Universitätsklinikum Ulm
Klinik für Neurologie
Prof. Dr. med. Albert C. Ludolph

Analyse ex post facto von Diffusion-Tensor-Imaging-Datensätzen unterschiedlicher Akquisitionsparameter bei 170 Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose zur Evaluation regionaler mikrostruktureller Veränderungen

Dissertation zur Erlangung des
Doktorgrads der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Ulm

vorgelegt von
Johannes C. Roßkopf
geb. in Mindelheim

2014

Amtierender Dekan: Prof. Dr. rer. nat. Thomas Wirth

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Jan Kassubek

2. Berichterstatter: Prof. Dr. phil. Georg Grön

Tag der Promotion: 15.12.2016

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis ..... **I**

Abkürzungsverzeichnis ..... **III**

1 Einleitung **1**

1.1 Amyotrophe Lateralsklerose (ALS) 1

1.2 Diffusions-Tensor-Magnet-Resonanz-Bildgebung 4

1.3 Magnet-Resonanz-Tomographie-Bildgebung bei ALS-Patienten 7

1.3.1 Routine-MRT-Sequenzen 7

1.3.2 Fortgeschrittene MRT-Sequenzen 8

1.4 Fragestellung der Arbeit 11

2 Patienten und Methoden **12**

2.1 Patientenkollektiv und Probanden 12

2.1.1 Patientenkollektiv und Probanden: epidemiologische Daten 13

2.1.2 Patientenkollektiv und Probanden: Magnetresonanztomographie-Protokolle 15

2.2 Methoden 17

2.2.1 Analyseparameter 17

2.2.2 Stereotaktische Transformation 18

2.2.3 Analysemethoden 19

2.2.4 Analyse heterogener Diffusion-Tensor-Imaging Datensätze 23

2.2.5 Konzept der 3D Korrekturmatrix 25

2.2.6 Generierung und Testung des Schwellenwertes 26

3 Ergebnisse **31**

3.1 Ähnlichkeitsbewertung verbundener heterogener Datensätze 31

3.2 Ähnlichkeitsbewertung heterogener Datensätze auf Gruppenniveau 34

3.3 Erstellung einer Korrekturmatrix 35

3.4 Whole Brain-Based Spatial Statistics bei Kontrollen und Patienten mit ALS 36
3.5 Bestimmung und Erprobung eines Schwellenwertes 38
3.5.1 Ergebnisse der vier ROI basierten Analyse 38
3.5.2 Ergebnisse der Fibertracking-basierten Analyse 41
3.6 Analyse des gesamten Datenkollektivs 42
3.7 Korrelationsanalyse zwischen klinischen Daten und Werten für Fraktionelle Anisotropie 44

4 Diskussion 46
4.1 Einfluss des MRT-Protokolls auf die gemessene Diffusivität 46
4.2 3D Korrekturmatrizen 48
4.3 Evaluation mikrostruktureller Veränderungen im CST 49
4.4 Limitierungen 53
4.5 Potentielle Verwendung von DTI-Daten-Pooling für zukünftige Studien 54

5 Zusammenfassung 56

6 Literaturverzeichnis 58

Abbildungsverzeichnis 68

Tabellenverzeichnis 70

Danksagung 72

Lebenslauf 73

Publikationen 73

Abkürzungsverzeichnis

AD	Axiale Diffusivität
ADC	Apparenter Diffusionskoeffizient
ADNI	Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative
ALS	Amyotrophe Lateralsklerose
ALSFRS-R	Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale - Revised
BOLD	Blood Oxygen Level Dependent
CC	Corpus callosum
CST	Tractus corticospinalis
CV	Variationskoeffizient (coefficient of variation)
DICOM	Digital Imaging and Communications in Medicine
DTI	Diffusion-Tensor-Imaging
DWI	Diffusion Weighted Imaging
FA	Fraktionelle Anisotropie
FLAIR	Fluid-Attenuated Inversion Recovery
fMRI	funktionelle Magnetresonanztomographie
FT	Fibertracking
FDR	False-Discovery-Rate
GD	Gradientenrichtungen (gradient directions)
MD	Mittlere Diffusivität
MNI	Montreal Neurological Institute
MRT	Magnetresonanztomographie
NiSALS	NeuroImaging Society in ALS initiative
PET	Positronen Emissions Tomographie
PLS	Primäre Lateralsklerose
RD	Radial Diffusivität
ROC-Kurve	Receiver Operating Characteristic Kurve

ROI	Region-of-Interest
SNR	Signal-to-Noise-Ratio
SPECT	Single Photon Emission Computed Tomography
Std	Standardabweichung
TBSS	Tract-Based Spatial Statistics
TE	Echozeit (Time Echo)
TR	Repetitionszeit (Time Repetition)
TFAS	Tractwise Fractional Anisotropy Statistics
TIFT	Tensor Imaging and Fiber Tracking (Software)
VBM	Voxel-Based Morphometry
WBSS	Whole Brain-Based Spatial Statistics

1 Einleitung

1.1 Amyotrophe Lateralsklerose (ALS)

Die Amyotrophe Lateralsklerose (ALS) ist eine rasch progressive, degenerative Multisystemerkrankung mit Betonung des motorischen Nervensystems, wobei obligat sowohl das erste Motoneuron (Pyramidenzellen des motorischen Kortex) als auch gleichzeitig das zweite Motoneuron (alpha-Motoneurone im Hirnstamm und Vorderhorn des Rückenmarks) betroffen sind [Chiò et al. 2009][Smith 1992].

Mit einer Inzidenz von etwa 2,5/100.000 Einwohnern pro Jahr [Uenal et al. 2014] stellt die ALS eine seltene, aber dennoch unter den adulten Motoneuronenerkrankungen die häufigste Erkrankung dar. Zudem ist aus epidemiologischer Sicht eine homogene Verteilung in westlichen Ländern mit einem Häufigkeitsgipfel in Gebieten des westlichen Pazifik festzustellen [Steele & McGeer 2008]. Die Erstmanifestation der Erkrankung fällt in der Regel auf die Mitte der sechsten Lebensdekade, mit leichter Präferenz des männlichen Geschlechts (m:w im Verhältnis 1,1:1) [Uenal et al. 2014].

Es wird bei bis zu 90 % der ALS-Patienten von einem sporadischen Verlauf ausgegangen. Nur 5-10 % weisen eine familiäre ALS auf [Andersen & Al-Chalabi 2011]. Bei bis zu 40 % der Patienten mit familiärer ALS lässt sich eine Hexanukleotid-Wiederholung (GGGGCC) auf Chromosom C90RF72 ausmachen [Renton et al. 2011]. Etwa 20 % tragen eine Mutation im Gen für das Superoxiddismutase-Enzym (SOD1) und 2-5 % im TARDBP Gen, welches für das TDP-43 Protein kodiert [DeJesus-Hernandez et al. 2011][Renton et al. 2011]. Auch bei den sporadischen Verläufen sind entsprechende Veränderungen auf genetischer Ebene gefunden worden [Kabashi et al. 2008][Sreedharan et al. 2008].

Wesentlich für die klinische Betreuung ist die Einteilung der ALS nach klinischen Zeichen. Mehr als zwei Drittel aller Erkrankten zeigen zu Beginn eine spinale Symptomatik. Als Ausdruck des Untergangs des ersten Motoneurons imponieren gesteigerte Muskeleigenreflexe und ein spastisch erhöhter Muskeltonus. Progrediente atrophe Paresen der willkürlich innervierten Muskeln und Faszikulationen sind Korrelate für den Funktionsverlust des zweiten Motoneurons. Ist die Erstmanifestation im Bereich der Schluck- und Sprechmuskulatur, so spricht man von einer bulbären Verlaufsform. In der Regel treten binnen weniger Jahre auch hier spinale Störungen zusätzlich hinzu. Um den Fortschritt der Erkrankung bei ALS-

Patienten zu überwachen, hat sich der Gebrauch einer Skala, der ALSFRS-R (Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale - Revised) etabliert [Cedarbaum et al 1999]. Hierbei werden spinale und bulbäre Symptome gewichtet und außerdem Abschätzungen über die respiratorische Lage des Patienten getroffen, indem auch Dyspnoe, Orthopnoe und nichtinvasive Beatmungen berücksichtigt werden.

Zur Diagnosestellung der ALS werden aktuell noch die bereits 1998 aufgestellten EL-Escorial-Kriterien der World Federation of Neurology [Brooks et al. 2000] herangezogen. Die wissenschaftlichen Diagnosekriterien sind im Klinikalltag und in klinischen Studien die meist benutzte Methode der formalen Diagnosestellung und berücksichtigen dabei Zeichen für die Schädigung des ersten und zweiten Motoneurons aus der Anamneseerhebung, körperlichen Untersuchung und apparativen Diagnostik wie beispielsweise der Elektromyographie. Je nach Ausmaß und Lokalisation von Pathologien – zum Beispiel in Bezug auf der Frage nach distalen oder proximalen Atrophien oder symmetrischem oder asymmetrischem Befall der Extremitäten oder Beteiligung der unteren Extremität oder oberen Extremität mit Beeinträchtigung der Gehfähigkeit beziehungsweise Beweglichkeit der Hände – wird die Diagnose gemäß den El-Escorial-Kriterien weiter unterteilt in klinisch definitive, klinisch wahrscheinliche, klinisch wahrscheinlich laborunterstützte, klinisch mögliche und klinisch vermutete ALS. Diese Kriterien befinden sich aktuell in einem Prozess der Überarbeitung.

Bei ALS führt in der Regel die rasch progressive Lähmung mit Beteiligung der Atemmuskulatur zum Tod binnen weniger Jahre (mediane Überlebenszeit 2-5 Jahre) durch respiratorische Insuffizienz [Logroscino et al. 2008]. Ein kurativer Ansatz existiert noch nicht. In einem multidisziplinären Setting lässt sich supportiv und auch palliativ effiziente Symptomtherapie betreiben [Phukan & Hardiman 2009]. Zur medikamentösen Behandlung steht einzig Riluzol zur Verfügung. In größeren Studien konnte gezeigt werden, dass die durch Riluzol ausgelösten modulierenden Effekte an glutamatergen Synapsen eine lebensverlängernde Wirkung auf ALS-Patienten besitzen [Miller et al. 1999]. Auch der Einsatz von nichtinvasiven Beatmungsanlagen führt nicht nur zur Lebensverlängerung, sondern auch zu einer Steigerung der Lebensqualität [Bourke et al. 2006]. Darüber hinaus ist wesentlich, den ungewollten Gewichtsverlust, der einen negativen prognostischen Faktor darstellt, zu minimieren [Dupuis et al. 2011].

In den Anfängen bestand keine einheitliche Meinung darüber, ob die Primäre Lateralsklerose (PLS) eine eigenständige Entität oder eine benigne Variante der ALS darstellt [Rowland 2005]. Der derzeitige Wissensstand allerdings legt eine Zuordnung der PLS als langsamer verlaufende Erscheinungsform der ALS im Sinne einer klinischen Variante mit Betonung des ersten Motoneurons nahe [Singer et al. 2007]. Nur etwa fünf Prozent aller Motoneuronenerkrankungen können der PLS zugeordnet werden [Rowland 2005]. Die Inzidenz der PLS beträgt 1/1.000.000 und die Prävalenz 15/100.000. Der Beginn der Symptomatik tritt vergleichbar zur ALS im mittleren Erwachsenenalter oder später ein – etwa in der fünften bis sechsten Lebensdekade [Gordon et al. 2006][Pringle et al. 1992] – und ebenfalls mit leichter Prädominanz im männlichen Geschlecht.

In Analogie zur ALS ist auch zur Therapie der PLS bis heute kein kurativer Ansatz vorhanden. Leider zeigten bisher noch keine Studien, dass Riluzol einen Benefit auch für PLS-Patienten aufweist [Singer et al. 2007]. Symptomtherapie hilft, um zum Beispiel Spastik und Speichelfluss zu vermindern. Eine Kombination mit Sprechtraining, Lungentraining und Physiotherapie ist ein wesentlicher Faktor der Begleittherapie. Zur Beurteilung des klinischen Status und als Read-out für potentielle klinische Studien sind zahlreiche unterschiedliche Techniken als Biomarker im Evaluationsprozess [Turner et al. 2009]. Sowohl laborchemische Analysen von Blut und Liquor cerebrospinalis als auch neuropsychologische und bildgebungs-basierte Studien [Turner et al. 2011] werden hierzu durchgeführt. Eine Kombination der Biomarker könnte auch dazu beitragen, frühe therapeutische Effekte zu detektieren, um sich nicht auf Erkenntnisse aus Tiermodellen verlassen zu müssen, welche ungewisse Bedeutung bei Patienten mit ALS besitzen. Außerdem könnten Biomarker in klinischen Studien helfen, phänotypische Unterschiede zwischen Patienten mit ALS besser zu charakterisieren.

1.2 Diffusions-Tensor-Magnet-Resonanz-Bildgebung

Unter „Diffusions-Tensor-Magnet-Resonanz-Bildgebung“ (DT-MRI oder kurz DTI für Diffusion Tensor Imaging) versteht man, ein auf Kernspintechnologie basierendes nichtinvasives bildgebendes Verfahren, wodurch die Diffusivität von Wassermolekülen in Körpergeweben und besonders der weißen Substanz des Gehirns gemessen werden kann.

Gemäß dem allgemeingültigen Lehrsatz der Brownschen Molekularbewegung diffundieren Moleküle aufgrund ihrer thermischen Energie zufällig und frei (isotrop) in alle drei Richtungen des Raumes. Das erste Ficksche Gesetz quantifiziert mathematisch dieses Phänomen mit der Gleichung:

$$J = -D \cdot A \cdot \frac{\Delta c}{\Delta x} \tag{1}$$

Die Teilchenstromdichte J durch eine Fläche A ist somit direkt proportional zum Konzentrationsgradienten $\frac{\Delta c}{\Delta x}$ und dem skalaren Diffusionskoeffizienten D.

Auf diesem Gesetz aufbauend und auf die Kernspin-Scanner-Technik übertragen, ergibt sich eine Signalabschwächung des MR-Signals abhängig vom Diffusionskoeffizienten D und dem sogenannten b-Wert, welcher zusammengesetzt ist aus:

$$A \sim e^{-Db} \tag{2}$$

Der b-Wert ist abhängig von der Stärke und Dauer der diffusionskodierenden Gradienten. Bei DWI-Sequenzen („Diffusion Weighted Imaging“) stellt der Diffusionskoeffizient D einen Skalar dar und resultiert in einer *ADC-map* („Apparenter Diffusionskoeffizient“). Eine Erweiterung des Verfahrens ist die DTI-Technik. Mit Messungen von mindestens sechs diffusionskodierenden Gradienten verschiedener Raumrichtungen sind der b-Wert und D aufgrund der Möglichkeit von gerichteter (anisotroper) Diffusion in der weißen Substanz des menschlichen Gehirns nicht mehr nur ein Skalar, sondern Tensoren $\overline{\overline{\mathrm{b}}}$ und $\overline{\overline{\mathrm{D}}}$. Bei DTI beschreibt $\overline{\overline{\mathrm{D}}}$ in erster Näherung eine Mobilität auf molekularer Ebene in allen Raumrichtungen und eine Korrelation zwischen diesen Richtungen [Mattiello et al. 1994], und lässt sich mittels unterschiedlicher Metriken wie der MD („Mittlere Diffusivität“), AD („Axiale Diffusivität“), RD („Radiale Diffusivität“) und FA (Fraktionellen Anisotropie) wiedergeben (siehe 2.2.1 Analyseparameter).

Die Anisotropie im menschlichen Gehirn ist von der Orientierung der Faserstränge in der weißen Substanz abhängig. So besteht die weiße Gehirnsubstanz im Zentralnervensystem

aus dichtgepackten Nervenfasern. Innerhalb eines Axons ist die Diffusion senkrecht zur Faserorientierung durch Membranen, Proteinstränge und Myelinscheiden gehemmt (Abbildung 1 A). Daneben gibt es allerdings auch mikro- und makrostrukturelle Eigenschaften, die die Diffusivität beeinflussen. Mikrostrukturelle, intraaxonale Zellorganisationen, die Dichte der Faser- und Zellpackungen, Grad der Myelinisierung und individuelle Faserdurchmesser scheinen entscheidend zur Richtungsabhängigkeit der Diffusion beizutragen [Müller & Kassubek 2013]. Auf makroskopischer Ebene spielt die Variabilität in der Orientierung aller Faserzüge in einem Volumenelement, genannt Voxel, eine wichtige Rolle. So enthält ein Voxel, etwa in der Größenordnung eines Quaders mit 1 - 4 Millimetern Kantenlänge, die gemittelte Information der Diffusionseigenschaften des Wassers über mehrere Axone und auch des umgebenden Gewebes [Pierpaoli & Basser 1996].

DTI ist sensitiv gegenüber der Gerichtetheit der Hauptachse, welche der vorherrschenden Orientierung der Axone entspricht. Dies bedeutet, dass der Faserverlauf der Axone das gemessene Signal bestimmt [Mori & van Zijl 2002].

Zusammenfassend liefert DTI zwei Informationen über die Diffusionseigenschaften des Wassers: erstens ein richtungsunabhängiges Maß bezüglich der Anisotropie [Pierpaoli & Basser 1996] und zweitens die hauptsächliche Diffusionsrichtung in einem Bildvoxel [Pajevic & Pierpaoli 1999].

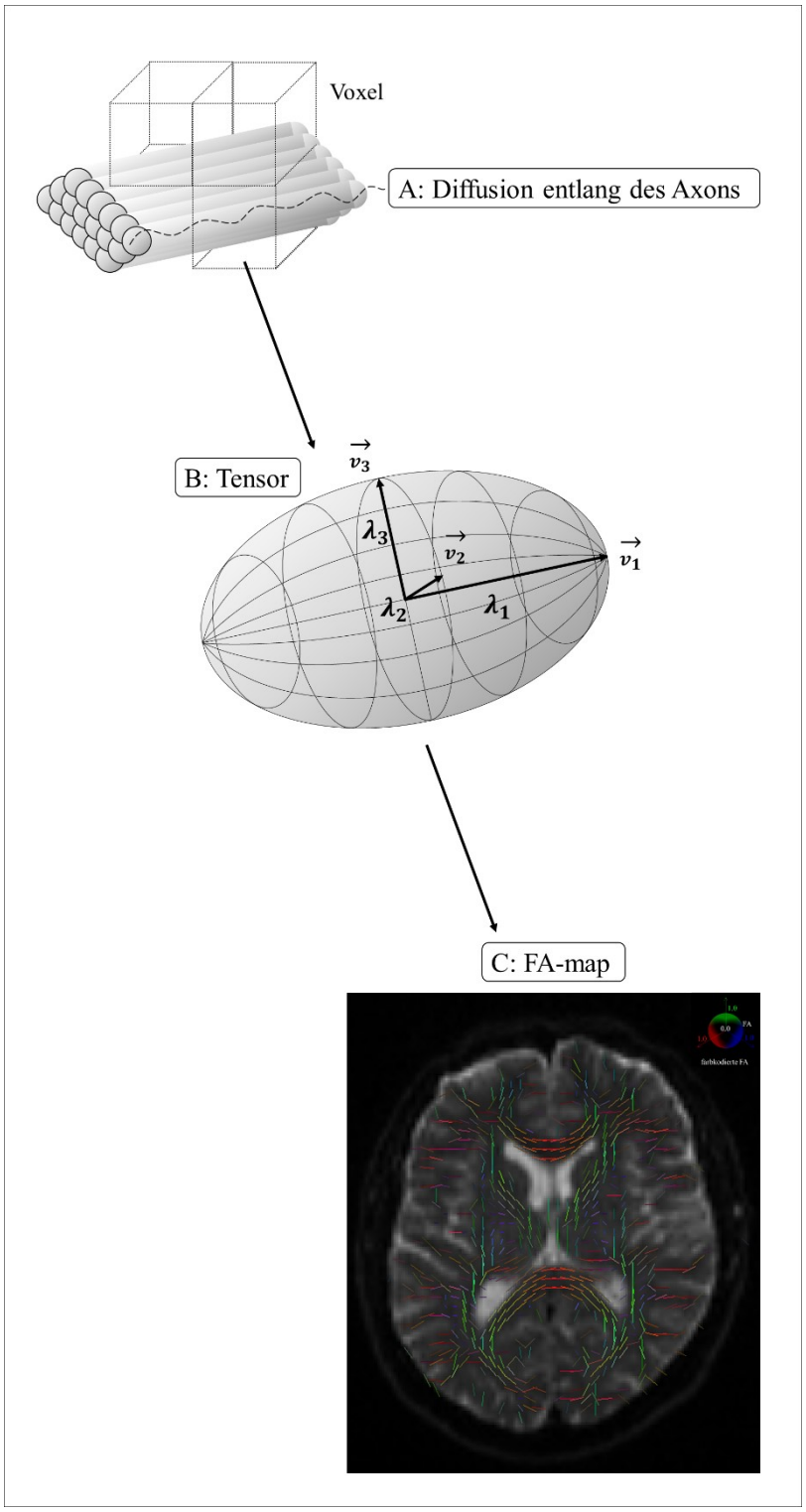


Abbildung 1: (A) Die gestrichelte Linie zeigt die gerichtete (anisotrope) Diffusion eines Wassermoleküls entlang des axonalen Verlaufs in einem Nervenbündel; (B) hohe Anisotropie bedeutet in graphischer Darstellung ein Diffusionsellipsoid in Zigarrenform (Prolat), wobei für die Eigenwerte gilt: $\lambda_1 \gg \lambda_2; \lambda_3$; die dazugehörigen Eigenvektoren sind hier $\overrightarrow{v_1}; \overrightarrow{v_2}; \overrightarrow{v_3}$; (C) FA-Map mit farbkodierter Wiedergabe der Fraktionellen Anisotropie (FA).

1.3 Magnet-Resonanz-Tomographie-Bildgebung bei ALS-Patienten

1.3.1 Routine-MRT-Sequenzen

Konventionelle Magnetresonanztomographie-(MRT)-Bildgebungstechniken des Gehirns und Rückenmarks stellen ein Kernelement der differentialdiagnostischen Aufarbeitung bei Patienten mit klinischen Zeichen einer Motoneuronenerkrankung, zum Beispiel ALS, dar [Grosskreutz et al. 2008][Kassubek et al. 2012]. Jedoch verbleiben Sensitivität und Spezifität der MRT-Signale bei diesen Erkrankungen moderat bis gering und besitzen einen Evidenzgrad nicht höher als Klasse IV („Good Clinical Practice Point“) [Agosta et al. 2010c][Filippi et al. 2010][Turner et al. 2009]. Dennoch wurden in der Literatur einige MRT-Zeichen beschrieben, die die Diagnose möglicherweise direkt stützen. Signalintensitätsveränderungen entlang des Tractus corticospinalis (CST) im Hirnstamm oder gelegentlich im Rückenmark wurden beschrieben [Basak et al. 2002][Goodin et al. 1988][Hecht et al. 2002]. In einer Übersichtsarbeit von Grosskreutz et al. [Grosskreutz et al. 2008] wurden Atrophie im Gyrus präzentralis oder Hypointensitäten im Gyrus präzentralis als die „motor dark line“ in T_2-gewichteten Aufnahmen beschrieben. Zudem wurden Signalverkürzungen bei T_2-gewichteten Akquisitionen berichtet, wobei der Ursprung der Veränderungen des gemessenen Signals allerdings noch unbekannt ist, da Hecht et al. [Hecht et al. 2005] in einer Untersuchung von 69 Datensätzen von ALS-Patienten bei 31 T_2-gewichteten und nur bei drei T_2*-gewichteten Datensätzen Signalverkürzungen fanden. An 15 bei ALS-Patienten erhobenen Protonendichte-gewichteten Datensätzen stellten Basak et al. [Basak et al. 2002] Signalveränderungen im Frontalhirnbereich fest, welche Hinweise auf eine frontale Beteiligung liefern. Darüber hinaus postulierten Grosskreutz et al. [Grosskreutz et al. 2008], dass Erhebungen mit Fluid-Attenuated Inversion Recovery (FLAIR)-Sequenzen eine etwas bessere Sensitivität erzielen als Erhebungen mit T_1- und T_2-gewichteten Sequenzen, bezüglich der Detektion von mikrostrukturellen Veränderungen im CST. Bei der PLS wird von Atrophie im Gyrus präzentralis und Hyperintensitäten im CST [Singer et al. 2007] berichtet. Butman & Floeter [Butman & Floeter 2007] untersuchten 7 PLS-Patienten mittels klinischer Routine-MRT-Sequenzen und fanden eine fokale Atrophie im Gyrus präzentralis. Bei ALS und PLS wurden mikrostrukturelle Veränderungen im Bereich des Corpus callosum (CC) sowohl auf Individual- als auch auf Gruppenniveau beschrieben [Müller et al. 2012].

