Auswertungsschritte des Gehirnvolumenverlaufs dargestellt. Die Messergebnisse befinden sich im Anhang auf S. 62.

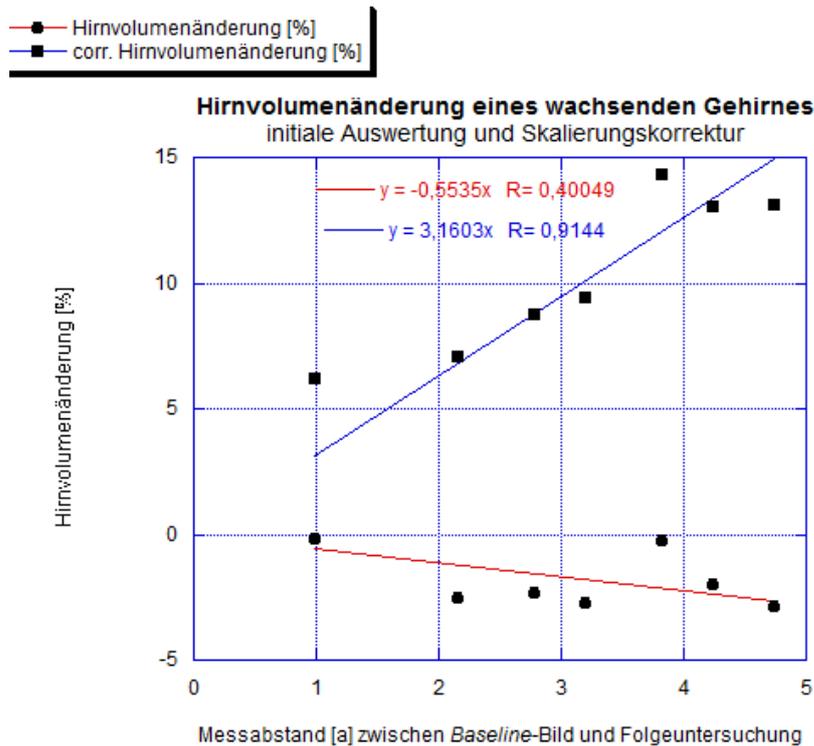


Abbildung 20: Hirnvolumenänderung [%] des wachsenden Gehirns.

Auf der X-Achse ist jeweils der Zeitabstand zum *Baseline*-Bild in Jahren angegeben, auf der y-Achse ist die Volumenveränderung [%] angegeben. Dargestellt sind die Werte der initialen Auswertung (Punkte, rote Linie) und die nach erfolgter Skalierungskorrektur (Quadrate, blaue Linie).

Durch die Skalierungskorrektur konnten Ergebnisse erzeugt werden, die eine Volumenzunahme mit einer starken Korrelation mit dem Fortschreiten der Zeit zeigen. Ähnlich wie im Marburg-Fall wird durch die vielen Untersuchungen ein Ausreißer identifiziert (0>5, Messung nach ca. 3,8 Jahren).

3.3.5 Skalierungskorrektur der MS-Daten

Nachdem eine manuelle Korrektur der automatischen Skalierung im Falle der Untersuchung des kindlichen Gehirns zu einer deutlichen Verbesserung der Ergebnisse geführt hatte, wurden auch die Bilder der ursprünglichen Messreihen manuell korrigiert und anschließend die entsprechende Auswertung wiederholt.

3.3.5.1 Korrigierte (corr.) prozentuale Hirnvolumenänderung der Patienten und Kontrollen

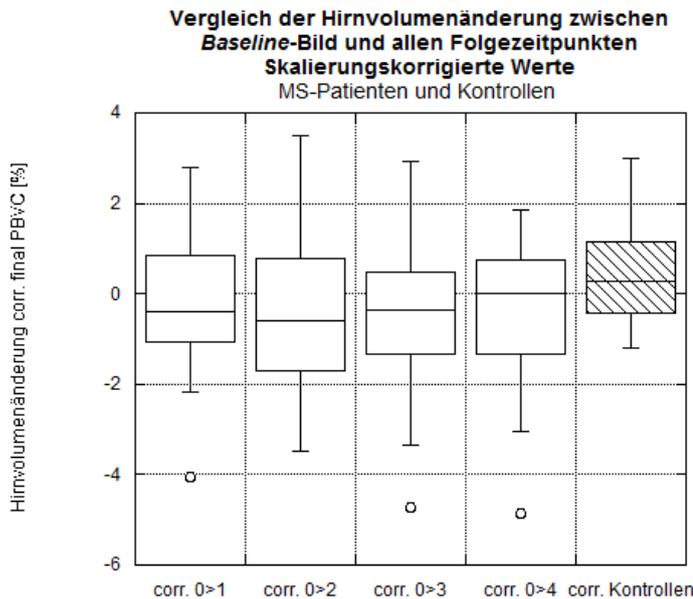


Abbildung 21: Boxplot der skalierungskorrigierten Hirnvolumenänderung [%] für die verschiedenen Messzeitpunkte. Verglichen wird das *Baseline*-Bild mit den Folgeuntersuchungszeitpunkten.

Abbildung 21 verdeutlicht, dass trotz manueller Skalierungskorrektur die bereits zuvor festgestellte ausgeprägte Streuung der Ergebnisse fortbestand. Zudem zeigt sich, dass bei einem relevanten Anteil von Patienten weiterhin eine Hirnvolumenzunahme festgestellt wurde. Auch ein Anteil von Patienten mit ausgeprägter Hirnvolumenabnahme bestand fort.

In folgender Tabelle sind die korrigierten Mittelwerte und ihre Standardabweichungen für das jeweilige Messintervall dargestellt.

Zeitabschnitt: Jeweils Messung der Hirnvolumenänderung zwischen <i>Baseline</i> -Bild und dargestelltem Folgezeitpunkt [in Jahren]:	0,5	1,0	1,5	2	Kontroll- gruppe
Mittelwert corr. Hirnvolumenänderung [%]	-0,22	-0,39	-0,47	-0,36	0,48
Standardabweichung	1,43	1,73	1,77	1,67	1,24

Tabelle 4: Korrigierte prozentuale Hirnvolumenänderung: Mittelwerte der Gruppen und Standardabweichung.

Analog zu der ersten Auswertung zeigt sich in der Gesamtgruppe der skalierungskorrigierten Hirnvolumenänderung [%] eine zunehmende Volumenabnahme über die Zeit. Nach einem halben Jahr kam es zu einer Volumenveränderung von $-0,22 \pm 1,43$ %, nach einem Jahr von $-0,39 \pm 1,73$ %, nach 1,5 Jahren von $-0,47 \pm 1,77$ % und nach zwei Jahren von $-0,36 \pm 1,67$ %. Für die Kontrollen ergab sich nach ca. vier Monaten eine mittlere Volumenzunahme von $0,48 \pm 1,24$ %. Die Standardabweichung lag weiterhin über dem Mittelwert und war im Vergleich zu der initialen Auswertung sogar noch größer. Im gepaarten t-Test des Ein- und Zwei-Jahres-Intervalls konnte mit einem p-Wert von 0,84 wiederum kein signifikanter Unterschied gezeigt werden.

Der ungepaarte t-Test zwischen Patienten und Kontrollen zeigte mit einem p-Wert von 0,12 für die Ein-Jahres-Messung bzw. 0,13 für die Zwei-Jahres-Messung ebenfalls keinen signifikanten Unterschied der untersuchten Gruppen.

Somit muss festgestellt werden, dass die Skalierungskorrektur die Streuung der Ergebnisse vergrößert, anstatt, wie erhofft, die Ergebnisse plausibler zu machen.

Im Korrelationsplot (Abb. 22) für die nicht korrigierten und die korrigierten SIENA-Ergebnisse der MS-Gruppe im einjährigen Betrachtungszeitraum zeigte sich ein Korrelationskoeffizient r von 0,58 und ein Bestimmtheitsmaß r^2 von 0,33.

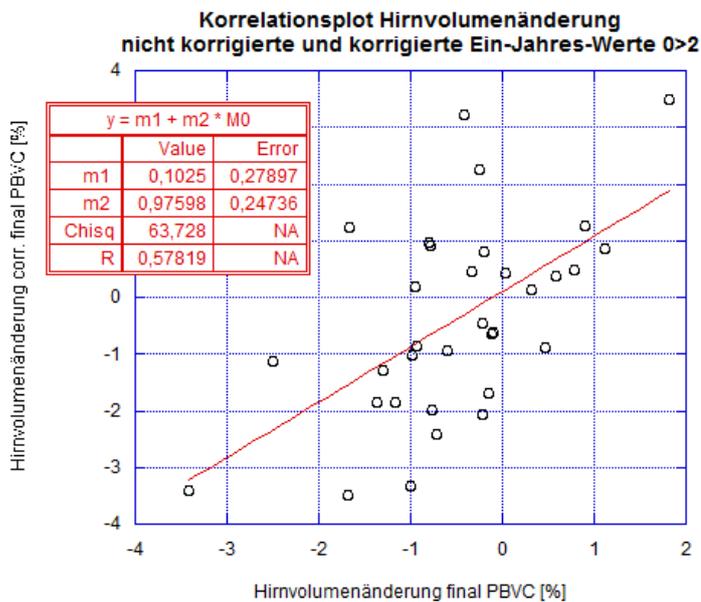


Abbildung 22: Korrelationsplot nicht korrigierte und korrigierte Volumenänderung [%] zwischen *Baseline*-Bild und Ein-Jahres-*follow-up* in der MS-Gruppe

Auf der x-Achse sind die nicht korrigierten, auf der y-Achse die skalierungskorrigierten Werte aufgetragen.

