

Aus dem Fachbereich Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

betreut am
Zentrum der Neurologie und Neurochirurgie
Klinik für Neurologie
Direktor: Prof. Dr. Helmuth Steinmetz

**Charakterisierung mikrostruktureller, kortikaler Pathologie bei
Multipler Sklerose mittels Diffusions-Tensor-Bildgebung**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von
Benjamin Stock

aus Lahnstein

Frankfurt am Main, 2020

Dekan: Prof. Dr. Stefan Zeuzem
Referent: Prof. Dr. René-Maxime Gracien
Korreferent/in: Prof. Dr. Thomas J. Vogl
Tag der mündlichen Prüfung: 21.01.2022

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung in deutscher Sprache	- 4 -
Zusammenfassung in englischer Sprache	- 6 -
Abkürzungsverzeichnis	- 8 -
Übergreifende Zusammenfassung:	- 9 -
Einleitung	- 9 -
Darstellung des Manuskripts	- 10 -
Diskussion der Gesamtheit der Ergebnisse und deren Beitrag für die Beantwortung der Fragestellung	- 12 -
Zur Veröffentlichung angenommenes Manuskript	- 14 -
Darstellung des eigenen Anteils an der Publikation	- 21 -
Literaturverzeichnis	- 22 -
Schriftliche Erklärung	- 25 -

Zusammenfassung in deutscher Sprache

Die Multiple Sklerose (MS) gehört zu den häufigsten chronisch-entzündlichen Erkrankungen des zentralen Nervensystems in Deutschland¹ und kann durch Sehstörungen, Paresen oder Sensibilitätsstörungen symptomatisch werden. Konventionelle Magnetresonanztomographie (MRT)-Verfahren leisten in der Diagnostik der MS einen wichtigen Beitrag, da diese die Läsionslast der weißen Substanz gut darstellen können. Frühere Studien deuten an, dass kognitive und psychomotorische Symptome wie Fatigue sowie Konzentrations- und Gedächtnisstörungen bei der MS mit Schädigungen des zerebralen Kortex in Beziehung stehen könnten.^{2,3} Mit konventionellen MRT-Bildgebungsverfahren lässt sich zwar kortikale Atrophie, nicht jedoch die zugrundeliegenden mikrostrukturellen kortikalen Umbauprozesse erfassen. In der vorliegenden Studie wurden daher quantitative MRT(qMRT)-Verfahren verwendet, die eben diese diffusen kortikalen Gewebsveränderungen messen und quantifizieren können.⁴ Mithilfe der dabei genutzten Diffusions-Tensor-Bildgebung (DTI) als qMRT-Verfahren konnten Diffusionsanomalien analysiert und charakterisiert werden. Dabei wurden zwei Gewebsparameter im Gehirn bestimmt: die mittlere Diffusivität (MD) und die fraktionelle Anisotropie (FA). Da vorherige Studien uneinheitliche Ergebnisse hinsichtlich Änderungen von DTI-Parametern in der grauen Substanz bei der MS erbrachten,⁵⁻¹² beschäftigten wir uns mit der Frage, ob kortikale MD- und FA-Veränderungen bei Patienten mit schubförmig-remittierender MS (RRMS) mithilfe optimierter DTI-Messtechniken zu detektieren sind, wie diese charakterisiert sind und wie sich diese im Kortex verteilen.

An der vorliegenden Studie nahmen 24 Patienten mit RRMS und 25 gesunde Kontrollprobanden teil. Der Schweregrad der Erkrankung wurde mithilfe des Expanded Disability Status Scale (EDSS) eingestuft.¹³

Bei der MRT-Datenerfassung wurde eine optimierte DTI-Methode mit intrinsischer „Eddy-Current“-Kompensation verwendet.¹⁴ Die MD und die FA wurden für jeden Bildpunkt bestimmt. Kortikale Parameterwerte wurden ausgelesen und in Oberflächendatensätzen gespeichert. Es erfolgte ein oberflächenbasierter statistischer Gruppenvergleich. Kortikale Mittelwerte wurden für die MD und die FA bestimmt und zwischen den Gruppen verglichen.

Für Parameter mit nachgewiesenen globalen Gruppenunterschieden wurde die Korrelation mit dem klinischen Status (quantifiziert durch den EDSS) bestimmt. Die Analyse kortikaler Mittelwerte zeigte eine Erhöhung der MD in der Patientengruppe. Die MD-Veränderungen waren räumlich ausgedehnt und es fanden sich Cluster mit erhöhten MD-Werten in der Patientengruppe, insbesondere in temporalen, okzipitalen und parietalen Regionen. Des Weiteren konnte eine signifikante positive Korrelation zwischen dem EDSS-Score und der kortikalen MD festgestellt werden. Außerdem ließen sich fokale FA-Erniedrigungen im Temporal- und Okzipitallappen nachweisen.

Die MD quantifiziert das Ausmaß und die FA die Gerichtetheit der Diffusion.⁴ Somit bietet die MD möglicherweise Hinweise auf die Intaktheit mikrostruktureller Barrieren¹⁵ und die FA auf die Integrität von Faserverbindungen.¹⁶ Unsere Ergebnisse könnten demnach darauf hinweisen, dass im Kortex von MS-Patienten der Abbau mikrostruktureller Barrieren räumlich ausgedehnter stattfindet als eine Störung axonaler Strukturen. Die Korrelation der MD mit dem klinischen Status legt die Möglichkeit der Quantifizierung klinisch relevanter kortikaler Gewebsveränderungen und somit eine mögliche Relevanz dieser Techniken für klinische Studien nahe.

Zusammenfassung in englischer Sprache

Multiple sclerosis (MS) is a chronic inflammatory disease of the central nervous system. Typical symptoms are an impaired vision, paresis or sensory disturbances. Conventional magnetic resonance imaging (MRI) techniques are required for the initial diagnosis and visualization of the lesion load, which is mainly located in the white matter. Previous studies assessing cognitive deficits and fatigue in MS patients^{2,3} indicate that also cortical damage is of high clinical relevance in these patients. Insight into cortical damage with conventional MRI techniques is limited. Therefore, in the present study, diffusion tensor imaging (DTI) was used to characterize cortical tissue remodeling in MS⁴. Two tissue parameters were measured: the mean diffusivity (MD) and the fractional anisotropy (FA). Since previous DTI studies in MS reported inconsistent results,⁵⁻¹² the question arose, whether MD and FA changes in patients with relapsing-remitting MS (RRMS) can be detected using optimized DTI techniques and how they are distributed across the cortex. 24 patients with RRMS and 25 healthy control subjects participated in this study. MRI acquisition was performed with 3 Tesla MRI scanner. In addition, the clinical status was assessed using the Expanded Disability Status Scale (EDSS).¹³ An optimized DTI method with intrinsic eddy current compensation was used.¹⁴ MD and FA maps were created. Cortical parameter values were read and saved in surface-datasets. Global cortical FA/MD values were compared between groups. Furthermore, surface-based statistical comparisons were performed. We tested for correlations between the parameter(s) with significant global group differences and the EDSS. Increased global cortical MD values were observed in the patient group. Surface-based analysis unveiled MD increases particularly in temporal, occipital and parietal regions. Furthermore, the MD correlated significantly with the EDSS score. In addition, we observed focal cortical FA decreases in the temporal and occipital lobes. The MD correlates positively with the amount of diffusion in a certain area.⁴ Diffusion is limited by microstructural barriers. Accordingly, MD might quantify the integrity microstructural barriers.¹⁵ FA values are high in ordered structures with directional diffusion such as fiber tracts.⁴ Therefore, reduced FA values in the occipital and temporal cortical might reflect axonal damage.¹⁶ Regions with MD increase were more widespread than areas with FA

reduction. This finding might indicate that the cortical breakdown of microstructural barriers in MS patients is a more prominent and widespread cortical remodeling mechanism than the disruption of axonal structures. In addition, the observed correlation between cortical MD values and the EDSS highlights a potential relevance of DTI techniques for larger clinical studies.