In frühen Bildgebungsstudien fanden Techniken wie die Positronen Emissions Tomographie (PET) und Einzelphotonen-Emissionscomputertomographie (SPECT=Single Photon Emission Computed Tomography) bei ALS Verwendung, um den Stoffwechselumsatz des Gehirns in Ruhe oder um aufgabenbezogene Blutflussveränderungen im Gehirn zu untersuchen. In mehreren Erhebungen, wie zum Beispiel von Tanaka et al. [Tanaka et al. 2003], wurden bei Patienten mit ALS Hypometabolismus und Hypoperfusion vor allem der motorischen Hirnrinde mit Projektionen in frontale Areale festgestellt. Turner und Leigh [Turner & Leigh 2000] postulierten allerdings, dass das Potential der PET- und SPECT-Techniken als Surrogatmarker nie völlig ausgeschöpft wurde. Als Ursache hierfür ist die breitere Verfügbarkeit von MRT-Scannern in vielen Kliniken und Forschungszentren anzuführen, welche zu einer Reduktion invasiver diagnostischer Verfahren führte, sodass die MRT-Bildgebung zur Routinetechnik für Klinik und Forschung bei ALS wurde. Teilweise kommt es jedoch in Ländern mit erleichtertem Zugang zu PET zu einem erneuten Anstieg der Fluorodesoxyglucose-PET-Untersuchung bei ALS [Van Laere et al. 2014]

1.3.2 Fortgeschrittene MRT-Sequenzen

In ALS-Studien sind heutzutage computer-basierte MRT-Verfahren etablierte MRT-Techniken. Ganzhirnbasierte, strukturelle Analysen können mittels diffusions-gewichteter Aufnahmen (DWI) oder volumetrische/morphometrische Analysen mittels Voxel-Based Morphometry (VBM) durchgeführt werden [Agosta et al. 2010a]. Unter Verwendung von VBM-Analyseverfahren konnten Kassubek et al. [Kassubek et al. 2005] eine globale Hirnatrophie und Veränderungen im CST bei ALS-Patienten nachweisen. Veränderungen über metabolische Vorgänge wie einer Verringerung der Konzentration von N-Acetylaspartat sind mit der Technik der ^{1}H-MRT-Spektroskopie auszumachen [Unrath et al. 2007]. Die meisten ^{1}H-MRT-Spektroskopie-Studien sind Querschnittuntersuchungen [Kalra & Arnold 2003], dennoch konnten einzelne Studien im longitudinalen Studiendesign zeigen, dass die ^{1}H-MRT-Spektroskopie ein Potential besitzt, um mikrostrukturelle Veränderungen zu detektieren, obwohl die Zahl untersuchter Probanden häufig nur gering war [Kassubek et al. 2012]. Aufgrund einer mittlerweile breiten Verfügbarkeit von funktioneller MRT-Bildgebung (fMRI), mit einer Vielzahl von Paradigmen, welche motorische und extramotorische Funktionen mittels Blood Oxygen Level Dependent (BOLD)-Bildgebung adressieren, wurden funktionelle Studien mit exponentiell wachsender Anzahl innerhalb der letzten Jahre durchgeführt [Lulé et al. 2009]. Das Konzept der multiparametrischen MRT-Bildgebung,

worunter eine Kombination verschiedener MRT-basierter Techniken verstanden wird [Verstraete et al. 2010], wird von zahlreichen Arbeitsgruppen verfolgt. In der Untersuchung mit Kombination von DTI und resting state fMRI zeigte sich, dass eine gesteigerte funktionelle Verknüpfung möglicherweise mit einer schnelleren Krankheitsprogression assoziiert ist [Verstraete et al. 2010].

Mit in den letzten Jahren rasch steigenden Zahlen an Veröffentlichungen DTI-basierter Studienergebnisse hat sich die DTI-Technik als ein robustes nicht-invasives Verfahren etabliert, wodurch *in vivo* neuropathologische Veränderungen der weißen Gehirnsubstanz untersucht werden können [Müller et al. 2011]. Sach et al. [Sach et al. 2004] stellten in einer Untersuchung an 15 ALS-Patienten fest, dass sich, in Korrelation zur transkraniellen Magnetstimulation, mikrostrukturelle Veränderungen hauptsächlich entlang des CST mittels DTI erfassen lassen. Neuere Studien, zum Beispiel von Sage et al. [Sage et al. 2009], detektierten ebenfalls neuropathologische Beteiligungen des CC und der frontal subkortikalen Areale. Insbesondere die Region des CC wurde als eine Struktur identifiziert, welche MRT-sichtbare Veränderungen mittels DTI-Technik aufzeigt [Kassubek et al. 2012]: Eine Reduktion der FA-Werte im CC mit Projektionen rostral und bilateral zu den Regionen des primär motorischen Kortex, unabhängig von der Schwere der klinischen Beteiligung des ersten Motoneurons, wurde demonstriert. Anhand einer regionalen Veränderung der DTI-Metrik RD stellen Filippini et al. [Filippini et al. 2010] die Hypothese einer anterograden Degeneration des CC auf. Insbesondere das Motorsegment, welches dem Segment III gemäß der Einteilung nach Hofer und Frahm [Hofer & Frahm 2006] entspricht, zeigt bei Motoneuronenerkrankungen mittels DTI regionale Veränderungen. Zudem stellt das CC eine Schlüsselstruktur bei Motoneuronenerkrankungen mit Prädominanz des ersten Motoneurons (PLS) dar [Unrath et al. 2010][Unrath et al. 2011]. In einer Analyse auf Gruppenniveau von DTI-Datensätzen des Rückenmarks von 14 ALS-Patienten und 15 gesunden Kontrollen, welche auf einem 3 Tesla MRT Scanner akquiriert wurden, ermittelten Nair et al. [Nair et al. 2010] regionale Veränderungen entlang des Hirnstamms und zervikalen Rückenmarks.
Die Zukunftsperspektive der MRT-Bildgebung bei ALS ist in einer Stellungnahme der NiSALS-Gruppe („NeuroImaging Society in ALS initiative“) [Turner et al. 2011] zusammengefasst. Demnach besteht ein Bedarf an einer ausgewogenen multiparametrischen MRT-Technik zur Verbesserung des Potentials als Biomarker mit Einfachheit, Reproduzierbarkeit und gleichzeitig weniger gesundheitlicher Belastung der Patienten (wie zum Beispiel im Vergleich zu invasiven Verfahren). Als mögliche Surrogatmarker wurden identifiziert:

VBM T_1-gewichteter Aufnahmen, DTI, resting state fMRI und die Technik der ^{1}H-MRT-Spektroskopie. Der multiparametrische Ansatz wurde als essentiell betrachtet für die Qualität der erhaltenen Informationen. So lässt sich eine verbesserte Sensitivität und Spezifität der MRT-Bildgebung durch eine multiparametrische Analyse erzielen.

In einer postmortem Studie von 76 klinisch charakterisierten ALS-Patienten konnten Brettschneider et al. [Brettschneider et al. 2013] zeigen, dass sich die Pathologie bei der Erkrankung ALS in einem regionalen und sequentiellen Muster ausbreitet, woraus sich aufeinander folgende neuropathologische Krankheitsstadien ableiten lassen. In einer Übersichtsarbeit von Braak et al. [Braak et al. 2013] wurde postuliert, dass zum einen ein Staging-System dazu beitragen kann, das Verständnis für den Krankheitsverlauf bei ALS zu verbessern und zum anderen ein Transfer der neuropathologischen Erkenntnisse auf *in vivo* Techniken nicht nur wünschenswert ist, sondern notwendig, da dies eine Überwachung des Krankheitsverlaufes *in vivo* bei ALS ermöglichen könnte. Gemäß dem neuropathologischen ALS-Staging-System zeigten Kassubek et al. [Kassubek et al. 2014], dass mittels DTI-basierter Verfahren automatisch *in vivo* Fasersträngе rekonstruierbar sind, welche im Verlauf der ALS beteiligt sind: CST (Stadium 1), Tractus corticorubralis und Tractus corticopontinus (Stadium 2), Tractus corticostriatales (Stadium 3) und die proximalen Anteile des Tractus perforans (Stadium 4). In der statistischen Auswertung der Datensätze stellten Kassubek et al. [Kassubek et al. 2014] fest, dass zwischen Datensätzen von Patienten mit ALS und Datensätzen von Kontrollen Unterschiede für alle genannten Fasersysteme bestehen. Das Verfahren lässt sich nicht nur zum Zwecke individueller klinischer Aufarbeitung verwenden, sondern vergrößert auch das Spektrum potentieller nichtinvasiver Surrogatmarker als ein Neuroimaging-basiertes Read-out bei ALS-Studien mit klinischem Kontext. In der hier vorliegenden Studie wurde somit als Zielstruktur gemäß dem ALS-Stadium 1 die Region des CST gewählt.

1.4 Fragestellung der Arbeit

Eine Untersuchung bei ALS-Patienten mit statistisch aussagekräftigem Stichprobenumfang an DTI-Datensätzen stellt eine große Herausforderung für ein Zentrum dar, da die MRT-Erhebung bei schwer beeinträchtigten Patienten eine spezifische Schwierigkeit darstellt [Wijesekera & Leigh 2009]. Die Zahl untersuchter ALS-Probanden zu erhöhen und damit die statistische Aussagekraft zu verbessern, scheint derzeit vor allem im Rahmen multizentrischer-Studien realisierbar. Trotz großer Anstrengungen allerdings ist die Kompatibilität an Daten verschiedener MRT-Scanner unterschiedlicher Standorte eine Herausforderung [Fox et al. 2012][Teipel et al. 2011][Vollmar et al. 2010].
Eine andere Möglichkeit die Anzahl von ALS-Patienten in Studien zu erhöhen, ist der Gebrauch retrospektiver Datensätze aus dem Datenarchiv eines Zentrums, wobei eventuelle Veränderungen im Scanner-Protokoll über die Jahre hinweg berücksichtigt werden müssen. Besonderes Augenmerk gilt hier der Zahl der Gradientenrichtungen (GD), Voxelgröße und Echozeit (TE).

Ziel dieser Studie war es, sowohl die Qualität eines potentiellen nicht-invasiven DTI-basierten Surrogatmarkers als Neuroimaging-basiertes Read-out für klinische Studien bei ALS zu verbessern als auch das Potential von DTI als Biomarker für Krankheitsaktivität und für Diagnose und Prognose bei ALS zu untersuchen. Hierfür wurden zunächst Effekte von Veränderungen des DTI Protokolls in einem monozentrischen Studiendesign anhand des Analyseparameters FA untersucht. Darauf aufbauend ließ sich ein methodisches Konzept entwickeln, das ein Pooling von DTI-Datensätzen ermöglicht, welche mittels unterschiedlicher Scanner-Protokolle erhoben wurden. Im Konkreten kann das Vorgehen im Wesentlichen in drei Schritte unterteilt werden:

1. Zunächst wurde eine Region-of-Interest (ROI) Analyse an DTI-Datensätzen gesunder Kontrollen durchgeführt, welche wiederholte Akquisitionen mit unterschiedlichen Scanner-Protokollen erfahren haben.
2. Anschließend wurden Effekte durch Vergleiche auf Gruppenniveau eruiert. Ein Korrekturalgorithmus wurde entwickelt, um eine Vergleichbarkeit der FA-Maps herzustellen, welche mittels unterschiedlicher Akquisitionsparameter erhoben wurden.
3. An umfangreichen Kollektiven ließen sich dadurch Testungen von FA-basierten Schwellenwerten vornehmen, mit dem Ziel, möglichst gut zwischen Datensätzen von gesunden Probanden und Datensätzen von Patienten mit ALS zu dichotomisieren.

2 Patienten und Methoden

2.1 Patientenkollektiv und Probanden

In der Klinik für Neurologie, Universität Ulm, werden MRT-Bildgebungen sowohl im Rahmen klinischer Fragestellungen aus stationärer oder ambulanter Anforderung als auch im Zuge klinischer Studien elektiv einbestellter Patienten und gesunder Probanden nach schriftlicher Zustimmung der Personen in ein Datenarchiv zum Zweck klinischer Forschung aufgenommen. Aus diesem MRT-Datenarchiv ließen sich insgesamt 319 Datensätze retrospektiv für diese Studie extrahieren. Das iterative Auswahlverfahren umfasste mehrere Schritte:

Auf der Basis von Dokumentationen über den Bestand an Datensätzen im Archiv war es in einem ersten Schritt möglich, Auskunft darüber zu gewinnen, welche Datensätze als Kontrollkollektiv und welche als Patientenkollektiv für die Aufgabenstellung dieser Studie in Frage kommen würden. Diagnose ALS, Diagnose PLS, Verdacht auf ALS, Verdacht auf PLS, Kontrolle oder keine Anmerkung waren die Einschlusskriterien im ersten Schritt. Der Verweis auf eine andere Erkrankung war das Ausschlusskriterium.

In einem zweiten Schritt wurde überprüft, ob sich im nun vorhandenen Patientenkollektiv ausschließlich diejenigen befinden, die die Diagnose nach den El Escorial Kriterien [Brooks et al. 2000] für klinisch wahrscheinliche oder definitive ALS beziehungsweise die Diagnosekriterien nach Pringle [Pringle et al. 1992] für PLS erfüllen. Hierzu wurden entsprechende Arztbriefe aus dem elektronischen Informationssystem-MCC für den klinischen Bereich des Universitäts- und Rehabilitationsklinikum Ulm, Neurologische Klinik, ermittelt und für den Erkrankungsverlauf gesichtet. Ausschlusskriterien waren eine andere Diagnose, nicht gesicherte Diagnose oder der nicht abschließend bestätigte Verdacht auf ALS beziehungsweise PLS.

Im dritten und letzten Schritt wurden die im iterativen Auswahlverfahren im Kontroll- und Patientenkollektiv verbliebenen Digital Imaging and Communications in Medicine-(DICOM)-Dateien im Analyse-Softwarepaket TIFT eingeladen und sichergestellt, dass eine DTI-Messung mit zufriedenstellender Aufnahmequalität vorgenommen wurde.

2.1.1 Patientenkollektiv und Probanden: epidemiologische Daten

Das iterative Auswahlverfahren erbrachte 319 Datensätze, welche dann anhand einer Einteilung in vier Untergruppen näher beschrieben werden sollen. Aus methodischer Sicht erscheint es sinnvoll, zunächst das Kontrollkollektiv und anschließend das Patientenkollektiv zu charakterisieren.

Erste Untergruppe:

Die erste Untergruppe umfasste 19 Datensätze von gesunden Probanden, das heißt Personen, die bis zum Zeitpunkt ihrer Akquisition gemäß anamnestischer Erhebungen nicht unter psychischen oder neurologischen Erkrankungen litten. Die 19 Datensätze wurden an neun gesunden Probanden erhoben. Acht Probanden durchliefen daher an zwei unterschiedlichen Zeitpunkten und ein Proband sogar zu drei unterschiedlichen Zeitpunkten eine MRT-Akquisition. Die Zeit zwischen den Akquisitionen betrug meist zwischen ein und zwei Jahren (bis auf zwei Ausnahmen mit fünf und neun Jahren). Drei weibliche Personen und sechs männliche Personen in einem durchschnittlichen Alter von 65 Jahren unterzogen sich freiwillig mindestens zwei MRT-Akquisitionen, wobei unterschiedliche Scanner-Protokolle zum Einsatz kamen. Eine detaillierte Auflistung ist in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Auflistung des Geschlechts, Alters in Jahren zum Zeitpunkt der MRT-Bildgebung binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2013 in der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm und des verwendeten Scanner-Protokolls; MRT=Magnetresonanztomographie

Proband	Geschlecht	Alter	Protokoll
1	männlich	60	B
		62	C
2	männlich	66	B
		67	C
3	männlich	61	B
		63	C
4	männlich	61	A
		66	C
5	männlich	68	A
		71	C
6	weiblich	67	A
		69	C
7	weiblich	55	A
		64	C
8	weiblich	52	A
		54	C
9	männlich	76	A
		79	A
		81	C

Zweite Untergruppe:

In der zweiten Untergruppe befanden sich 139 Datensätze, welche an 139 gesunden Probanden akquiriert wurden. Ebenfalls in diese Untergruppe wurden Datensätze von Probanden aus der ersten, oben beschriebenen, Untergruppe eingeschlossen, jedoch von jedem Proband jeweils nur die zweite Erhebung. Die MRT-Messungen mit Protokoll A aus der ersten Untergruppe wurden nicht ausgewählt, da hier die Gehirnerfassung (Field of view) nicht vollständig war und das Cerebellum nicht mitaufgenommen wurde. Ein weiteres Entscheidungskriterium zur Hinzunahme von Akquisitionen aus der ersten Untergruppe stellte die Qualität der Datensätze dar.

Tabelle 2: Überblick über die Verteilung von Scanner-Protokollen, Geschlecht und Alter in Jahren zum Zeitpunkt der MRT-Bilderhebung binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2013 in der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm bei gesunden Kontrollen; Mittelwert ± Standardabweichung; MRT=Magnetresonanztomographie

Protokoll	Anzahl	Geschlecht		Alter
A	75	w: 44	m: 31	51 ± 16
B	13	w: 2	m: 11	66 ± 4
C	51	w: 31	m: 20	64 ± 9
Summe	139	w: 77	m: 62	58 ± 14

Dritte Untergruppe:

Tabelle 3: Zusammenstellung der Daten Scanner-Protokoll, Alter in Jahren zum Zeitpunkt der MRT-Bilderhebung binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2014 in der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm, ALS-FRS-R (Zu 25 Probanden war kein ALS-FRS-R retrospektiv ermittelbar) und Erkrankungsdauer in Jahren der ALS-Patienten; ALS=Amyotrophe Lateralsklerose; ALS-FRS-R=Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale - Revised; Mittelwert ± Standardabweichung; MRT=Magnetresonanztomographie

Protokoll	Anzahl	Geschlecht		Alter	ALS-FRS-R	Erkrankungsdauer
A	13	w: 3	m: 10	59 ± 8	39 ± 7 (N=13)	1,1 ± 0,9
B	127	w: 45	m: 82	64 ± 12	40 ± 8 (N=102)	1,8 ± 1,5
Summe	140	w: 48	m: 92	64 ± 11	40 ± 8 (N=115)	1,7 ± 1,4

Vierte Untergruppe:

Tabelle 4: Verteilung der PLS-Daten nach Scanner-Protokoll, Alter und Erkrankungsdauer in Jahren bis zur MRT-Bilderhebung binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2014 in der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; ALS-FRS-R=Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale - Revised; Mittelwert ± Standardabweichung; MRT=Magnetresonanztomographie; PLS=Primäre Lateralsklerose

Protokoll	Anzahl	Geschlecht		Alter	ALS-FRS-R	Erkrankungsdauer
A	21	w: 12	m: 9	59 ± 9	33 ± 10 (N=20)	5,6 ± 5,1
B	9	w: 5	m: 4	63 ± 12	36 ± 8 (N=6)	2,1 ± 1,8
Summe	30	w: 17	m: 13	60 ± 10	44 ± 10 (N=26)	4,5 ± 4,7

2.1.2 Patientenkollektiv und Probanden: Magnetresonanztomographie-Protokolle

Alle in die Studie eingeschlossenen DTI-Erhebungen wurden im Zeitraum zwischen 2003 und 2014 an einem konventionellen Ganzkörper-Scanner (1,5 Tesla Symphony®, Siemens, Erlangen) vorgenommen. Allerdings sind drei DTI-Protokolle (A, B, C) gemäß der verwendeten GD, Voxelgrößen, TE voneinander zu unterscheiden.

Protokoll A:

Die zeitlich am weitesten zurückliegenden (ab 2003) DTI-Akquisitionen wurden mit 13 GD vorgenommen, welche sich aus einem MRT-Protokoll aus 4 x 13 Volumina (45 Schichten, Bildmatrix (Pixel) 128x128, Schichtdicke 2,5 mm, Pixelgröße 1,5 mm x 1,5 mm) herleiten, und sich in 12 GD und einem Gradient 0 (b=0) widerspiegeln. Um hierbei eine bessere Signal-to-Noise-Ratio (SNR; Signal-Rauschen-Verhältnis) zu erhalten, wurden vier Akquisitionen bereits auf Scanner-Ebene gemittelt. Die TE betrug 90 ms und die Repetitionszeit (TR) 3000 ms bei einem b-Wert von 800s/mm^2.

Protokoll B:

Das zweite MRT-Protokoll (ab 2008) enthielt 52 Volumina (64 Schichten, Bildmatrix (Pixel) 128x128, Schichtdicke 2,8 mm, Pixelgröße 2,0 mm x 2,0 mm). Vier diskrete Akquisitionen hierbei mit 13 GD ergeben 48 Volumina und viermal Gradient 0 (b=0). Die vier Akquisitionen hatten geringfügig unterschiedliche GD, sodass eine Mittelung nicht realisierbar war. Die TE betrug 85 ms und die TR 7600 ms bei einem b-Wert von 1000s/mm^2.

Protokoll C:

Protokoll C mit 62 Volumina leitet sich aus zwei diskreten Akquisitionen mit 31 GD her (verwendet ab 2010) (64 Schichten, Bildmatrix (Pixel) 128x128, Schichtdicke 2,5 mm, Pixelgröße 2,5 mm x 2,5 mm). Zwei Akquisitionen mit 31 GD ergeben 60 Volumina und zweimal Gradient 0 (b=0). Die TE betrug 102 ms und die TR 8700 ms bei einem b-Wert von 1000s/mm^2.

Eine Zusammenstellung der relevanten Daten des Studienkollektivs ist in Tabelle 5 zu finden.

Tabelle 5: Einteilung des Studienkollektivs entsprechend der verwendeten Scanner-Protokolle; Alters- und Erkrankungsdauerangaben in Jahren; die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2014 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; ALS=Amyotrophe Lateralsklerose; ALS-FRS-R=Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale - Revised; Mittelwert ± Standardabweichung; MRT=Magnetresonanztomographie; PLS=Primäre Lateralsklerose

Protokoll A (N=109)

	Anzahl	Geschlecht		Alter	ALS-FRS-R	Erkrankungsdauer
ALS	13	w: 3	m: 10	59 ± 8	39 ± 7 (N=13)	1,1 ± 0,9
PLS	21	w: 12	m: 9	59 ± 9	33 ± 10 (N=20)	5,6 ± 5,1
Kontrollen	75	w: 44	m: 31	62 ± 13		

Protokoll B (N=149)

	Anzahl	Geschlecht		Alter	ALS-FRS-R	Erkrankungsdauer
ALS	127	w: 45	m: 82	64 ± 12	40 ± 8 (N=102)	1,8 ± 1,5
PLS	9	w: 5	m: 4	63 ± 12	36 ± 8 (N=6)	2,1 ± 1,8
Kontrollen	13	w: 2	m: 11	51 ± 16		

Protokoll C (N=51)

	Anzahl	Geschlecht		Alter
Kontrollen	51	w: 31	m: 20	64 ± 9

2.2 Methoden

2.2.1 Analyseparameter

Zur Quantifizierung der Diffusivität des Wassers in jedem Voxel ist es nötig mindestens sechs nicht-kollineare und nicht-koplanare Gradientenrichtungen in jedem Voxel zu messen. Auch b (siehe Gleichung (2) aus Kapitel 1.2) wird dabei zum Tensor. Die Signalabschwächung ergibt folgenden Zusammenhang:

$$\ln(A) = -\left(b_{xx}D_{xx} + 2b_{xy}D_{xy} + 2b_{xz}D_{xz} + 2b_{yz}D_{yz} + b_{yy}D_{yy} + b_{zz}D_{zz}\right) \quad (3)$$

Diese Gleichung benötigt Berechnungen zu möglichen Interaktionen zwischen Bildsequenzen und Diffusionsgradienten und sogar zwischen den Bildsequenzen selbst. Diese Informationen sind in den orthogonalen Richtungen enthalten [Mattiello et al. 1994].

Der Diffusionstensor $\overline{\overline{\mathrm{D}}}$ ist ein Tensor 2. Stufe einer symmetrischen 3 x 3 Matrix, welche mit einem vollen Satz Eigenvektoren $\overrightarrow{e_1}, \overrightarrow{e_2}, \overrightarrow{e_3}$ diagonalisierbar ist. Ein Eigenvektor ist ein vom Nullvektor verschiedener Vektor und besitzt die Eigenschaften, dass dessen Richtung durch eine Abbildung nicht veränderbar ist. Ein Eigenvektor wird nur skaliert und die Skalierungsfaktoren werden Eigenwerte $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ genannt. Die Eigenwerte sind es, die die Form und Gestalt der Ellipse bestimmen. Die Eigenvektoren hingegen beschreiben den mathematischen Zusammenhang zwischen den Hauptkoordinaten des Ellipsoids und den gemessenen Werten (Abbildung 1 B).

Zur Visualisierung von Diffusionstensoren zeigte sich das Konzept der Diffusionsellipsoide als sinnvoll (Abbildung 1 B) [Basser et al. 1994]. Die Eigendiffusivität dieser Ellipsoide spiegelt den unidimensionalen Diffusionskoeffizienten der Hauptdiffusionsrichtung im Gewebe wider. Anders ausgedrückt repräsentiert die Hauptachse des Ellipsoids die Hauptdiffusionsrichtung in einem Voxel, welche mit dem Faserverlauf übereinstimmt. Die Form des Ellipsoids lässt also Rückschlüsse auf das Ausmaß der Anisotropie beziehungsweise Isotropie zu. Deshalb wird häufig zur Darstellung der Anisotropie ein skalares Maß - die Fraktionelle Anisotropie (FA) - gewählt [LeBihan et al. 2001]:

$$F_A = \sqrt{\frac{3}{2}} \sqrt{\frac{(\lambda_1-\bar{\lambda})^2(\lambda_2-\bar{\lambda})^2(\lambda_3-\bar{\lambda})^2}{{\lambda_1}^2+{\lambda_2}^2+{\lambda_3}^2}} \quad (4)$$

mit Mittelwert $\bar{\lambda} = \frac{\lambda_1+\lambda_2+\lambda_3}{3}$ (5)

In Worten ausgedrückt beschreibt die Fraktionelle Anisotropie die Differenz eines jeden Eigenwertes von der mittleren Diffusivität $\bar{\lambda}$. Der Vorfaktor $\sqrt{\frac{3}{2}}$ normiert alle Werte für FA auf das Intervall zwischen Null und Eins. Ein Wert nahe der Null weist auf eine hohe Isotropie hin (Oblate), während hingegen im anderen Extremfall bei FA-Werten, die sich der eins annähern, von einer maximalen Anisotropie auszugehen ist (Prolate) (siehe hierzu Abbildung 1 B).

Ist nun aber das Ziel besonders die Konnektivität in der weißen Gehirnsubstanz darzustellen, so gibt es hierfür eine zusätzliche Technik, um die Information aus der Hauptrichtung des Diffusionstensors zu nutzen. Die Technik der Traktografie (Fibertracking; FT) basiert auf der Annahme, dass die Hauptorientierung des Diffusionstensors den axonalen Faserverlauf widerspiegelt. In einem dreidimensionalen Vektorfeld repräsentiert folglich jeder Vektor die Faserorientierung. Prinzipiell lassen sich die aktuellen Herangehensweisen die Faserverläufe zu rekonstruieren in zwei Gruppen einteilen. Zum einen wird durch Algorithmen versucht eine Linienführung aus den Informationen der lokalen Tensoren bei jedem Schritt zu zeichnen, woraus sich schlussendlich der Faserverlauf ergibt [Conturo et al. 1999][Lori et al. 2002][Mori & van Zijl 2002]. Zum anderen lässt sich auch die Idee der globalen Energieminimierung verfolgen, wobei der energetisch günstigste Weg zwischen zwei Regionen in der weißen Gehirnsubstanz gesucht wird. Neben der Technik der „Tract-Based Spatial Statistics“ (TBSS) [Smith et al. 2006] gibt es auch andere Algorithmen wie die hier verwendete „Tractwise Fractional Anisotropy Statistics“ (TFAS).