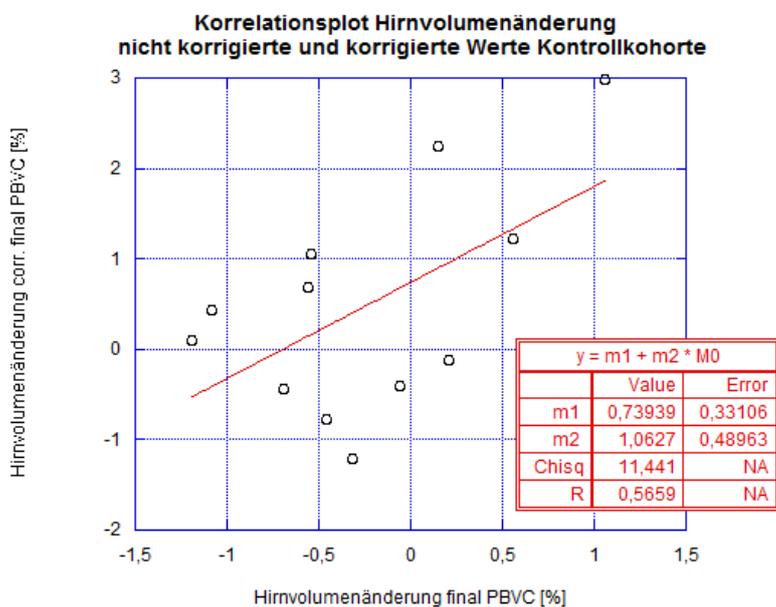


Abbildung 23: Korrelationsplot nicht korrigierte und korrigierte final PBVC-Werte [%] der Kontrollgruppe

Im Korrelationsplot der nicht korrigierten und korrigierten final PBVC-Werte [%] der Kontrollkohorte zeigten sich, ähnlich den Werten der MS-Gruppe, ein Korrelationskoeffizient von 0,57 und ein r^2 von 0,32. Die Standardabweichung der korrigierten Werte verdoppelte sich nahezu unter der Skalierungskorrektur (1,24 % vs. 0,66 %).

3.3.5.2 Korrigierte (corr.) prozentuale Hirnvolumenänderung: Darstellung nach MS-Verlaufsform

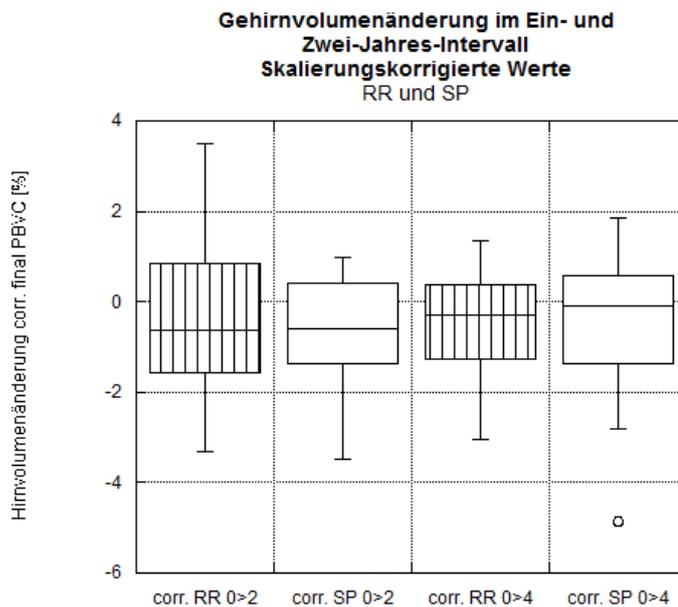


Abbildung 24: Korrigierte Hirnvolumenänderung [%], Einteilung nach MS-Verlaufsform

Auch in dieser Subanalyse wurden die drei Patienten, deren MS-Verlaufsform nicht sicher zugeordnet werden konnte, nicht berücksichtigt.

Für die verschiedenen Krankheitsverläufe zeigte sich nach Skalierungskorrektur im Ein-Jahres-Intervall bei RR eine mittlere Hirnvolumenänderung von $-0,28 \pm 1,81$ %, bei SP eine von $-0,62 \pm 1,38$ % ($p = 0,59$). Nach zwei Jahren betrug die Änderung jeweils $-0,44 \pm 1,32$ % und $-0,69 \pm 1,98$ % ($p = 0,72$).

Somit erbrachte die Skalierungskorrektur keinerlei Verbesserung der Messergebnisse oder statistische Signifikanz zwischen den betrachteten Untergruppen.

3.4 Additivität der Hirnvolumenänderung

Die Daten der MS-Studie wurden analog zur Originalpublikation von Smith et al. (2002) auf Additivität der Hirnvolumenänderungswerte getestet, wie im Folgenden dargestellt. Bei additiven Daten entspricht die Hirnvolumenänderung in der 0>4-Messung der Summe von 0>2 + 2>4.

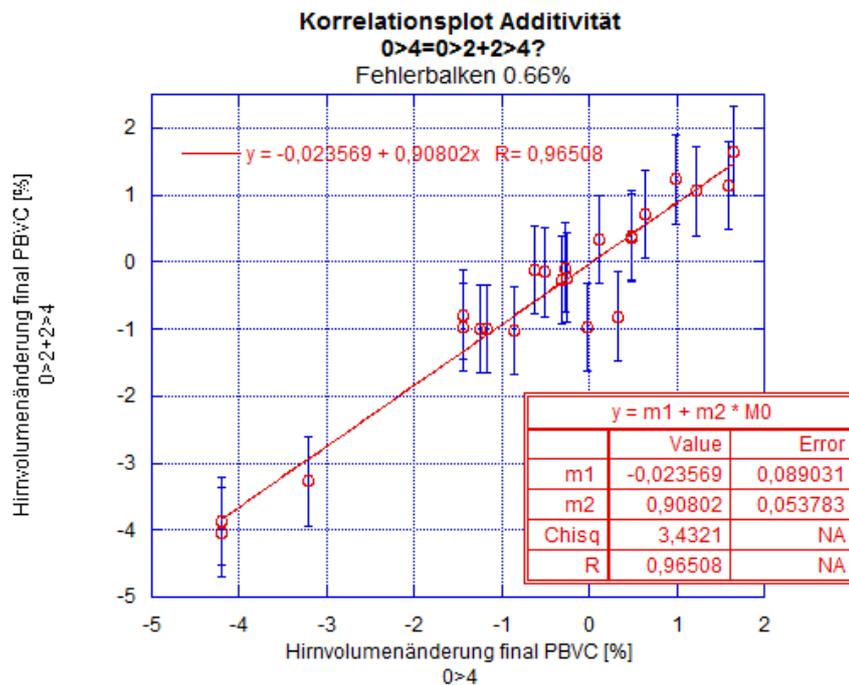


Abbildung 25: Korrelationsplot MS-Erkrankte Additivität mit Fehlerbalken 0,66 %

Im Additivitäts-Korrelationsplot zeigt sich mit $r=0,97$ eine gute Übereinstimmung zwischen den dargestellten Werten. Der Plot zeigt die Werte mit Fehlerbalken in y-Richtung. Für diese wurde der in der Kontrollgruppe ermittelte Wert der Standardabweichung (0,66 %) angenommen. Jedoch sind auch die x-Werte fehlerbehaftet; dies wird aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht dargestellt.

Die Mittelwerte \pm Standardabweichung der Hirnvolumenänderung in beiden analogen zeitlichen Betrachtungsmöglichkeiten (0>4 und 0>2 + 2>4) betragen jeweils $-0,53 \pm 1,60$ % und $-0,51 \pm 1,51$ %. Das quadratische Mittel (RMS), d.h. die Standardabweichung der Residuen liegt bei 0,4 % und ist deutlich kleiner als die Fehlerbalken von 0,66 %. Der mittlere Quadratabstand zur im Winkel von 45° verlaufenden Regressionsgeraden ist $0,4 \% / \sqrt{2} = 0,28$ %. Smith et al. (2002) hingegen verwenden den Median dieses Abstandes als Fehlermaß, der deutlich kleiner als das RMS ist, hier ungefähr 0,19 %.