Abkürzungsverzeichnis

MS	multiple sclerosis / Multiple Sklerose
MRI/MRT	magnetic resonance imaging / Magnetresonanztomographie
qMRI/qMRT	quantitative magnetic resonance imaging / quantitative Magnetresonanztomographie
DTI	diffusion tensor imaging / Diffusions-Tensor-Bildgebung
MD	mean diffusivity / mittlere Diffusivität
FA	fractional anisotropy / fraktionelle Anisotropie
RRMS	relapsing-remitting multiple sclerosis
EDSS	Expanded Disability Status Scale
GM	gray matter / graue Substanz
DW	diffusion-weighted / diffusionsgewichtet
tr	twice refocused / zweifach refokussiert
SE	spin echo
EPI	echo-planar imaging / Echo-Planar-Bildgebung
FSL	FMRIB software library
MP-RAGE	magnetization-prepared rapid acquisition of gradient-echos
DWG	diffusion-weighted gradient / diffusionsgewichteter Gradient

Übergreifende Zusammenfassung

Einleitung

Die Magnetresonanztomographie (MRT) wird in der Klinik zur Diagnostik organischer Veränderungen im Körper, insbesondere des Weichteilgewebes eingesetzt. In der Neurologie ist die MRT in der Diagnostik der Multiplen Sklerose (MS), einer chronisch entzündlichen Erkrankung des zentralen Nervensystems, zu einem festen Bestandteil geworden. Die bei MS typischen, entzündlichen Herde insbesondere im Marklager des Gehirns und Rückenmarks lassen sich mittels konventioneller MRT-Techniken gut darstellen. Diffuse Gewebsveränderungen des zerebralen Kortex - wie sie auch bei MS auftreten - sind allerdings mit diesen Methoden nicht hinreichend darstellbar. Daher widmete man sich im Rahmen dieser Arbeit der Fragestellung, ob sich kortikale Veränderungen bei MS mittels Diffusions-Tensor-Bildgebung (DTI) erfassen lassen und wie diese verteilt sind. Mittels DTI können die mittlere Diffusivität (MD) und die fraktionelle Anisotropie (FA) gemessen werden. Die MD ist ein Maß dafür, wie viel Diffusion in einem bestimmten Bereich stattfindet.⁴ Da Diffusion auf zellulärer Ebene durch Barrieren wie zum Beispiel Zellmembranen reduziert wird, können Veränderungen der MD Hinweise auf die Stabilität der Zellbarrieren geben.¹⁵ Eine erhöhte MD im Kortex kann demnach auf einen Defekt eben dieser mikrostrukturellen Barrieren hinweisen.

Die fraktionelle Anisotropie (FA) beschreibt, ob die Diffusion gerichtet oder ungerichtet abläuft.⁴ Eine erniedrigte FA aufgrund der ungerichteten Diffusion könnte demnach auf einen axonalen Schaden hinweisen.¹⁶ Es gibt außerdem Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen kortikaler Schädigung und Fatigue, Depression sowie kognitiven Defiziten von MS Patienten,^{2,3} sodass die Untersuchung kortikaler Pathologie bei MS von besonderem klinischen Interesse ist.

Die Studienlage hinsichtlich MD- und FA-Veränderungen bei MS ist sehr uneinheitlich. Einige Arbeiten zeigten eine MD-Erhöhung in der grauen Substanz (GM) bei RRMS,⁵⁻⁸ andere keine Veränderung der MD.^{9,10} Es wurden zudem erhöhte GM-FA-Werte,^{8,11} im Vergleich zur Kontrollkohorte nicht abweichende Werte^{9,10} und sogar verringerte GM-FA-Werte¹² bei RRMS-Patienten festgestellt.

Die Verteilung der MD- und der FA-Änderungen bei MS wurde bislang in keiner Studie untersucht.

Aufgrund dieser Heterogenität früherer Werte war es unser Ziel, kortikale MD- und FA-Änderungen quantitativ nachzuweisen und zu charakterisieren. Zudem waren die Untersuchung der räumlichen kortikalen Verteilung der Änderungen und die Korrelation mit dem klinischen Status wichtige Ziele der Studie. Besonderheiten der vorliegenden Studie sind die Verwendung oberflächenbasierter Analyseverfahren sowie optimierter DTI-Techniken mit intrinsischer Eddy-Current-Kompensation.

Darstellung des Manuskripts

Die vorliegende Studie wurde von der Ethikkommission des Fachbereichs Medizin der Goethe-Universität geprüft, genehmigt und nach den Prinzipien gemäß der Deklaration von Helsinki durchgeführt. An der Studie nahmen 24 Patienten mit RRMS (11 Männer, 13 Frauen) und 25 in Geschlecht und Alter übereinstimmende, gesunde Kontrollpersonen (11 Männer, 14 Frauen) teil. Nicht an der Studie teilnehmen durften Patienten und Kontrollprobanden mit Alkohol-, Medikamenten- oder Drogenabusus, Schwangere, Personen mit anderen neurologischen, psychiatrischen oder schwer kardiovaskulären Erkrankungen, nicht geschäftsfähige Probanden (z.B. Probanden mit Demenz) sowie Personen mit MRT-Ausschlusskriterien wie Herzschrittmachern oder Metallimplantaten. Vor Einschluss wurden die Teilnehmer über die Studie aufgeklärt und stimmten der Teilnahme schriftlich zu. Nach Prüfung der Ein- und Ausschlusskriterien wurde mit den Patienten und Kontrollprobanden ein Termin zur Datenakquisition ausgemacht. Dabei wurde ein 3-Tesla-Ganzkörper-Magnetresonanzscanner des Modells „Trio“ der Marke Siemens Healthineers verwendet. Das Gerät verfügt über eine Körperspule als Radiofrequenz-Sender und eine 8-Kanal Kopfspule als Radiofrequenz-Empfänger. Die Patientengruppe wurde zusätzlich klinisch-neurologisch untersucht und ihr neurologischer Status mithilfe des Expanded Disability Status Scale (EDSS)¹³ eingestuft. Die DTI-Daten wurden unter Verwendung von diffusionsgewichteten (DW) Spin-Echo(SE)-Echo-Planar-Imaging(EPI)-Sequenzen^{17,18} mit intrinsischer Eddy-Current-Kompensation¹⁴

erhoben. Zudem wurden synthetische Magnetization-Prepared-Rapid-Acquisition-of-Gradient-Echos(MP-RAGE)-Datensätze wie in der Literatur beschrieben akquiriert.¹⁹

Für die Programmierung der Analyse-Software wurden Funktionen der folgenden Toolboxen verwendet: Freesurfer^{20,21} 6.0.1, FMRIB Software Library²² 5.0.7 (FSL) und Matlab. Ein häufiges Problem bei der DTI-Bildgebung sind geometrische Bildverzerrungen bedingt durch das spezifische Profil des statischen magnetischen Feldes.²² Um diese zu korrigieren, wurden Referenzbilder mit positiven und negativen Phasenkodierungsgradienten aufgenommen. Anschließend wurden mittels dieser Daten die Off-Resonanzfelder²³ berechnet und die DTI-Daten korrigiert. Es erfolgte zudem eine Korrektur hinsichtlich residueller Eddy-Current-Effekte und Bewegungsartefakte mithilfe des Programms EDDY.²⁴ Das Recon-All-Programm^{20,21} aus der Freesurfer-Toolbox wurde zur Gewebssegmentierung und Messung der Kortexdicke benutzt. Mit BBREGISTER²⁵ wurden die MD-Karten auf die MP-RAGE-Anatomien koregistriert. Unter Verwendung der entsprechenden Koregistrierungsmatrizen wurden kortikale FA- und MD-Werte ausgelesen und in Oberflächen-Datensätzen gespeichert. Globale kortikale Mittelwerte und kortikale Mittelwerte der einzelnen Hirnlappen wurden für die MD und die FA bestimmt und statistisch zwischen den Gruppen verglichen.

Für die oberflächenbasierte Analyse wurden die MD- und FA-Oberflächen-Datensätze und die entsprechenden Karten der Kortexdicke geglättet. Die Oberflächen-Datensätze wurden dann statistisch zwischen den Gruppen verglichen (allgemeines lineares Modell mit nachfolgender Monte-Carlo-Simulation). P-Werte kleiner als 0,05 wurden als signifikant betrachtet.

Die Studie erbrachte die nachfolgenden Ergebnisse: Das Alter unterschied sich nicht signifikant zwischen beiden Gruppen ($p=0,77$) und lag im Mittel bei 35,4 Jahren (Patientengruppe) beziehungsweise 34,5 Jahren (gesunde Probandengruppe). Die EDSS-Werte in der Patientengruppe betragen $2,9 \pm 1,7$ (Spannweite 0-9) und die Krankheitsdauer $8,0 \pm 5,8$ Jahre (Spannweite 2-29 Jahre). Während sich die kortikale MD global erhöht zeigte ($p<0.001$), zeigte die globale kortikale Analyse keine FA-Veränderung ($p=0.31$). Die MD-Veränderungen waren räumlich recht ausgedehnt. So fanden sich Cluster mit erhöhten MD-Werten in der Patientengruppe insbesondere in temporalen,

okzipitalen und parietalen Regionen. Die Analyse kortikaler Subregionen wies jedoch auch frontal eine MD-Erhöhung nach. Für die FA ließen sich fokale Erniedrigungen in temporalen und okzipitalen Regionen zeigen. Die Kortexdicke unterschied sich global nicht signifikant zwischen den Gruppen ($p = 0.50$) und auch lokal ließen sich keine Änderungen nachweisen. Zudem stellten wir eine signifikante positive Korrelation zwischen dem EDSS-Score und der kortikalen MD fest ($r = 0,38$, $p = 0.03$).