2.2.2 Stereotaktische Transformation

Ähnlich anderer derzeitiger MRT Methoden, so ist auch in klinischen DTI-Studien das Ziel, das Individuum anhand seiner Gehirnmorphologie zu kategorisieren. Verschiedene bildgebende Unterscheidungskriterien sollen mithelfen, den oft schwierigen Diagnoseprozess zu erleichtern [Agosta et al. 2010b].

Studien auf Gruppenniveau werden dazu herangezogen, das bildmorphologische Korrelat für beobachtete klinische Phänotypen zu identifizieren. Die Schädigung eines Gehirnareals oder mehrerer spezifischer Gehirnregionen oder eines spezifischen neuroanatomischen

Netzwerkes wird offensichtlich. Mathematisch betrachtet werden hierfür zunächst die Ergebnisse verschiedener Personen gemittelt um gemeinsame Muster mikrostruktureller Veränderungen aufzuzeigen. Diesem Stufenprozess folgt auf die Überführung eines jeden Gehirns eines Individuums in einen stereotaktischen Raum, der Schritt der arithmetischen Mittelung der Ergebnisse auf einem Voxel-zu-Voxel Level. Hierdurch ist es möglich das Signal-zu-Rauschen Verhältnis zu verbessern und gleichzeitig den angestrebten Vergleich einer Stichprobe von meist gesunden Kontrollen zu erkrankten Patienten durchzuführen. Zusammenfassend ergibt sich die Analyse einer berechneten Pathoanatomie einer spezifischen Störung, wie zum Beispiel einer neurodegenerativen Erkrankung, die mit einer bestimmten Lokalisation im Gehirn assoziiert ist.

Im Laufe der Zeit entwickelten sich mehrere Methoden zur Normalisierung auf einen standardisierten stereotaktischen Raum. Die älteste Methode [Talairach & Tournoux 1988] wählte einen Transformationsalgorithmus auf einen Standardatlas. Verschiedene Landmarken des Gehirns wurden als Anhaltspunkt für die stückweise Skalierung des Gehirns in Quadranten verwendet. Die heutzutage eher gebräuchliche Variante stellen Analysesoftwarepakete dar, die eine Normalisierung auf das Montreal Neurological Institute (MNI) Koordinatensystem vornehmen [Brett et al. 2002]. Die semiautomatischen und automatischen Gehirnerfassungsalgorithmen basieren auf dafür eigens entwickelten studienspezifischen Templates (zu Deutsch etwa Vorlagen)[Collins et al. 1994][Friston et al. 1995]. Welcher Herausforderung und Komplexität diese Algorithmen gegenüberstehen, ist an der Tatsache abzulesen, dass es sich hierbei nicht um eine Verzerrung skalarer Bilder handelt. Vielmehr ist mit höchster Sorgfalt darauf zu achten, die Richtungsinformation des Diffusionstensors bei jedem Normalisierungsprozess zu bewahren [Alexander et al. 2001][Müller et al. 2007].

2.2.3 Analysemethoden

Im DTI-Analysesoftwarepaket „Tensor Imaging and Fiber Tracking (TIFT)“ [Müller et al. 2007] sind Vor- und Nachbearbeitungsalgorithmen sowie statistische Analysemethoden implementiert.

Dem zentralen Verfahren der DTI-Analyse war zunächst ein sogenannter „Wirbelstromausgleich“ („Eddy Current Correction“) [Shen et al. 2004] vorangestellt. Hierauf folgten affine und nicht-affine iterative Normalisierungsschritte im dreidimensionalen Raum. Zu Beginn waren ein studienspezifisches (b=0)-Template und ein FA-Template zu generieren. Das scanner- und sequenzspezifische (b=0)-Template entstand durch arithmetische Mittelung der

(b=0) Volumina [Gorges et al. 2014]. Dazu war allerdings zuvor eine affine Transformation jedes individuellen Datensatzes durch manuell gesetzte Landmarken nötig. Im Anschluss musste nun eine nicht-affine MNI Normalisierung vorgenommen werden [Ashburner & Friston 1999], welche Unausgewogenheiten zwischen regionalen Intensitäten verringerte, indem eine Anpassung des (b=0) Volumen auf das Template vorgenommen wurde. Es entstanden dadurch Normalisierungsmatrizen, auf die die restlichen Volumina der Gradientenrichtungen übertragbar waren. So ließen sich bei jedem DTI-Datensatz eines Probanden Diffusionstensor $\vec{\vec{D}}$, Eigenwerte $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$, Eigenvektoren $\overrightarrow{e_1}, \overrightarrow{e_2}, \overrightarrow{e_3}$ und FA-Werte berechnen [Basser & Jones 2002][LeBihan et al. 2001].

Analog hierzu erfolgte eine nicht-affine Transformation, um ein FA-Template zu erhalten. Das arithmetische Mittel aller individuellen FA-Maps wurde errechnet. Auf das nun gewonnene FA-Template wurde in einem weiteren iterativen Schritt eine nicht-affine Normalisierung vorgenommen [Smith et al. 2006]. Die Parameter dieses Prozesses mussten gespeichert werden, sodass sie beim Verfahren der Traktografie berücksichtigt werden konnten. Eine grafische Zusammenfassung des iterativen Template-spezifischen MNI-Normalisierungsprozesses ist in Abbildung 2 A zu sehen.

Am Schluss der Vorbearbeitung der Daten stand das Smoothing (Glätten) (Abbildung 2 B). Da die Filtergröße die Analyseergebnisse beeinflusst [Jones et al. 2005], sollte gemäß dem Filtertheorem die Filtergröße auf die Größe des zu erwartenden Effekts adaptiert sein [Rosenfeld & Kak 1982]. Ein 8 mm Halbwertsbreite-Gaußfilter verbessert die Balance zwischen Sensitivität und Spezifität [Unrath et al. 2010].

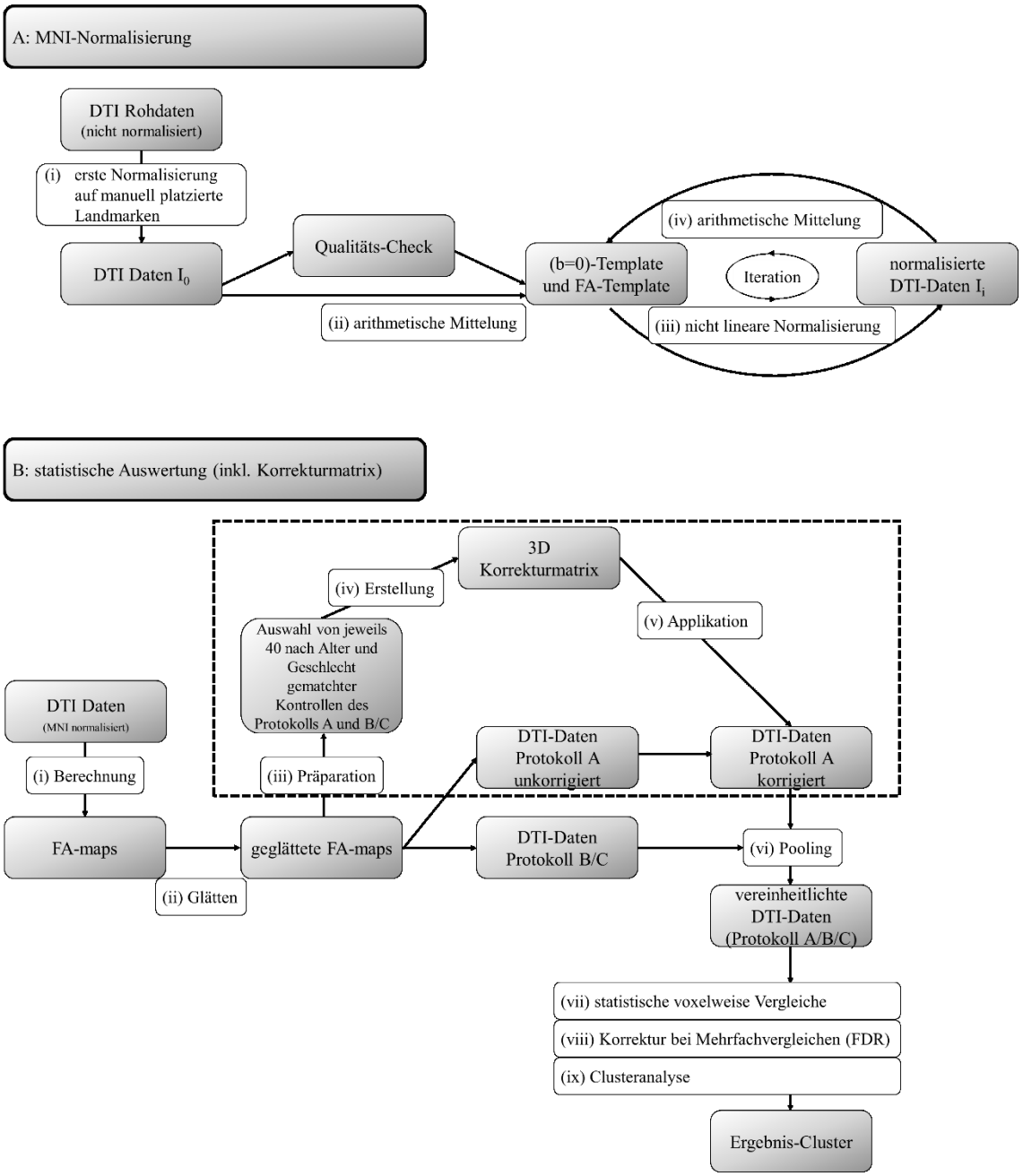


Abbildung 2: (A) Schematische Darstellung der iterativen Template-spezifischen MNI-Normalisierung: die DTI-Rohdaten wurden, nachdem sie mit manuell gesetzten Landmarken versehen worden waren, ins MNI-Koordinatensystem transformiert (i). Aus der arithmetischen Mittelung (ii) ließen sich daraufhin das (b=0)-Template und FA-Template generieren. Die anschließende Iteration mit nicht linearer Normalisierung (iii) und arithmetischer Mittelung (iv) lieferte die nun zur Analyse bereitstehenden Datensätze. (B) Algorithmus der Datennachbearbeitung zur statistischen Auswertung; mitaufgeführt ist die Einbettung der 3D Korrekturmatrix (innerhalb des gestrichelten Rahmens); DTI=Diffusion-Tensor-Imaging; FA=Fraktionelle Anisotropie; FDR=False-Discovery-Rate; inkl.=inklusive; MNI=Montreal Neurological Institute

Die finale statistische Auswertung der so vorbereiteten Daten konnte nun mittels zwei unterschiedlicher und voneinander prinzipiell unabhängiger Verfahren erfolgen:

Die erste Methode wird „Whole Brain-Based Spatial Statistics“ (WBSS) genannt; ein Ganzhirnbasierter voxelweiser Vergleich der Werte für FA auf Gruppenniveau unter Verwendung des (zweiseitigen, unverbundenen) Student‘s t-test. Hierbei wurden FA-Werte der FA-Map einer Kontrollgruppe mit den FA-Werten der FA-Map von Patienten für jedes Voxel einzeln verglichen. In die Analyse gingen nur FA-Werte über 0,2 ein, da die graue Substanz des Gehirns FA-Werte in der Regel unter 0,2 besitzt [Kunimatsu et al. 2004].

In einem letzten Schritt wurden meist statistische Ungenauigkeiten bei Mehrfachvergleichen durch den False-Discovery-Rate (FDR) Algorithmus bei $p < 0,05$ ausgeglichen [Genovese et al. 2002]. Auch alternative Ansätze existieren [Logan et al. 2008], um den alpha Fehler weiter zu reduzieren. Dabei werden in der Größenordnung entsprechend des Filtermaßes beim Smoothing kleine isolierte Voxel eliminiert. Cluster bis zu einer Größe von 512 Voxel wurden berücksichtigt.

Eine weitere Methode zur Analyse der gemessenen Diffusivität stellt die Traktografietechnik dar. Ziel dieser Methode war es, die Faserverläufe der Axone quantitativ auszuwerten. Dazu war es zunächst nötig, manuell sogenannte Seed-Points zu definieren, aus denen im Sinne einer stromlinienförmigen Rekonstruktion [Müller et al. 2009] der axonale Verlauf „erwachsen“ sollte. Zur Identifikation geeigneter Seed-Point Positionen war es hilfreich, sich an den Ergebnissen der WBSS-Analyse zu orientieren und entsprechende Angrenzungen an lokale Maxima zu wählen.
Nachdem Seed-Points definiert und die Techniken der Traktografie durchgeführt worden waren, ergab sich eine gruppenspezifische Maske zur anschließenden statistischen Auswertung mittels TFAS [Mueller et al. 2007]. Hierbei war es möglich, quantitative Aussagen zu treffen. Die rekonstruierten Faserverläufe, die aus den gemittelten Diffusionsdatensätzen aller Studienteilnehmer bestanden – also sowohl von gesunden Kontrollen als auch von Patienten - stellten die ausgewählten Voxel dar, die zum Vergleich zwischen den FA-Maps von Gesunden und von Patienten herangezogen wurden [Müller & Kassubek 2013].

Im folgenden Abschnitt werden nun die einzelnen Analyseschritte erläutert, welche zur Klärung der Fragestellungen nötig waren; nämlich zum einen der Frage nach Vergleichbarkeit

von DTI-Daten unterschiedlicher MRT-Protokolle und zum anderen hinsichtlich der Möglichkeit einen DTI-basierten Schwellenwert zu generieren, mit dessen Hilfe es möglich sein sollte zwischen Kontrollen und ALS-Patienten zu dichotomisieren. Einen Überblick über das methodische Vorgehen in dieser Studie liefert Abbildung 3.

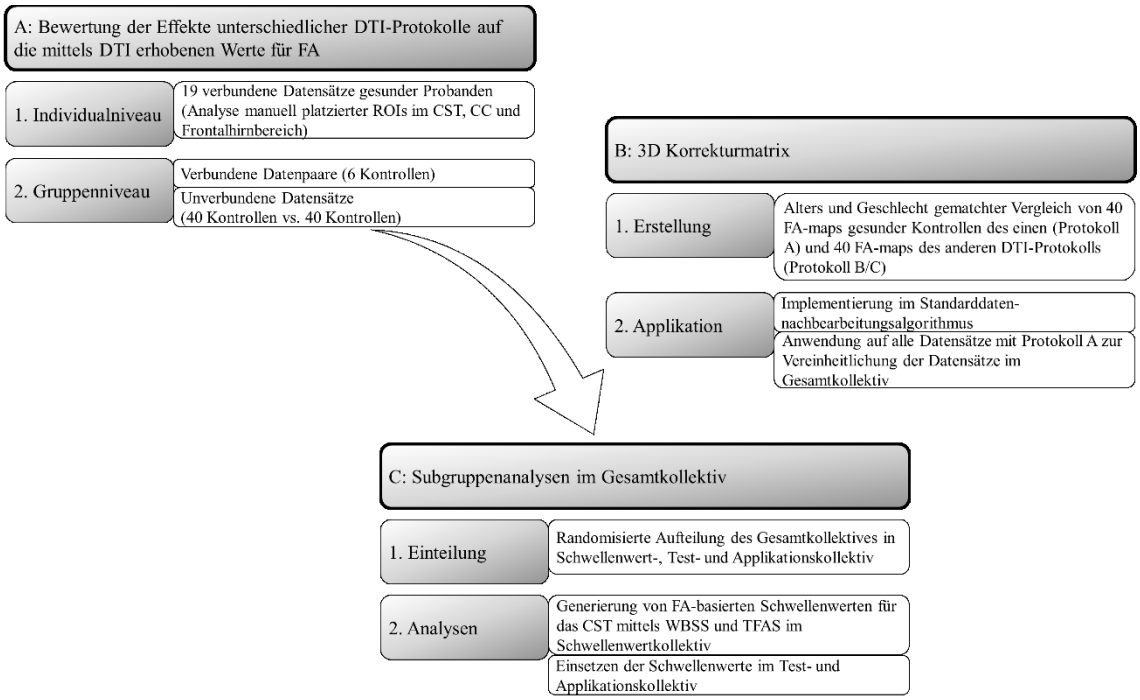


Abbildung 3: Zusammenstellung des stufenweisen Vorgehens entlang des methodischen Konzeptes; CC=Corpus callosum; CST=Tractus corticospinalis; DTI=Diffusion-Tensor-Imaging; FA=Fraktionelle Anisotropie; ROI=Region-of-Interest; TFAS=Tractwise Fractional Anisotropy Statistics; WBSS=Whole Brain-Based Spatial Statistics

2.2.4 Analyse heterogener Diffusion-Tensor-Imaging Datensätze

Um zu untersuchen, ob ein relevanter Unterschied zwischen DTI-Datensätzen besteht, welche mittels unterschiedlicher MRT-Protokolle akquiriert wurden, ließ sich eine Analyse verbundener Datensätze neun gesunder Probanden durchführen. In „erste Untergruppe“ des Kapitels „2.1.1 Patientenkollektiv und Probanden: epidemiologische Daten“ ist eine genaue Beschreibung dieser Daten zu finden. Die Analysemethode stellte eine statistische Auswertung von Werte für FA einer ROI-Analyse dar. Die Platzierung der ROIs erfolgte für jeden Datensatz in derselben anatomischen Lokalisation. Die Variabilität zwischen Datensätzen desselben Probanden wurde aus den Erhebungen eines Kontrollprobanden ermittelt, welcher wiederholte Akquisitionen mit demselben Scanner-Protokoll durchlaufen hatte. Die Intraoperatorvariabilität, also die Variabilität in der ROI-Position durch manuelles Platzieren, wurde erhoben, indem die Veränderung der FA-Werte berechnet wurde, die sich aus einem

Versatz der ROI-Position um zwei Millimeter in alle Raumrichtungen ergab. Die Lokalisation der (manuell platzierten) ROIs wurde nach anatomischen Regionen gewählt:

(i) jeweils links und rechts eine kraniale, mediale und kaudale Region im CST, der im neuropathologischen ALS-Staging-System dem Stadium 1 entspricht [Kassubek et al. 2014],

(ii) eine frontale, mediale und okzipitale Region im CC, welche auf Gruppenniveau Unterschiede gezeigt hat [Unrath et al. 2010] und

(iii) jeweils links und rechts eine Region im Frontalhirnbereich [Agosta et al. 2010a].

In Abbildung 4 sind die verwendeten ROIs beispielhaft dargestellt.

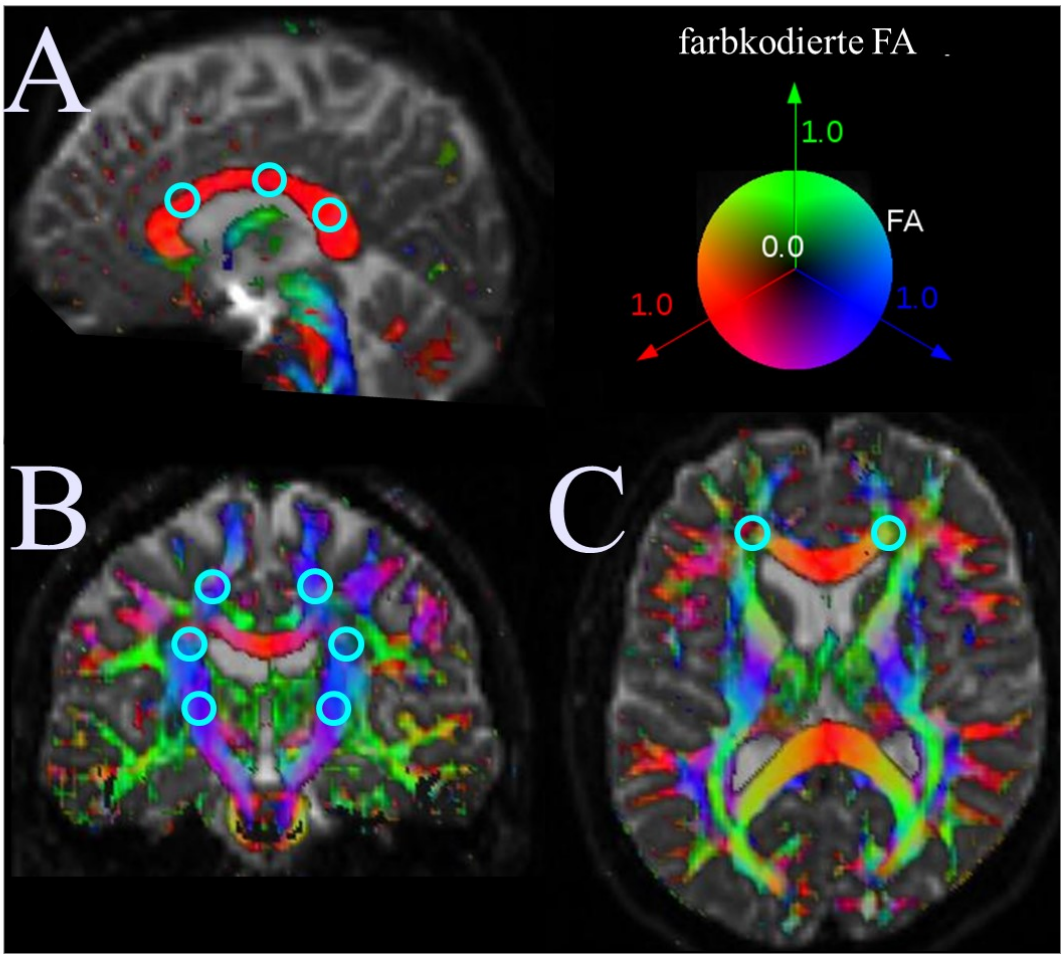


Abbildung 4: Manuell platzierte Region[s]-of-Interest (ROI) aus einer DTI-Erhebung binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2013 in der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm mit Protokoll B; (A) drei ROIs im Corpus Callosum; (B) sechs ROIs im Tractus corticospinalis; (C) zwei ROIs im Frontalhirnbereich; DTI=Diffusion-Tensor-Imaging; FA=Fraktionelle Anisotropie

Außerdem wurde mittels WBSS ein Ganzhirnbasierter voxelweiser Vergleich der Werte für FA auf Gruppenniveau zwischen Datensätzen von 75 Kontrollen, welche mittels Protokoll A erhoben wurden, und Datensätzen von 64 Kontrollen, welche mittels Protokoll B oder C akquiriert wurden, angestrebt. Eine nähere Beschreibung der Gruppen ist unter „zweite Untergruppe“ „2.1.1 Patientenkollektiv und Probanden: epidemiologische Daten“ zu finden. Die statistische Auswertung erfolgte mittels eines unverbundenen zweiseitigen Student’s t-test.

2.2.5 Konzept der 3D Korrekturmatrix

Für den Fall, dass der Einsatz unterschiedlicher MRT-Protokolle Einfluss auf die mittels DTI gemessene FA nehmen sollte, ist das Konzept der 3D Korrekturmatrix entwickelt worden, um einen einheitlichen Stamm an Datensätzen zu erhalten.

Hierzu wurden Datensätze zu einem nach numerischer Anzahl, Alter und Geschlecht gematchten Kollektiv zusammengestellt, welches zum einen aus Datensätzen von Kontrollen bestand, welche alle mit dem Protokoll A akquiriert wurden, und zum anderen aus Datensätzen von Kontrollen, welche alle mit dem Protokoll B oder C gewonnen wurden. Die randomisierte Auswahl der Datensätze (hier jeweils N=40) erfolgte mittels eines computerbasierten Algorithmus. Ziel dieser Zusammenstellung war es, eine universelle Korrekturmatrix zu erstellen, welche den technisch bedingten FA-Shift oder auch den Multiplikator zwischen Messungen unterschiedlicher Erhebungsparametern korrigieren sollte.

Die Korrekturmatrix selbst wurde mittels Approximation (in jedem Voxel) generiert und lässt sich mathematisch als Polynomfunktion annähern:

$$y = a_0 + a_1 x + a_2 x^2 + \ldots + a_n x^n \qquad (6)$$

y_i und x_i sind die Voxel-FA-Werte der unterschiedlichen Vergleichspaare an MNI Position i; a_n repräsentiert den entsprechenden Koeffizienten.

Die Polynomfunktion ermöglicht es Unterschiede zwischen FA-Maps verschiedener Gruppenvergleiche zu definieren. Mögliche Korrekturen sind:

(i) Linear-Korrektur $a_0 \neq 0;\ a_1 = 1;\ a_n = 0\ (n > 1)$ (7)

(ii) Regressions-Korrektur $a_0, a_1 \neq 0;\ a_n = 0\ (n > 1)$ (8)

(iii) Korrekturen höherer Ordnung

Auf diese Weise wurden zwei 3D Korrekturmatrizen erstellt:

(i) Linear-Korrektur 3D Korrekturmatrix: jede Voxelposition repräsentierte den Unterschied zwischen den gemittelten FA-Werten von 40 Kontrollen des Scanner-Protokolls A und den gemittelten FA-Werten von 40 Kontrollen der Scannerprotokolle B und C.

(ii) Regressions-Korrektur 3D Korrekturmatrix: in jeder Voxelposition wurden die FA-Werte von 40 Kontrollen des Scanner-Protokolls A und die FA-Werte von 40 Kontrollen der Scannerprotokolle B und C separat (aufsteigende FA-Werte) zu 40 Paaren sortiert. Anschließend ließ sich eine Regressionsgerade für Werte zwischen der 5. und 95. Perzentile (36 Datenpaare) berechnen; zwei 3D Korrekturmatrizen (für a_0 und a_1 jeweils) wurden berechnet.

Nachdem die 3D Korrekturmatrizen berechnet wurden, war es möglich, alle FA-Maps des Scanner-Protokolls A an die FA-Maps der Scanner-Protokolle B und C zu re-kalibrieren.