Dass bei der Additivätsbetrachtung der durch den mittleren Messpunkt erzeugte Fehler eliminiert wird, kann abschließend anhand der Atrophiedaten des Marburg-Falles demonstriert werden:

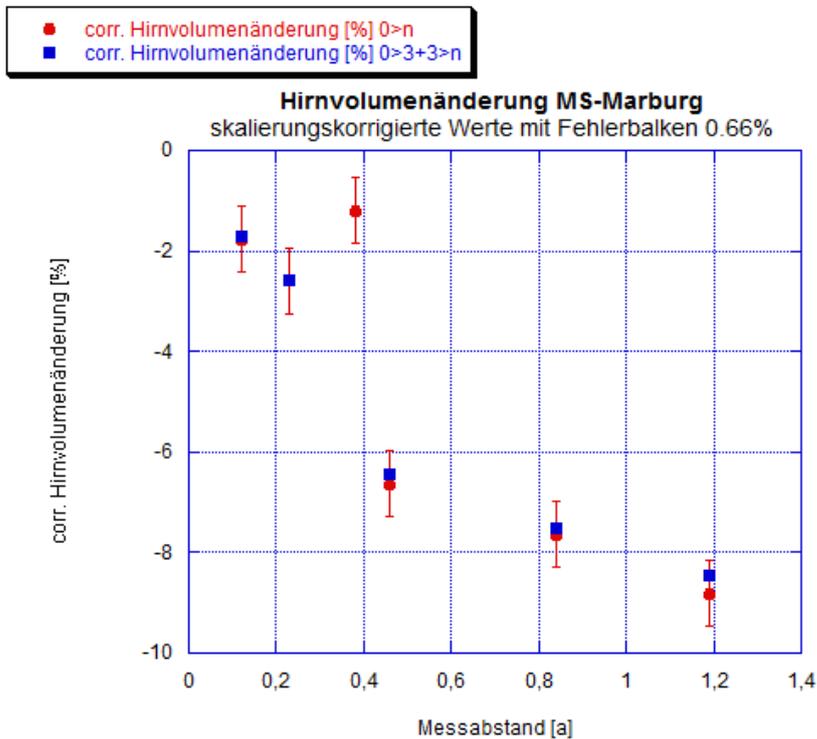


Abbildung 26: Skalierungskorrigierte Hirnvolumenänderung Marburg-MS mit Fehlerbalken (rot) und addierte Hirnvolumenänderung (blau)

Abbildung 26 zeigt die skalierungskorrigierte Hirnvolumenänderung (rot) sowie die addierten Werte der Hirnvolumenänderung, in die der Ausreißer 0>3 eingeht und die dem gleichen Untersuchungszeitraum entsprechen (blau). Die detaillierten Werte sind im Anhang auf S. 62 tabelliert. Obwohl Messung 0>3 (nach ca. 0,4 Jahren) mit einem deutlichen Fehler behaftet ist, fällt die Abweichung der additiven, dem gleichen Zeitraum entsprechenden Werte deutlich kleiner aus als die Fehlerbalken von 0,66 %. Dies erklärt die augenscheinlich gute Übereinstimmung im Additivitätsplot, die die tatsächliche Reproduzierbarkeit und Fehlerquote der Methode jedoch nicht adäquat repräsentiert.

4 Diskussion

4.1 Relevanz der Hirnatrophie und Betrachtung ihrer Entwicklung

Als neurodegenerative Erkrankung führt die Multiple Sklerose bereits in einem frühen Stadium des Erkrankungsverlaufs zu einer Beschleunigung der Gehirnatrophie (Siffrin et al. 2010; Sahraian und Eshaghi 2010) im Vergleich zu den bei Gesunden beobachteten Alterungsprozessen. Somit gewinnt dieser Marker in der Verlaufsbeurteilung der MS-Erkrankung zunehmend an Bedeutung. Dies ist insbesondere dadurch motiviert, dass der gängigere Marker der Läsionslast auf MRT-Bildern weniger gut mit den klinischen Defiziten korreliert (klinikoradiologisches Paradox) (Lövsblad et al. 2010). Lazeron et al. und Fisher et al. bezeichnen die Hirnatrophie als anerkannten Faktor, der neben der bisher gängigeren Läsionslast gut mit kognitiven Defiziten korreliert (Fisher et al. 2002; Lazeron et al. 2006).

Die quantitativen Angaben zur Gehirnvolumenabnahme sowohl in gesunden als auch in erkrankten Kollektiven variieren in der Literatur:

Untersuchungen an gesunden alternden Kollektiven zeigten eine Hirnvolumenabnahme von 0,32 % / Jahr (Kollektivalter 31 - 84 Jahre) (Scahill et al. 2003) und $0,4 \pm 0,29$ % / Jahr (Kollektivalter 60 Jahre) (Enzinger et al. 2005). Fjell et al. (2009) fanden in einem älteren (60 – 91 Jahre) Kollektiv eine Atrophierate von -0,5 % / Jahr. Hedman et al. (2012) eruierten in einer gesunden Kohorte Änderungen von -0,2 % / Jahr ab dem 35. und von -0,5 % / Jahr ab dem 60. Lebensjahr. Zwischen dem 18. und dem 35. Lebensjahr gehen die Autoren von keinem Hirnvolumenverlust aus und räumen in dieser Phase die Möglichkeit eines Wachstums ein. Zum Vergleich: Um das 9. Lebensjahr wurde eine deutliche Volumenzunahme von bis zu 1 % / Jahr beschrieben (Hedman et al. 2012).

Die meisten Studien an MS-Patienten untersuchten nur das erkrankte Kollektiv, ohne es einer gesunden Kontrollgruppe gegenüberzustellen. Hierzu zählen Di Filippo et al. und Furby et al., die eine jährliche Atrophierate von -0,38 % (Patientenalter 18 - 51 Jahre) (Di Filippo et al. 2010) bzw. -0,59 % (Patientenalter 18 - 60 Jahre) (Furby et al. 2010) feststellten. Rudick et al. (1999) zeigten, dass die Gehirnatrophie-Rate von MS-Patienten jährlich zunimmt, diese sich jedoch nicht zwingend in einer merklichen Zunahme der neurolo-

gischen Defizite widerspiegelt. In einer Übersichtsarbeit von Bermel und Bakshi (2006) wurden diverse Studien zusammengefasst und bei MS-Patienten ein Hirnparenchymverlust von 0,6 - 1,35 % / Jahr festgestellt, der sich in der schubförmigen Form der MS akzentuierter darstellte als bei anderen Verlaufsformen. In Teilen der beschriebenen Studien wurde zur Quantifizierung der Atrophierate das in unserer Studie genutzte SIENA-Programm eingesetzt.

Zwei Arbeiten vergleichen mittels SIENA die Atrophierate von MS-Erkrankten mit gesunden Kontrollgruppen: Horakova et al. (2008) wiesen innerhalb von 24 Monaten eine Hirnvolumenveränderung von -1,2 % bei MS-Erkrankten versus -0,22 % in der gesunden Kontrollkohorte nach ($p < 0.001$). De Stefano et al. (2014) geben für Gesunde eine Hirnatrophierate von 0,1 – 0,3 % / Jahr an, dahingegen zeigten Patienten mit einer schubförmigen MS eine Rate von 0,5 - 1,35 % / Jahr.

4.2 Quantifizierung der Hirnatrophie mittels SIENA

Es gibt verschiedene Verfahren der Quantifizierung der Hirnatrophie an MRT-Bildern. Bislang haben sich die Experten jedoch nicht auf eine standardisierte Methode festgelegt. Durand-Dubief et al. verglichen sieben Methoden miteinander und fanden dabei keine wesentlichen Unterschiede zwischen den Verfahren (Durand-Dubief et al. 2012). Alle Verfahren setzen eine vorherige Registrierung (Überlagerung) der Bilder voraus, um eine individuelle Hirnatrophierate durch eine longitudinale Messung zu ermöglichen. Voxel-basierte Verfahren segmentieren alle Bildpixel (in Liquor, graue und weiße Substanz) und berechnen darüber Partialvolumina, die miteinander verglichen werden. Alternativ können die Gesamt-Bildoberflächen bestimmt werden und deren Verschiebung im zeitlichen Verlauf zueinander (*Brain Edge Motion Analysis*) als Basis für die Änderung des Hirnvolumens genutzt werden.

Das eingesetzte SIENA-Verfahren stellt ein einfach anzuwendendes, vollautomatisiertes Verfahren dar, bei welchem die registrierten Bilder segmentiert werden und der Volumenunterschied mittels *Brain Edge Motion Analysis* ermittelt wird. SIENA wird, wie in der Einleitung beschrieben, als valide und etablierte Methode zur Messung der Hirnatrophie-Rate erachtet (Smith et al. 2002). Aufgrund des Fehlers von 0,15 % (Smith et al. 2002), der unter

der Zwei-Jahres-Atrophierate gesunder Kontrollkohorten liegt (Hedman et al. 2012), erschien der Einsatz dieses Verfahrens für die vorliegende Arbeit naheliegend.

4.2.1 Auswahl der Bildwichtung

Neacsu et al. (2008) empfehlen für die Auswertung mit SIENA T1-gewichtete Bilder, wengleich laut der Autoren auch die Auswertung T2-gewichteter Bilder zufriedenstellende Resultate ergäbe, was die Einsetzbarkeit des Verfahrens insbesondere bei älteren Bilddatensätzen erweitert. Im Hinblick auf neue MRT-Methoden, die T2-gewichtete Bilder mit isotroper Auflösung liefern, bestand der erste Auswertungsschritt darin, die geeignetste Wichtung für die Auswertung mit SIENA zu bestimmen. In Übereinstimmung mit den Angaben von Neacsu et al. (2008) fanden sich nach Segmentierung der in dieser Arbeit verwendeten Bilddatensätze für die T1-gewichteten Bilder (MP-RAGE) zunächst die besten Ergebnisse. Die TSE-Bilder erwiesen sich als ungeeignet, da hier sowohl die Läsionen, als auch der Liquor hyperintens dargestellt werden und sich somit insbesondere periventrikuläre Herde nicht adäquat abgrenzen ließen (s. Abb. 6). Bei FLAIR (TIRM)-Aufnahmen (s. Abb. 7) ist von einer Überschätzung der Atrophie auszugehen, da lange bestehende („ausgebrannte“) Läsionen (Barnes et al. 1991) von geringer zellulärer Dichte ähnlich wie Liquor unterdrückt werden.