Diskussion der Gesamtheit der Ergebnisse und deren Beitrag für die Beantwortung der Fragestellung

Schon in früheren Studien wurden DTI-Techniken genutzt, um Veränderungen der grauen Substanz bei MS zu untersuchen.⁵⁻¹²

In der vorliegenden Studie wurden jedoch optimierte DTI-Methoden mit intrinsischer Eddy-Current-Kompensation verwendet. Dabei konnte eine räumlich ausgedehnte MD-Erhöhung und eine fokale FA-Verringerung beobachtet werden. Da FA-Werte in Regionen mit vielen parallel angeordneten Axonen, wie zum Beispiel dem Korpus Kallosum, sehr hoch sind, kann eine verringerte FA möglicherweise auf einen axonalen Verlust hindeuten.¹⁶

Die MD spiegelt hingegen die Ausprägung der Diffusion in einer Region wieder.⁴ Auf molekularer Ebene kann Diffusion durch Barrieren eingeschränkt werden. Die MD wird daher als Surrogatparameter für die Intaktheit mikrostruktureller Barrieren betrachtet.¹⁵ Die inhomogene Verteilung der kortikalen DTI-Parameter-Änderungen legt nahe, dass sich wahrscheinlich auch zugrundeliegende kortikale Umbauprozesse bei der RRMS heterogen verteilen. Die im Vergleich zur FA räumlich ausgedehnteren kortikalen MD-Veränderungen legen nahe, dass entweder die Störung mikrostruktureller Barrieren im Vergleich zur Beeinträchtigung von Faserverbindungen im Kortex von RRMS-Patienten überwiegt oder aber, dass die MD ein hinsichtlich kortikaler Umbauprozesse bei der MS sensitiverer Parameter ist.

Wie in der Einleitung im Detail beschrieben, sind die Werte vorangegangener DTI-Studien bei MS uneinheitlich.⁵⁻¹² Ein möglicher Grund für diese Diversität der Ergebnisse könnte die Nutzung unterschiedlicher DTI-Protokolle und

Postprozessierungsmethoden sein. Zudem wurde in der vorliegenden Studie eine Schichtdicke von 2 mm gewählt, wodurch Partialvolumeneffekte reduziert werden konnten. Schichtdicken von 5 mm in vorherigen Studien^{6,9,10,12} erhöhen hingegen Partialvolumeneffekte und erschweren damit DTI-Analysen der GM. Durch die Nutzung optimierter DTI-Techniken mit intrinsischer Eddy-Current-Korrektur wurden Effekte von Eddy-Currents auf die MD- und FA-Karten bereits während der Akquisition minimiert, sodass möglicherweise eine genauere Messung der Parameter MD und FA als in früheren Studien möglich war.

Die Patienten in der vorgestellten Studie wiesen eine durchschnittliche Krankheitsdauer von 8 Jahren auf, wohingegen vorherige Studien, in denen keine Unterschiede der MD- oder FA-Werten zwischen der Patienten- und der Kontrollgruppe festgestellt wurden,^{9,10} Patienten mit einer durchschnittlichen Krankheitsdauer von zwei Jahren untersuchten. Es ist daher gut möglich, dass die Patientengruppe jener Studien weniger kortikale Gewebsveränderungen aufwies und dadurch keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen entdeckt werden konnten.

Zu den Einschränkungen dieser Studie: Die untersuchten Kohorten mit 24 MS-Patienten und 25 Kontrollprobanden waren relativ klein und es wurde lediglich eine DTI-Technik angewandt. Zukünftige Studien mit höherer Teilnehmerzahl, welche mehrere DTI-Methoden vergleichen, könnten die abweichenden Ergebnisse von früheren Studien möglicherweise besser erklären.

Zusammengefasst legen die berichteten Ergebnisse nahe, dass DTI-Techniken geeignet sind, diffusen kortikalen Gewebeschaden bei RRMS in Beziehung zum klinischen Status zu quantifizieren. Veränderungen von DTI-Parametern verteilen sich heterogen über den Kortex. Hierbei steht eine räumlich ausgedehnte mikrostrukturelle Barrierestörung, quantifiziert durch die MD, im Vordergrund.



Distribution of Cortical Diffusion Tensor Imaging Changes in Multiple Sclerosis

Benjamin Stock^{1,2,3}, Manoj Shrestha³, Alexander Seiler^{1,3}, Christian Foerch¹, Elke Hattingen², Helmuth Steinmetz¹, Ralf Deichmann³, Marlies Wagner² and René-Maxime Gracien^{1,3*}

¹ Department of Neurology, Goethe University Frankfurt, Frankfurt, Germany, ² Department of Neuroradiology, Goethe University Frankfurt, Frankfurt, Germany, ³ Brain Imaging Center, Goethe University Frankfurt, Frankfurt, Germany

OPEN ACCESS

Edited by:

Zhen Cheng,
Stanford University, United States

Reviewed by:

Silvia Capuani,
Italian National Research Council, Italy
Christian Herbert Ziener,
German Cancer Research Center,
Germany

*Correspondence:

René-Maxime Gracien
Rene-Maxime.Gracien@kgu.de

Specialty section:

This article was submitted to
Medical Physics and Imaging,
a section of the journal
Frontiers in Physiology

Received: 15 October 2019

Accepted: 31 January 2020

Published: 13 March 2020

Citation:

Stock B, Shrestha M, Seiler A,
Foerch C, Hattingen E, Steinmetz H,
Deichmann R, Wagner M and
Gracien R-M (2020) Distribution
of Cortical Diffusion Tensor Imaging
Changes in Multiple Sclerosis.
Front. Physiol. 11:116.
doi: 10.3389/fphys.2020.00116

Purpose: Diffuse cortical damage in relapsing–remitting multiple sclerosis (RRMS) is clinically relevant but cannot be directly assessed with conventional MRI. In this study, it was aimed to use diffusion tensor imaging (DTI) techniques with optimized intrinsic eddy current compensation to quantify and characterize cortical mean diffusivity (MD) and fractional anisotropy (FA) changes in RRMS and to analyze the distribution of these changes across the cortex.

Materials and Methods: Three-Tesla MRI acquisition, mapping of the MD providing information about the integrity of microstructural barriers and of the FA reflecting axonal density and surface-based analysis with Freesurfer were performed for 24 RRMS patients and 25 control subjects.

Results: Across the whole cortex, MD was increased in patients ($p < 0.001$), while surface-based analysis revealed focal cortical FA decreases. MD and FA changes were distributed inhomogeneously across the cortex, the MD increase being more widespread than the FA decrease. Cortical MD correlated with the Expanded Disability Status Scale (EDSS, $r = 0.38$, $p = 0.03$).

Conclusion: Damage of microstructural barriers occurs inhomogeneously across the cortex in RRMS and might be spatially more widespread than axonal degeneration. The results and, in particular, the correlation with the clinical status indicate that DTI might be a promising technique for the monitoring of cortical damage under treatment in larger clinical studies.

Keywords: diffusion tensor imaging, mean diffusivity, fractional anisotropy, cortex, gray matter, multiple sclerosis

Abbreviations: CNS, central nervous system; DTI, diffusion tensor imaging; DW, diffusion-weighted; DWG, diffusion-weighted gradient; EDSS, Expanded Disability Status Scale; EPI, echo-planar imaging; FA, fractional anisotropy; FoV, field of view; FSL, FMRIB Software Library; GM, gray matter; MD, mean diffusivity; MP-RAGE, magnetization-prepared rapid gradient echo; MR, magnetic resonance; MRI, magnetic resonance imaging; MS, multiple sclerosis; PD, proton density; qMRI, quantitative magnetic resonance imaging; RF, radio-frequency; RRMS, relapsing–remitting multiple sclerosis; SD, standard deviation; SE, spin echo; T, Tesla; TE, echo time; TR, repetition time; tr, twice refocused; WM, white matter.

INTRODUCTION

Multiple sclerosis (MS) is an inflammatory disease of the central nervous system (CNS), characterized by typical focal lesions, but also by diffuse tissue changes. While conventional magnetic resonance imaging (MRI) techniques are essential for the visualization of the lesion load and, accordingly, for the initial diagnosis of MS, quantitative MRI (qMRI) techniques also allow for the assessment of inconspicuous changes in tissue composition (Cercignani et al., 2018). Different qMRI techniques such as T1 and T2 relaxometry and proton density (PD) mapping have been applied in MS (Vrenken et al., 2006a; Gracien et al., 2016). Another promising qMRI method in MS is diffusion tensor imaging (DTI), providing the advantage of a widespread availability on standard clinical systems. The DTI parameter mean diffusivity (MD) describes the amount of diffusion-related movement of water molecules, whereas the fractional anisotropy (FA) provides information about the directionality of diffusion (Cercignani et al., 2018). While macroscopic white matter (WM) lesions can be visualized with conventional MRI techniques, assessment of the gray matter (GM) and, particularly, of cortical changes is more challenging. Still, cortical damage seems to have a high impact on clinical symptoms observed in MS patients and likely contributes to fatigue, depression, and cognitive impairment in MS (Calabrese et al., 2009; Gobbi et al., 2014). DTI has the potential to provide insights into cortical changes in MS. However, previous DTI investigations on MS patients revealed contradictory results. Several studies have observed increased MD in the GM (Ceccarelli et al., 2007; Rovaris et al., 2008; Yu et al., 2008) and, in particular, in the cerebral cortex of MS patients (Hasan et al., 2012), likely indicating a loss of microstructural barriers, while other studies reported no MD differences in the GM as compared to healthy subjects (Griffin et al., 2001; Tortorella et al., 2006). Similarly, for FA, some studies found increased values in the GM (Calabrese et al., 2011) and in the cortex of MS patients (Hasan et al., 2012), while other studies reported decreased cortical FA values (Vrenken et al., 2006b), potentially reflecting axonal degeneration, or no FA changes in the GM (Griffin et al., 2001; Tortorella et al., 2006). Furthermore, so far, it is unclear how MD and FA changes distribute across the cortex.