2.2.6 Generierung und Testung des Schwellenwertes

In einem weiteren Schritt dieser Arbeit war es das Ziel zu untersuchen, inwieweit es mittels DTI möglich ist, anhand eines FA-basierten Schwellenwertes eine Zuordnung von erhobenen Daten im Sinne „gesund versus krank“ auf Individual-Niveau vorzunehmen. Hierzu wurden alle 170 Datensätze von ALS- beziehungsweise PLS-Patienten (siehe „dritte Untergruppe“ und „vierte Untergruppe“ in Kapitel 2.1.1 Patientenkollektiv und Probanden: epidemiologische Daten) und alle 139 (unverbundenen) Datensätze von gesunden Kontrollen (siehe „zweite Untergruppe“ in Kapitel 2.1.1 Patientenkollektiv und Probanden: epidemiologische Daten) jeweils zusammengeführt. Aus Gründen der Übersichtlichkeit impliziert im Folgenden die Bezeichnung „Datensätze von ALS-Patienten“ auch Datensätze, welche an PLS-Patienten erhoben wurden.

Anschließend war das Ziel, zwei Paare aus Datensätzen von Kontrollen und ALS-Patienten in einem computergestützten randomisierten Prozess zusammenzustellen. Das erste und größere Kollektivpaar sollte 100 ALS-Patienten und 93 Kontrollen umfassen und dazu verwendet werden, um einen FA-basierten Schwellenwert zu erheben, mit dessen Hilfe es möglich sein sollte, Datensätze gesunder Probanden von Datensätzen von ALS-Patienten zu trennen. Die verbliebenen Datensätze bildeten das Testkollektiv aus 50 Messungen an ALS-Patienten und 46 Messungen an Kontrollen, auf welches der ermittelte Schwellenwert erprobt werden

sollte. Die Verteilung der Datensätze auf Schwellenwert- und Testkollektiv wurde im Verhältnis 2:1 gewählt, um eine Gewichtung des Schwellenwertsamples zu erhalten. Eine Randomisierung wurde vorgenommen, da ein nach Alter und Geschlecht gematchtes Schwellenwertkollektiv zu einem verzerrten Ergebnis bei Testung am restlichen Testkollektiv führen würde.

Es wurden weitere 20 Datensätze von ALS-Patienten (18 Patienten mit ALS; 2 Patienten mit PLS) zu einem Applikationskollektiv zusammengefasst.

Eine grafische Darstellung der Beziehungen der einzelnen Kollektive zueinander in Schwellenwertkollektiv, Testkollektiv und Applikationskollektiv, und der randomisierten Einteilung in Schwellenwertkollektiv und Testkollektiv im Verhältnis 2:1 ist in Abbildung 5 aufgezeigt. Die sich dabei ergebende Verteilung von Geschlecht, Alter und anderer Daten stellt Tabelle 6 dar.

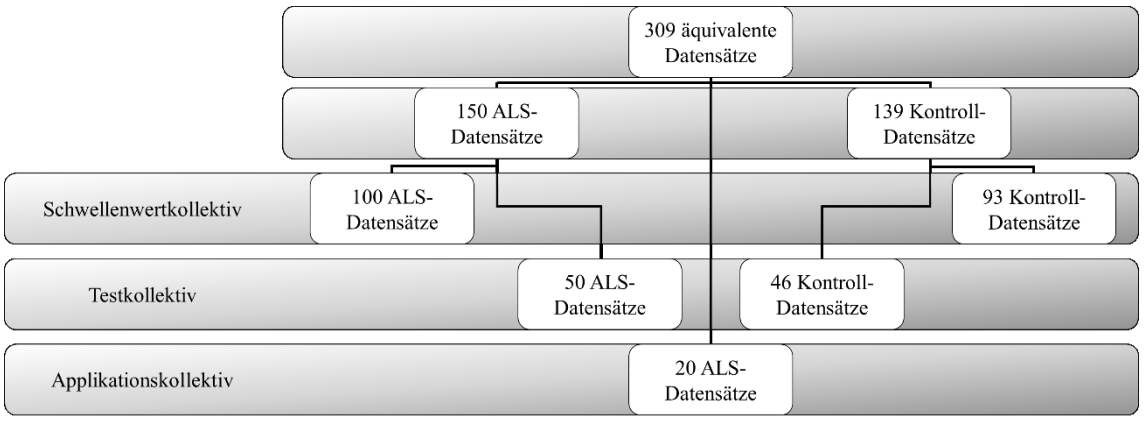


Abbildung 5: Einteilung der 309 DTI-Datensätze auf ein Schwellenwertkollektiv und ein Testkollektiv (im Verhältnis 2:1) und ein Applikationskollektiv; die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2014 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; ALS=Amyotrophe Lateralsklerose; DTI=Diffusion-Tensor-Imaging; MRT=Magnetresonanztomographie

*Tabelle 6: (A) Detaillierte Zusammenstellung der Informationen über Schwellenwert, Test- und Applikationskollektiv; (B) vergleichende Darstellung von Schwellenwert- und Testkollektiv; Angaben in Jahren; die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2014 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; ALS=Amyotrophe Lateralsklerose; ALS-FRS-R=Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale - Revised; ED=Erkrankungsdauer; Mittelwert ± Standardabweichung; MRT=Magnetresonanztomographie; PLS=Primäre Lateralsklerose; *Daten der PLS-Patienten sind nicht gesondert aufgeführt, sondern integriert*

A

Schwellenwertkollektiv (N=193)

	Protokoll	Anzahl	Geschlecht		Alter	ALS-FRS-R	ED
ALS* (N=100)	A	23	w: 11	m: 12	60 ± 8	35 ± 10 (N=22)	4 ± 5
	B	77	w: 30	m: 47	65 ± 12	40 ± 8 (N=63)	2 ± 1
Kontrollen (N=93)	A	47	w: 27	m: 20	52 ± 16		
	B	11	w: 2	m: 9	67 ± 4		
	C	35	w: 21	m: 14	64 ± 9		

Testkollektiv (N=96)

	Protokoll	Anzahl	Geschlecht		Alter	ALS-FRS-R	ED
ALS* (N=50)	A	11	w: 4	m: 7	58 ± 9	36 ± 9 (N=11)	3 ± 5
	B	39	w: 13	m: 26	64 ± 11	40 ± 8 (N=31)	2 ± 1
Kontrollen (N=46)	A	28	w: 17	m: 11	50 ± 14		
	B	2	w: 0	m: 2	61 ± 1		
	C	16	w: 10	m: 6	65 ± 8		

Applikationskollektiv (N=20)

	Protokoll	Anzahl	Geschlecht		Alter	ALS-FRS-R	ED
ALS*	A	20	w: 7	m: 13	61 ± 15	36 ± 6 (N=14)	1 ± 2

B

Schwellenwert- und Testkollektiv	**Schwellenwertkollektiv**		**Testkollektiv**	
	ALS*	Kontrollen	ALS*	Kontrollen
Geschlecht (m/w)	59/41	43/50	33/17	19/27
Alter	63 ± 11	59 ± 14	62 ± 11	56 ± 14

Zur Differenzierung zwischen Datensätzen gesunder Kontrollen und Datensätzen von ALS-Patienten wurde in einem weiteren Schritt mittels zweier Verfahren jeweils ein Schwellenwert definiert. Im Folgenden wird die konkrete Umsetzung der beiden Verfahren erläutert und beschrieben, wie dadurch jeweils ein quantitativer Schwellenwert erhoben und anschließend getestet wurde.

(i) FA-Werte aus vier ROIs im CST wurden aus den MNI-normalisierten FA-Maps berechnet (MNI-Koordinaten: ±22/-17/34 und ±22/-17/1) (siehe Abbildung 6 A) [Canu et al. 2011][Li et al. 2012][Müller et al. 2012]. So wurden für jeden Datensatz einzeln vier FA-Werte generiert. Um daraufhin eine Aussage über Sensitivität und Spezifität der ausgewählten ROIs gewinnen zu können, wurde eine statistische Auswertung der erhobenen FA-Werte mittels Receiver Operating Characteristic (ROC)–Kurven und der Bestimmung des Youden-Index vorgenommen; sowohl für jede ROI einzeln als auch für die aus allen vier ROIs einer Person gemittelten Werte. Als Schwellenwert wurde der FA-Wert gewählt, bei dem der Youden-Index maximal wurde, und damit ein Wert, bei dem die Summe der Werte für Spezifität und Sensitivität maximal wird.

Die Testung des am Schwellenwertkollektiv generierten Schwellenwertes erfolgte am restlichen Testkollektiv und dem Applikationskollektiv. An den zuvor im Schwellenwertkollektiv festgelegten ROIs im CST wurden nun auch im Testkollektiv und Applikationskollektiv ROIs platziert und FA-Werte erhoben. Anschließend wurden die gleichen Auswerteverfahren für die FA-Werte mittels ROC-Kurven und Bestimmung des Youden-Index vorgenommen. Außerdem wurde überprüft, welche Sensitivität und Spezifität sich im Testkollektiv beziehungsweise Applikationskollektiv bei Trennung mittels des im Schwellenwertkollektiv ermittelten Schwellenwertes einstellt.

(ii) Das eigenständige Analyseverfahren der Traktografie (TFAS) stellte die zweite angewandte Methode dar. Hierzu wurde zunächst eine Maske (siehe Abbildung 6 B) für die Region des CST aus den Datensätzen der 13 gesunden Probanden kreiert, welche eine Akquisition mittels Protokoll B durchlaufen haben (siehe hierzu 2.1.2 Patientenkollektiv und Probanden: Magnetresonanztomographie-Protokolle). Im Schwellenwertkollektiv wurde anschließend mittels der so erzeugten ROI für jeden Datensatz ein FA-Wert ermittelt. Die statistische Auswertung der FA-Werte erfolgte daraufhin mittels ROC-Kurven und der Bestimmung des Youden-Index.

Am Testkollektiv und Applikationskollektiv wurden ebenfalls auf der Basis der generierten Maske statistische Auswertungen der FA-Werte mittels ROC-Kurven und der Bestimmung des Youden-Index vorgenommen. Die finale Testung des Schwellenwertes am Testkollektiv und am Applikationskollektiv wurde durchgeführt, um die Reliabilität des generierten Schwellenwertes zu untersuchen.

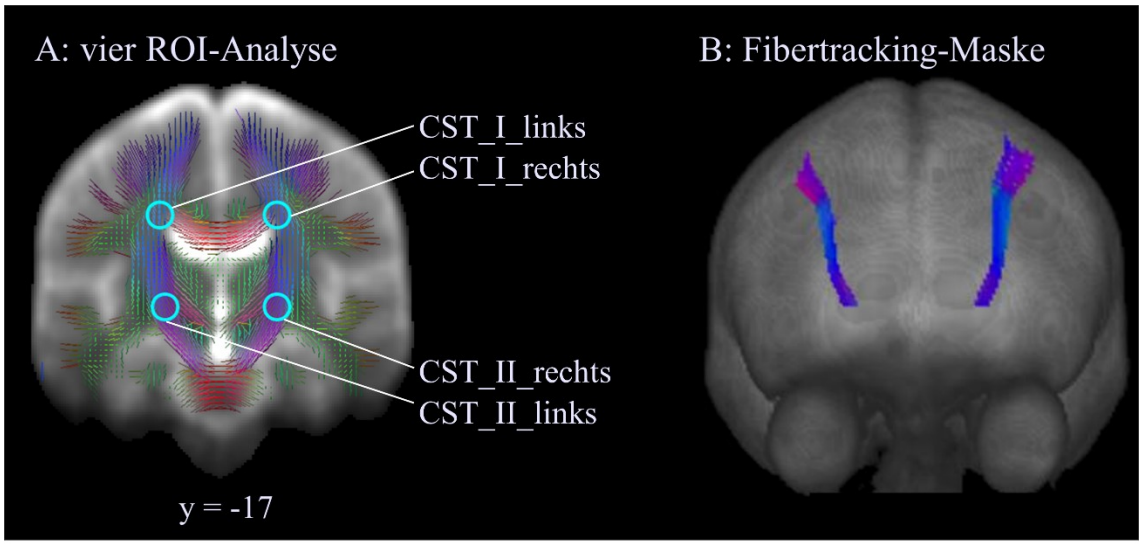


Abbildung 6: (A) Die verwendeten vier signifikanten Region[s]-of-Interest (ROI) (grün-blaue Kreismarkierungen) sind auf den von einem Kontrollprobanden ermittelten (b=0) Hintergrund projiziert; MNI-Koordinaten: ±22/-17/34 und ±22/-17/1; Koronarebene (MNI): -17 (B) an 13 Kontrollen kreierte Fibertracking-Maske in der Region des Tractus corticospinalis (CST); die MRT-Datenerhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2013 in der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; MNI=Montreal Neurological Institute

3 Ergebnisse

3.1 Ähnlichkeitsbewertung verbundener heterogener Datensätze

An neun gesunden Probanden wurde zu mindestens zwei unterschiedlichen Zeitpunkten eine MRT-Messung vorgenommen, wobei verschiedene Scanner-Protokolle Verwendung fanden (siehe dazu „erste Untergruppe“ in 2.1.1 Patientenkollektiv und Probanden: epidemiologische Daten). Die dabei erhobenen verbundenen heterogenen DTI-Datensätze lieferten in der ROI-basierten Analyse als Ergebnis, dass der Unterschied der Werte für FA zwischen einer Messung mit Protokoll B und einer Messung mit Protokoll C im arithmetischen Mittel über alle ROIs 0,008 (2,4 %) beträgt. Eine grafische Darstellung über die Verteilung der Wertepaardifferenzen ist in Abbildung 7 A mittels eines Bland-Altman-Plots aufgeführt. Es zeigte sich bei der Untersuchung der Intrasubjektvariabilität, dass ein ähnlich großer Unterschied von 0,009 (2,2 %) zwischen zwei Messungen einer Person mit Protokoll A besteht (siehe Abbildung 7 C). Die Intraoperatorvariabilität belief sich auf ± 0,003 (bestimmt mittels Fehlerrechnung beim Versatz der ROI Position)(Abbildung 8). Deshalb wurden Abweichungen unterhalb von 3,0% - gemäß Intrasubjekt- und Intraoperatorvariabilität - als normal definiert. Diese bedurften keiner Korrektur. Abweichungen oberhalb von 3,0 % allerdings lagen über der Intrasubjekt- und Intraoperatorvariabilität und konnten so aus Akquisition mittels unterschiedlicher Scanner-Protokolle resultieren. Größere Abweichungen bedurften also einer Korrektur.

Akquisitionen mit Protokoll B und Protokoll C zeigten FA-Maps mit einer Variabilität von weniger als 3,0 %, und Datensätze dieser Erhebungen konnten folglich zusammengeführt werden. Der intraindividuelle Vergleich zwischen einer Messung mit Protokoll A und einer Messung mit Protokoll C ergab durchschnittlich um 0,018 (4,9 %) höhere Werte bei Messungen mit Protokoll A (siehe Abbildung 7 B). Dieser Anstieg war höher als die Abweichung der Intrasubjekt- und Intraoperatorvariabilität und war daher einer Korrektur zuzuführen, bevor eine Mittelung der FA-Maps auf Gruppenniveau erfolgte.

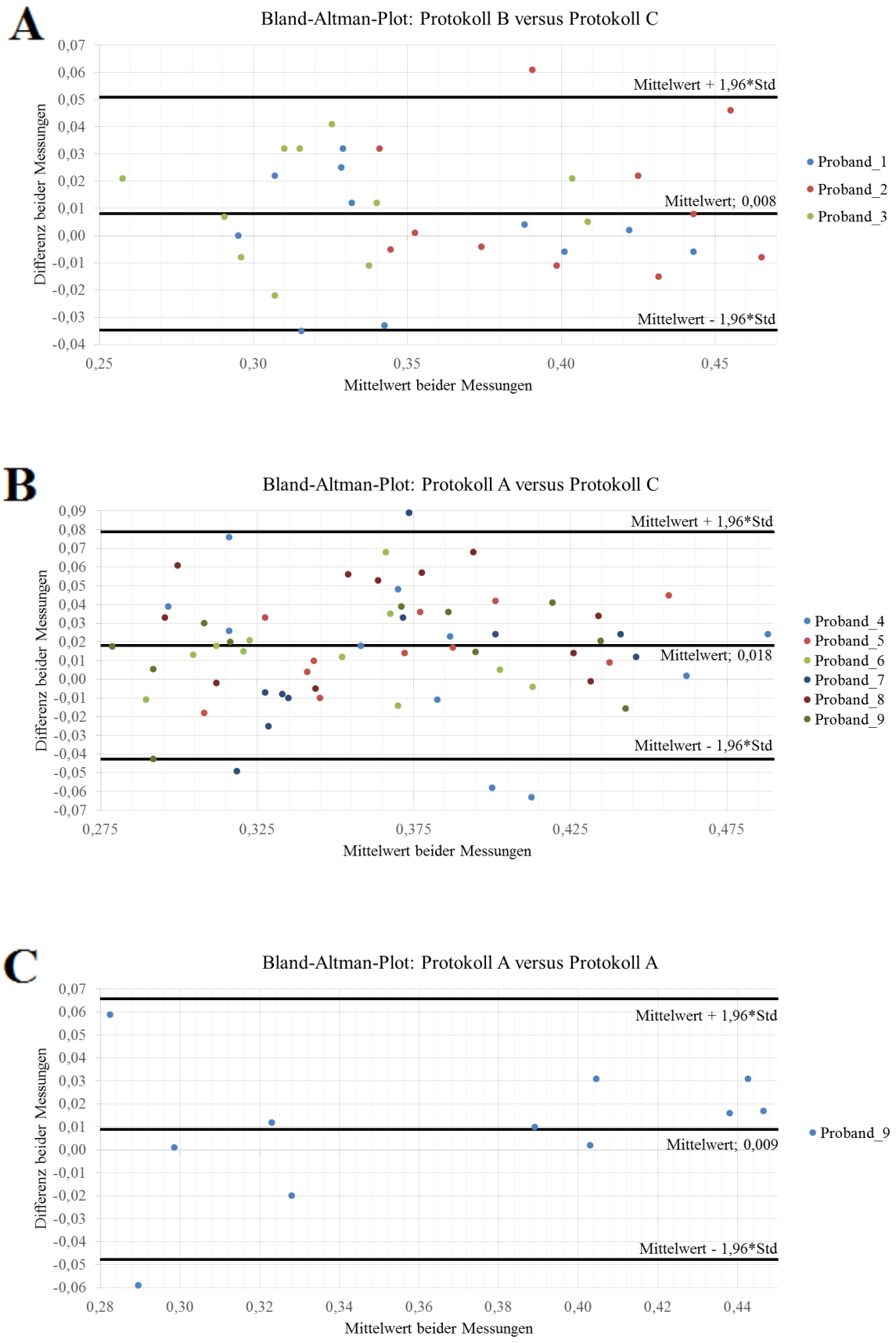


Abbildung 7: Ergebnisse der ROI-Analyse verbundener heterogener DTI-Datensätze im Bland-Altmann-Plot visualisiert; die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2005 bis 2013 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; DTI=Diffusion-Tensor-Imaging; MRT=Magnetresonanztomographie; ROI=Region-of-Interest; Std=Standardabweichung

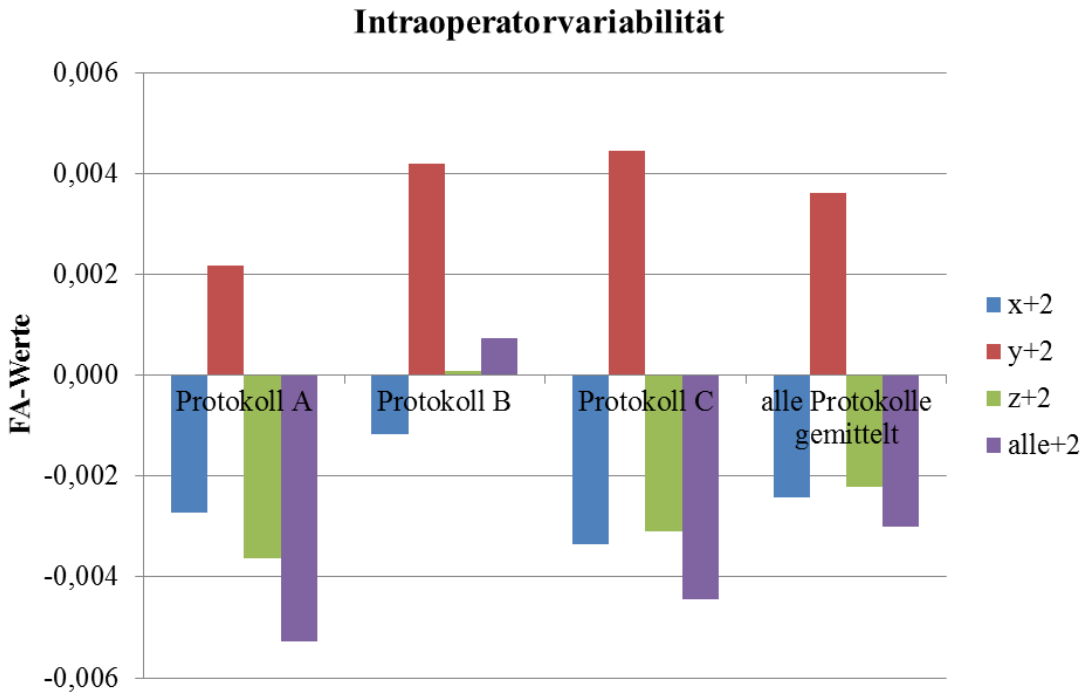


Abbildung 8: *Untersuchung der Intraoperatorvariabilität beim manuellen Platzieren einer ROI durch Versatz der ROI-Position um zwei Millimeter in alle Raumrichtungen. Untersuchungen in x-Richtung, y-Richtung, z-Richtung und allen Richtungen gleichzeitig; die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2005 bis 2013 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; FA=Fraktionelle Anisotropie; MRT=Magnetresonanztomographie; ROI=Region-of-Interest*

3.2 Ähnlichkeitsbewertung heterogener Datensätze auf Gruppenniveau

Auch mittels der Technik des Ganzhirnbasierten voxelweisen Vergleichs der Werte für FA wurde der Frage nachgegangen, inwieweit Unterschiede in den erhobenen Datensätzen, bedingt durch eine Akquisition mittels verschiedener MRT-Protokolle, zu berücksichtigen sind.

Erhöhte FA-Werte über das ganze Gehirn verteilt zeigte das Differenzbild der FA-Maps der Datensätze aus wiederholter Akquisition auf Gruppenniveau; gemeint sind die gemittelten FA-Werte der Kontrollen aus Erhebung mittels Protokoll A subtrahiert von den FA-Werten der Kontrollen aus Erhebung mittels Protokoll B beziehungsweise Protokoll C. Ein Differenzbild der FA-Maps unverbundener Datensätze (40 Datensätze von Kontrollen akquiriert mit Protokoll A vs. 40 Datensätze von Kontrollen akquiriert mit Protokoll B beziehungsweise Protokoll C) lieferte ein ähnliches Muster (Abbildung 9).

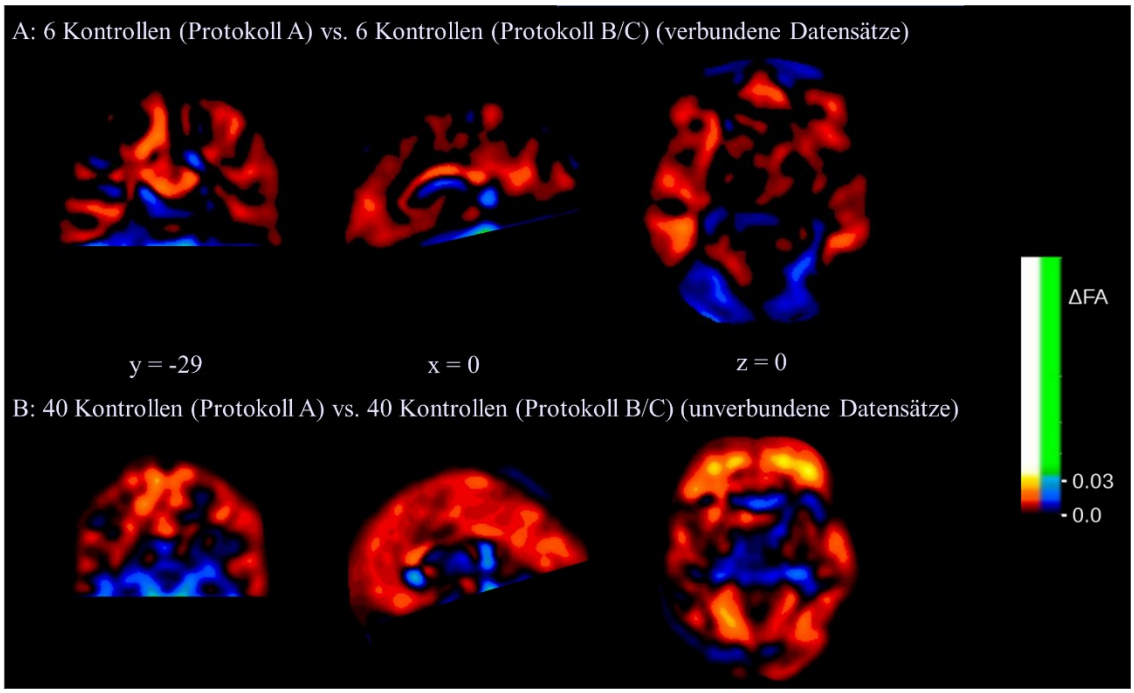


Abbildung 9: Visualisierung des einfachen FA-Shifts unverbundener Datensätze (A) und verbundener Datensätze (B); die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2005 bis 2013 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; FA=Fraktionelle Anisotropie; MRT=Magnetresonanztomographie

3.3 Erstellung einer Korrekturmatrix

In Zusammenschau bisheriger Ergebnisse (aus Kapitel 4.1 und 4.2) bezüglich der Frage, ob technische Unterschiede zu berücksichtigen sind, falls unterschiedliche MRT-Protokolle zum Einsatz kamen, konnte gezeigt werden, dass FA-Maps aus Akquisitionen mit Protokoll B und C ohne vorherige Korrektur zusammengeführt werden konnten. Deutliche Abweichungen ergaben sich jedoch zwischen FA-Maps aus Erhebungen mit Protokoll A und Protokoll B beziehungsweise C. Um daher eine einheitliche Basis von Datensätzen zu erhalten, war es nötig, eine Angleichung der Datensätze einer Messung mit Protokoll A an Datensätzen einer Erhebung mit Protokoll B beziehungsweise C vorzunehmen.