4.2.2 Ergebnisse der Hirnatrophie-Bestimmung

In der vorliegenden Auswertung konnte keine statistisch signifikante Gehirnatrophierate im Zeitintervall 0>4 gezeigt werden. Weiterhin war kein statistisch signifikanter Unterschied im Intervall 0>2 feststellbar. Auch die Verlaufsformen RR und SP unterschieden sich nicht. Diese Ergebnisse stehen bezüglich der MS-Verlaufsformen RR und SP in Konsens mit den Ergebnissen von Kalkers et al. (2002), die ebenfalls keinen Unterschied in der Hirnatrophie-Rate zwischen den MS-Subtypen feststellten, wengleich die Bestimmung der Hirnvolumenänderung hier nicht mit dem SIENA-Verfahren erfolgte. Insgesamt zeigte in dieser Arbeit nur ein Patient eine stetig progrediente Atrophie über den zweijährigen Studienverlauf (s. Abb. 14). Die Auswertung der Kontrollkohorte, in welcher allenfalls eine geringfügige Atrophie zu erwarten war, illustriert den Fehler der Methode mit der Standardabweichung von 0,66 %. Dieser empirische Wert ist fünfmal größer, als der von den Autoren

Smith et al. (2002) aus einer Additivitätsanalyse berechnete Wert von 0,15 %. Da die Ergebnisse sich derartig fehlerbehaftet zeigten, wurde in dieser Arbeit auf eine ausführliche tabellarische Darstellung im Anhang verzichtet, es werden lediglich die Einzelbeispiele illustriert.

4.3 Weitere Auswertungsschritte

Die statistisch unbefriedigenden Ergebnisse gaben Anlass zu einer systematischen Suche nach Fehlern oder Schwächen der Methode. Dazu wurden verschiedene Theorien mutmaßlicher Fehlerquellen aufgestellt und systematisch untersucht.

4.3.1 Untersuchung der Kopfposition

Trotz Kopfpositionierung durch geschultes Personal, ist bei dem ohne Sedierung durchgeführten Studien-Messprotokoll über einer Stunde und zehn Minuten davon auszugehen, dass es während und zwischen den jeweiligen Messungen zu geringen Positionsänderungen kam. Der Einfluss der Kopfposition auf das Ergebnis der Hirnvolumen-Analyse wurde an einer Probandin in einer einzigen Sitzung gezielt untersucht. Es ergab sich dabei kein relevanter Einfluss auf die Messergebnisse. Die ermittelte *within-scan*-Standardabweichung der gemessenen Hirnvolumenänderung, die als Maß der Streuung der Messergebnisse herangezogen werden kann, betrug hier 0,16 %. Dieses Ergebnis liegt im Bereich des von Smith et al. (2002) ermittelten Fehlers von 0,15 % bei Anwendung in einem kleinen Beobachtungsintervall und bei hirngesunden Probanden.

4.3.2 Diskussion der Segmentierungsfehler am Beispiel eines Falles mit Marburg-Variante

Zur Validierung der SIENA-Methode bei Patienten mit sehr hoher Läsionslast wurden zusätzlich TFL-Bilder eines sedierten Patienten mit der sogenannten Marburg-Variante, einer progressiven und malignen (Elenein et al. 2011) Verlaufsform der Multiplen Sklerose, ausgewertet. Durch die Sedierung konnten jegliche Bewegungsartefakte als mögliche Fehlerquelle ausgeschlossen werden. Die Analyse dieses Falles offenbarte, dass bei der Segmentierung der Einzelbilder Läsionen dem Liquor zugeordnet werden (s. Abb. 12). Die entstandenen abgeheilten Läsionen könnten im Verlauf von SIENA während der Segmentierung

wieder der grauen Substanz zugeordnet werden, was eine mögliche Erklärung für die beobachtete Hirnvolumenzunahme darstellt. Insgesamt ergab sich bei dem betrachteten Marburg-Fall trotz der Segmentierungsfehler eine deutliche Abnahme des Gehirnvolumens zwischen den einzelnen Messungen (-8 % in 1,2 Jahren), ein Ergebnis, das auf den entsprechenden Gehirnabbildungen visuell deutlich nachvollzogen werden kann (s. Abb. 11). Durch den rascheren Verlauf der Hirnvolumen-Abnahme konnten in diesem Fall kürzere Untersuchungsintervalle gewählt werden, welche in Abbildung 13 seriell aufgeführt sind. Hier offenbart sich der potentielle Einfluss (bis zu 2,5 %) einzelner Fehlsegmentierungen, welche als Ausreißer im Atrophieverlauf identifiziert werden können (hier bei Messung 0>3 nach ca. 0,4 Jahren). Auch dies weist auf eine deutlich größere Messungenaugigkeit des SIENA-Verfahrens bei der Ermittlung der Hirnvolumenänderung MS-Erkrankter hin, als bislang in der Literatur beschrieben. Infolgedessen benötigt man bei Betrachtung der langsamer fortschreitenden MS-Varianten einen deutlich längeren Untersuchungszeitraum und eine entsprechend größere Anzahl von Einzelmessungen, um mittels SIENA eine valide Aussage hinsichtlich des Verlaufs der Hirnvolumenänderung treffen zu können. Liegt der Segmentierungsfehler im *Baseline*-Bild, führt dies automatisch zu größeren Problemen, da in einer seriellen Darstellung immer ein falsch segmentiertes Bild mit einer potentiell korrekt segmentierten Verlaufsaufnahme verglichen wird, was ebenfalls eine Streuung der Ergebnisse sowohl in Richtung Wachstum, als auch Atrophie erklären kann. Im MS-Patientenkollektiv wurden nach Studienprotokoll akute Läsionen, die zunächst ein vasogenes Ödem verursachen und anschwellen können, ausgeschlossen. Im Verlauf erfolgen während der Abheilung typischerweise Reorganisations-/Remyelinisierungsprozesse (Lövlad et al. 2010). Lange bestehende („ausgebrannte“) Läsionen mit nur geringer zellulärer Dichte (Barnes et al. 1991) können bei entsprechenden Patienten zu einer fehlerhaften Segmentierung und somit Entstehung von Abweichungen in Richtung Wachstum, als auch besonders starker Atrophie führen.

4.3.3 Wachsende Gehirne – Untersuchung eines kindlichen Gehirns

SIENA wurde für die Auswertung erwachsener Gehirne entwickelt und nutzt bei der Registrierung der Bilder den knöchernen Schädel als Konstante über die Zeit. Um festzustellen, wie diese knöcherne Konstante im Verfahren berücksichtigt wird, wurde in einem weiteren

Schritt der Fehleranalyse ein tatsächlich wachsendes kindliches Gehirn mit dem SIENA-Algorithmus ausgewertet. Abbildung 20 illustriert, dass dessen erste Analyse kein Gehirnwachstum aufzeigt. Im Gegenteil: SIENA ermittelte eine deutliche Hirnatrophie. Dies kann dadurch erklärt werden, die Bilder von SIENA auf eine gemeinsame Größe skaliert werden. Hierdurch wird der Effekt des Wachstums eliminiert. Eine Korrekturmöglichkeit wurde in den während des FLIRT-Schrittes erstellten Skalierungsparametern (x, y, z) gefunden, welche die nötige Transformation beschreiben, um beide Bilder auf eine *halfway-to*-Position (s. Abschnitt 2.3.2) zu bringen um sie danach korrekt zu registrieren. Nach manueller Verrechnung der final PBVC-Werte mit der reellen Skalierung ($x*y*z$) konnte eine valide Hirnvolumen-Zunahme ermittelt werden. Somit ergab sich mit der manuellen Skalierungskorrektur eine Option der Ergebniskorrektur für das MS-Kollektiv, wie im Abschnitt 4.3.4 dargestellt wird.

Wie bei der Untersuchung des Falles mit Marburg-Variante wurde bei der Untersuchung des Kindergehirns eine größere Anzahl von Messungen angefertigt. Es bestätigte sich die Beobachtung, dass durch die Auswertung mehrerer Untersuchungen ein relevanter Ausreißer identifiziert wurde. Die gehäufte Beobachtung von einzelnen Ausreißern lässt auf eine deutlich höhere Fehlerquote bei der SIENA-Methode schließen, als bislang in der Literatur angegeben (Smith et al. 2002). Da es sich um eine Zwei-Messpunkt-Methode handelt, bedarf es zudem eines höheren Arbeitsaufwandes, um einzelne Ausreißer identifizieren zu können, da zum einen eine deutlich größere Zahl an Einzelmessungen ausgewertet und diese zum anderen jeweils in Einzelschritten zu einer sequentiellen Darstellung zusammengeführt werden müssen. Da eine sichere Identifizierung eines Ausreißers nur über die Betrachtung der benachbarten Zeiträume gelingt, kann zudem eine fehlerhaft analysierte *Baseline*-Aufnahme nicht sicher ausgeschlossen werden.

4.3.4 Skalierungskorrektur aller Ergebnisse

Da die beschriebene Skalierungskorrektur bei der Auswertung kindlicher MRT-Bilder zu konsistenten Ergebnissen führte, wurde das Verfahren auf unsere Daten angewendet. Da es sich hier um Gehirne von Erwachsenen handelte, sind diese Skalierungen als Artefakt aufzufassen und tragen potentiell zum Gesamtfehler der Methode bei. Die Betrachtung der Ergebnisse der Patientengruppe nach Skalierungskorrektur zeigte jedoch keine statistische

Verbesserung im Sinne einer Signifikanz. Insbesondere in der Kontrollgruppe führte sie zu einer Verschlechterung der Resultate, es zeigte sich eine nahezu verdoppelte Streubreite im Vergleich zu den nicht korrigierten Werten (Standardabweichung 1,24 % vs. 0,66 %). Im Korrelationsplot von initialen und skalierungskorrigierten MS-Patienten-Ergebnissen ergab sich eine positive Korrelation der Werte ($r = 0,58$). Das Bestimmtheitsmaß r^2 von 0,33 zeigt, dass 33 % des methodischen Fehlers durch eine Skalierungskorrektur behoben werden könnte, die verbliebenen 67 % sind dem Verfahren inhärent. Im Korrelationsplot der Kontrollen zeigen sich ähnliche Werte ($r = 0,57$ und $r^2 = 0,32$). Dies steht in Widerspruch zu den Ergebnissen der Standardabweichung in dieser Gruppe, welche sich nach Skalierungskorrektur verdoppelt haben, statt wie angenommen, sich um 33 % zu verringern.