In summary, in light of the previous results, the questions arise whether cortical FA and MD values are suited to characterize cortical remodeling in MS and, if so, whether cortical FA and MD values are increased or decreased in MS, how alterations of diffusion parameters distribute across the cortex, and how spatial distributions of parameter changes relate to each other.

In the present study, it was aimed to investigate these questions, using an optimized DTI sequence with intrinsic eddy current compensation combined with a surface-based cortical Freesurfer analysis. In particular, considering that some previous studies yielded contradictory or negative results, it was intended to demonstrate and confirm the presence of cortical MD and FA changes reflecting cortical damage in MS and to quantify and characterize these abnormalities, hypothesizing that cortical MD reflecting the integrity of microstructural barriers might be increased and FA quantifying axonal density might be decreased in MS. Furthermore, it was aimed to assess and compare the

spatial distributions of cortical FA and MD changes. For this purpose, an optimized DTI sequence was used with intrinsic compensation of eddy current effects, thus reducing a potential bias which might otherwise increase the variability of DTI parameter values across the group and render detection of MD and FA changes more difficult.

MATERIALS AND METHODS

Participants

Twenty-four patients with relapsing–remitting MS (RRMS, 11 male) and 25 matched healthy control subjects (11 male) participated in the study. Patients were examined and rated on the Expanded Disability Status Scale (EDSS) (Kurtzke, 1983). The cohort overlaps with a previous study using relaxometry and PD mapping in MS (van Wijnen et al., 2019). However, the present study has different aims and investigates changes of DTI parameters. The studies involving human participants were reviewed and approved by the respective local board (Ethik-Kommission des Fachbereichs Medizin des Universitätsklinikums der Goethe-Universität). The patients/participants provided written informed consent to participate in this study. The study was performed according to the principles formulated in the Declaration of Helsinki.

Data Acquisition and Processing

MRI data acquisition was performed on a 3-Tesla (T) whole-body magnetic resonance (MR) scanner (Trio, Siemens Healthineers, Erlangen, Germany) which uses a body coil for radio-frequency (RF) transmission and an 8-channel phased-array head coil for RF reception.

For data processing and analysis, functions from Freesurfer 6.0.1 (Dale et al., 1999; Fischl et al., 1999) and from the FMRIB Software Library 5.0.7 (FSL) (Smith et al., 2004) were used.

DTI data were acquired using a diffusion-weighted (DW) twice-refocused (tr) spin-echo (SE) echo planar imaging (EPI) sequence (Heid, 2000; Reese et al., 2003) with the optimizations described previously in the literature (Shrestha et al., 2018). A schematic description of this method was presented by Heid (2000) and by Reese et al. (2003) (Figure 1 in both cases). A pulse diagram of the sequence as used in the present study can be found in Figure 1B in the publication describing the optimizations (Shrestha et al., 2018). These include: (1) Assumption of an eddy-current decay time of 40 ms. This value was chosen individually for the MR system used on the basis of preliminary tests. (2) Insertion of crusher gradients around the refocusing pulses, allowing for complete spoiling of the transverse magnetization for the chosen voxel size. These spoiler gradients are especially required for obtaining artifact-free base images with $b = 0$. (3) Usage of symmetrically distributed DW gradient (DWG) directions for full-sphere sampling. Protocol parameters used to acquire DTI data were: field of view (FoV) = 192×192 mm², isotropic resolution = 2 mm, 70 interleaved axial slices without interslice gap, TR = 9,300 ms, TE = 95 ms, echo-spacing = 0.86 ms, readout bandwidth = 1,302 Hz/pixel, partial Fourier = 25%, two-fold acceleration, 60 different diffusion encoding directions at b -value = 1,000 s/mm² (with

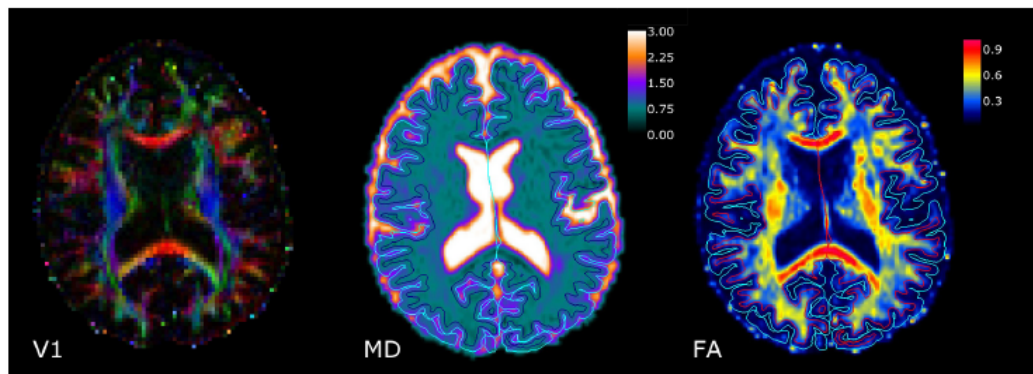


FIGURE 1 | Results of diffusion tensor imaging data processing (single slice, representative patient). Left: Map of the direction of the diffusion tensor's principal eigenvector (V1). The luminosity denotes the fractional anisotropy (FA) value. Middle: Map of the mean diffusivity (MD). Right: Map of FA. MD is given in units of $10^{-3} \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$. In the MD and FA maps, the light blue lines indicate the pial surface, and the dark blue/red lines the white matter surface, as identified with Freesurfer.

DWG amplitude of 28 mT/m). In order to correct for geometrical distortions induced by static magnetic field (B_0) inhomogeneities, two sets of five reference images with $b = 0$ were acquired with either positive or negative phase encoding gradients (i.e., traversing k -space in different directions), yielding five pairs of DTI data with opposite distortions. These data were processed using TOPUP to estimate the susceptibility-induced off-resonance field (Andersson et al., 2003), and DTI data were subsequently corrected for these effects. Brain extraction was performed with BET (Smith, 2002). Correction for residual eddy-current-induced distortions and for subject movement was performed for voxels inside the resulting brain mask with EDDY using standard parameters (Andersson and Sotiropoulos, 2016).

For segmentation purposes, optimized synthetic MP-RAGE anatomies which are intrinsically corrected for bias fields (Gracien et al., 2019) were derived from qMRI maps of T1, B_0 , and the transmitted field B_1 as described previously in the literature (Gracien et al., 2019), assuming the following virtual MP-RAGE acquisition parameters: FoV = $256 \times 224 \times 160 \text{ mm}^3$, isotropic resolution = 1 mm, TR = 1,900 ms, TI = 900 ms, $\alpha = 9^\circ$. The total acquisition time for all underlying qMRI maps was 16:42 min.

Data Analysis

The recon-all stream implemented in the Freesurfer toolbox (Dale et al., 1999; Fischl et al., 1999) was applied to the synthetic MP-RAGE anatomies for cortical segmentation and for vertex-wise measurement of the cortical thickness. Boundary-based coregistration of the MD maps to the MP-RAGE anatomies was performed using BBREGISTER (Greve and Fischl, 2009). Using the respective coregistration matrices, cortical FA and MD values were read, averaged for each vertex, and saved in surface datasets. Accordingly, in this step, the parameter values across the whole cortex were stored in surface datasets with a high resolution ($\sim 1 \text{ mm}$ distance between the vertices). After normalization ("fsaverage space") of these datasets and the cortical thickness maps and smoothing (Gaussian kernel with a full width at

half maximum of 10 mm), a general linear model analysis was carried out for two-tailed statistical comparison between groups, including correction for multiple comparisons *via* Monte Carlo simulation.

Furthermore, cortical non-zero FA and MD values were averaged across the surface datasets, and average values were compared between groups with multivariate analysis of variance (MANOVA). Correction for multiple comparisons was performed for the respective tests using the false discovery rate (FDR) method/Benjamini-Hochberg procedure (FDR = 0.05). Additionally, mean cortical thickness values were compared between patients and healthy subjects *via* a two-tailed t -test.