Hierzu wurden im konkreten Fall 40 Datensätze von Kontrollen, welche mittels Protokoll A erhoben wurden, und 40 Datensätze von Kontrollen, welche mittels Protokoll B oder C generiert wurden, zu einem nach Alter und Geschlecht gematchten Kollektiv zusammengestellt. Eine Zusammenstellung der Geschlechter- und Altersverteilung dieses Kollektivs ist in Tabelle 7 aufgelistet. Ziel dieses Kollektivs war es, eine universelle Korrekturmatrix zu erstellen, welche den technisch bedingten FA-Shift der Messungen mit Protokoll A an die Erhebungen mit Protokoll B beziehungsweise C korrigieren soll. Eine Approximation in jedem Voxel mittels einer Polynomfunktion (siehe Gleichung (6)) ließ die 3D Korrekturmatrix entstehen.

Tabelle 7: Übersicht über die Verteilung von Geschlecht und Alter in Jahren zum Zeitpunkt der Bilderhebung gesunder Kontrollen; die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2013 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; MRT=Magnetresonanztomographie

Korrekturmatrix-Kollektiv (N=80)

Protokoll		**Anzahl**	**Geschlecht**		**Alter**
A		40	w: 23	m: 17	62 ± 9
B und C		40	w: 23	m: 17	63 ± 5
	B	10	w: 1	m: 9	65 ± 3
	C	30	w: 22	m: 8	63 ± 5

3.4 Whole Brain-Based Spatial Statistics bei Kontrollen und Patienten mit ALS

Ein Vergleich auf Gruppenniveau im Schwellenwertkollektiv (100 ALS versus 93 Kontrollen) ergab eine signifikante Reduktion der Werte für FA entlang des CST und darüber hinaus. Insbesondere Projektionen in die weiße Gehirnsubstanz der Bereiche des Frontalhirns (Abbildung 10 A) sind erkennbar. Nach einfacher Linear-Korrektur aller Datensätze mit Protokoll A allerdings werden diese Projektionen reduziert, ohne dabei (relevante) Unterschiede im Bereich der mikrostrukturellen Veränderungen des CST hervorzurufen (Abbildung 10 B). Eine Korrektur nach nächsthöherer Ordnung (Regressions-Korrektur) zeigt keine zusätzlichen Cluster im Frontalhirnbereich (Abbildung 10 C). Daher wurden 3D FA-Map Korrekturen mittels Regressions-Korrektur für alle DTI-Datensätze mit Protokoll A durchgeführt.

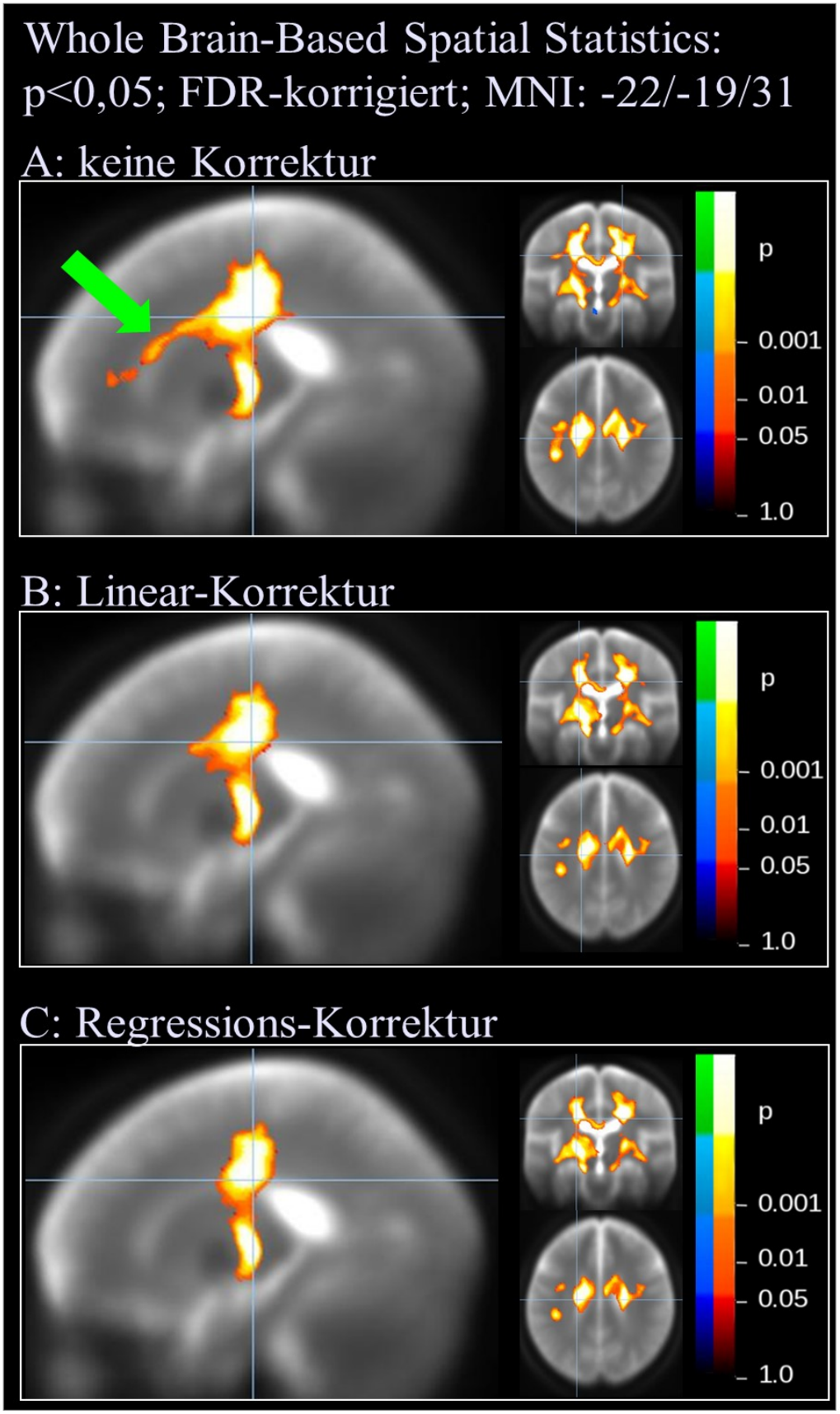


Abbildung 10: Whole Brain-Based Spatial Statistics (WBSS) im Schwellenwertkollektiv (100 ALS vs. 93 Kontrollen) ohne Korrektur (A), nach Linear-Korrektur (B) und nach Regressions-Korrektur (C); die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2013 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; ALS=Amyotrophe Lateralsklerose; FDR=False-Discovery-Rate; MNI=Montreal Neurological Institute; MRT=Magnetresonanztomographie

3.5 Bestimmung und Erprobung eines Schwellenwertes

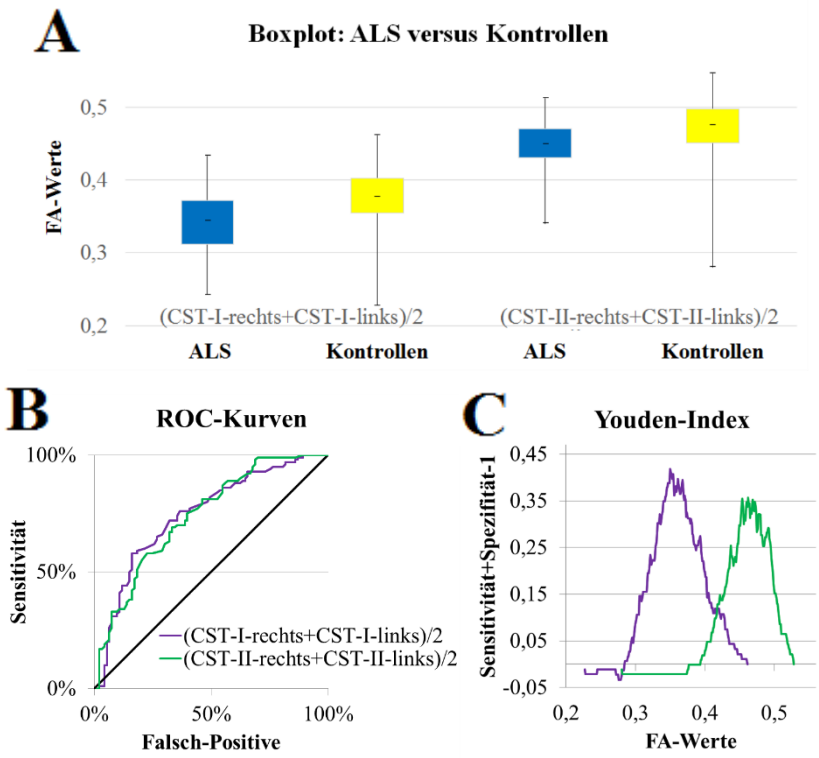
Zur Bestimmung des Schwellenwertes, welcher möglichst gut zwischen Datensätzen gesunder Kontrollen und Datensätzen von Patienten mit ALS dichotomisieren sollte, wurden Youden-Index (Youden-Index = Sensitivität + Spezifität - 1) und ROC-Kurve (Receiver Operating Characteristic) herangezogen.

3.5.1 Ergebnisse der vier ROI basierten Analyse

Das arithmetische Mittel wurde aus den ROIs für das CST-I-rechts und CST-I-links und für das CST-II-rechts und CST-II-links aus FA-Werten nach Regressions-Korrektur bestimmt. In Abbildung 11 sind die Erkenntnisse in Form von Boxplot, ROC-Kurven und Youden-Index für das Schwellenwertkollektiv (a) und das Testkollektiv (b) visualisiert.

Eine detaillierte Aufstellung für jede ROI einzeln und nach Mittelung aller vier ROIs (nach Regressions-Korrektur und Linear-Korrektur) ist zur besseren Vergleichbarkeit in tabellarischer Form (Tabelle 8) wiedergegeben.

a) Schwellenwertkollektiv



b) Testkollektiv

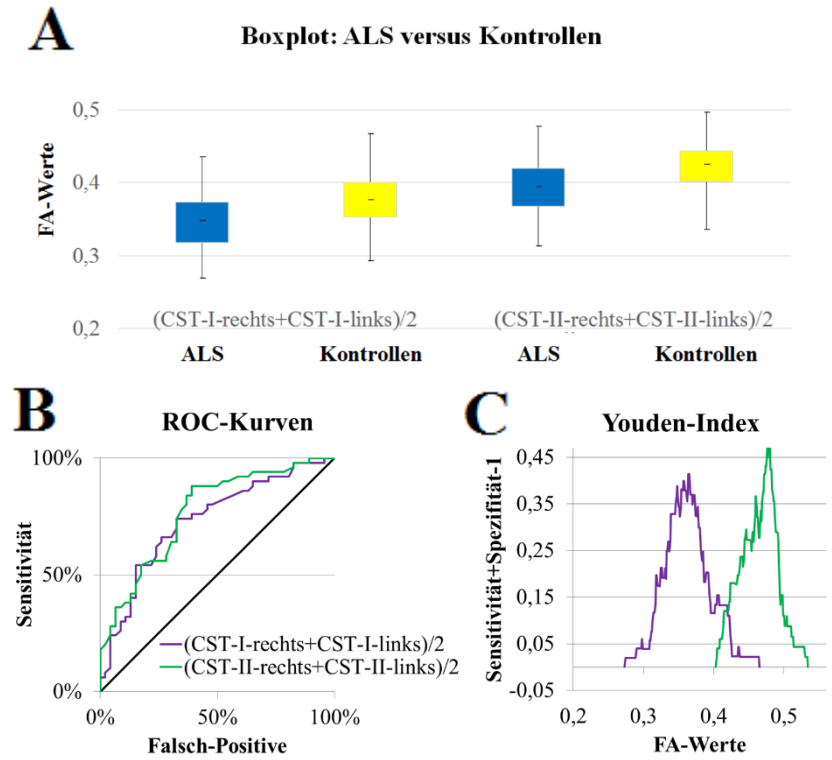


Abbildung 11: Ergebnisse aus Approximation nach Regressions-Korrektur für die beiden oberen ROIs gemittelt (CST-I-rechts+CST-I-links)/2 und für die beiden unteren ROIs gemittelt (CST-II-rechts+CST-II-links)/2; die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2013 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; ALS=Amyotrophe Lateralsklerose; CST=Tractus corticospinalis; FA=Fraktionelle Anisotropie; MRT=Magnetresonanztomographie; ROC-Kurven=Receiver Operating Characteristic Kurve; ROI=Region-of-Interest

Tabelle 8: Tabellarische Darstellung der Ergebnisse für jede ROI (=Region-of-Interest) einzeln und nach Mittelung aller vier ROIs nach Regressions-Korrektur (A) und nach Linear-Korrektur (B); FA-Schwellenwert entspricht dem FA-Wert, bei dem der Youden-Index maximal wird; die Zahlen in eckigen Klammern geben das Konfidenzintervall (95%) wieder; die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2014 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; ALS=Amyotrophe Lateralsklerose; CST=Tractus corticospinalis; FA=Fraktionelle Anisotropie; Kont=Kontrolle; MRT=Magnetresonanztomographie

a) Schwellenwertkollektiv

A **Regressions-Korrektur**	CST-I-rechts	CST-I-links	CST-II-rechts	CST-II-links	**gemittelte ROIs**
Median (ALS/Kont)	0,348/0,380	0,339/0,375	0,444/0,468	0,454/0,483	**0,397/0,425**
FA-Schwellenwert	0,359	0,345	0,468	0,470	**0,409**
Youden-Index	0,44	0,40	0,33	0,40	**0,46**
Sensitivität (N=100)	63 %	63 %	81 %	70 %	**74% [64%-82%]**
Spezifität (N=93)	81 %	77 %	52 %	70 %	**72% [62%-81%]**

B **Linear-Korrektur**	CST-I-rechts	CST-I-links	CST-II-rechts	CST-II-links	**gemittelte ROIs**
Median (ALS/Kont)	0,348/0,383	0,339/0,376	0,443/0,464	0,457/0,490	**0,398/0,426**
FA-Schwellenwert	0,359	0,365	0,470	0,470	**0,408**
Youden-Index	0,43	0,39	0,32	0,44	**0,48**
Sensitivität (N=50)	61 %	78 %	87 %	68 %	**71% [61%-80%]**
Spezifität (N=46)	82 %	61 %	45 %	76 %	**77% [68%-86%]**

b) Testkollektiv

A **Regressions-Korrektur**	CST-I-rechts	CST-I-links	CST-II-rechts	CST-II-links	**gemittelte ROIs**
Median (ALS/Kont)	0,351/0,378	0,342/0,373	0,446/0,476	0,467/0,488	**0,401/0,431**
FA-Schwellenwert	0,359	0,345	0,468	0,470	**0,409**
Youden-Index	0,30	0,38	0,33	0,35	**0,42**
Sensitivität (N=100)	54 %	58 %	70 %	52 %	**68% [53%-80%]**
Spezifität (N=93)	76 %	80 %	63 %	83 %	**74% [59%-86%]**

B **Linear-Korrektur**	CST-I-rechts	CST-I-links	CST-II-rechts	CST-II-links	**gemittelte ROIs**
Median (ALS/Kont)	0,351/0,378	0,341/0,376	0,446/0,475	0,468/0,493	**0,401/0,433**
FA-Schwellenwert	0,359	0,365	0,470	0,470	**0,408**
Youden-Index	0,28	0,39	0,26	0,35	**0,48**
Sensitivität (N=50)	52 %	74 %	72 %	50 %	**68% [53%-80%]**
Spezifität (N=46)	76 %	65 %	54 %	85 %	**80% [66%-91%]**

c) Applikationskollektiv

Regressions-Korrektur	CST-I-rechts	CST-I-links	CST-II-rechts	CST-II-links	**gemittelte ROIs**
Median (ALS)	0,345	0,332	0,446	0,456	**0,390**
FA-Schwellenwert	0,359	0,345	0,468	0,470	**0,409**
Sensitivität	65 %	60 %	70 %	60 %	**70 %**

3.5.2 Ergebnisse der Fibertracking-basierten Analyse

Die Ergebnisse der Datensätze, welche mittels FT gewonnen wurden, sind als tabellarische Zusammenfassungen für Schwellenwertkollektiv, Testkollektiv und Applikationskollektiv aufgeführt (Tabelle 9).

Tabelle 9: Tabellarische Darstellung der Ergebnisse mittels Fibertracking nach Regressions-Korrektur (A) und nach Linear-Korrektur (B); FA-Schwellenwert entspricht dem FA-Wert, bei dem der Youden-Index maximal wird; die Zahlen in eckigen Klammern geben das Konfidenzintervall (95%) wieder; die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2014 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; ALS=Amyotrophe Lateralsklerose; FA=Fraktionelle Anisotropie; Kont=Kontrolle; MRT=Magnetresonanztomographie

A

Regressions-Korrektur	**Schwellenwert-kollektiv**	**Testkollektiv**	**Applikations-kollektiv**
Median (ALS/Kont)	0,332/0,351	0,335/0,346	0,325
FA-Schwellenwert	0,341	0,341	0,341
Youden-Index	0,34	0,29	-
Sensitivität	**68% [58%-77%]**	**68% [53%-81%]**	**75 %**
Spezifität	**66% [55%-75%]**	**61% [46%-75%]**	-

B

Linear-Korrektur	**Schwellenwert-kollektiv**	**Testkollektiv**
Median (ALS/Kont)	0,333/0,355	0,335/0,351
FA-Schwellenwert	0,341	0,341
Youden-Index	0,35	0,27
Sensitivität	**66% [56%-75%]**	**64% [49%-77%]**
Spezifität	**69% [60%-79%]**	**63% [48%-77%]**

3.6 Analyse des gesamten Datenkollektivs

In der abschließenden Analyse aller Datensätze der 170 ALS-Patienten und 139 Kontrollen ergab sich im Ganzhirnbasierten voxelweisen Vergleich der Werte für FA (WBSS) ein signifikanter Hauptcluster entlang des CST (gemäß dem ALS-Staging-System 1 [Brettschneider et al. 2013][Kassubek et al. 2014]), zusammen mit dem CC in der sogenannten „horseshoe configuration“ (Abbildung 12 A). Über weitere Cluster informieren Abbildung 12 B und C, und Tabelle 10. Diese Untersuchung wurde allerdings nicht dafür durchgeführt, um alle Stadien der ALS gemäß dem neuropathologischen ALS-Staging-System nachzuvollziehen, sodass eine etwas grobere Einteilung der detektierten Cluster hinsichtlich ihrer anatomischen Lokalisation vorgenommen wurde. Eine Trennung der Datensätze von Kontrollen von den Datensätzen von ALS-Patienten ergab eine Sensitivität von 72 % (95-prozentiges Konfidenzintervall: [64%-80%]) und eine Spezifität von 73 % (95-prozentiges Konfidenzintervall: [64%-82%]) (unter Verwendung der vier ROI-Analyse mit dem Schwellenwert von 0,409).

Tabelle 10: Ergebnis des Ganzhirnbasierten voxelweisen Vergleiches der Werte für FA; die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2014 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; FA=Fraktionelle Anisotropie; MNI=Montreal Neurological Institute brain atlas; MRT=Magnetresonanztomographie; p-Werte des Student's t-tests

	Clustergröße	Hemisphäre	MNI (x/y/z)	Signifikanz	anatomische Lokalisation
1	62448	R/L	23/-20/37	p<0,0001	CST, CC (Area III), Hirnstamm
2	3448	R	25/-73/27	p<0,0001	Okzipitallappen
3	2091	R/L	25/32/-9	p<0,0001	Frontallappen
4	758	R	12/41/8	p<0,0001	Frontallappen

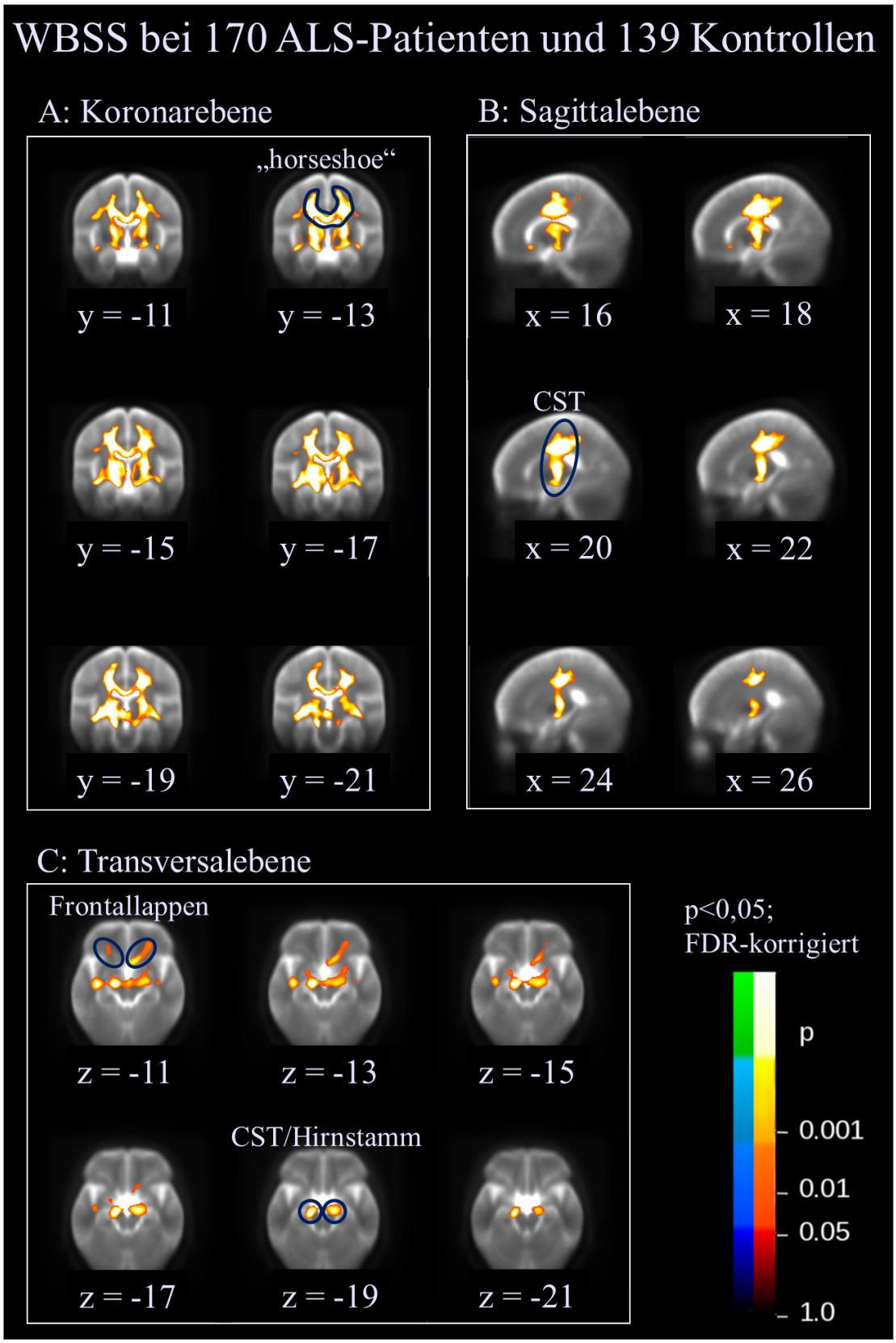


Abbildung 12: Ganzhirnbasierter voxelweiser Vergleich der Werte für FA zwischen 170 ALS-Patienten und 139 Kontrollen (p<0,05; FDR-korrigiert). Die signifikanten Cluster sind auf den gemittelten (b=0) Hintergrund projiziert; die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2014 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; ALS=Amyotrophe Lateralsklerose; CST=Tractus corticospinalis; FA=Fraktionelle Anisotropie; FDR=False-Discovery-Rate; MRT=Magnetresonanztomographie; WBSS=Whole Brain-Based Spatial Statistics

3.7 Korrelationsanalyse zwischen klinischen Daten und Werten für Fraktionelle Anisotropie

Eine Korrelationsanalyse nach Spearman zwischen ALS-FRS-R und dem entsprechenden Wert für FA im Patientenkollektiv (N=141) lieferte einen hochsignifikanten Zusammenhang (Analyse aus vier ROIs im CST: r=0,2001, p=0,0087; für FT: r=0,2009, p=0,0085) (siehe Tabelle 11 A). Eine weitergehende Auswertung im Hinblick auf Korrelation zwischen Erkrankungsdauer und erhobenen Werten für FA blieb nicht signifikant (Analyse aus vier ROIs im CST: r=0,1058, p=0,0849; für FT: r=0,0223, p=0,3864) (siehe Tabelle 11 B). In Abbildung 13 ist eine grafische Darstellung der untersuchten Korrelationen für die FA-Werte dargestellt, die sich nach arithmetischer Mittelung der FA-Werte aus CST-I-rechts und CST-I-links ergeben.