4.4 Betrachtung weiterer Einflussfaktoren

In die Studie wurden nur Patienten aufgenommen, die mindestens zwei Jahre zuvor die Erstdiagnose einer Multiplen Sklerose erhalten hatten. Weiterhin waren klinische Defizite eine Bedingung für die Aufnahme in die Studie. Allein anhand dieser Auswahlkriterien ist davon auszugehen, dass die „gesündesten“ der MS-Patienten mit einer geringen Behinderung sowie Läsionslast aus dem vorliegenden Studienkollektiv ausgeschlossen wurden. Der Einfluss von MS-Verlaufsform und Geschlecht wurde präliminär mit t-Tests untersucht. Aufgrund der dominierenden technisch bedingten Fehler wurde auf eine eingehende Untersuchung des Einflusses von klinischen Parametern mittels eines f-Test verzichtet. Nachdem diverse beschriebene Zusatzauswertungen zu keiner eindeutigen Fehleridentifizierung bei der Auswertung der Hirnvolumenänderung mittels SIENA führten, folgten Überlegungen zu weiteren Einflussfaktoren. Grundsätzlich bestehen bei der Messung der Hirnatrophie in der Praxis vielzählige Fehlermöglichkeiten. Sie sind in zwei Gruppen zu unterteilen:

1. Technische Faktoren:

Bei technischen Einflussfaktoren kann zwischen Abweichungen zwischen Einzelmessungen desselben MRT-Scanners und Variabilitäten zwischen unterschiedlichen Geräten, welche selbst bei baugleichen Modellen zu beobachten sind, unterschieden werden. Takao et al. (2011) untersuchten dies in einer großen Kohorte an neurologisch gesunden Probanden

und werteten die Daten unter anderem mit SIENA aus. Sie ermittelten eine mittlere Hirnvolumenänderung von $-0,47 \pm 0,71$ % in zwei Jahren und kamen zu dem Schluss, dass SIENA durch die Korrektur der Unterschiede in der Bildgeometrie anhand des als Konstante angenommenen knöchernen Schädels gegenüber den beiden oben genannten technischen Schwankungen relativ unempfindlich zu sein scheint (Takao et al. 2011). Trotzdem wird hier eine große Standardabweichung beobachtet, welche im Bereich unserer Ergebnisse liegt. Im Rahmen unserer Studie wurden alle Untersuchungen an einem Gerät durchgeführt, sodass ein auf Bauunterschieden beruhender Fehler ausgeschlossen werden kann. Bezüglich der Abweichungen zwischen Einzelaufnahmen sind beispielsweise Kontrastunterschiede zu nennen, welche zu einer fehlerhaften Gewebesegmentierung führen und somit Untersuchungsergebnisse verfälschen können (Takao et al. 2011). Andererseits können Kalibrierungsstörungen der Gradientenfelder, die die räumliche Auflösung im Bild bestimmen, laut Takao et al. (2011) zu Schwierigkeiten bei der Auswertung führen. Da jedoch bei der Datenerhebung durchgehend ein einheitliches Messprotokoll eingesetzt und das Gerät regelmäßig gewartet wurde, ist die Wahrscheinlichkeit relevanter Einflüsse technischer Fehler insgesamt als gering einzuschätzen.

2. Den Patienten betreffende Faktoren, die unter Umständen nur einen temporären Einfluss auf das Gehirnvolumen haben:

Das gemessene Hirnvolumen kann durch verschiedene temporäre und reversible Faktoren beeinflusst werden (Sahraian und Eshaghi 2010). Dazu zählen akut entzündliche Prozesse, ödematöse Schwellungen, hormonelle Schwankungen sowie Einflüsse medikamentöser Therapien (Sahraian und Eshaghi 2010). Auch der Hydratationsstatus des Patienten zum Zeitpunkt der Untersuchung kann die Ergebnisse beeinflussen. Duning et al. (2005) untersuchten mit der SIENA-Methode den Effekt eines 16-stündigen Durstens auf die gemessene Hirnvolumenänderung: Nach dem Dursten zeigte sich eine Hirnvolumen-Reduktion von $-0,55 \pm 0,69$ %, nach anschließendem Trinken von 1,5 Litern Wasser eine Hirnvolumen-Zunahme von $0,72 \pm 0,21$ %. Da die in der Literatur angegebenen Hirnatrophie-Raten im Rahmen neurodegenerativer Erkrankungen im Bereich von $-0,38$ % / Jahr (Di Filippo et al. 2010) und $-0,6$ % / Jahr (Horakova et al. 2008) liegen, könnte nach den Ergebnissen von Duning et al. (2005) eine temporäre Hyper- oder Hypohydratation zu einer relevanten Verfälschung der Ergebnisse führen. Die angegebenen Daten weisen ebenfalls eine sehr hohe

Standardabweichung auf, sind jedoch statistisch signifikant von Null verschieden (Duning et al. 2005). Demgegenüber zeigten sich in einer Untersuchung von Kempton et al. (2009) nach Dehydratation durch körperliches Training keine signifikant niedrigeren Hirnvolumina in der SIENA-Messung ($p = 0,13$), obwohl es zu einer sichtbaren Vergrößerung der Ventrikelräume kam. Ein relevanter Einfluss durch Hypo- oder Hyperhydratation auf unsere Messergebnisse ist in der Zusammenschau jedoch nicht sehr wahrscheinlich.

Als weitere Einflussfaktoren auf das gemessene Hirnvolumen sind akute entzündliche Prozesse sowie eine hochdosierte Steroidtherapie zu nennen, welche jeweils zur Bestimmung eines falsch-niedrigen Hirnvolumens führen können (Durand-Dubief et al. 2012). Chapman et al. (2006) stellten bei einer kurzfristigen hochdosierten Steroidtherapie, wie sie bei einem akuten Schub durchgeführt wird, eine signifikante Hirnvolumenreduktion über acht Wochen fest. Zivadinov (2005) und Gordon (1980) sahen ebenfalls einen Hirnvolumeneffekt unter Steroidtherapie, den sie am ehesten durch temporäre Flüssigkeitsverschiebungen und nicht durch axonalen Verlust erklären. Weiterhin untersuchten Hoogervorst et al. (2002) die Effekte einer oralen Steroidtherapie und stellten fest, dass diese das Gehirnvolumen temporär (bis zu 30 Tagen lang) beeinflussen kann und dementsprechend in longitudinalen Analysen berücksichtigt werden sollte. Langfristige Veränderungen des Gehirnvolumens durch eine Steroid-Pulstherapie über fünf Jahre wurden von Zivadinov et al. (2001) beleuchtet: in regelmäßigen Abständen in einer Dosierung von 1 g / d verabreicht, scheint sie die Gehirnatrophie im Vergleich zu einer Gabe ausschließlich bei akuten Schüben zu verhindern oder zumindest zu verzögern. Durch das Studienprotokoll kann der potentielle Einfluss einer hochdosierten Steroidtherapie ausgeschlossen werden, da bei Auftreten eines akuten Schubes eine zeitliche Latenz von sechs Wochen bis zur folgenden Untersuchung eingehalten wurde.

Als weitere Einflussgrößen auf das Hirnvolumen werden das Alter, Komorbiditäten, genetische Faktoren und andere Therapeutika genannt (De Stefano et al. 2014). Zur Quantifizierung des Einflusses der einzelnen *Confounder* liegen jedoch weder bei Gesunden noch bei MS-Erkrankten valide Studien vor.

4.5 Betrachtung der Additivität als Validierungsmethode für SIENA

Die Additivitätsanalyse wird von Smith et al. als geeignetes Verfahren der Fehleranalyse und Validation des SIENA-Algorithmus dargestellt (Smith et al. 2000). Die bereits diskutierten Segmentierungsfehler der Einzelbilder, welche nach unseren Analysen den entscheidenden Anteil am Gesamtfehler der SIENA-Methode ausmachen, treffen jedoch genau auf dieses Problem zu, sodass diese Fehler in einem Additivitäts-Korrelationsplot eliminiert werden. Das mittlere Quadrat der Residuen (RMS) lag mit 0,4 % deutlich unter dem an der Kontrollkohorte ermittelten empirischen Fehlermaß von 0,66 %.

In Übereinstimmung mit den Daten der Autoren zeigen unsere Ergebnisse (Abb. 25) eine hohe Korrelation im Additivitätsplot. Idealerweise liegen hier die Punkte auf der $x = y$ -Linie (Smith et al. 2000). An einem gesunden alternden Kollektiv ermittelten die Autoren zunächst den Fehler als Median des senkrecht auf die Regressionsgrade projizierten Abstandes mit 0,15 %. Dieser Wert wurde dann als vertikaler Fehler-Balken im Additivitäts-Korrelationsplot einer Untersuchung der Gehirnvolumenänderung MS-Erkrankter dargestellt. Es wird dann diskutiert, dass dieser „Fehler“ von 0,15 % ausreichte, um die meisten Abweichungen von der ermittelten Geraden (0,22 %) zu erklären (Smith et al. 2002). Im Vergleich zu einer Gruppe von MS-Patienten arbeitet die SIENA-Methode bei gesunden Kontrollkohorten und erkrankten Gruppen vergleichbar präzise (Smith et al. 2001a; Smith et al. 2002). Wird dieser Fehler auf den Additivitäts-Korrelationsplot der MS-Kohorte übertragen, so liegt der Median des Abstandes der Punkte zur Korrelationsgeraden mit 0,19 % im Bereich des von Smith et al. für Gesunde ermittelten Wertes von 0,15 % (Smith et al. 2002) und des Wertes für MS-Patienten von 0,2 % (Smith et al. 2001a). Somit lassen sich die Ergebnisse von Smith et al. primär reproduzieren, die Daten dieser Studie sind nicht relevant ungenauer als die der Originalpublikationen.