To analyze different anatomical cortical regions of interest (ROIs), the cortex atlas "PALS_B12_Lobes" was coregistered to each subject with `mri_surf2surf`, and cortical MD/FA values were read vertex-wise and averaged for the frontal, temporal, parietal, and occipital lobes. Since surface-based analysis revealed symmetric patterns of DTI changes, parameter values in the ROIs averaged across both hemispheres were compared between groups *via* two-tailed t -tests. Furthermore, tests for Spearman's rank-order correlations between cortical parameters with significant group differences and the EDSS were carried out using one-tailed tests for significance and assuming that pathological cortical changes might correlate with clinical deficits. P values below 0.05 were considered significant.

RESULTS

The average age (\pm standard deviation, SD) of the participants was 35.4 ± 10.6 years for patients and 34.5 ± 11.1 years for healthy subjects. Age did not differ between groups ($p = 0.77$). Average EDSS scores of the patients amounted to 2.9 ± 1.7 (range 0–9), and disease durations were 8.0 ± 5.8 years (range 2–29 years).

Six patients were treated with dimethyl fumarate, five patients with natalizumab, five with fingolimod, three with glatiramer

acetate, two with interferon beta, and one with rituximab. Two patients were untreated.

Figure 1 demonstrates for a single slice and a representative patient the results of DTI data processing, showing (from left to right) a map of the direction of the diffusion tensor's principal eigenvector (V1) where the luminosity denotes the FA value, an MD map, and an FA map. In the MD and FA maps, the light blue lines indicate the pial surface, and the dark blue/red lines the WM surface, as identified with Freesurfer.

Across the whole cortex, the group had a significant effect on MD/FA values [$F(2, 46) = 8.03, p = 0.001$]. MD was higher in patients than in control subjects (patients: $0.969 \pm 0.053 \times 10^{-3} \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$, control subjects: $0.920 \pm 0.029 \times 10^{-3} \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}, p < 0.001$). As demonstrated in Figure 2, cortical areas with increased MD were distributed inhomogeneously across the cortex, being mainly located in the temporal and occipital lobes and in some parietal regions. In line with these results, ROI-based analysis of cortical lobes as demonstrated in Table 1 revealed an MD increase for all lobes, with the numerically smallest difference ($0.022 \times 10^{-3} \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$) for the frontal cortex. While FA did not differ between groups across the whole cortex (patients: 0.165 ± 0.011 , control subjects: $0.167 \pm 0.006, p = 0.31$), focal FA decreases were observed mostly in temporo-occipital regions (Figure 3 and Table 1). The cortical thickness did not differ between groups (patients: $2.43 \pm 0.07 \text{ mm}$, control subjects: $2.44 \pm 0.07 \text{ mm}, p = 0.50$), and surface-based analysis did not unveil focal changes of cortical thickness.

Furthermore, the EDSS correlated with the cortical MD ($r = 0.38, p = 0.03$). As the other parameters did not show

TABLE 1 | Fractional anisotropy (FA) and mean diffusivity (MD) values for the different cortical lobes.

		Patients		Healthy subjects		P
FA	Frontal cortex	0.173	± 0.009	0.171	± 0.007	0.38
	Parietal cortex	0.154	± 0.013	0.154	± 0.008	0.97
	Temporal cortex	0.169	± 0.012	0.177	± 0.007	0.009
	Occipital cortex	0.143	± 0.014	0.151	± 0.010	0.03
MD	Frontal cortex	0.957	± 0.030	0.935	± 0.029	0.01
	Parietal cortex	1.028	± 0.083	0.973	± 0.038	0.004
	Temporal cortex	0.909	± 0.037	0.861	± 0.026	<0.001
	Occipital cortex	1.010	± 0.123	0.917	± 0.049	0.001

Significant p-values are presented in bold. MD is given in units of $10^{-3} \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$.

significant group differences across the entire cortex, respective tests for correlation with EDSS were not performed.

DISCUSSION

The presented study investigates cortical changes in MS using high-resolution DTI techniques with improved intrinsic correction for eddy currents. A focal cortical FA decrease and more widespread areas with increased MD were observed. FA and MD changes distributed inhomogeneously across the cortex, indicating that cortical remodeling in MS might vary across the cortex.

The question arises which microstructural pathological changes are measured by cortical FA and MD. As FA values are high in fiber tracts, previous analyses indicate that axonal

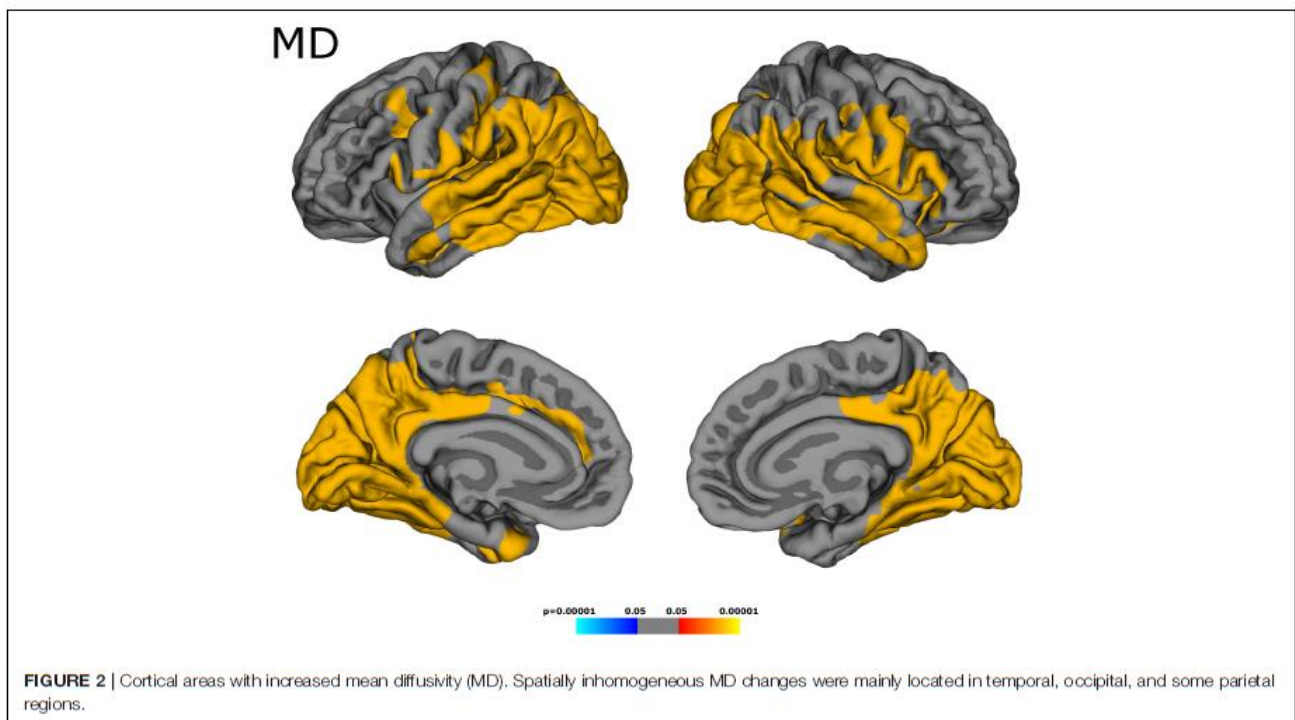
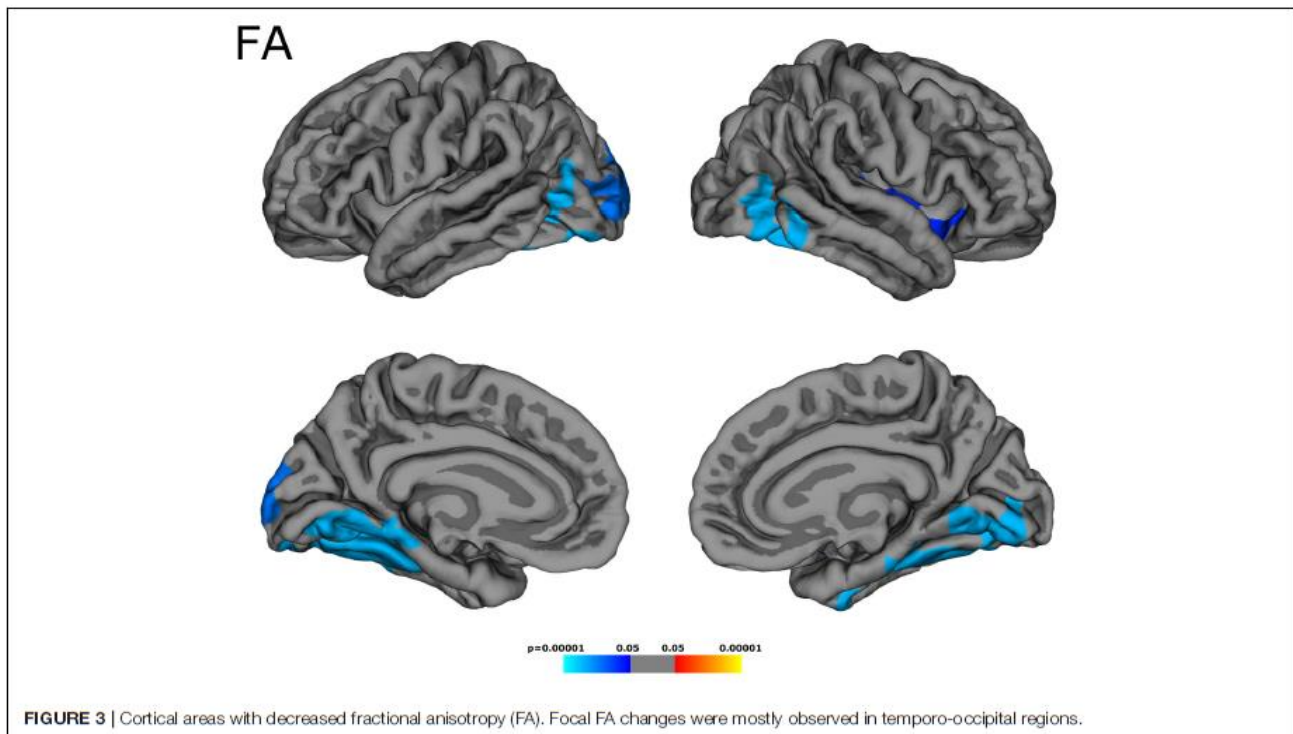