Tabelle 11: Korrelationsanalyse an Datensätzen nach Regressions-Korrektur ergab einen hochsignifikanten Zusammenhang zwischen ALS-FRS-R und FA-Werten (A), jedoch nicht zwischen Erkrankungsdauer und FA-Werten (B); die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2014 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; ALS-FRS-R=Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale - Revised; CST=Tractus corticospinalis; FA=Fraktionelle Anisotropie; MRT=Magnetresonanztomographie; ROI=Region-of-Interest

A Korrelationsanalyse zwischen ALS-FRS-R und FA-Werten (N=141)

Spearman-Korrelation	CST-I-rechts	CST-I-links	CST-II-rechts	CST-II-links	**gemittelte ROIs**	**Fiber-tracking**
Regressions-Korrektur	r = 0,2421 p = 0,0019	r = -0,163 p = 0,0267	r = 0,2956 p = 0,0002	r = 0,0512 p = 0,2732	**r = 0,2001** **p = 0,0087**	**r = 0,2009** **p = 0,0085**
Linear-Korrektur	r = 0,2310 p = 0,0029	r = -0,164 p = 0,0259	r = 0,2863 p = 0,0003	r = -0,013 p = 0,4383	**r = 0,1856** **p = 0,0138**	**r = 0,1811** **p = 0,0158**

B Korrelationsanalyse zwischen Erkrankungsdauer und FA-Werten (N=170)

Spearman-Korrelation	CST-I-rechts	CST-I-links	CST-II-rechts	CST-II-links	**gemittelte ROIs**	**Fiber-tracking**
Regressions-Korrektur	r = -0,012 p = 0,4378	r = 0,1625 p = 0,0171	r = 0,0513 p = 0,2532	r = 0,1291 p = 0,0467	**r = 0,1058** **p = 0,0849**	**r = 0,0223** **p = 0,3864**
Linear-Korrektur	r = -0,007 p = 0,4654	r = 0,1499 p = 0,0255	r = 0,0253 p = 0,3716	r = 0,1194 p = 0,0605	**r = 0,0100** **p = 0,0973**	**r = 0,0302** **p = 0,3479**

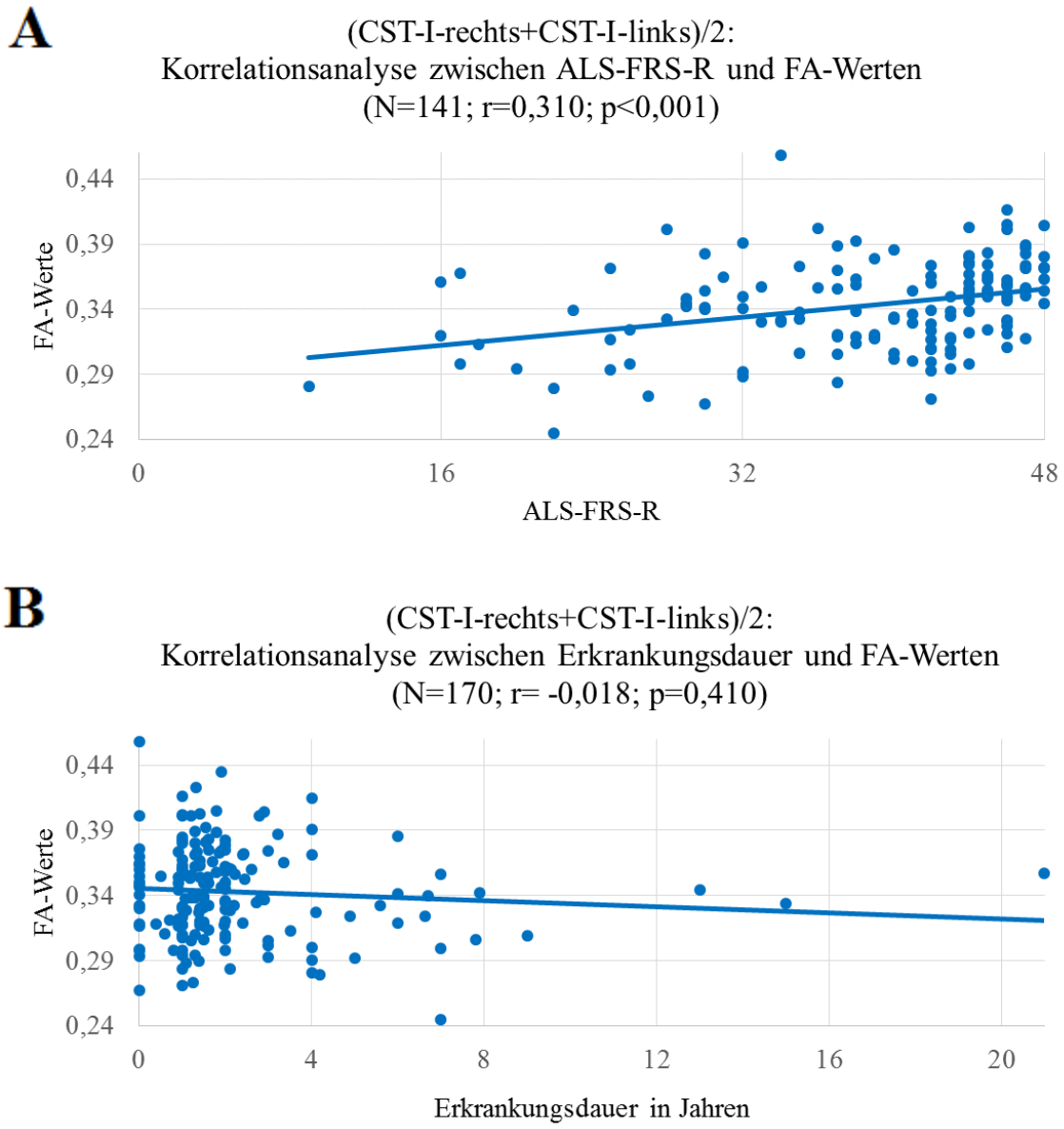


Abbildung 13: Grafische Darstellung der Korrelationsanalysen mit ALS-FRS-R und Erkrankungsdauer für die FA-Werte, die sich nach arithmetischer Mittelung der FA-Werte aus CST-I-rechts und CST-I-links ergeben; die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2014 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; ALS-FRS-R=Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale - Revised; CST=Tractus corticospinalis; FA=Fraktionelle Anisotropie; MRT=Magnetresonanztomographie

4 Diskussion

Die MRT-Bildgebung ist ein nicht-invasives und breit verfügbares Verfahren, um bei ALS motorische und extramotorische Schädigungen zu untersuchen. Darüber hinaus verfügt die MRT-Bildgebung über ein erkennbares Potential, um im Prozess der Diagnosefindung motorische und extramotorische Läsionen bei ALS zu detektieren und damit zudem ein Potential um als Biomarker Krankheitsverläufe abzubilden [Schimrigk et al. 20007][Turner et al. 2011]. MRT-Bildgebung bei ALS verfolgt zwei Zielrichtungen:

(i) eine Bildgebungstechnik zu entwickeln, die die diagnostische Treffsicherheit auf Individualniveau verbessert (bei weiterhin optimierten klinischen Vorgehensweisen) und
(ii) Abläufe der Krankheitspathologie und der Pathophysiologie besser zu verstehen und den Erkenntnisgewinn darüber voranzubringen. Analysen auf Gruppenniveau zeigten sich hierfür als geeignet [Bede & Hardiman 2014].

4.1 Einfluss des MRT-Protokolls auf die gemessene Diffusivität

In dieser Studie wurde der Einfluss des MRT-Protokolls auf die Genauigkeit der FA-basierten Messungen untersucht. In der Analyse von Datensätzen gesunder Kontrollprobanden, welche mehrmals MRT-Erhebungen mittels verschiedener Scanner-Protokolle durchlaufen haben, ließ sich kein Unterschied zwischen Datensätzen mit Protokoll B und Protokoll C feststellen. Allerdings war ein signifikanter Unterschied zwischen Datensätzen mit Protokoll A und Protokoll C auszumachen. Dieser Unterschied belief sich auf eine Größenordnung, die vergleichbar zu derjenigen aus Multizenter-Studien ist [Pfefferbaum et al. 2003][Walker et al. 2013]. In multizentrischen Studien zeigte sich, dass bei Akquisitionen an MR-Tomographen verschiedener Standorte Unterschiede gemessen werden können, obwohl standardisierte MRT-Protokolle zur Gewinnung von DTI-Datensätzen herangezogen wurden [Walker et al. 2013]. Erst kürzlich veröffentlichte DTI-Studien über andere Erkrankungen als ALS zeigten, dass die mittels DTI erhobenen FA Messwerte Replizierbarkeit, Reliabilität und Stabilität auch auf multizentrischer Ebene besitzen [Fox et al. 2012][Pfefferbaum et al. 2003][Teipel et al. 2011][Vollmar et al. 2010]. So berichten Teipel et al. [Teipel et al. 2011] über einen Variationskoeffizienten (CV) von 6,9 % für Werte von FA zwischen 16 Zentren. Die Herausforderung, Unterschiede zwischen FA-Maps auszugleichen, ist bis heute noch nicht vollständig gelöst.

Wie es ansonsten in Multizenter-Studien üblich ist, fand in der gegenwärtigen Untersuchung die Analysetechnik der manuellen Platzierung von ROIs Verwendung. Mit Blick auf die anschließenden Gruppenvergleiche bei ALS wurden die ROIs in den für die ALS relevanten Areale gewählt. Entsprechend dem in vivo-Transfer des neuropathologischen ALS-Staging-Systems [Kassubek et al. 2014] wurde die Region des CST (Stadium 1), welche als das Traktkorrelat gewertet wird, das während der Krankheitsprogression bei ALS als Erstes betroffen ist, mit insgesamt sechs ROIs entlang des CST (jeweils links und rechts eine kraniale, mediale und kaudale) adressiert. Da nicht das Staging bei ALS das Hauptaugenmerk in dieser Studie war, wurden die Stadien 2, 3 und 4 nicht weiter verfolgt, sondern eine frontale, mediale und okzipitale Region im CC, welche auf Gruppenniveau Unterschiede gezeigt haben [Unrath et al. 2010] als Lokalisation der ROIs gewählt. Die mediale Region im CC entsprach dem Motorsegment des CC, welches gemäß der Einteilung nach Hofer und Frahm [Hofer & Frahm 2006] das Segment III des CC umfasst. Jeweils links und rechts im Frontalhirnbereich [Agosta et al. 2010a] wurden zudem Werte für FA erhoben. Ziel war es, eine möglichst studienspezifische, gezielte und gleichzeitig umfassende Aussage über den Einfluss des MRT-Protokolls auf die Genauigkeit der FA-basierten Messungen treffen zu können. Eine Fehlerrechnung in Bezug auf Abweichungen beim Platzieren der ROIs wurde durchgeführt. Sowohl die Intraoperatorvariabilität als auch die Intrasubjektvariabilität stimmten mit Erkenntnissen aus früheren Studien überein [Schimrigk et al. 2007]. Die tatsächliche Ursache zum einen für den beobachteten Unterschied in den gemessenen FA-Werten zwischen Akquisitionen mit Protokoll A und C, und zum anderen für keinen Unterschied zwischen Erhebungen mit Protokoll B und C war letztlich unklar. Eventuell nahm die Voxelgröße einen erheblichen Einfluss auf die gemessene Diffusivität ein. Abhängig von der Gewebestruktur (unidirektionale Axone – hohe FA oder „Crossing Fibers“ - niedrige FA) kann das Mittelungsvolumen großen Einfluss auf die FA haben. Vor allem in Regionen mit Axonen verschiedener Direktionalität führen kleine Voxelgrößen zu höherer FA, höhere Voxelgrößen, d.h. größere Mittelungsvolumina führen dann zu einer FA-Reduktion. Es ist somit wesentlich für die FA, wie die Voxelgröße und wie die axonale Struktur der abgebildeten Gehirnregion ist.

In der vorliegenden Studie ergaben Protokoll B und C mit einer Scanner-Einstellung von jeweils 64 Schichten annähernd gleich große Voxelgrößen (Volumen ≈ 13 mm^3), während 54 Schichten bei Protokoll A zu einer deutlich dazu verschiedenen Voxelgröße (Volumen ≈

6 mm^3) führten. Einen weiteren Teilaspekt, der zum Unterschied der gemessenen Diffusivität bei Erhebung mittels verschiedener Scanner-Protokoll beigetragen haben könnte, stellten die verschiedenen Gradientenrichtungen dar.

4.2 3D Korrekturmatrizen

Aufgrund der Verwendung verschiedener Akquisitionsparameter war es nötig, eine einheitliche Datenbasis zu schaffen. In der Literatur wurde bisher lediglich von einer „reproducibility map“ [Vollmar et al. 2010] berichtet, welche zur Evaluation der Effekte von MRT-Protokollen auf die Genauigkeit der FA-basierten Messungen herangezogen wurde. In der hier vorliegenden Studie hingegen wurde zum ersten Mal das Konzept, Differenzen mittels einer Korrekturmatrix auszugleichen, verwirklicht.

Ein methodischer Algorithmus wurde entwickelt, sodass ein Pooling von FA-Maps, welche mittels unterschiedlicher DTI-Protokolle akquiriert wurden, möglich war. Hierzu wurden Datensätze re-kalibriert, indem mittels eines Verfahrens der Polynomfunktion 3D Korrekturmatrizen nullter und erster Ordnung erzeugt und angewendet wurden. Die Korrekturmatrizen ließen sich aus einem nach Alter und Geschlecht gematchten Vergleich von 80 FA-maps erzeugen. Aufgrund dieser großen Anzahl von Datensätzen ist davon auszugehen, dass die erhaltenen Korrekturmatrizen einen sehr genauen Abgleich des tatsächlichen, technischen Unterschiedes ermöglicht, ohne dabei jedoch zu sehr auf Individualniveau zu gewichten. Mathematisch betrachtet ist die Korrekturmatrix eine für jedes Voxel durchgeführte Approximation auf der Grundlage einer Polynomfunktion.

Die kreierten Korrekturmatrizen waren ohne nennenswerten Mehraufwand in den Standard-Datennachbearbeitungsalgorithmus implementierbar (Abbildung 2 B). Wie in der hier vorliegenden Studie realisiert, ließ sich der für die Approximation zusätzliche Schritt am besten zwischen dem Bearbeitungsschritt der Normalisierung auf die studienspezifischen Templates und dem Schritt des „Glättens“ (Smoothing) einbetten. Die Auswirkungen der Korrekturmatrizen ließen sich im Ganzhirnbasierten voxelweisen Vergleich der Werte für FA (WBSS) demonstrieren. Der Einsatz von Korrekturmatrizen höherer Ordnung ist auch im Hinblick auf verschiedene Szenarios denkbar und realisierbar, da sich durch Pooling von DTI Metriken ein statistisch aussagekräftigerer Stichprobenumfang einstellen lässt.

4.3 Evaluation mikrostruktureller Veränderungen im CST

DTI Erhebungen an ALS-Patienten werden seit nahezu einem ganzen Jahrzehnt in vielen Zentren auf der ganzen Welt mit unterschiedlichen Scanner-Protokollen akquiriert. Diese Studie etablierte eine ex post facto Methodik, um das hohe Potential gepoolter DTI-Datensätze unterschiedlicher technischer Spezifitäten zu nutzen. Studien bei ALS mit statistisch aussagekräftigem Stichprobenumfang wurden nicht zuletzt von der NiSALS gefordert [Turner et al. 2011].

An über 300 DTI basierten Datensätzen ließen sich FA basierte Schwellenwerte generieren und testen. Hierzu wurde die Gesamtheit der Datensätze auf zwei Kollektivpaare aus Datensätzen gesunder Kontrollen und Datensätzen von Patienten mit ALS randomisiert. Es entstand ein Schwellenwert- und Testkollektiv. Ein Matching nach Alter und Geschlecht wurde nicht angestrebt, da das Einsetzen des Schwellenwertes im sich daraus ergebenden Testkollektiv verzerrte Ergebnisse liefern würde. Das Schwellenwertkollektiv sollte zwei Drittel der Datensätze von Kontrollen und zwei Drittel der Datensätze von Patienten mit ALS umfassen. Ein Drittel aller Datensätze sollte das Testkollektiv beinhalten. Da die Datensätze des Schwellenwertkollektivs dazu verwendet wurden, den Schwellenwert zu definieren, der möglichst gut zwischen den Datensätzen von Kontrollen und Patienten mit ALS dichotomisieren sollte, und der anschließend durch Einsatz am Testkollektiv erprobt werden sollte, wurde das Schwellenwertkollektiv dadurch gewichtet, dass die Aufteilung der Gesamtheit aller Datensätze im Verhältnis 2:1 zu Gunsten des Schwellenwertkollektivs vorgenommen wurde. Dyrba et al. [Dyrba et al. 2013] beschrieben mittels der „Zehnfach-Kreuzvalidierungstechnik“ eine Möglichkeit, wie ein starres Aufteilungsverhältnis umgangen werden kann. Eine Verbesserung der statistischen Validierung wurde in der vorliegenden Studie durch die Hinzunahme des Applikationskollektivs geschaffen. In der Literatur wurde von einer direkt zur vorliegenden Arbeit vergleichbaren Vorgehensweise, soweit zu eruieren war, noch nicht berichtet. Eine theoretische Alternative liefert die Methode des Bootstrapping. Das Bootstrapping ist ein mathematisches/statistisches Verfahren des Resamplings für die Fälle, für die die theoretische Verteilung der interessierenden Statistik nicht bekannt ist.

Nach Verteilung der Datensätze auf Schwellenwert- und Testkollektiv wurden Schwellenwerte mittels Youden-Index und ROC-Kurven definiert. Derjenige FA-Wert wurde als Schwellenwert verwendet, bei dem die Summe aus Sensitivität und Spezifität maximal

wurde. Ob allerdings eher eine hohe Sensitivität mit damit einhergehender niedrigerer Spezifität (oder umgekehrt) eher die Güte des Schwellenwertes ausmachen sollte, bleibt offen. Eine ebenfalls auf Basis von ROC-Kurven ermittelte Sensitivität von 100 % und Spezifität von 92 % mittels DTI-basierter Untersuchung des CST bei ALS wurde von Prokscha et al. [Prokscha et al. 2014] berichtet. Grundlage dieser Veröffentlichung ist ein Vergleich von DTI-Datensätzen, welche an 12 gesunden Probanden und 13 Patienten mit ALS erhoben wurden. Der doch sehr geringe Stichprobenumfang macht diese Studie ausbaufähig. Eine erst kürzlich veröffentlichte Metaanalyse [Foerster et al. 2012][Foerster et al. 2013] berichtete von einer gepoolten Sensitivität von 65 % und einer gepoolten Spezifität von 67 %. Die in der vorliegenden Studie gewonnenen Sensitivitäten und Spezifitäten befinden sich zwischen beiden Extremen.

Zielstruktur in dieser Studie war gemäß dem ALS-Stadium 1 [Brettschneider et al. 2013] die Region des CST als das Traktkorrelat, welches mittels DTI [Kassubek et al. 2014] berechenbar ist. Die bekannten bilateralen mikrostrukturellen Veränderungen bei ALS-Patienten im CST wurden zur ROI-Analyse herangezogen [Iwata et al. 2008][Kassubek et al. 2012] [Kassubek et al. 2014][Müller et al. 2009][Müller et al. 2012][Prokscha et al. 2014][Prudlo et al. 2012][Zhang et al. 2011]. Im Vergleich zu den Traktkorrelaten weiterer ALS-Stadien ist die Region des CST das erste Traktkorrelat, welches im Verlauf der Erkrankung betroffen ist und welches somit die höchste Wahrscheinlichkeit besitzt, Unterschiede auf Gruppenniveau bei großem Stichprobenumfang zu zeigen. Umfangreiche Kollektive werden per se einen Mix aus ALS-Patienten unterschiedlicher Krankheitsstadien enthalten.

Bewertet man alle vier ROIs der vier ROI-Analyse getrennt voneinander anhand des Youden-Index, so stellt man fest, dass in allen vier ROIs des CST etwa derselbe Youden-Index erhalten wird und damit in jeder ROI die Summe aus Sensitivität und Spezifität gleich groß ist. Die kranialer im CST gefundenen ROIs weisen bereits bei niedrigeren FA-Werten und die kaudaler im CST gelegenen ROIs bei höheren FA-Werten einen maximalen Youden-Index auf. Im Verlauf in Richtung kaudal organisieren sich die axonalen Faserstränge zu immer dichter gepackten Nervenbündeln und erhöhen damit die mittels DTI gemessene Gerichtetheit der Diffusivität, welches sich in höheren Werten für FA (sowohl bei gesunden Kontrollen als auch bei Patienten mit ALS) für in weiter kaudal gelegenen Regionen des

CST widerspiegelt. Es liegt demzufolge der Schluss nahe, dass bei ALS ähnliche mikrostrukturelle Veränderungen sowohl in kranial als auch kaudal gelegenen Arealen vorzufinden sind. Das Zusammenführen aller vier ROIs in ihrem arithmetischen Mittel zeigte einen höheren Youden-Index und damit optimierte Sensitivität und Spezifität sowohl im Schwellenwertkollektiv als auch anschließend im Testkollektiv. Eine Kombination aller vier ROIs verbessert folglich die Diskriminierungsfähigkeit und ist daher empfehlenswert. Die Trennschärfe des mittels DTI gewonnen Schwellenwertes zeigte sich zudem als ein konstantes Moment mit ausreichender Reliabilität. So ergaben sich beim Einsetzen des Schwellenwertes im Testkollektiv-Datensatzpool vergleichbare Werte für Sensitivität und Spezifität zu denen im Schwellenwertkollektiv.

Die aus der Seed-and-Target Technik [Mori & van Zijl 2002] rekonstruierten Faserstränge des CST im Fibertrackingmodus lieferten eine FT-Maske des CST, welche auf das Schwellenwertkollektiv angewandt wurde. Beim Einsetzen des Schwellenwertes im Testkollektiv konnten die im Schwellenwertkollektiv erzielten Sensitivitäten und Spezifitäten im Testkollektiv bestätigt werden. Allerdings ließen sich in dieser Studie durch die Technik des FTs im Vergleich zum Verfahren der ROI-basierten Analyse, gemessen am Youden-Index, nicht vergleichbar hohe Indizes erzielen. Der Youden-Index beziehungsweise die Summe aus Sensitivität und Spezifität deuteten auf eine weniger gute Diskriminierungsfähigkeit des FTs im Vergleich zur ROI-basierten Analyse hin. Die Ursache hierfür könnte letztlich sein: (i) Eventuell lagen Teile der FT-Maske außerhalb des signifikanten Areals des CST. (ii) Möglicherweise waren aber auch die mikrostrukturellen Veränderungen bei ALS nicht homogen über das Gebiet des CST verteilt, auch wenn das Spreading-Konzept eine kontinuierliche Degeneration intuitiv nahelegt [Braak et al. 2013]. Das WBSS zeigte zwar im ganzen CST Unterschiede, jedoch nur in vier Clustern hochsignifikante Unterschiede zwischen Datensätzen gesunder Kontrollen und Patienten mit ALS. Der Einschluss während des FTs von weniger signifikanten Regionen verringerte eventuell die Trennschärfe eines erhobenen Schwellenwertes.

In der Analyse des gesamten Datenkollektivs auf Gruppenniveau dieser Studie zeigte sich die Region des CST, als das Traktkorrelat von ALS-Stadium 1, als die Gehirnstruktur mit den deutlichsten Veränderungen. Hypothesengeleitete Analysen von Traktkorrelaten weiterer ALS-Stadien [Brettschneider et al. 2013] waren allerdings nicht Gegenstand von Untersuchungen dieser Studie. WBSS von FA-Maps aller ALS-Patienten vs. FA-Maps aller gesunden Kontrollen ergab insbesondere signifikante Ergebnisse entlang des CST, dem CC

und dem Frontalhirnbereich, in Übereinstimmung mit Erkenntnissen aus der Literatur [Canu et al. 2011]. So resultieren die konsistentesten Ergebnisse bei ALS ebenfalls aus Studien mit der Verwendung von FA; Turner et al. [Turner et al. 2011] konnten zeigen, dass dieser Analyseparameter ein Marker für Veränderungen der normalen Architekturstruktur der weißen Gehirnsubstanz ist. Die Mehrzahl der neuesten systematischen Übersichtsarbeiten zu diesem Thema ist technikbasiert [Turner et al. 2012]. In einer Metaanalyse von 30 DTI-Studien an Patienten mit ALS berichteten Foerster et al. [Foerster et al. 2012] von einer über alle Studien gemittelten Sensitivität von 65 % und Spezifität von 67 %. Foerster et al. bewerteten hierin die Diskriminierungsfähigkeit von DTI zur Diagnosefindung bei ALS allenfalls als moderat. Höchste Werte für Sensitivität (92%) und Spezifität (88%) lieferte eine Diskriminanzanalyse, in der RD, FA und VBM miteinander kombiniert wurden [Foerster et al. 2013]. Diese multiparametrische MRT-Studie wurde an einem kleinen Kollektiv von 24 ALS-Patienten erhoben. Durch Kombination von Parametern könnten folglich höhere Sensitivitäten und Spezifitäten sogar bei Studien mit geringem Stichprobenumfang erzielt werden. Die entsprechende Validität kann jedoch nur an großen Kollektiven getestet werden.

Bei der Betrachtung des statistischen Zusammenhangs zwischen Erkrankungsdauer und Werte für FA zeigte sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang. Allerdings war eine hochsignifikante Korrelation zwischen dem klinischen Score ALS-FRS-R und den erhobenen FA-Werten festzustellen. Der ALS-FRS-R gewichtet spinale und bulbäre Symptome sowie Aktivitäten des täglichen Lebens [Cedarbaum et al 1999] und ist damit ein funktionsorientierter klinischer Verlaufsparameter. Die mikrostrukturellen Veränderungen können mittels DTI gemessen und im Skalar FA quantifiziert werden. Es besteht somit auch argumentativ ein Zusammenhang zwischen ALS-FRS-R und Werte für FA. Jedoch gibt es bezüglich dieser Korrelationsanalyse kein einheitliches Bild aus bisherigen Studienanalysen. So lieferten longitudinale DTI-basierte Studien unterschiedliche Erkenntnisse hierzu [Agosta et al. 2008][Blain et al. 2007][Keil et al. 2012][Zhang et al. 2011].

4.4 Limitierungen

In einer ex post facto Analyse ist das Zusammenstellen eines Datenkollektivs an den Bestand von Datensätzen in einem Archiv gebunden. Prospektive Studien können mit statistischen Schwellen arbeiten, um statistisch spezifischere Gruppenkollektive zu erhalten. Aufgrund des retrospektiven Studiendesigns bestehen Limitierungen in Bezug auf die Gruppenzusammenstellung: Nur ein relativ geringer Stichprobenumfang umfasste das Kollektiv verbundener DTI-basierter Datensätze gesunder Kontrollen.