Dass der tatsächlich beobachtete Fehler der Methode mittels der Additivitätsanalyse „kleingerechnet“ wird, zeigt der Additivitätsplot im MS-Marburg-Verlauf. Die Addition eliminiert den (reproduzierbaren) Fehlerbeitrag der eliminierten Bezugsmessung $0 > 3$. In der Korrelationsdarstellung wird der Gesamtfehler eines SIENA-Bildpaares künstlich reduziert: die nicht-eliminierbaren Fehler der Anfangs- und Endmessungen tragen zur Korrelation bei und nicht zum durch die Residuen ausgedrückten stochastischen Restfehler.

4.6 Ausblick, Verbesserungsmöglichkeiten

Die meisten Studien unterliegen Limitationen und Faktoren, die die Interpretation der Ergebnisse einschränken. In unserer Studie wurde versucht, durch strenge Einhaltung einheitlicher Protokolle bei der Datenerhebung und durch den Einsatz eines hochauflösenden 3-Tesla-MRTs gute Voraussetzungen für eine optimale Datenerhebung (*state of the art*) zu schaffen. Bei Patienten, die während der Studie einen akuten MS-Schub erlitten (und eine Steroid-Stoßtherapie erhielten) oder die Kontrastmittel-aufnehmende Läsionen aufwiesen, wurde die geplante Untersuchung um mindestens sechs Wochen verschoben, um therapiebedingte Hirnvolumen-Schwankungen möglichst gering zu halten. Trotz guter Voraussetzungen stellte sich heraus, dass die Segmentierung individueller Bilder durch SIENA insbesondere bei einer hohen Läsionslast fehlerhaft ist.

Folgende Änderungen am Studienaufbau könnten die Daten- und Auswertungsqualität verbessern:

- 1) Aufgrund eines nach unseren Berechnungen deutlich größeren Fehlers der SIENA-Methode wäre zum Erreichen eines statistisch signifikanten Ergebnisses ein bedeutend größeres Patientenkollektiv und/oder eine deutlich längere Studienlaufzeit von mindestens 4 Jahren nötig, da erst ab einer Atrophierate von 1,8 % (2-Fache Standardabweichung) die Hirnvolumenminderung signifikant von Null verschieden ist.
- 2) Auch wenn eine ausgeprägte Hyper- oder Hypohydratation der Studienteilnehmer unwahrscheinlich ist, sollten aufgrund des großen potentiellen Einflusses auf das gemessene Hirnvolumen klare Anweisungen zum Trinkverhalten im Studienprotokoll formuliert werden, um längere Durstphasen vor der Untersuchung zu vermeiden und gleichzeitig ab ca. 30 Minuten vor Untersuchungsbeginn keine Flüssigkeit mehr zuzuführen.
- 3) Eine Reduzierung des Segmentierungsfehlers ist eventuell mittels zweier Vorab-Aufnahmen möglich. Durch den Einsatz einer Oberflächenspule wird ein okzipitaler Intensitätsgradient bedingt. Dieser kann durch zwei Vorab-Aufnahmen mittels einer Intensitätsnormalisierung auf die homogenere Körperspule eliminiert werden und so einen späteren Segmentierungsfehler durch SIENA verringern.

Folgende Änderungen an der SIENA-Auswertung könnten die Messergebnisse verbessern:

- 1) Insbesondere während des BET-Schrittes gibt es einige Verbesserungsansätze: Die Trennung des Gehirns vom Schädel könnte manuell verbessert werden, indem Teile des Halses entfernt werden (durch die Option $-B$ des BET-Algorithmus). Die *Fractional Intensity Threshold* f sollte kleiner gewählt werden (0,1 statt 0,45, wie in der vorliegenden Arbeit) (Popescu et al. 2012). Je kleiner f gewählt wird, desto größer werden die Gehirnkonturen bestimmt, sodass SIENA die Grenze zum Schädel eventuell genauer bestimmen könnte. Eine weitere Überlegung wäre BET mit T2-gewichteten Bildern durchzuführen, da hier der Kontrast zum knöchernen Schädel größer ist und somit das Gehirn und die Grenze zum knöchernen Schädel besser erkannt würden. Alternativ könnte jede einzelne durch BET entstandene Gehirnmaske manuell überarbeitet werden, was jedoch einen erheblichen Mehraufwand bedeuten würde.
- 2) In der vorliegenden Auswertung wurde das *Baseline*-Bild mit einem MNI-Standardgehirn registriert, mit dem Ziel anhand eines Referenzkoordinatensystems die Voxellokalisierung der anatomischen Lokalisation anzugleichen. So wurde ein systematischer Fehler reduziert, der durch eine Registrierung der einzelnen Bilder verschiedener Zeitpunkte auf das unregistrierte *Baseline*-Bild entstanden wäre. In dieser Arbeit persistiert jedoch ein gewisser systematischer Fehler, der daraus entsteht, dass alle Bilder auf das erste (*Baseline*-Bild) bezogen werden, auch wenn dieses vorher mit einem Standardgehirn registriert wurde. Eine Möglichkeit, diesen Fehler zu reduzieren, wäre, alle Bilder eines Patienten übereinander zu legen (zu registrieren) und das entstandene Bild als Referenz für das *Baseline*-Bild zu nutzen. Ein geringer systematischer Fehler würde jedoch selbst in diesem Fall persistieren, da die Anfangs- und Endpunktbilder durch die zeitliche Differenz zueinander einen größeren Einfluss auf das neu entstandene Bild hätten.
- 3) Bei SIENA als Zwei-Messpunkt-Methode kann bei fehlerhaften Ergebnissen nicht nachvollzogen werden, in welcher der beiden Messungen der Fehler entstanden ist. SIENAX, welches anhand von nur einem input-Bild das absolute Gehirnvolumen bestimmt, hätte anhand serieller Messungen möglicherweise bessere Ergebnisse

geliefert, da so eventuelle Ausreißer leichter hätten identifiziert und eliminiert werden können.

In der Gesamtbeurteilung unserer Ergebnisse müssen wir folgern, dass SIENA aufgrund des intrinsischen Fehlers nur bedingt zur Untersuchung von normaler oder leicht erhöhter Gehirnatrophie geeignet ist. Der maximale Messabstand von zwei Jahren in dieser Studie war nicht ausreichend, um signifikante Ergebnisse zu erzeugen. Ebenfalls werden zur Bestimmung der individuellen Atrophierate viele serielle Messungen benötigt, um Ausreißer zu identifizieren und ihren Einfluss auf das Ergebnis zu eliminieren.

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde das SIENA-Verfahren zur Beurteilung der longitudinalen Hirnvolumenänderung bei Patienten mit multipler Sklerose (MS) anhand von MRT-Bildern evaluiert. Diese Methode wird von Smith et al. als robustes und akkurates Verfahren zur Messung der Gehirnvolumenänderung beurteilt (Smith et al. 2002).

Wir werteten MRT-Aufnahmen von insgesamt 34 Patienten und 12 Kontrollprobanden aus. Die Untersuchungen erfolgten in halbjährlichem Abstand und wurden strikt nach einheitlichem Protokoll mit einem 3-Tesla-MRT (*state of the art*) durchgeführt. Es zeigte sich rasch, dass die Ergebnisse eine enorme Streubreite aufwiesen und keine statistisch signifikante Hirnatrophie bei MS-Erkrankten nachgewiesen werden konnte. In der Kontrollgruppe war ebenfalls eine große Streuung der Ergebnisse zu verzeichnen, obwohl innerhalb des kurzen Untersuchungsabstandes keine relevante Hirnvolumenänderung zu erwarten gewesen wäre.

Aufgrund dessen wurde eine systematische Fehleranalyse durchgeführt. Durch die Betrachtung eines zusätzlichen Individuums mit besonders ausgeprägter und rasch fortschreitender Hirnatrophie (sogenannte Marburg-Variante der MS) zeigte sich, dass das SIENA-Verfahren bei starker Hirnatrophie während der Segmentierung die einzelnen Hirngewebe nicht zuverlässig voneinander unterscheiden konnte. Bei der Untersuchung eines gesunden kindlichen Gehirns mit zu erwartender Hirnvolumenzunahme konnten erst nach manueller Skalierungskorrektur valide Ergebnisse erzielt werden. Die Übertragung der Skalierungskorrektur auf die MS-Gruppe erbrachte jedoch keine Verbesserung der Ergebnisse, im Gegenteil: die Standardabweichung der Gehirnvolumenänderung vergrößerte sich sogar. Auch nach Betrachtung zusätzlicher Untersuchungszeitpunkte in der MS-Gruppe fiel letztlich auf, dass besonders einzelne Ausreißer im Hirnvolumenverlauf für die große Streubreite der Ergebnisse verantwortlich waren. Im Gegenteil zum Marburg-MS-Fall und dem wachsenden Gehirn war die im Rahmen der vorliegenden Studie angefertigte Anzahl an Untersuchungen jedoch nicht ausreichend, um diese Ausreißer sicher zu identifizieren.