FIGURE 2 | Cortical areas with increased mean diffusivity (MD). Spatially inhomogeneous MD changes were mainly located in temporal, occipital, and some parietal regions.



degeneration might be reflected by FA decreases in MS (Ciccarelli et al., 2003). Furthermore, since MD quantifies the diffusion-related movement of water molecules which can be limited by barriers, it has been suggested that MD provides information about the integrity of microstructural barriers (Filippi et al., 2000). In the present study, most cortical regions with decreased FA in patients also showed increased MD. However, MD increases were found to be spatially more widespread than FA decreases. These results imply that changes of microstructural barriers might affect more cortical areas than axonal loss or that MD might be the more sensitive parameter.

The cortical MD ($0.97 \pm 0.05 \times 10^{-3} \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$) and FA values (0.17 ± 0.01) that were found for MS patients in the present investigation are within the range reported in previous studies (MD: $0.92\text{--}1.18 \times 10^{-3} \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$; FA: 0.13–0.23) (Griffin et al., 2001; Tortorella et al., 2006; Vrenken et al., 2006b; Ceccarelli et al., 2007; Rovaris et al., 2008; Yu et al., 2008; Calabrese et al., 2011; Hasan et al., 2012). The observed cortical MD increases are in line with results of previous studies which demonstrated increased MD in the GM (Ceccarelli et al., 2007; Rovaris et al., 2008; Yu et al., 2008) and in the cortex (Hasan et al., 2012) in MS. In contrast, other investigations reported no MD changes in the GM (Griffin et al., 2001; Tortorella et al., 2006). FA was decreased in some cortical regions in the presented and in a previous study (Vrenken et al., 2006b), while other investigations observed increased GM (Calabrese et al., 2011) and cortical FA values (Hasan et al., 2012) or no changes in the GM (Griffin et al., 2001; Tortorella et al., 2006). It should be noted that different DTI protocols and postprocessing steps and different

methods for identifying GM were used in previous studies which might explain the divergent results. In particular, some earlier studies (Griffin et al., 2001; Tortorella et al., 2006; Vrenken et al., 2006b; Rovaris et al., 2008) used DTI protocols with a slice thickness equal to or exceeding 5 mm (2 mm in the present study), which might increase the risk of partial volume effects and render cortical/GM analysis more difficult. Importantly, another explanation for some diverging findings might be that previous studies yielding negative results (Griffin et al., 2001; Tortorella et al., 2006) investigated patients with a shorter average disease duration of approximately 2 years (8 years in the present study). Therefore, it is likely that the cohorts in these previous investigations comprised patients with a lower degree of tissue changes as compared to the cohort in the presented study.

An optimized DW-trSE-EPI sequence with online eddy current compensation (Shrestha et al., 2018) was applied in the presented study. Conventional DW imaging based on a DW single-refocused SE preparation (Stejskal and Tanner, 1965; Turner et al., 1990) usually employs two identical monopolar DWGs which are placed symmetrically around a single refocusing RF pulse, followed by an EPI readout. The problem with this approach is that switching a monopolar DWG induces eddy currents, yielding image distortions that depend on the DWG direction. To overcome this problem, a DW-trSE-EPI sequence with intrinsic eddy current compensation was proposed, comprising four bipolar DWGs placed around two refocusing RF pulses (Heid, 2000; Reese et al., 2003). The method employs bipolar DWGs with identical amplitudes but different durations,

thus allowing for a full correction of eddy current artifacts. Recently, this sequence was further improved by introducing resolution-dependent crusher gradients, placed around the refocusing pulses (Shrestha et al., 2018). This optimized sequence was used in the presented investigation. While DTI techniques without intrinsic eddy current compensation acquire uncorrected data in a first step and apply postprocessing subsequently to correct for eddy-current-induced distortions, the method employed here avoids such artifacts intrinsically by using bipolar DWGs with mutual cancelation of their respective eddy current contributions directly prior to the EPI readout. Therefore, this method might be useful to minimize a technical bias on the FA and MD maps, which might otherwise impose an erroneously increased variation of the respective parameter values across the investigated cohort. Thus, in light of some diverging findings in previous studies, the method might be able to yield more reliable quantifications of MD and FA changes in MS. Possibly, this might be the reason why a significant correlation of cortical MD values with the clinical status (EDSS) could be observed in the presented study.

It should be noted that DTI techniques can also provide important information about tissue damage in the spinal cord in MS (Toosy et al., 2014; Oh et al., 2015). The trSE-EPI sequence with intrinsic eddy current compensation as proposed by Reese et al. (2003) and Heid (2000) was applied in a previous study of the spinal cord in MS to demonstrate that diffusional kurtosis imaging measuring both Gaussian and non-Gaussian properties of water diffusion is able to provide complementary information to DTI (Raz et al., 2013). The combination of the trSE-EPI sequence (Heid, 2000; Reese et al., 2003) with the optimizations proposed previously (Shrestha et al., 2018), as used in the present study, might also be applicable and useful for the assessment of the spinal cord in future studies.

A limitation of the study is the application of only one DTI-acquisition method with two b -values (0 and 1,000 s/mm²). It has been shown that DTI data based on acquisitions with multiple b -values can provide complementary information (Peled et al., 2009). Furthermore, diffusion measurement based on several b -values in MS (Ciccarelli et al., 2001) might increase accuracy even though the difference between the results of two and multiple-point techniques can be expected to be small (Burdette et al., 1998). Additionally, it should be noted that the sample size was relatively small. Future studies comparing different DTI acquisition methods with multiple b -values and analysis techniques in a larger MS cohort might help to further elucidate the

origins of the partly contradicting findings in previous DTI studies in MS.

In conclusion, the observed focal cortical FA decreases and more widespread MD increases indicate that inhomogeneously distributed clinically relevant cortical damage of microstructural barriers might locally go beyond axonal degeneration in RRMS. Furthermore, the findings suggest that DTI techniques might be helpful for the investigation of cortical damage in larger clinical studies, including trials comparing different therapy arms.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The datasets for this article are not available publicly or upon direct request because data sharing does not comply with the institutional ethics approval.

ETHICS STATEMENT

The studies involving human participants were reviewed and approved by the Ethik-Kommission des Fachbereichs Medizin des Universitätsklinikums der Goethe-Universität. The patients/participants provided their written informed consent to participate in this study.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

MS, RD, MW, and R-MG contributed to the conception and design of the study. BS, RD, MW, and R-MG organized the study. BS, MW, and R-MG executed the study and acquired the data. RD derived the synthetic MP-RAGE anatomies from the source data. R-MG derived the FA/MD maps from the source data, and designed and performed the statistical analysis. BS and R-MG wrote the first draft of the manuscript. All authors reviewed the statistical analysis and contributed to the manuscript revision and read and approved the submitted version.

FUNDING

This work was supported by the Clinician Scientists program at Goethe University and by the State of Hesse with a LOEWE-Grant to the CePTER-Consortium (<http://www.uni-frankfurt.de/67689811>). The sponsors did not influence the study design or the collection, analysis, or interpretation of data.