Eine Kombination aus verbundenen Datensätzen fehlte, welche einen Vergleich zwischen Erhebungen mit Protokoll A und Protokoll B ermöglicht hätten. Insbesondere im Hinblick auf das Konzept der Approximation mittels 3D Korrekturmatrix wäre dies wünschenswert gewesen, da die 3D Korrekturmatrix eine Annäherung der Datensätze mit Protokoll A an die Datensätze mit Protokoll B vornehmen sollte. Zur Erstellung der Korrekturmatrix aus dem Vergleich zwischen Datensätzen mit Protokoll A und Datensätzen mit Protokoll B und C, war der Anteil der Datensätze mit Protokoll B denen mit Protokoll C nicht annähernd gleich gewesen. Es trugen nur wenige Datensätze mit Protokoll B zur Korrekturmatrix bei. Vor allem da die Datensätze mit Protokoll B als Referenzpunkt zur anschließenden Kalibrierung mittels der Korrekturmatrix angedacht waren, wäre zudem bei der Erstellung der Korrekturmatrix ein größerer Anteil an Datensätzen mit Protokoll B wünschenswert gewesen.

Bei besonderer Gruppenzusammensetzung der unverbundenen Datensätze wäre die Erzeugung einer 3D Korrekturmatrix vermeidbar gewesen. Zwei Bedingungen müssten hierfür gleichzeitig erfüllt sein. Ist zum einen das Verhältnis untersuchter Probanden zwischen zwei Gruppenkollektiven unterschiedlicher Erhebungsparameter übereinstimmend und sind gleichzeitig zum anderen die Unterschiede aus den jeweiligen Gruppenvergleichen identisch, so müssen eventuelle Unterschiede aufgrund unterschiedlicher Erhebungsparameter nicht berücksichtigt werden, da sich diese, mathematisch betrachtet, gegenseitig aufheben.

4.5 Potentielle Verwendung von DTI-Daten-Pooling für zukünftige Studien

ALS ist eine rasch progressive Erkrankung. Innerhalb des letzten halben Jahrhunderts ließ sich lediglich ein orales Therapeutikum (Riluzol) mit moderatem Einfluss auf die Krankheitsprogression entwickeln [Miller et al. 1999]. Bis heute wird die Diagnose ALS klinisch gestellt. Immer noch gibt es Verzögerungen zwischen dem Einsetzen von Symptomen und der Diagnosestellung, wodurch vermutlich häufig erst jenseits des therapeutischen Fensters mit der Patientenversorgung begonnen werden kann [Turner et al. 2009]. Eine funktionelle Skala (ALS-FRS-R), die forcierte Vitalkapazität (FVC) und die Überlebenszeit der Patienten stellen Messinstrumente für den therapeutischen Erfolg aktuell dar. Potentielle Biomarker, welche sensitiv sind für das Fortschreiten der Erkrankung, können dazu beitragen, diagnostische Algorithmen zu verbessern und therapeutische Ansatzpunkte von neuen Medikamenten zu eruieren. Potentielle Biomarker werden derzeit sowohl aus labor-chemischen Analysen des Blutes und des Liquor cerebrospinalis als auch im Zuge neuropsychologischer und bildgebungs-basierter Studien identifiziert. Ein wesentlicher Vorteil aus Kombination von Biomarkern wäre, bereits frühe therapeutische Effekte detektieren zu können, um nicht ausschließlich auf Erkenntnisse aus Tiermodellen bauen zu müssen, welche ungewisse Bedeutung bei Patienten mit ALS besitzen. Aus allen potentiellen Biomarkern bei ALS ragt derzeit das MRT-Technik-basierte Verfahren DTI heraus [Turner 2011][Turner et al. 2011]. Aktuelle Leitlinien sehen MRT-basierte Bildgebungsverfahren bei ALS lediglich zum Ausschluss anderer Diagnosen bei klinischem Verdacht auf ALS vor [Filippi et al. 2010]. Binnen weniger Jahre allerdings hat sich mit exponentiell steigenden Zahlen an Veröffentlichungen DTI-basierter Studienergebnisse die DTI-Technik als ein robustes nicht-invasives Verfahren etabliert, wodurch *in vivo* neuropathologische Veränderungen der weißen Gehirnsubstanz untersucht werden können [Müller et al. 2011].

Zur Verbesserung der Qualität eines potentiellen nicht-invasiven DTI-basierten Biomarkers ist es jedoch nötig, Untersuchungen mit einem statistisch aussagekräftigem Stichprobenumfang durchführen zu können. Insbesondere in Multizenter-Studien ist dies realisierbar. Im Zuge der ADNI (Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative) [Aisen et al. 2010] konnten bereits erste Erfolge mit dem Modell, Daten zwischen verschiedenen klinischen Forschungszentren auszutauschen, erzielt werden. Eine vergleichbare Zusammenarbeit auf multizentrischer Ebene bei ALS könnte ebenfalls helfen, die Anzahl untersuchter Probanden zu erhöhen. Erst dann lässt sich das Potential von MRT-Bildgebung als ein Messinstrument für therapeutische Effekte bei klinischen Studien beurteilen. Aufgrund des steigenden Bedarfs an Multizenter-Studien bei ALS wurde 2010 ein „Neuroimaging Symposium“ (NiSALS)

[Turner et al. 2011] in Oxford University, UK, abgehalten. Bezüglich der Frage welche Applikationsformen der MRT-Bildgebung bei Studien mit ALS-Patienten Verwendung finden sollen und bezüglich der Frage nach Machbarkeit von Multizenter-Studien bei ALS (beispielsweise hinsichtlich organisatorischer Vorkehrungen), wurden von der NiSALS-Gruppe entsprechende Stellungnahmen formuliert.

Bei DTI-basierten Studien auf multizentrischer Ebene ergeben sich neue Herausforderungen: So ist ein potentieller Einfluss von MRT-Scannertyp und -standort und vor allem vom MRT-Protokoll auf die mittels DTI gemessene Diffusivität bei Untersuchungen auf multizentrischer Ebene zu berücksichtigen. Bisher stellten mögliche Kompatibilitätsprobleme von DTI-Datensätzen verschiedener Zentren ein noch ungelöstes Problem dar. In dieser Studie konnte ein methodisches Konzept zur Kalibrierung diffusionsgewichteter Datensätze, welche heterogen sind aufgrund von Akquisition mittels unterschiedlicher Erhebungsparameter, entwickelt werden. Diese Studie war als monozentrische Untersuchung durchgeführt worden, bei der scanner-spezifische Faktoren nicht berücksichtigt werden mussten. Aus methodischer Sicht ist es möglich, die Technik der 3D Korrekturmatrix auf ein multizentrisches Studiendesign zu übertragen. Durch Erweiterung des Analyseprozesses um den Schritt der Approximation mittels einer 3D Korrekturmatrix, ist es möglich zwischen MR-Tomographen verschiedener Standorte in Bezug auf unterschiedliche Akquisitionsparameter zu kontrollieren. Ein Pooling von DTI-Datensätzen ist für zukünftige multizentrische Studien umsetzbar. So ließen sich die Qualität eines potentiellen nicht-invasiven DTI-basierten Surrogatmarkers als Neuroimaging-basiertes Read-out weiter verbessern und das Potential von DTI als Biomarker/Surrogatmarker bei ALS untersuchen.

5 Zusammenfassung

Mittels Diffusion-Tensor-Imaging (DTI) ließen sich in mehreren vorangegangenen Studien bei Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose (ALS) mikrostrukturelle Veränderungen im Bereich des Tractus corticospinalis (CST) und des Corpus Callosums (CC) zeigen. Um die Qualität eines potentiellen nicht-invasiven DTI-basierten Surrogatmarkers als Neuroimaging-basiertes Read-out für klinische Studien bei ALS zu verbessern und das Potential von DTI als Biomarker für Krankheitsaktivität zu untersuchen, wurde in dieser Studie retrospektiv zunächst der Einfluss unterschiedlicher Magnetresonanztomographie-(MRT)-Protokolle auf die Reliabilität der mittels DTI gemessenen Fraktionellen Anisotropie (FA) untersucht. Anschließend war es das Ziel, auf der Basis eines großen Kollektivs von diffusionsgewichteten Datensätzen eine Evaluation mikrostruktureller Veränderungen im CST bei ALS vorzunehmen.

Der Einfluss unterschiedlicher MRT-Protokoll wurde an gesunden Probanden, welche mindestens zwei Akquisitionen mit unterschiedlichen Scanner-Protokollen (A, B, C) durchlaufen haben, mittels statistischer Auswertungen der Werte für FA in vordefinierten Regions-of-Interest (ROIs) untersucht, das heißt in für die ALS relevanten Arealen wie beispielsweise dem CST und dem Motorsegment des CC. Insgesamt konnten in die Studie 309 Datensätze (1,5 Tesla) post acquisitionem eingeschlossen werden, davon 170 Patienten mit ALS und 139 gesunde Kontrollen.

Bei der Untersuchung bezüglich des Einflusses unterschiedlicher MRT-Protokolle auf die Reliabilität der mittels DTI gemessenen Werte für FA zeigte sich, dass die gemittelte Intrasubjektvariabilität zwischen einer Messung mit Protokoll B und Protokoll C vernachlässigbar gering ist. Allerdings präsentierten sich im intraindividuellen Vergleich Messungen mit Protokoll A mit höheren FA-Werten als Akquisitionen mit Protokoll C. Um daher Datensätze aus Protokoll A den Datensätzen aus Protokoll B anzugleichen, wurde als Approximation erster Ordnung eine 3D Korrekturmatrix aus einem in Alter und Geschlecht gematchten Vergleich zwischen 40 Kontrollen mit Protokoll A und 40 Kontrollen mit Protokoll B erstellt. Mittels der 3D Korrekturmatrix war es möglich, die aus Akquisitionen mit Protokoll A berechneten FA-Maps an die Protokoll B basierten FA-Maps anzunähern und somit eine einheitliche Datenbasis zu schaffen.

Aus dem mittels 3D Korrekturmatrix vereinheitlichten Datensatz sollte der Frage nachgegangen werden, wie sensitiv die CST-Beteiligung bei ALS-Patienten mittels DTI detektierbar ist, um im Sinne eines Diagnosekriteriums zwischen Kontrollen und ALS-Patienten zu dichotomisieren. Hierfür wurde in einem ersten Schritt mittels eines randomisierten Prozesses eine Aufteilung in ein Schwellenwertkollektiv und Testkollektiv vorgenommen. 100 Datensätze von ALS-Patienten und 93 Datensätze von Kontrollen bildeten das Schwellenwertkollektiv. FA-Werte aus vier ROIs im CST wurden aus den MNI-normalisierten FA-Maps berechnet, aus denen anschließend unter Verwendung von ROC-Kurven ein reliabler Schwellenwert - bei einer Sensitivität von 74 % und einer Spezifität von 72 % - ermittelt werden konnte. An einem Testkollektiv aus 50 ALS-Patienten und 46 Kontrollen wurde anschließend der erhobene Schwellenwert eingesetzt und eine Sensitivität von 68 % und eine Spezifität von 74 % erzielt. Als weitere statistische Validierung des ermittelten Schwellenwertes ergab sich eine Sensitivität von 70 % beim Einsatz des Schwellenwertes im Applikationskollektiv (20 Datensätze von ALS-Patienten, welche während der Ausarbeitung dieser Dissertation im Zuge der laufenden klinischen Routineuntersuchungen erhoben wurden). Zudem zeigte sich hierbei eine hoch signifikante Korrelation zwischen FA und ALS-FRS-R nach Spearman. Eine Analyse des CST im Sinne einer TFAS lieferte vergleichbare Werte für Sensitivität und Spezifität.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass DTI-Daten verschiedener Scanner-Protokolle in gruppenbasierte statistische Auswertungen zusammengeführt werden können, nachdem Unterschiede aufgrund verschiedener Erhebungsparameter korrigiert wurden. Insbesondere im Hinblick auf multizentrische Studien kann die Verwendung dieser Methodik dazu beitragen, zwischen unterschiedlichen Akquisitionsparametern unterschiedlicher Zentren zu kontrollieren. Mittels dieses MRT-Konzepts lassen sich zum einen Veränderungen in spezifischen Gehirnregionen auf mikrostruktureller Ebene definieren, welche im Kontext klinischer Studien als Neuroimaging-basiertes Read-out Verwendung finden können.

6 Literaturverzeichnis

1. Agosta F, Chiò A, Cosottini M, De Stefano N, Falini A, Mascalchi M, Rocca MA, Silani V, Tedeschi G, Filippi M: The present and the future of neuroimaging in amyotrophic lateral sclerosis. AJNR Am J Neuroradiol. 31:1769-77 (2010a)
2. Agosta F, Pagani E, Petrolini M, Caputo D, Perini M, Prelle A, Salvi F, Filippi M: Assessment of white matter tract damage in patients with amyotrophic lateral sclerosis: a diffusion tensor MR imaging tractography study. AJNR Am J Neuroradiol. 31:1457-61 (2010b)
3. Agosta F, Pagani E, Petrolini M, Sormani MP, Caputo D, Perini M, Prelle A, Salvi F, Filippi M: MRI predictors of long-term evolution in amyotrophic lateral sclerosis. Eur J Neurosci. 32:1490-6 (2010c)
4. Agosta F, Rocca MA, Valsasina P, Sala S, Caputo D, Perini M, Salvi F, Prelle A, Filippi M: A longitudinal diffusion tensor MRI study of the cervical cord and brain in amyotrophic lateral sclerosis patients. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 80:53-5 (2008)
5. Aisen PS, Petersen RC, Donohue MC, Gamst A, Raman R, Thomas RG, Walter S, Trojanowski JQ, Shaw LM, Beckett LA, Jack CR Jr, Jagust W, Toga AW, Saykin AJ, Morris JC, Green RC, Weiner MW; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative: Clinical Core of the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative: progress and plans. Alzheimers Dement. 6:239-46 (2010)
6. Alexander DC, Pierpaoli C, Basser PJ, Gee JC: Spatial transformations of diffusion tensor magnetic resonance images. IEEE Trans Med Imaging. 20:1131-9 (2001)
7. Andersen PM, Al-Chalabi A: Clinical genetics of amyotrophic lateral sclerosis: what do we really know? Nat Rev Neurol. 7:603-15 (2011)
8. Ashburner J, Friston KJ: Nonlinear spatial normalization using basis functions. Hum Brain Mapp. 7:254-66 (1999)
9. Basak M, Erturk M, Oflazoğlu B, Ozel A, Yíldíz GB, Forta H: Magnetic resonance imaging in amyotrophic lateral sclerosis. Acta Neurol Scand. 105:395-9 (2002)
10. Basser PJ, Jones DK: Diffusion-tensor MRI: theory, experimental design and data analysis - a technical review. NMR Biomed. 15:456-67 (2002)
11. Basser PJ, Mattiello J, LeBihan D: MR diffusion tensor spectroscopy and imaging. Biophys J. 66:259-67 (1994)
12. Bede P, Hardiman O: Lessons of ALS imaging: Pitfalls and future directions - A critical review. Neuroimage Clin. 4:436-43 (2014)

13. Blain CR, Williams VC, Johnston C, Stanton BR, Ganesalingam J, Jarosz JM, Jones DK, Barker GJ, Williams SC, Leigh NP, Simmons A: A longitudinal study of diffusion tensor MRI in ALS. Amyotroph Lateral Scler. 8:348-55 (2007)
14. Bourke SC, Tomlinson M, Williams TL, Bullock RE, Shaw PJ, Gibson GJ: Effects of non-invasive ventilation on survival and quality of life in patients with amyotrophic lateral sclerosis: a randomised controlled trial. Lancet Neurol. 5:140-7 (2006)
15. Braak H, Brettschneider J, Ludolph AC, Lee VM, Trojanowski JQ, Del Tredici K: Amyotrophic lateral sclerosis--a model of corticofugal axonal spread. Nat Rev Neurol. 9:708-14 (2013)
16. Brett M, Johnsrude IS, Owen AM: The problem of functional localization in the human brain. Nat Rev Neurosci. 3:243-9 (2002)
17. Brettschneider J, Del Tredici K, Toledo JB, Robinson JL, Irwin DJ, Grossman M, Suh E, Van Deerlin VM, Wood EM, Baek Y, Kwong L, Lee EB, Elman L, McCluskey L, Fang L, Feldengut S, Ludolph AC, Lee VM, Braak H, Trojanowski JQ: Stages of pTDP-43 pathology in amyotrophic lateral sclerosis. Ann Neurol. 74:20-38 (2013)
18. Brooks BR, Miller RG, Swash M, Munsat TL; World Federation of Neurology Research Group on Motor Neuron Diseases: El Escorial revisited: revised criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord. 1:293-9 (2000)
19. Butman JA, Floeter MK: Decreased thickness of primary motor cortex in primary lateral sclerosis. AJNR Am J Neuroradiol. 28:87-91 (2007)
20. Canu E, Agosta F, Riva N, Sala S, Prelle A, Caputo D, Perini M, Comi G, Filippi M: The topography of brain microstructural damage in amyotrophic lateral sclerosis assessed using diffusion tensor MR imaging. AJNR Am J Neuroradiol. 32:1307-14 (2011)
21. Cedarbaum JM, Stambler N, Malta E, Fuller C, Hilt D, Thurmond B, Nakanishi A: The ALSFRS-R: a revised ALS functional rating scale that incorporates assessments of respiratory function. BDNF ALS Study Group (Phase III). J Neurol Sci. 169:13-21 (1999)
22. Chiò A, Logroscino G, Hardiman O, Swingler R, Mitchell D, Beghi E, Traynor BG; Eurals Consortium: Prognostic factors in ALS: A critical review. Amyotroph Lateral Scler. 10:310-23 (2009)

23. Collins DL, Neelin P, Peters TM, Evans AC: Automatic 3D intersubject registration of MR volumetric data in standardized Talairach space. J Comput Assist Tomogr. 18:192-205 (1994)
24. Conturo TE, Lori NF, Cull TS, Akbudak E, Snyder AZ, Shimony JS, McKinstry RC, Burton H, Raichle ME: Tracking neuronal fiber pathways in the living human brain. Proc Natl Acad Sci U S A. 96:10422-7 (1999)
25. DeJesus-Hernandez M, Mackenzie IR, Boeve BF, Boxer AL, Baker M, Rutherford NJ, Nicholson AM, Finch NA, Flynn H, Adamson J, Kouri N, Wojtas A, Sengdy P, Hsiung GY, Karydas A, Seeley WW, Josephs KA, Coppola G, Geschwind DH, Wszolek ZK, Feldman H, Knopman DS, Petersen RC, Miller BL, Dickson DW, Boylan KB, Graff-Radford NR, Rademakers R: Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in noncoding region of C9ORF72 causes chromosome 9p-linked FTD and ALS. Neuron. 72:245-56 (2011)
26. Dupuis L, Pradat PF, Ludolph AC, Loeffler JP: Energy metabolism in amyotrophic lateral sclerosis. Lancet Neurol. 10:75-82 (2011)
27. Dyrba M, Ewers M, Wegrzyn M, Kilimann I, Plant C, Oswald A, Meindl T, Pievani M, Bokde AL, Fellgiebel A, Filippi M, Hampel H, Klöppel S, Hauenstein K, Kirste T, Teipel SJ; EDSD study group: robust automated detection of microstructural white matter degeneration in Alzheimer's disease using machine learning classification of multicenter DTI data. PLoS One. 8:e64925 (2013)
28. Filippi M, Agosta F, Abrahams S, Fazekas F, Grosskreutz J, Kalra S, Kassubek J, Silani V, Turner MR, Masdeui JC: EFNS guidelines on the use of neuroimaging in the management of motor neuron diseases. Eur J Neurol. 17:526–e20 (2010)
29. Filippini N., Douaud G., Mackay C.E., Knight S., Talbot K., Turner M.R.: Corpus callosum involvement is a consistent feature of amyotrophic lateral sclerosis. Neurology. 75:1645–1652 (2010)
30. Foerster BR, Dwamena BA, Petrou M, Carlos RC, Callaghan BC, Churchill CL, Mohamed MA, Bartels C, Benatar M, Bonzano L, Ciccarelli O, Cosottini M, Ellis CM, Ehrenreich H, Filippini N, Ito M, Kalra S, Melhem ER, Pyra T, Roccatagliata L, Senda J, Sobue G, Turner MR, Feldman EL, Pomper MG: Diagnostic accuracy of diffusion tensor imaging in amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review and individual patient data meta-analysis. Acad Radiol. 20:1099-106 (2013)

31. Foerster BR, Dwamena BA, Petrou M, Carlos RC, Callaghan BC, Pomper MG: Diagnostic accuracy using diffusion tensor imaging in the diagnosis of ALS: a meta-analysis. Acad Radiol. 19:1075-86 (2012)
32. Fox RJ, Sakaie K, Lee JC, Debbins JP, Liu Y, Arnold DL, Melhem ER, Smith CH, Philips MD, Lowe M, Fisher E: A validation study of multicenter diffusion tensor imaging: reliability of fractional anisotropy and diffusivity values. AJNR Am J Neuroradiol. 33:695-700 (2012)
33. Friston KJ, Ashburner J, Frith CD, Poline J-B, Heather JD, Frackowiak RSJ: Spatial registration and normalization of images. Human Brain Mapp. 2:165-189 (1995)
34. Genovese CR, Lazar NA, Nichols T: Thresholding of statistical maps in functional neuroimaging using the false discovery rate. Neuroimage. 15:870-8 (2002)
35. Goodin DS, Rowley HA, Olney RK: Magnetic resonance imaging in amyotrophic lateral sclerosis. Ann Neurol. 23:418-20 (1988)
36. Gordon PH, Cheng B, Katz IB, Pinto M, Hays AP, Mitsumoto H, Rowland LP: The natural history of primary lateral sclerosis. Neurology. 66:647-53 (2006)
37. Gorges M, Müller HP, Ludolph AC, Rasche V, Kassubek J: Intrinsic functional connectivity networks in healthy elderly subjects: a multiparametric approach with structural connectivity analysis. Biomed Res Int. 2014:947252 (2014)
38. Grosskreutz J, Peschel T, Unrath A, Dengler R, Ludolph AC, Kassubek J: Whole brain-based computerized neuroimaging in ALS and other motor neuron disorders. Amyotroph Lateral Scler. 9:238-48 (2008)
39. Hecht MJ, Fellner C, Schmid A, Neundörfer B, Fellner FA. Cortical T2 signal shortening in amyotrophic lateral sclerosis is not due to iron deposits. Neuroradiology. 47:805-8 (2005)
40. Hecht MJ, Fellner F, Fellner C, Hilz MJ, Neundörfer B, Heuss D: Hyperintense and hypointense MRI signals of the precentral gyrus and corticospinal tract in ALS: a follow-up examination including FLAIR images. J Neurol Sci. 199:59-65 (2002)
41. Hofer S, Frahm J: Topography of the human corpus callosum revisited--comprehensive fiber tractography using diffusion tensor magnetic resonance imaging. Neuroimage. 32:989-94 (2006)
42. Iwata NK, Aoki S, Okabe S, Arai N, Terao Y, Kwak S, Abe O, Kanazawa I, Tsuji S, Ugawa Y: Evaluation of corticospinal tracts in ALS with diffusion tensor MRI and brainstem stimulation. Neurology. 70:528-32 (2008)

43. Jones DK, Symms MR, Cercignani M, Howard RJ: The effect of filter size on VBM analyses of DT-MRI data. Neuroimage. 26:546-54 (2005)
44. Kabashi E, Valdmanis PN, Dion P, Spiegelman D, McConkey BJ, Vande Velde C, Bouchard JP, Lacomblez L, Pochigaeva K, Salachas F, Pradat PF, Camu W, Meininger V, Dupre N, Rouleau GA: TARDBP mutations in individuals with sporadic and familial amyotrophic lateral sclerosis. Nat Genet. 40:572-4 (2008)
45. Kalra S, Arnold D: Neuroimaging in amyotrophic lateral sclerosis. Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord. 4:243-8 (2003)
46. Kassubek J, Ludolph AC, Müller HP: Neuroimaging of motor neuron diseases. Ther Adv Neurol Disord. 5:119-27 (2012)
47. Kassubek J, Müller HP, Del Tredici K, Brettschneider J, Pinkhardt EH, Lulé D, Böhm S, Braak H, Ludolph AC: Diffusion tensor imaging analysis of sequential spreading of disease in amyotrophic lateral sclerosis confirms patterns of TDP-43 pathology. Brain. 137:1733-40 (2014)
48. Kassubek J, Unrath A, Huppertz HJ, Lulé D, Ethofer T, Sperfeld AD, Ludolph AC: Global brain atrophy and corticospinal tract alterations in ALS, as investigated by voxel-based morphometry of 3-D MRI. Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord. 6:213-20 (2005)
49. Keil C, Prell T, Peschel T, Hartung V, Dengler R, Grosskreutz J: Longitudinal diffusion tensor imaging in amyotrophic lateral sclerosis. BMC Neurosci. 13:141 (2012)
50. Kunimatsu A, Aoki S, Masutani Y, Abe O, Hayashi N, Mori H, Masumoto T, Ohtomo K: The optimal trackability threshold of fractional anisotropy for diffusion tensor tractography of the corticospinal tract. Magn Reson Med Sci. 3:11-7 (2004)
51. Le Bihan D, Mangin JF, Poupon C, Clark CA, Pappata S, Molko N, Chabriat H: Diffusion tensor imaging: concepts and applications. J Magn Reson Imaging. 13:534-46 (2001)
52. Li J, Pan P, Song W, Huang R, Chen K, Shang H: A meta-analysis of diffusion tensor imaging studies in amyotrophic lateral sclerosis. Neurobiol Aging. 33:1833-8 (2012)
53. Logan BR, Geliazkova MP, Rowe DB: An evaluation of spatial thresholding techniques in fMRI analysis. Hum Brain Mapp. 29:1379-89 (2008)
54. Logroscino G, Traynor BJ, Hardiman O, Chio' A, Couratier P, Mitchell JD, Swingler RJ, Beghi E; EURALS: Descriptive epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: new evidence and unsolved issues. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 79:6-11 (2008)