Die Validität des SIENA-Verfahrens zur Beurteilung der Hirnatrophie bei Multipler Sklerose wird von den Erstbeschreibern (Smith et al. 2000) anhand einer Additivitätsanalyse begründet. Dabei wird vorausgesetzt, dass die Gehirnatrophie des gesamten Untersuchungszeitraumes der Summe der Veränderungen der dazwischenliegenden Intervalle entspricht. In der Additivitätsanalyse der MS-Daten konnten wir die Ergebnisse der Originalpublikation von Smith et al. (2000) durchaus reproduzieren. Allerdings täuscht diese Analyse über den wahren methodischen Fehler hinweg und suggeriert ein präzise arbeitendes Verfahren, indem der Einfluss der gehäuft auftretenden Ausreißer stark reduziert wird.

Zusammenfassend gesagt, bedürfte es zur Optimierung der Untersuchung der Hirnvolumenänderung bei MS-Patienten mittels SIENA einer deutlich größeren Anzahl an Untersuchungen, um mögliche Ausreißer sicher identifizieren zu können. Nicht plausible Messdaten müssten manuell aus der Analyse ausgeschlossen werden. Weiterhin benötigte man aufgrund der bestehenden Messungenauigkeit einen längeren Untersuchungszeitraum mit entsprechend ausgeprägten Hirnvolumenänderungen, wobei jedoch bei zu hoher Läsionslast die defizitäre Segmentierung durch SIENA in den Vordergrund tritt. Insgesamt muss somit anhand unserer Ergebnisse konstatiert werden, dass SIENA nur sehr eingeschränkt in der klinischen und wissenschaftlichen Praxis für die untersuchte Fragestellung eingesetzt werden kann.

6 Anhang

Vier Patienten mit deutlicher Hirnatrophie

Patienten	Geschlecht	MS-Verlaufsform	0>1	0>2	0>3	0>4
1	m	SP	-1,23	-0,93	-2,22	-4,21
2	w	RR	0,16	-0,60	-1,63	-3,21
3	w	SP	0,44	-0,96	-1,46	-6,55
4	w	RR	-0,28	-1,36	-2,27	-4,19

Tabelle 5: Atrophieverlauf bei Patienten mit deutlicher Atrophie

Verlauf der Hirnvolumenänderung über zwei Jahre in %, Vergleich des *Baseline*-Bildes mit Folgezeitpunkten.

Als „Ausreißer“ wurden die vier Patienten dieser Kohorte definiert, die nach zwei Jahren eine Gehirnvolumenabnahme zeigten, die größer als der Mittelwert dieser Gruppe + Standardabweichung war. Dargestellt sind jeweils die vier Messungen, die sich aus dem Vergleich des *Baseline*-Bildes mit den Folgemessungen ergeben.

Einfluss der Kopfposition

Betrachtete Kopfpositionen	Hirnvolumenänderung [%]
1>2	-0,12
1>3	0,19
1>4	0,03
2>3	0,28
2>4	-0,01
3>4	-0,10
Mittelwert	0,05
Standardabweichung	0,16

Tabelle 6: Auswertung der verschiedenen Kopfpositionen mit SIENA

Position 1 entspricht der Standard-Kopfposition, die durch die Probanden der Studie im Scanner eingenommen wurde. In Position 2 rutscht der Kopf in der Spule etwas nach unten, Position 3 ist eine leichte Drehung nach links und Position vier eine Bewegung nach hinten.

Wachsendes Gehirn, Initialauswertung und Skalierungskorrektur

Messung	Hirnvolumenänderung [%]	Skalierungskorrigierte Hirnvolumenänderung [%] ((1+final PBVC/100)*(rel. Volumenänderung)-1)*100
0>1	-0,15	6,23
0>2	-2,50	7,07
0>3	-2,29	8,79
0>4	-2,73	9,46
0>5	-0,23	14,36
0>6	-1,99	13,02
0>7	-2,84	13,10

Tabelle 7: Wachsendes Gehirn - Darstellung der Hirnvolumenänderung initial und nach Skalierungskorrektur

Additivität bei Marburg-MS

n<3 sind die ersten beiden Messungen 0>1 und 0>2. n>3 sind die folgenden Messungen 0>4, 0>5, 0>6. Für n<3 wurde (0>3) – (n>3) statt (0<3) + (3>n) berechnet, wie in folgender Tabelle dargestellt:

corr. final PBVC [%] links corr. addierte final PBVC [%] rechts	corr. final PBVC [%] rot in Abbildung	corr. addierte final PBVC [%] blau in Abbildung
0>1 \triangleq (0>3) - (1>3)	-1,77	-1,71
0>2 \triangleq (0>3) - (2>3)	-2,59	-2,58
0>3 Ausreißer	-1,19	
0>4 \triangleq (0>3) + (3>4)	-6,63	-6,44
0>5 \triangleq (0>3) + (3>5)	-7,64	-7,53
0>6 \triangleq (0>3) + (3>6)	-8,82	-8,47

Tabelle 8: corr. Hirnvolumenänderung Marburg und Additivitätswert

7 Literaturverzeichnis

Barnes D, Munro PM, Youl BD, Prineas JW, McDonald WI (1991): The longstanding MS lesion. A quantitative MRI and electron microscopic study. *Brain* 114, 1271–1280

Bermel RA, Bakshi R (2006): The measurement and clinical relevance of brain atrophy in multiple sclerosis. *The Lancet Neurology* 5, 158–170

Chapman C, Tubridy N, Cook MJ, Mitchell PJ, MacGregor LR, Lovelock C, Litewka L, Sedal L, Kilpatrick TJ, Butzkueven H (2006): Short-term effects of methylprednisolone on cerebral volume in multiple sclerosis relapses. *J Clinical Neurosci* 13, 636–638

Cotton F, Weiner HL, Jolesz FA, Guttmann CR (2003): MRI contrast uptake in new lesions in relapsing-remitting MS followed at weekly intervals. *Neurology* 60, 640–646

De Stefano N, Airas L, Grigoriadis N, Mattle HP, O'Riordan J, Oreja-Guevara C, Sellebjerg F, Stankoff B, Walczak A, Wiendl H et al. (2014): Clinical relevance of brain volume measures in multiple sclerosis. *CNS Drugs* 28, 147–156

DGN-Leitlinie (2012): Diagnose und Therapie der Multiplen Sklerose.

<http://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/030-050.html> (Zugriff am 07.04.2014)

Di Filippo M, Anderson VM, Altmann DR, Swanton JK, Plant GT, Thompson AJ, Miller DH (2010): Brain atrophy and lesion load measures over 1 year relate to clinical status after 6 years in patients with clinically isolated syndromes. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 81, 204–208

Duning T, Kloska S, Steinsträter O, Kugel H, Heindel W, Knecht S (2005): Dehydration confounds the assessment of brain atrophy. *Neurology* 64, 548–550

Durand-Dubief F, Belaroussi B, Armspach JP, Dufour M, Roggerone S, Vukusic S, Hannoun S, Sappey-Marinier D, Confavreux C, Cotton F (2012): Reliability of longitudinal brain volume loss measurements between 2 sites in patients with multiple sclerosis: comparison of 7 quantification techniques. *AJNR Am J Neuroradiol* 33, 1918–1924

Elenein RG, Sharer LR, Cook SD, Pachner AR, Michaels J, Hillen ME (2011): A second case of Marburg's variant of multiple sclerosis with vasculitis and extensive demyelination. *Mult Scler* 17, 1531–1538

- Enzinger C, Fazekas F, Matthews PM, Ropele S, Schmidt H, Smith S, Schmidt R (2005): Risk factors for progression of brain atrophy in aging: six-year follow-up of normal subjects. *Neurology* 64, 1704–1711
- Fischer J, Jak A, Kniker J, Rudick RA, Cutter G (2001): Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC): Administration and Scoring Manual. <http://www.nationalmssociety.org/For-Professionals/Researchers/Resources-for-Researchers/Clinical-Study-Measures/Multiple-Sclerosis-Functional-Composite-%28MSFC%29>, Zugriff Oktober 2001
- Fisher E, Rudick RA, Simon JH, Cutter G, Baier M, Lee J, Miller DH, Weinstock-Guttman B, Mass MK, Dougherty DS et al. (2002): Eight-year follow-up study of brain atrophy in patients with MS. *Neurology* 59, 1412–1420
- Fjell AM, Walhovd KB, Fennema-Notestine C, McEvoy LK, Hagler DJ, Holland D, Brewer JB, Dale AM (2009): One-year brain atrophy evident in healthy aging. *J Neurosci* 29, 15223–15231
- Fu L, Matthews PM, De Stefano N, Worsley KJ, Narayanan S, Francis GS, Antel JP, Wolfson C, Arnold DL (1998): Imaging axonal damage of normal-appearing white matter in multiple sclerosis. *Brain* 121, 103–113
- Furby J, Hayton T, Altmann D, Brenner R, Chataway J, Smith KJ, Miller DH, Kapoor R (2010): A longitudinal study of MRI-detected atrophy in secondary progressive multiple sclerosis. *J Neurol* 257, 1508–1516
- Ge Y (2006): Multiple sclerosis: the role of MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol* 27, 1165–1176
- Gordon N (1980): Apparent cerebral atrophy in patients on treatment with steroids. *Dev Med Child Neurol* 22, 502–506
- Hedman AM, van Haren NE, Schnack HG, Kahn RS, Hulshoff Pol HE (2012): Human brain changes across the life span: a review of 56 longitudinal magnetic resonance imaging studies. *Hum Brain Mapp* 33, 1987–2002
- Helms G (2001): Volume correction for edema in single-volume proton MR spectroscopy of contrast-enhancing multiple sclerosis lesions. *Magn Reson Med* 46, 256–263