REFERENCES

- Andersson, J. L., Skare, S., and Ashburner, J. (2003). How to correct susceptibility distortions in spin-echo echo-planar images: application to diffusion tensor imaging. *Neuroimage* 20, 870–888. doi: 10.1016/S1053-8119(03)00336-7
- Andersson, J. L. R., and Sotiropoulos, S. N. (2016). An integrated approach to correction for off-resonance effects and subject movement in diffusion MR imaging. *Neuroimage* 125, 1063–1078. doi: 10.1016/j.neuroimage.2015.10.019
- Burdette, J. H., Elster, A. D., and Ricci, P. E. (1998). Calculation of apparent diffusion coefficients (ADCs) in brain using two-point and six-point methods. *J. Comput. Assist. Tomogr.* 22, 792–794. doi: 10.1097/00004728-199809000-00023
- Calabrese, M., Agosta, F., Rinaldi, F., Mattisi, I., Grossi, P., Favaretto, A., et al. (2009). Cortical lesions and atrophy associated with cognitive impairment in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Arch. Neurol.* 66, 1144–1150. doi: 10.1001/archneurol.2009.174

- Calabrese, M., Rinaldi, F., Seppi, D., Favaretto, A., Squarcina, L., Mattisi, I., et al. (2011). Cortical diffusion-tensor imaging abnormalities in multiple sclerosis: a 3-year longitudinal study. *Radiology* 261, 891–898. doi: 10.1148/radiol.11110195
- Ceccarelli, A., Rocca, M. A., Falini, A., Tortorella, P., Pagani, E., Rodegher, M., et al. (2007). Normal-appearing white and grey matter damage in MS. A volumetric and diffusion tensor MRI study at 3.0 Tesla. *J. Neurol.* 254, 513–518. doi: 10.1007/s00415-006-0408-4
- Cercignani, M., Dowell, N. G., and Tofts, P. (eds) (2018). *Quantitative MRI of the Brain: Principles of Physical Measurement*. Boca Raton FL: CRC Press.
- Ciccarelli, O., Werring, D. J., Barker, G. J., Griffin, C. M., Wheeler-Kingshott, C. A., Miller, D. H., et al. (2003). A study of the mechanisms of normal-appearing white matter damage in multiple sclerosis using diffusion tensor imaging. *J. Neurol.* 250, 287–292. doi: 10.1007/s00415-003-0992-5
- Ciccarelli, O., Werring, D. J., Wheeler-Kingshott, C. A., Barker, G. J., Parker, G. J., Thompson, A. J., et al. (2001). Investigation of MS normal-appearing brain using diffusion tensor MRI with clinical correlations. *Neurology* 56, 926–933. doi: 10.1212/wnl.56.7.926
- Dale, A. M., Fischl, B., and Sereno, M. I. (1999). Cortical surface-based analysis. I. Segmentation and surface reconstruction. *Neuroimage* 9, 179–194. doi: 10.1006/nimg.1998.0395
- Filippi, M., Iannucci, G., Cercignani, M., Assunta Rocca, M., Pratesi, A., and Comi, G. (2000). A quantitative study of water diffusion in multiple sclerosis lesions and normal-appearing white matter using echo-planar imaging. *Arch. Neurol.* 57, 1017–1021.
- Fischl, B., Sereno, M. I., and Dale, A. M. (1999). Cortical surface-based analysis. II: inflation, flattening, and a surface-based coordinate system. *Neuroimage* 9, 195–207. doi: 10.1006/nimg.1998.0396
- Gobbi, C., Rocca, M. A., Riccitelli, G., Pagani, E., Messina, R., Preziosa, P., et al. (2014). Influence of the topography of brain damage on depression and fatigue in patients with multiple sclerosis. *Mult. Scler.* 20, 192–201. doi: 10.1177/1352458513493684
- Gracien, R. M., Jurcoane, A., Wagner, M., Reitz, S. C., Mayer, C., Volz, S., et al. (2016). Multimodal quantitative MRI assessment of cortical damage in relapsing-remitting multiple sclerosis. *J. Magn. Reson. Imaging* 44, 1600–1607. doi: 10.1002/jmri.25297
- Gracien, R.-M., van Wijnen, A., Maiworm, M., Petrov, F., Merkel, N., Paule, E., et al. (2019). Improved synthetic T1-weighted images for cerebral tissue segmentation in neurological diseases. *Magn. Reson. Imaging* 61, 158–166. doi: 10.1016/j.mri.2019.05.013
- Greve, D. N., and Fischl, B. (2009). Accurate and robust brain image alignment using boundary-based registration. *Neuroimage* 48, 63–72. doi: 10.1016/j.neuroimage.2009.06.060
- Griffin, C. M., Chard, D. T., Ciccarelli, O., Kapoor, B., Barker, G. J., Thompson, A. J., et al. (2001). Diffusion tensor imaging in early relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult. Scler.* 7, 290–297. doi: 10.1177/135245850100700504
- Hasan, K. M., Walimuni, I. S., Abid, H., Wolinsky, J. S., and Narayana, P. A. (2012). Multi-modal quantitative MRI investigation of brain tissue neurodegeneration in multiple sclerosis. *J. Magn. Reson. Imaging* 35, 1300–1311. doi: 10.1002/jmri.23539
- Heid, O. (2000). Eddy current-nulled diffusion weighting. *Proc. Int. Soc. Magn. Reson. Med.* 8:799.
- Kurtzke, J. F. (1983). Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 33, 1444–1452.
- Oh, J., Sotirchos, E. S., Saidha, S., Whetstone, A., Chen, M., Newsome, S. D., et al. (2015). Relationships between quantitative spinal cord MRI and retinal layers in multiple sclerosis. *Neurology* 84, 720–728. doi: 10.1212/WNL.0000000000001257
- Peled, S., Whalen, S., Jolesz, F. A., and Golby, A. J. (2009). High b-value apparent diffusion-weighted images from CURVE-ball DTI. *J. Magn. Reson. Imaging* 30, 243–248. doi: 10.1002/jmri.21808
- Raz, E., Bester, M., Sigmond, E. E., Tabesh, A., Babb, J. S., Jaggi, H., et al. (2013). A better characterization of spinal cord damage in multiple sclerosis: a diffusional kurtosis imaging study. *Am. J. Neuroradiol.* 34, 1846–1852. doi: 10.3174/ajnr.A3512
- Reese, T. G., Heid, O., Weisskoff, R. M., and Wedeen, V. J. (2003). Reduction of eddy-current-induced distortion in diffusion MRI using a twice-refocused spin echo. *Magn. Reson. Med.* 49, 177–182. doi: 10.1002/mrm.10308
- Rovaris, M., Riccitelli, G., Judica, E., Possa, F., Caputo, D., Ghezzi, A., et al. (2008). Cognitive impairment and structural brain damage in benign multiple sclerosis. *Neurology* 71, 1521–1526. doi: 10.1212/01.wnl.0000319694.14251.95
- Shrestha, M., Hok, P., Nöth, U., Lienerth, B., and Deichmann, R. (2018). Optimization of diffusion-weighted single-refocused spin-echo EPI by reducing eddy-current artifacts and shortening the echo time. *MAGMA* 31, 585–597. doi: 10.1007/s10334-018-0684-x
- Smith, S. M. (2002). Fast robust automated brain extraction. *Hum. Brain Mapp.* 17, 143–155. doi: 10.1002/hbm.10062
- Smith, S. M., Jenkinson, M., Woolrich, M. W., Beckmann, C. F., Behrens, T. E., Johansen-Berg, H., et al. (2004). Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. *Neuroimage* 23(Suppl. 1):19. doi: 10.1016/j.neuroimage.2004.07.051
- Stejskal, E. O., and Tanner, J. E. (1965). Spin diffusion measurements: spin echoes in the presence of a time-dependent field gradient. *J. Chem. Phys.* 42, 288–292. doi: 10.1063/1.1695690
- Toosy, A. T., Kou, N., Altmann, D., Wheeler-Kingshott, C. A., Thompson, A. J., and Ciccarelli, O. (2014). Voxel-based cervical spinal cord mapping of diffusion abnormalities in MS-related myelitis. *Neurology* 83, 1321–1325. doi: 10.1212/WNL.0000000000000857
- Tortorella, P., Rocca, M. A., Mezzapesa, D. M., Ghezzi, A., Lamantia, L., Comi, G., et al. (2006). MRI quantification of gray and white matter damage in patients with early-onset multiple sclerosis. *J. Neurol.* 253, 903–907. doi: 10.1007/s00415-006-0129-8
- Turner, R., Le Bihan, D., Maier, J., Vavrek, R., Hedges, L. K., and Pekar, J. (1990). Echo-planar imaging of intravoxel incoherent motion. *Radiology* 177, 407–414. doi: 10.1148/radiology.177.2.2217777
- van Wijnen, A., Petrov, F., Maiworm, M., Frisch, S., Foerch, C., Hattingen, E., et al. (2019). Cortical quantitative MRI parameters are related to the cognitive status in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Eur. Radiol.* 30, 1045–1053. doi: 10.1007/s00330-019-06437-9
- Vrenken, H., Geurts, J. G., Knol, D. L., van Dijk, L. N., Dattola, V., Jaspere, B., et al. (2006a). Whole-brain T1 mapping in multiple sclerosis: global changes of normal-appearing gray and white matter. *Radiology* 240, 811–820. doi: 10.1148/radiol.2403050569
- Vrenken, H., Pouwels, P. J., Geurts, J. J., Knol, D. L., Polman, C. H., Barkhof, F., et al. (2006b). Altered diffusion tensor in multiple sclerosis normal-appearing brain tissue: cortical diffusion changes seem related to clinical deterioration. *J. Magn. Reson. Imaging* 23, 628–636. doi: 10.1002/jmri.20564
- Yu, C. S., Lin, F. C., Liu, Y., Duan, Y., Lei, H., and Li, K. C. (2008). Histogram analysis of diffusion measures in clinically isolated syndromes and relapsing-remitting multiple sclerosis. *Eur. J. Radiol.* 68, 328–334. doi: 10.1016/j.ejrad.2007.08.036

Conflict of Interest: HS has received speaker's honoraria from Bayer, Sanofi, and Boehringer Ingelheim. RD received compensation as a consultant for MR scanner procurement by the Wellcome Trust Centre for Neuroimaging, UCL, London, United Kingdom.