55. Lori NF, Akbudak E, Shimony JS, Cull TS, Snyder AZ, Guillory RK, Conturo TE: Diffusion tensor fiber tracking of human brain connectivity: aquisition methods, reliability analysis and biological results. NMR Biomed. 15:494-515 (2002)
56. Lulé D, Ludolph AC, Kassubek J: MRI-based functional neuroimaging in ALS: an update. Amyotroph Lateral Scler. 10:258-68 (2009)
57. Mattiello J, Basser P.J., Le Bihan D: Analytical Expressions for the b Matrix in NMR Diffusion Imaging and Spectroscopy. J Magn Reson. 108:131-141 (1994)
58. Mori S, van Zijl PC: Fiber tracking: principles and strategies - a technical review. NMR Biomed. 15:468-80 (2002)
59. Miller RG, Rosenberg JA, Gelinas DF, Mitsumoto H, Newman D, Sufit R, Borasio GD, Bradley WG, Bromberg MB, Brooks BR, Kasarskis EJ, Munsat TL, Oppenheimer EA, the ALS Practice Parameters Task Force: PRACTICE PARAMETER: THE CARE OF THE PATIENT WITH AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS (AN EVIDENCE-BASED REVIEW). Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology (1999)
60. Müller HP, Kassubek J: Diffusion tensor magnetic resonance imaging in the analysis of neurodegenerative diseases. J Vis Exp. 77 (2013)
61. Müller HP, Lulé D, Unrath A, Ludolph AC, Riecker A, Kassubek J: Complementary image analysis of diffusion tensor imaging and 3-dimensional t1-weighted imaging: white matter analysis in amyotrophic lateral sclerosis. J Neuroimaging. 21:24-33 (2011)
62. Müller HP, Unrath A, Huppertz HJ, Ludolph AC, Kassubek J: Neuroanatomical patterns of cerebral white matter involvement in different motor neuron diseases as studied by diffusion tensor imaging analysis. Amyotroph Lateral Scler. 13:254-64 (2012)
63. Müller HP, Unrath A, Ludolph AC, Kassubek J: Preservation of diffusion tensor properties during spatial normalization by use of tensor imaging and fibre tracking on a normal brain database. Phys Med Biol. 52:N99-109 (2007)
64. Müller HP, Unrath A, Riecker A, Pinkhardt EH, Ludolph AC, Kassubek J: Intersubject variability in the analysis of diffusion tensor images at the group level: fractional anisotropy mapping and fiber tracking techniques. Magn Reson Imaging. 27:324-34 (2009)
65. Mueller HP, Unrath A, Sperfeld AD, Ludolph AC, Riecker A, Kassubek J: Diffusion tensor imaging and tractwise fractional anisotropy statistics: quantitative analysis in white matter pathology. Biomed Eng Online. 6:42 (2007)

66. Nair G, Carew JD, Usher S, Lu D, Hu XP, Benatar M: Diffusion tensor imaging reveals regional differences in the cervical spinal cord in amyotrophic lateral sclerosis. Neuroimage. 53:576-83 (2010)
67. Pajevic S, Pierpaoli C: Color schemes to represent the orientation of anisotropic tissues from diffusion tensor data: application to white matter fiber tract mapping in the human brain. Magn Reson Med. 42:526-40 (1999)
68. Pfefferbaum A, Adalsteinsson E, Sullivan EV: Replicability of diffusion tensor imaging measurements of fractional anisotropy and trace in brain. J Magn Reson Imaging. 18:427-33 (2003)
69. Phukan J, Hardiman O: The management of amyotrophic lateral sclerosis. J Neurol. 256:176-86 (2009)
70. Pierpaoli C, Basser PJ: Toward a quantitative assessment of diffusion anisotropy. Magn Reson Med. 36:893-906 (1996)
71. Pringle CE, Hudson AJ, Munoz DG, Kiernan JA, Brown WF, Ebers GC: Primary lateral sclerosis. Clinical features, neuropathology and diagnostic criteria. Brain. 115:495-520 (1992)
72. Prokscha T, Guo J, Hirsch S, Braun J, Sack I, Meyer T, Scheel M: Diffusion tensor imaging in amyotrophic lateral sclerosis--increased sensitivity with optimized region-of-interest delineation. Clin Neuroradiol. 24:37-42 (2014)
73. Prudlo J, Bißbort C, Glass A, Grossmann A, Hauenstein K, Benecke R, Teipel SJ: White matter pathology in ALS and lower motor neuron ALS variants: a diffusion tensor imaging study using tract-based spatial statistics. J Neurol. 259:1848-59 (2012)
74. Renton AE, Majounie E, Waite A, Simón-Sánchez J, Rollinson S, Gibbs JR, Schymick JC, Laaksovirta H, van Swieten JC, Myllykangas L, Kalimo H, Paetau A, Abramzon Y, Remes AM, Kaganovich A, Scholz SW, Duckworth J, Ding J, Harmer DW, Hernandez DG, Johnson JO, Mok K, Ryten M, Trabzuni D, Guerreiro RJ, Orrell RW, Neal J, Murray A, Pearson J, Jansen IE, Sondervan D, Seelaar H, Blake D, Young K, Halliwell N, Callister JB, Toulson G, Richardson A, Gerhard A, Snowden J, Mann D, Neary D, Nalls MA, Peuralinna T, Jansson L, Isoviita VM, Kaivorinne AL, Hölttä-Vuori M, Ikonen E, Sulkava R, Benatar M, Wuu J, Chiò A, Restagno G, Borghero G, Sabatelli M; ITALSGEN Consortium, Heckerman D, Rogaeva E, Zinman L, Rothstein JD, Sendtner M, Drepper C, Eichler EE, Alkan C, Abdullaev Z, Pack SD, Dutra A, Pak E,

Hardy J, Singleton A, Williams NM, Heutink P, Pickering-Brown S, Morris HR, Tienari PJ, Traynor BJ: A hexanucleotide repeat expansion in C9ORF72 is the cause of chromosome 9p21-linked ALS-FTD. Neuron. 72:257-68 (2011)

75. Rosenfeld A, Kak AC: Digital Picture Processing. 2nd ed. Orlando: Academic Press. p.349 (1982)
76. Rowland LP: Primary lateral sclerosis, hereditary spastic paraplegia, and mutations in the alsin gene: historical background for the first International Conference. Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord. 6:67-76 (2005)
77. Sach M, Winkler G, Glauche V, Liepert J, Heimbach B, Koch MA, Büchel C, Weiller C: Diffusion tensor MRI of early upper motor neuron involvement in amyotrophic lateral sclerosis. Brain. 127:340-50 (2004)
78. Sage CA, Van Hecke W, Peeters R, Sijbers J, Robberecht W, Parizel P, Marchal G, Leemans A, Sunaert S: Quantitative diffusion tensor imaging in amyotrophic lateral sclerosis: revisited. Hum Brain Mapp. 30:3657-75 (2009)
79. Schimrigk SK, Bellenberg B, Schlüter M, Stieltjes B, Drescher R, Rexilius J, Lukas C, Hahn HK, Przuntek H, Köster O: Diffusion tensor imaging-based fractional anisotropy quantification in the corticospinal tract of patients with amyotrophic lateral sclerosis using a probabilistic mixture model. AJNR Am J Neuroradiol. 28:724-30 (2007)
80. Shen Y, Larkman DJ, Counsell S, Pu IM, Edwards D, Hajnal JV: Correction of high-order eddy current induced geometric distortion in diffusion-weighted echo-planar images. Magn Reson Med. 52:1184-9 (2004)
81. Singer MA, Statland JM, Wolfe GI, Barohn RJ: Primary lateral sclerosis. Muscle Nerve. 35:291-302 (2007)
82. Smith RA: Handbook of Amyotrophic Lateral Sclerosis. New York, Basel, Hong Kong: Marcel Dekker Inc. p.1-101 (1992)
83. Smith SM, Jenkinson M, Johansen-Berg H, Rueckert D, Nichols TE, Mackay CE, Watkins KE, Ciccarelli O, Cader MZ, Matthews PM, Behrens TE: Tract-based spatial statistics: voxelwise analysis of multi-subject diffusion data. Neuroimage. 31:1487-505 (2006)
84. Sreedharan J, Blair IP, Tripathi VB, Hu X, Vance C, Rogelj B, Ackerley S, Durnall JC, Williams KL, Buratti E, Baralle F, de Belleroche J, Mitchell JD, Leigh PN, Al-Chalabi A, Miller CC, Nicholson G, Shaw CE: TDP-43 mutations in familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. Science. 319:1668-72 (2008)

85. Steele JC, McGeer PL: The ALS/PDC syndrome of Guam and the cycad hypothesis Neurology. May 70:1984-90 (2008)
86. Talairach J, Tournoux P: Co-planar stereotaxic atlas of the human brain. New York: Thieme Medical. (1988)
87. Tanaka M, Ichiba T, Kondo S, Hirai S, Okamoto K: Cerebral blood flow and oxygen metabolism in patients with progressive dementia and amyotrophic lateral sclerosis. Neurol Res. 25:351-6 (2003)
88. Teipel SJ, Reuter S, Stieltjes B, Acosta-Cabronero J, Ernemann U, Fellgiebel A, Filippi M, Frisoni G, Hentschel F, Jessen F, Klöppel S, Meindl T, Pouwels PJ, Hauenstein KH, Hampel H: Multicenter stability of diffusion tensor imaging measures: a European clinical and physical phantom study. Psychiatry Res. 194:363-71 (2011)
89. Turner MR: MRI as a frontrunner in the search for amyotrophic lateral sclerosis biomarkers. Biomark Med. 5:79-81 (2011)
90. Turner MR, Agosta F, Bede P, Govind V, Lulé D, Verstraete E: Neuroimaging in amyotrophic lateral sclerosis. Biomark Med. 6:319-37 (2012)
91. Turner MR, Grosskreutz J, Kassubek J, Abrahams S, Agosta F, Benatar M, Filippi M, Goldstein LH, van den Heuvel M, Kalra S, Lulé D, Mohammadi B; first Neuroimaging Symosium in ALS (NISALS): Towards a neuroimaging biomarker for amyotrophic lateral sclerosis. Lancet Neurol. 10:400-3 (2011)
92. Turner MR, Kiernan MC, Leigh PN, Talbot K: Biomarkers in amyotrophic lateral sclerosis. Lancet Neurol. 8:94-109 (2009)
93. Turner MR, Leigh PN: Positron emission tomography (PET)--its potential to provide surrogate markers in ALS. Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord. 1:S17-22 (2000)
94. Uenal H, Rosenbohm A, Kufeldt J, Weydt P, Goder K, Ludolph A, Rothenbacher D, Nagel G; ALS registry Study Group: Incidence and geographical variation of amyotrophic lateral sclerosis (ALS) in Southern Germany--completeness of the ALS registry Swabia. PLoS One. 9:e93932 (2014)
95. Unrath A, Ludolph AC, Kassubek J: Alterations of the corpus callosum as an MR imaging-based hallmark of motor neuron diseases. AJNR Am J Neuroradiol. 32:E90 (2011)
96. Unrath A, Ludolph AC, Kassubek J: Brain metabolites in definite amyotrophic lateral sclerosis. A longitudinal proton magnetic resonance spectroscopy study. J Neurol. 254:1099-106 (2007)

97. Unrath A, Müller HP, Riecker A, Ludolph AC, Sperfeld AD, Kassubek J: Whole brain-based analysis of regional white matter tract alterations in rare motor neuron diseases by diffusion tensor imaging. Hum Brain Mapp. 31:1727-40 (2010)
98. Van Laere K, Vanhee A, Verschueren J, De Coster L, Driesen A, Dupont P, Robberecht W, Van Damme P: Value of 18fluorodeoxyglucose-positron-emission tomography in amyotrophic lateral sclerosis: a prospective study. JAMA Neurol. 71:553-61 (2014)
99. Verstraete E, van den Heuvel MP, Veldink JH, Blanken N, Mandl RC, Hulshoff Pol HE, van den Berg LH: Motor network degeneration in amyotrophic lateral sclerosis: a structural and functional connectivity study. PLoS One. 5:e13664 (2010)
100. Vollmar C, O'Muircheartaigh J, Barker GJ, Symms MR, Thompson P, Kumari V, Duncan JS, Richardson MP, Koepp MJ: Identical, but not the same: intra-site and inter-site reproducibility of fractional anisotropy measures on two 3.0T scanners. Neuroimage. 51:1384-94 (2010)
101. Walker L, Curry M, Nayak A, Lange N, Pierpaoli C; Brain Development Cooperative Group: A framework for the analysis of phantom data in multicenter diffusion tensor imaging studies. Hum Brain Mapp. 34:2439-54 (2013)
102. Wijesekera LC, Leigh PN: Amyotrophic lateral sclerosis. Orphanet J Rare Dis. 4:3 (2009)
103. Zhang Y, Schuff N, Woolley SC, Chiang GC, Boreta L, Laxamana J, Katz JS, Weiner MW: Progression of white matter degeneration in amyotrophic lateral sclerosis: A diffusion tensor imaging study. Amyotroph Lateral Scler. 12:421-9 (2011)

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: (A) Die gestrichelte Linie zeigt die gerichtete (anisotrope) Diffusion eines Wassermoleküls entlang des axonalen Verlaufs in einem Nervenbündel; (B) hohe Anisotropie bedeutet in graphischer Darstellung ein Diffusionsellipsoid in Zigarrenform (Prolat), wobei für die Eigenwerte gilt: $\lambda 1 \gg \lambda 2;\lambda 3$; die dazugehörigen Eigenvektoren sind hier v1;v2;v3; (C) FA-Map mit farbkodierter Wiedergabe der Fraktionellen Anisotropie (FA)…….....…..…….6

Abbildung 2: (A) Schematische Darstellung der iterativen Template-spezifischen MNI-Normalisierung: die DTI-Rohdaten wurden, nachdem sie mit manuell gesetzten Landmarken versehen worden waren, ins MNI-Koordinatensystem transformiert (i). Aus der arithmetischen Mittelung (ii) ließen sich daraufhin das (b=0)-Template und FA-Template generieren. Die anschließende Iteration mit nicht linearer Normalisierung (iii) und arithmetischer Mittelung (iv) lieferte die nun zur Analyse bereitstehenden Datensätze. (B) Algorithmus der Datennachbearbeitung zur statistischen Auswertung; mitaufgeführt ist die Einbettung der 3D Korrekturmatrix (innerhalb des gestrichelten Rahmens); DTI=Diffusion-Tensor-Imaging; FA=Fraktionelle Anisotropie; FDR=False-Discovery-Rate; inkl.=inklusive; MNI=Montreal Neurological Institute.…….....21

Abbildung 3: Zusammenstellung des stufenweisen Vorgehens entlang des methodischen Konzeptes; CC=Corpus callosum; CST=Tractus corticospinalis; DTI=Diffusion-Tensor-Imaging; FA=Fraktionelle Anisotropie; ROI=Region-of-Interest; TFAS=Tractwise Fractional Anisotropy Statistics; WBSS=Whole Brain-Based Spatial Statistics……..……..23

Abbildung 4: Manuell platzierte Region[s]-of-Interest (ROI) aus einer DTI-Erhebung binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2013 in der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm mit Protokoll B; (A) drei ROIs im Corpus Callosum; (B) sechs ROIs im Tractus corticospinalis; (C) zwei ROIs im Frontalhirnbereich; DTI=Diffusion-Tensor-Imaging; FA=Fraktionelle Anisotropie.……...24

Abbildung 5: Einteilung der 309 DTI-Datensätze auf ein Schwellenwertkollektiv und ein Testkollektiv (im Verhältnis 2:1) und ein Applikationskollektiv; die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2014 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; ALS=Amyotrophe Lateralsklerose; DTI=Diffusion-Tensor-Imaging; MRT=Magnetresonanztomographie…….....27

Abbildung 6: (A) Die verwendeten vier signifikanten Region[s]-of-Interest (ROI) (grün-blaue Kreismarkierungen) sind auf den von einem Kontrollprobanden ermittelten (b=0) Hintergrund projiziert; MNI-Koordinaten: ±22/-17/34 und ±22/-17/1; Koronarebene (MNI): -17 (B) an 13 Kontrollen kreierte Fibertracking-Maske in der Region des Tractus corticospinalis (CST); die MRT-Datenerhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2013 in der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; MNI=Montreal Neurological Institute……...…….30

Abbildung 7: Ergebnisse der ROI-Analyse verbundener heterogener DTI-Datensätze im Bland-Altmann-Plot visualisiert; die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2005 bis 2013 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; DTI=Diffusion-Tensor-Imaging;

MRT=Magnetresonanz-tomographie; ROI=Region-of-Interest; Std=Standardabweichung…….....32

Abbildung 8: Untersuchung der Intraoperatorvariabilität beim manuellen Platzieren einer ROI durch Versatz der ROI-Position um zwei Millimeter in alle Raumrichtungen. Untersuchungen in x-Richtung, y-Richtung, z-Richtung und allen Richtungen gleichzeitig; die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2005 bis 2013 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; FA=Fraktionelle Anisotropie; MRT=Magnetresonanztomographie; ROI=Region-of-Interest…..…..33

Abbildung 9: Visualisierung des einfachen FA-Shifts unverbundener Datensätze (A) und verbundener Daten-sätze (B); die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2005 bis 2013 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; FA=Fraktionelle Anisotropie; MRT=Magnetresonanztomographie…….....…34

Abbildung 10: Whole Brain-Based Spatial Statistics (WBSS) im Schwellenwertkollektiv (100 ALS vs. 93 Kontrollen) ohne Korrektur (A), nach Linear-Korrektur (B) und nach Regressions-Korrektur (C); die MRT-Bilderhebung er-folgte binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2013 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; ALS=Amyotrophe Lateralsklerose; FDR=False-Discovery-Rate; MNI=Montreal Neurological Institute; MRT=Magnetresonanztomographie……..……37

Abbildung 11: Ergebnisse aus Approximation nach Regressions-Korrektur für die beiden oberen ROIs gemittelt (CST-I-rechts+CST-I-links)/2 und für die beiden unteren ROIs gemittelt (CST-II-rechts+CST-II-links)/2; die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2013 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; ALS=Amyotrophe Lateralsklerose; CST=Tractus corticospinalis; FA=Fraktionelle Anisotropie; MRT=Magnetresonanztomographie; ROC-Kurven=Receiver Operating Characteristic Kurve; ROI=Region-of-Interest…….…….39

Abbildung 12: Ganzhirnbasierter voxelweiser Vergleich der Werte für FA zwischen 170 ALS-Patienten und 139 Kontrollen ($p<0,05$; FDR-korrigiert). Die signifikanten Cluster sind auf den gemittelten (b=0) Hintergrund projiziert; die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2014 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; ALS=Amyotrophe Lateralsklerose; CST=Tractus corticospinalis; FA=Fraktionelle Anisotropie; FDR=False-Discovery-Rate; MRT=Magnetresonanz-tomographie; WBSS=Whole Brain-Based Spatial Statistics.....43

Abbildung 13: Grafische Darstellung der Korrelationsanalysen mit ALS-FRS-R und Erkrankungsdauer für die FA-Werte, die sich nach arithmetischer Mittelung der FA-Werte aus CST-I-rechts und CST-I-links ergeben; die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2014 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; ALS-FRS-R=Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale - Revised; CST=Tractus corticospinalis; FA=Fraktionelle Anisotropie; MRT=Magnetresonanztomographie……...…..45

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Auflistung des Geschlechts, Alters in Jahren zum Zeitpunkt der MRT-Bildgebung binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2013 in der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm und des verwendeten Scanner-Protokolls; MRT=Magnetresonanztomographie……..……13

Tabelle 2: Überblick über die Verteilung von Scanner-Protokollen, Geschlecht und Alter in Jahren zum Zeitpunkt der MRT-Bilderhebung binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2013 in der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm bei gesunden Kontrollen; Mittelwert ± Standardabweichung; MRT=Magnetresonanztomographie……14

Tabelle 3: Zusammenstellung der Daten Scanner-Protokoll, Alter in Jahren zum Zeitpunkt der MRT-Bilderhebung binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2014 in der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm, ALS-FRS-R (Zu 25 Probanden war kein ALS-FRS-R retrospektiv ermittelbar) und Erkrankungsdauer in Jahren der ALS-Patienten; ALS=Amyotrophe Lateralsklerose; ALS-FRS-R=Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale - Revised; Mittelwert ± Standardabweichung; MRT=Magnetresonanztomographie…….....14

Tabelle 4: Verteilung der PLS-Daten nach Scanner-Protokoll, Alter und Erkrankungsdauer in Jahren bis zur MRT-Bilderhebung binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2014 in der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; ALS-FRS-R=Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale - Revised; Mittelwert ± Standardabweichung; MRT=Magnetresonanztomographie; PLS=Primäre Lateralsklerose....14

Tabelle 5: Einteilung des Studienkollektivs entsprechend der verwendeten Scanner-Protokolle; Alters- und Erkrankungsdauerangaben in Jahren; die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2014 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; ALS=Amyotrophe Lateralsklerose; ALS-FRS-R=Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale - Revised; Mittelwert ± Standardabweichung; MRT=Magnetresonanztomographie; PLS=Primäre Lateralsklerose…….16

Tabelle 6: (A) Detaillierte Zusammenstellung der Informationen über Schwellenwert, Test- und Applikationskollektiv; (B) vergleichende Darstellung von Schwellenwert- und Testkollektiv; Angaben in Jahren; die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2014 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; ALS=Amyotrophe Lateralsklerose; ALS-FRS-R=Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale - Revised; ED=Erkrankungsdauer; Mittelwert ± Standardabweichung; MRT=Magnetresonanztomographie; PLS=Primäre Lateralsklerose; *Daten der PLS-Patienten sind nicht gesondert aufgeführt, sondern integriert.……..…....28

Tabelle 7: Übersicht über die Verteilung von Geschlecht und Alter in Jahren zum Zeitpunkt der Bilderhebung gesunder Kontrollen; die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2013 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; MRT=Magnetresonanztomographie…….35

Tabelle 8: Tabellarische Darstellung der Ergebnisse für jede ROI (=Region-of-Interest) einzeln und nach Mittelung aller vier ROIs nach Regressions-Korrektur (A) und nach Linear-Korrektur (B); FA-Schwellenwert entspricht dem FA-Wert, bei dem der Youden-Index maximal wird; die Zahlen in eckigen Klammern geben das Konfidenzintervall (95%) wieder; die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2014 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; ALS=Amyotrophe Lateralsklerose; CST=Tractus corticospinalis; FA=Fraktionelle Anisotropie; Kont=Kontrolle; MRT=Magnetresonanztomographie…….40

Tabelle 9: Tabellarische Darstellung der Ergebnisse mittels Fibertracking nach Regressions-Korrektur (A) und nach Linear-Korrektur (B); FA-Schwellenwert entspricht dem FA-Wert, bei dem der Youden-Index maximal wird; die Zahlen in eckigen Klammern geben das Konfidenzintervall (95%) wieder; die MRT-Bilderhebung er-folgte binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2014 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; ALS=Amyotrophe Lateralsklerose; FA=Fraktionelle Anisotropie; Kont=Kontrolle; MRT=Magnetresonanztomographie…….41

Tabelle 10: Ergebnis des Ganzhirnbasierten voxelweisen Vergleiches der Werte für FA; die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2014 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; FA=Fraktionelle Anisotropie; MNI=Montreal Neurological Institute brain atlas; MRT=Magnetresonanztomographie; p-Werte des Student's t-tests……...42

Tabelle 11: Korrelationsanalyse an Datensätzen nach Regressions-Korrektur ergab einen hochsignifikanten Zusammenhang zwischen ALS-FRS-R und FA-Werten (A), jedoch nicht zwischen Erkrankungsdauer und FA-Werten (B); die MRT-Bilderhebung erfolgte binnen der Kalenderjahre 2003 bis 2014 an der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Ulm; ALS-FRS-R=Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale - Revised; CST=Tractus corticospinalis; FA=Fraktionelle Anisotropie; MRT=Magnetresonanztomographie; ROI=Region-of-Interest.....44

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt:

Herrn Prof. Dr. med. Jan R. Kassubek, Leitender Oberarzt der Neurologischen Klinik der Universität Ulm, RKU für die Überlassung des wissenschaftlichen Themas und für die umfassende und kontinuierliche Betreuung bei der Durchführung, Auswertung und Korrektur meiner Dissertation.

Herrn PD Dr. rer. nat. Hans-Peter Müller, naturwissenschaftlicher Mitarbeiter der Arbeitsgruppe Neuroimaging der Neurologischen Klinik der Universität Ulm, RKU für die stetige Motivation und die zielführenden Anregungen, welche zum Gelingen dieser Dissertation beigetragen haben.

Bedanken möchte ich mich außerdem bei Herrn Prof. Dr. med. Albert C. Ludolph, Ärztlicher Direktor der Neurologischen Klinik und Hochschulambulanz der Universität Ulm, bei Herrn Dr. rer. nat. Jens Dreyhaupt, Institut für Epidemiologie und Medizinische Biometrie der Universität Ulm und den zahlreichen Mitarbeitern am RKU für ihre Hilfe und Unterstützung in so vielen Fällen.

Ein herzlicher Dank richtet sich auch an alle Freunde, Bekannte und insbesondere an meine Eltern und Geschwister für die persönliche Unterstützung und Begleitung in allen Phasen während der Anfertigung dieses Werkes.

Lebenslauf

Johannes Roßkopf

Dieser Lebenslauf wurde aus datenschutzrechtlichen Gründen entfernt.

Publikationen

1. Rosskopf J, Müller HP, Huppertz HJ, Ludolph AC, Pinkhardt EH, Kassubek J: Frontal Corpus Callosum Alterations in Progressive Supranuclear Palsy but Not in Parkinson's Disease. Neurodegener Dis. [Epub ahead of print] (2014)
2. Teile dieser Dissertation wurden in folgendem Artikel veröffentlicht:
   Roßkopf J, Müller HP, Dreyhaupt J, Gorges M, Ludolph AC, Kassubek J: Ex post facto assessment of diffusion tensor imaging metrics from different MRI protocols: preparing for multicenter studies in ALS. Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener. in press (2014)