

Bestimmung kortikaler Dicke mit räumlich hoch- und ultra-hochaufgelöster MRT bei 7 Tesla

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium

(Dr. rer. nat.)

genehmigt durch die Fakultät für Naturwissenschaften
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

von **Dipl. –Phys. Shan Yang**

geb. am 19.07.1983 in Shehong, V. R. China

Gutachter: **Prof. Dr. rer. nat. habil. Oliver Speck**

Gutachter: **Prof. Dr. rer. nat. med. habil. Jürgen R. Reichenbach**

Eingereicht am: 21.03.2014

Verteidigt am: 27.08.2014

Konfuzius sprach:

"Lernen, ohne zu denken, ist eitel, denken, ohne zu lernen, ist gefährlich."

子曰：“学而不思则罔，思而不学则殆”

INHALTSVERZEICHNIS

| | | |
|------------------|---|-----------|
| KAPITEL 1 | EINLEITUNG | 1 |
| KAPITEL 2 | ALLGEMEINE GRUNDLAGEN | 5 |
| 2.1 | MR-BILDGEBUNG | 5 |
| 2.2 | BILDVERARBEITUNG..... | 17 |
| KAPITEL 3 | KORTIKALE DICKE <i>IN VIVO</i> | 27 |
| 3.1 | EINLEITUNG | 27 |
| 3.2 | METHODEN | 29 |
| 3.3 | ERGEBNISSE | 30 |
| KAPITEL 4 | <i>EX VIVO</i> BILDGEBUNG UND KORTIKALE DICKE | 35 |
| 4.1 | EINLEITUNG | 35 |
| 4.2 | METHODEN | 38 |
| 4.3 | ERGEBNISSE | 45 |
| KAPITEL 5 | VORBEREITUNG ZUR BESTIMMUNG DER KORTIKALEN DICKE MITTELS HISTOLOGIE 57 | |
| 5.1 | EINLEITUNG | 57 |
| 5.2 | METHODE..... | 61 |
| 5.3 | ERGEBNISSE | 66 |
| KAPITEL 6 | DISKUSSION | 71 |
| 6.1 | KORTIKALE DICKEN <i>IN VIVO</i> | 71 |
| 6.2 | KORTIKALE DICKE <i>EX VIVO</i> | 74 |

| | |
|--|---|
| 6.3 HISTOLOGISCHE REKONSTRUKTION | 78 |
| KAPITEL 7 ZUSAMMENFASSUNG..... | 83 |
| LITERATURVERZEICHNIS..... | FEHLER! TEXTMARKE NICHT DEFINIERT. |
| ANHANG | 97 |

ZUSAMMENFASSUNG

Die Dicke der Großhirnrinde, die sogenannte kortikale Dicke, ist eines der wichtigen Kriterien bei strukturellen Untersuchungen in der Neurowissenschaft. Bei vielen neurologischen Erkrankungen wie Alzheimer und Schizophrenie werden Veränderungen der kortikalen Dicken festgestellt. Mit Hilfe spezieller bildgebender Verfahren der Magnetresonanztomografie (MRT) wurde es möglich, die kortikale Dicke *in vivo* zu bestimmen. Bisher wurde hierbei meist eine isotrope räumliche Auflösung von 1 mm verwendet. Aufgrund von Partialvolumeneffekten ist die Bestimmung der kortikalen Dicken mit niedriger räumlicher Auflösung möglicherweise ungenauer als mit höherer Auflösung.

Das Hauptziel dieser Arbeit ist die Bestimmung der kortikale Dicke mit höherer räumlicher Auflösung (0,7 mm/Pixel isotop *in vivo*, 0,15 mm/Pixel isotop *ex vivo*). Aufgrund des erhöhten Signal-zu-Rausch-Verhältnisses (SNR) ermöglicht die 7-Tesla-MRT eine höhere räumliche Auflösung als es bei geringeren Feldstärken möglich ist. Gleichzeitig nimmt die Homogenität der Kippwinkelverteilung im Bild ab. Um dem entgegen zu wirken, wurden zahlreiche Methoden vorgeschlagen und sind weit verbreitet. Eine dieser Methoden beruht auf dem Prinzip, die Daten der magnetisierungs-präparierten Gradientenecho-Aufnahme (MPRAGE engl. für Magnetization Prepared Rapid Gradient Echo) durch die Daten der Gradientenecho (GE)-Sequenz zu dividieren. Eine etwas erweiterte Berechnung erfolgt bei der magnetisierungspräparierten zwei Gradientenecho-Aufnahme (MP2RAGE engl. für Magnetization Prepared 2 Rapid Acquisition Gradient Echoes)-Sequenz, welche die Aufnahme der MPRAGE- und GE-Daten in einer Sequenz kombiniert. Jedoch ist die Auswirkung der beiden Methoden (MPRAGE/GE und MP2RAGE) auf die Bestimmung der kortikale Dicke bei höheren räumlichen Auflösungen unklar. Daher werden im ersten Teil dieser Promotionsarbeit die beide Methoden *in vivo* mit einer isotropen räumlichen Auflösung von 0,7 mm verglichen. Es zeigt sich, dass die Reproduzierbarkeit der Bestimmung der kortikalen Dicken mittels MPRAGE/GE höher ist, als mit MP2RAGE.