Hoogervorst EL, Polman CH, Barkhof F (2002): Cerebral volume changes in multiple sclerosis patients treated with high-dose intravenous methylprednisolone. *Mult Scler* 8, 415–419

Horakova D, Cox JL, Havrdova E, Hussein S, Dolezal O, Cookfair D, Dwyer MG, Seidl Z, Bergsland N, Vaneckova M et al. (2008): Evolution of different MRI measures in patients with active relapsing-remitting multiple sclerosis over 2 and 5 years: a case-control study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 79, 407–414

Jenkinson M, Smith SM (2001): A global optimisation method for robust affine registration of brain images. *Med Image Anal* 5, 143–156

Kalkers NF, Ameziane N, Bot JC, Minneboo A, Polman CH, Barkhof F (2002): Longitudinal brain volume measurement in multiple sclerosis: rate of brain atrophy is independent of the disease subtype: Rate of Brain Atrophy Is Independent of the Disease Subtype. *Arch Neurol* 59, 1572–1576

Kempton MJ, Ettinger U, Schmechtig A, Winter EM, Smith L, McMorris T, Wilkinson ID, Williams SC, Steven CR, Smith MS (2009): Effects of acute dehydration on brain morphology in healthy humans. *Hum Brain Mapp* 30, 291–298

Kurtzke JF (1983): Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: An expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 33, 1444

Lazeron RH, De Sonneville LM, Scheltens P, Polman CH, Barkhof F (2006): Cognitive slowing in multiple sclerosis is strongly associated with brain volume reduction. *Mult Scler* 12, 760–768

Lövblad KO, Anzalone N, Dörfler A, Essig M, Hurwitz B, Kappos L, Lee SK, Filippi M (2010): MR imaging in multiple sclerosis: review and recommendations for current practice. *AJNR Am J Neuroradiol* 31, 983–989

McFarland HF (2009): Examination of the role of magnetic resonance imaging in multiple sclerosis: A problem-orientated approach. *Ann Indian Acad Neurol* 12, 254–263

Miller DH, Barkhof F, Frank JA, Parker GJ, Thompson AJ (2002): Measurement of atrophy in multiple sclerosis: pathological basis, methodological aspects and clinical relevance. *Brain* 125, 1676–1695

- Mills RJ, Young CA, Smith ET (2007): 3D MRI in multiple sclerosis: a study of three sequences at 3 T. *Br J Radiol* 80, 307–320
- Neacsu V, Jasperse B, Korteweg T, Knol DL, Valsasina P, Filippi M, Barkhof F, Rovaris M, Vrenken H (2008): Agreement between different input image types in brain atrophy measurement in multiple sclerosis using SIENAX and SIENA. *J Magn Reson Imaging* 28, 559–565
- Polman CH, Reingold SC, Banwell B, Clanet M, Cohen JA, Filippi M, Fujihara K, Havrdova E, Hutchinson M, Kappos L et al. (2011): Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol* 69, 292–302
- Popescu V, Battaglini M, Hoogstrate WS, Verfaillie SC, Sluimer IC, van Schijndel RA, van Dijk BW, Cover KS, Knol DL, Jenkinson M et al. (2012): Optimizing parameter choice for FSL-Brain Extraction Tool (BET) on 3D T1 images in multiple sclerosis. *Neuroimage* 61, 1484–1494
- Popescu V, Agosta F, Hulst HE, Sluimer IC, Knol DL, Sormani MP, Enzinger C, Ropele S, Alonso J, Sastre-Garriga J et al. (2013): Brain atrophy and lesion load predict long term disability in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 84, 1082–1091
- Rudick RA, Fisher E, Lee JC, Simon J, Jacobs L (1999): Use of the brain parenchymal fraction to measure whole brain atrophy in relapsing-remitting MS. *Neurology* 53, 1698
- Sahraian MA, Eshaghi A (2010): Role of MRI in diagnosis and treatment of multiple sclerosis. *Clin Neurol Neurosurg* 112, 609–615
- Scahill RI, Frost C, Jenkins R, Whitwell JL, Rossor MN, Fox NC (2003): A longitudinal study of brain volume changes in normal aging using serial registered magnetic resonance imaging. *Arch Neurol* 60, 989–994
- Siffrin V, Vogt J, Radbruch H, Nitsch R, Zipp F (2010): Multiple sclerosis - candidate mechanisms underlying CNS atrophy. *Trends Neurosci* 33, 202–210
- Smith SM (2002): Fast robust automated brain extraction. *Hum Brain Mapp* 17, 143–155

- Smith SM, De Stefano N, Jenkinson M, Matthews PM (2000): Measurement of Brain Change Over Time. FMRIB Technical Report TR00SMS1 <http://www.fmrib.ox.ac.uk/analysis/techrep/tr00ss1/tr00ss1.pdf>
- Smith SM, De Stefano N, Jenkinson M, Matthews PM (2001a): Normalized accurate measurement of longitudinal brain change. *J Comput Assist Tomogr* 25, 466–475
- Smith SM, Zhang Y, Jenkinson M, Chen J, Matthews P, Federico A, De Stefano N (2001b): Brain atrophy analysis using single- and multiple-time-point Data. FMRIB Technical Report TR01SMS1 <http://www.fmrib.ox.ac.uk/analysis/techrep/tr01ss1/tr01ss1.pdf>
- Smith SM, Zhang Y, Jenkinson M, Chen J, Matthews PM, Federico A, De Stefano N (2002): Accurate, Robust, and Automated Longitudinal and Cross-Sectional Brain Change Analysis. *Neuroimage* 17, 479–489
- Takao H, Hayashi N, Ohtomo K (2011): Effect of scanner in longitudinal studies of brain volume changes. *J Magn Reson Imaging* 34, 438–444
- Viola P, Wells III WM (1997): Alignment by Maximization of Mutual Information. *Int J Comput Vis* 24, 137–154
- Zettl U, Mix E (Hrsg.): *Bildgebung in der klinischen Neuroimmunologie: 50 Tabellen*. Thieme, Stuttgart 2004
- Zhang Y, Brady M, Smith S (2001): Segmentation of brain MR images through a hidden Markov random field model and the expectation-maximization algorithm. *IEEE Trans Med Imaging* 20, 45–57
- Zivadinov R (2005): Steroids and brain atrophy in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 233, 73–81
- Zivadinov R, Rudick RA, De Masi R, Nasuelli D, Ukmar M, Pozzi-Mucelli RS, Grop A, Cazzato G, Zorzon M (2001): Effects of IV methylprednisolone on brain atrophy in relapsing-remitting MS. *Neurology* 57, 1239–1247

Danksagung

Ich danke Herrn PD Dr. rer. nat. Gunther Helms für die Bereitstellung des Themas, die Betreuung über die lange Zeit und die konstruktive Kritik.

Die Studie wurde gefördert von den Unternehmen Biogen Idec und Merck Serono.

Herr Prof. Dr. Mikael Simons und Frau PD Dr. Katharina Hein waren seitens der Abteilung Neurologie der UMG für die Studie verantwortlich. Ihnen gilt mein herzlicher Dank. Herrn PD Dr. Peter Dechent sei gedankt, dass ich die Arbeit an der Serviceeinheit MR-Forschung in der Neurologie und Psychiatrie durchführen konnte.

Frau Prof. Dr. Dr. Hannelore Ehrenreich, MPI für Experimentelle Medizin, Göttingen, danke ich für die Bereitstellung der longitudinalen Bilddaten des Marburg-MS-Falles. Herrn Prof. Dr. Dr. Robert Steinfeld und Frau Dr. Steffi F. Dreha-Kulaczewski, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, Abteilung Neuropädiatrie danke ich für den Datensatz des wachsenden kindlichen Gehirns.

Letztlich danke ich Herrn Carsten Schmidt-Samoa, Frau Illona Pfahlert und Frau Katrin Stärker für viele anregende Gespräche.

Lebenslauf

Mein Name ist Sara Marques Coelho Leiterholt und ich wurde am 29.08.1986 in Paderborn geboren.

Meine Schulausbildung absolvierte ich an der Deutschen Schule Lissabon und schloss diese im Mai 2004 mit dem Abitur ab. Vom Wintersemester 2004/2005 an studierte ich für zwei Semester Molekular- und Zellbiologie an der Universidade Nova de Lisboa, bevor ich zum Wintersemester 2005/2006 für das Studium der Humanmedizin an die Georg-August-Universität Göttingen wechselte. Im September 2007 absolvierte ich den Ersten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung. Im November 2011 schloss ich das Studium mit dem Zweiten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung ab.

Im November 2011 erhielt ich die Approbation als Ärztin. Seit Juli 2012 arbeite ich als Assistenzärztin in der Klinik für Anästhesie, Operative und Allgemeine Intensivmedizin, Notfallmedizin des Klinikums Links der Weser in Bremen (Chefärzte Prof. Peter H. Tonner und Dr. Thomas Augenstein).

Seit 2009 arbeite ich an der vorliegenden Dissertation mit dem Titel "Bestimmung der zerebralen Atrophie bei neurologischen Erkrankungen des Marklagers mittels SIENA" in der Abteilung Kognitive Neurologie (Prof. Dr. rer. nat. Melanie Wilke) unter der Betreuung von Herrn PD Dr. rer. nat. Gunther Helms.