The remaining authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2020 Stock, Shrestha, Seiler, Foerch, Hattingen, Steinmetz, Deichmann, Wagner and Gracien. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Darstellung des eigenen Anteils an der Publikation

B. Stock trug zur Organisation der Studie bei und erhob selbstständig MRT-Daten. Er führte die Auswertung unterstützt durch den Betreuer durch. Das Manuskript wurde durch ihn selbstständig unter Supervision durch Prof. Gracien verfasst, eingereicht und überarbeitet.

Literaturverzeichnis

1. Petersen G, Wittmann R, Arndt V, Göppfarth D. Epidemiologie der Multiplen Sklerose in Deutschland. *Der Nervenarzt*. 2014;85:990-998. doi: 10.1007/s00115-014-4097-4
2. Calabrese M, Agosta F, Rinaldi F, et al. Cortical lesions and atrophy associated with cognitive impairment in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Arch. Neurol.* 2009;66:1144-1150. doi: 10.1001/archneurol.2009.174
3. Gobbi C, Rocca MA, Riccitelli G, et al. Influence of the topography of brain damage on depression and fatigue in patients with multiple sclerosis. *Mult. Scler.* 2014;20:192-201. doi: 10.1177/1352458513493684
4. Cercignani M, Dowell NG, Tofts P (eds). *Quantitative MRI of the Brain: Principles of Physical Measurement*. Boca Raton, FL: CRC Press; 2018.
5. Ceccarelli A, Rocca MA, Falini A, et al. Normal-appearing white and grey matter damage in MS. A volumetric and diffusion tensor MRI study at 3.0 Tesla. *J. Neurol.* 2007;254:513-518. doi: 10.1007/s00415-006-0408-4
6. Rovaris M, Riccitelli G, Judica E, et al. Cognitive impairment and structural brain damage in benign multiple sclerosis. *Neurology*. 2008;71:1521-1526. doi: 10.1212/01.wnl.0000319694.14251.95
7. Yu CS, Lin FC, Liu Y, Duan Y, Lei H, Li KC. Histogram analysis of diffusion measures in clinically isolated syndromes and relapsing-remitting multiple sclerosis. *Eur. J. Radiol.* 2008;68:328-334. doi: 10.1016/j.ejrad.2007.08.036
8. Hasan KM, Walimuni IS, Abid H, Wolinsky JS, Narayana PA. Multi-modal quantitative MRI investigation of brain tissue neurodegeneration in multiple sclerosis. *J. Magn. Reson. Imaging*. 2012;35:1300-1311. doi: 10.1002/jmri.23539
9. Griffin CM, Chard DT, Ciccarelli O, et al. Diffusion tensor imaging in early relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult. Scler.* 2001;7:290-297. doi: 10.1177/135245850100700504
10. Tortorella P, Rocca MA, Mezzapesa DM, et al. MRI quantification of gray and white matter damage in patients with early-onset multiple sclerosis. *J. Neurol.* 2006;253:903-907. doi: 10.1007/s00415-006-0129-8

11. Calabrese M, Rinaldi F, Seppi D, et al. Cortical diffusion-tensor imaging abnormalities in multiple sclerosis: a 3-year longitudinal study. *Radiology*. 2011;261:891-898. doi: 10.1148/radiol.11110195
12. Vrenken H, Pouwels PJ, Geurts JJ, et al. Altered diffusion tensor in multiple sclerosis normal-appearing brain tissue: cortical diffusion changes seem related to clinical deterioration. *J. Magn. Reson. Imaging*. 2006;23:628-636. doi: 10.1002/jmri.20564
13. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*. 1983;33:1444-1452.
14. Shrestha M, Hok P, Nöth U, Lienerth B, Deichmann R. Optimization of diffusion-weighted single-refocused spin-echo EPI by reducing eddy-current artifacts and shortening the echo time. *MAGMA*. 2018;31:585-597. doi: 10.1007/s10334-018-0684-x
15. Filippi M, Iannucci G, Cercignani M, Assunta Rocca M, Pratesi A, and Comi G. A quantitative study of water diffusion in multiple sclerosis lesions and normal-appearing white matter using echo-planar imaging. *Arch. Neurol*. 2000;57:1017-1021.
16. Ciccarelli O, Werring DJ, Barker GJ, et al. A study of the mechanisms of normal-appearing white matter damage in multiple sclerosis using diffusion tensor imaging. *J. Neurol*. 2003;250:287-292. doi: 10.1007/s00415-003-0992-5
17. Heid O. Eddy current-nulled diffusion weighting. *Proc. Int. Soc. Magn. Reson. Med*. 2000;8:799.
18. Reese TG, Heid O, Weisskoff RM, Wedeen VJ. Reduction of eddy-current-induced distortion in diffusion MRI using a twice-refocused spin echo. *Magn. Reson. Med*. 2003;49:177-182. doi: 10.1002/mrm.10308
19. Gracien RM, van Wijnen A, Maiworm M, et al. Improved synthetic T1-weighted images for cerebral tissue segmentation in neurological diseases. *Magn. Reson. Imaging*. 2019;61:158-166. doi: 10.1016/j.mri.2019.05.013
20. Dale AM, Fischl B, Sereno MI. Cortical surface-based analysis. I. Segmentation and surface reconstruction. *Neuroimage*. 1999;9:179-194. doi: 10.1006/nimg.1998.0395

21. Fischl B, Sereno MI, Dale AM. Cortical surface-based analysis. II: inflation, flattening, and a surface-based coordinate system. *Neuroimage*. 1999;9:195-207. doi: 10.1006/nimg.1998.0396
22. Smith SM, Jenkinson M, Woolrich MW, et al. Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. *Neuroimage*. 2004;23(Suppl. 1):19. doi: 10.1016/j.neuroimage.2004.07.051
23. Andersson JLR, Skare S, Ashburner J. How to correct susceptibility distortions in spin-echo echo-planar images: application to diffusion tensor imaging. *Neuroimage*. 2003;20:870-888. doi: 10.1016/S1053-8119(03)00336-7
24. Andersson JLR, Sotiropoulos SN. An integrated approach to correction for off-resonance effects and subject movement in diffusion MR imaging. *Neuroimage*. 2016;125:1063-1078. doi: 10.1016/j.neuroimage.2015.10.019
25. Greve DN, Fischl B. Accurate and robust brain image alignment using boundary-based registration. *Neuroimage*. 2009;48:63-72. doi: 10.1016/j.neuroimage.2009.06.060

Schriftliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Dissertation mit dem Titel

Charakterisierung mikrostruktureller, kortikaler Pathologie bei Multipler Sklerose mittels Diffusions-Tensor-Bildgebung

in der Klinik für Neurologie unter Betreuung und Anleitung von Prof. Dr. René-Maxime Gracien mit Unterstützung durch Prof. Dr. Marlies Wagner ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe. Darüber hinaus versichere ich, nicht die Hilfe einer kommerziellen Promotionsvermittlung in Anspruch genommen zu haben.

Ich habe bisher an keiner in- oder ausländischen Universität ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht. Die vorliegende Arbeit wurde bisher nicht als Dissertation eingereicht.

Vorliegende Ergebnisse der Arbeit wurden in folgendem Publikationsorgan veröffentlicht:

Stock B, Shrestha M, Seiler A, Foerch C, Hattingen E, Steinmetz H, Deichmann R, Wagner M, Gracien RM. Distribution of cortical diffusion tensor imaging changes in multiple sclerosis. *Frontiers in Physiology*. 2020;11:116 doi: 10.3389/fphys.2020.00116

(Ort, Datum)

(Unterschrift)