Aufgrund des Fehlens eines „Goldstandard“ ist die Richtigkeit der gemessenen kortikalen Dicken unklar. Jedoch ist eine Annäherung durch Minimierung des Partialvolumeneffekts, d.h. durch Erhöhung der räumlichen Auflösung, möglich. Im zweiten Teil dieser Arbeit werden Daten mit einer räumlichen Auflösung bis zu 0,15 mm isotrop für ein ganzes *ex vivo* Gehirn präsentiert und untersucht. Es wird eine Abhängigkeit zwischen den gemessenen kortikalen Dicken und der räumlichen Auflösung dargestellt. Somit kann die kortikale Dicke unabhängig von der räumlichen Auflösung geschätzt werden.

Da sich das SNR der gemessenen Daten mit steigender Auflösung verschlechtert, ist das Auflösungsvermögen der MR-Bildgebung begrenzt. Hingegen ist die räumliche Auflösung in der Histologie etwa 10-fach höher. Außerdem bietet die Histologie durch verschiedene Färbungsmethoden mehrere Kontrastmechanismen, was erweiterte Hinweise für eine Veränderung der kortikalen Dicken geben und eine genauere pathologische Diagnose ermöglichen kann. Jedoch generiert die histologische Bildgebung nur zweidimensionale Daten. Im dritten Teil dieser Promotionsarbeit wird eine dreidimensionale Rekonstruktion der Histologie mit Hilfe ultra-hochauflöster MR-Daten demonstriert und optimiert. Damit kann die Histologie in Zukunft als „Goldstandard“ für MR-Bildgebung verwendet werden, was einen Vergleich der Ergebnisse verschiedener Methoden zur Bestimmung der kortikalen Dicken ermöglicht.

ABSTRACT

The thickness of the cerebral cortex, so called cortical thickness, is an important criteria for structural studies in neuroscience. Many neurological diseases including Alzheimer's and schizophrenia show altered cortical thickness. Magnetic resonance imaging has made it possible to measure the cortical thickness in vivo, typically using 1 mm isotropic spatial resolution. Due to the partial volume effect, the measurement accuracy may increase with spatial resolution.

The main focus of this work is to measure the cortical thickness with higher than normal spatial resolution. Increased signal to noise ratio (SNR) using 7-Tesla MRI as opposed to 3-Tesla enables increased spatial resolution. However, the homogeneity of the flip angle distribution in the images decreases at the same time. In order to correct this, numerous techniques are proposed and widely used. One such technique is based on the principle that the data of magnetization prepared rapid gradient echo sequence (MPRAGE) are divided by the reference data of a gradient echo sequence (GE). The extended technique, magnetization prepared 2 rapid acquisition gradient echo (MP2RAGE) combines the MPRAGE and GE in one sequence. However, the effect of the two methods (MPRAGE/GE and MP2RAGE) in terms of measurement of cortical thickness at higher spatial resolutions was unclear. Therefore, in the first part of this study, we compared these two methods in vivo with 0,7 mm spatial resolution. We found that the reproducibility of the measurement of cortical thickness by MPRAGE/GE is higher than by MP2RAGE.

One major limitation to date was the lack of a “gold standard” with which to assess the accuracy of the measured cortical thickness. But an approximation to the “gold standard” is possible by increasing the spatial resolution, minimizing the partial volume effect. In the second part of this work, the imaging with up to 0,15 mm resolution for an entire human brain will be presented and examined. The dependency between the measured cortical thickness and spatial resolution will be shown, allowing the estimation of cortical thickness at any spatial resolution.

Since the SNR of the measured data decreases with increasing spatial resolution, the resolution of the MR imaging is limited. However, the resolution of histology is almost 10 times higher. Coupling the higher resolution of histology with advanced staining methods, it is possible to provide a more accurate indication of the change in cortical thickness and enabling a more accurate pathological diagnosis. The histological imaging is currently only two dimensional. Hence in the third part of this thesis, we demonstrate and optimize the 3D histological reconstruction guided by ultra-high resolution MRI at 7T. Thus, the histology can be used in the future as the “gold standard” for MR imaging, allowing a comparison of the results of different methods for the measurement of cortical thickness.

Kapitel 1 EINLEITUNG

Seit 30 Jahren ist die Magnetresonanztomographie (MRT) sowohl in der Klinik als auch in der Forschung fest etabliert. Durch sie war es erstmals möglich, ein Bild der Flüssigkeiten und weichen Gewebe im lebenden Menschen aufzunehmen, während solche Informationen früher nur anhand von Zellproben oder nach dem Tod gewonnen werden konnten. Ein wichtiger Grund für die rasante Entwicklung der MRT-Technik war, dass die in der MRT gewonnenen Befunde in der Pathologie und Histologie bestätigt werden konnten. Aufgrund der Möglichkeit einer hohen räumlichen Auflösung der relativ kleinen Strukturen des Gehirns besteht ein großes Interesse der Neurowissenschaften an der Nutzung der bildgebenden Verfahren der MRT. Dabei wird die Struktur des Gehirns sowohl qualitativ betrachtet, also Unterschiede der longitudinalen Relaxationszeiten (T1)-, den transversalen Relaxationszeiten (T2)- und Spindichte-gewichteten Eigenschaften der Gewebe ermittelt, als auch nach strukturellen Kriterien quantitativ ausgewertet. Die kortikale Dicke ist ein solches quantitatives Kriterium. In früheren Arbeiten wurde auf diese Weise bereits ein Zunehmen der kortikalen Dicke bei Schizophrenie (Kuperberg et al. 2003; Narr et al. 2005) und ein Abnehmen bei Alzheimer (Lerch 2004) und Multipler Sklerose (Sailer 2003) nachgewiesen.

Für eine solche quantitative Bestimmung wird eine Bildgebungsmethode benötigt, die sowohl hohen Kontrast zwischen grauer Substanz (GM engl. für gray matter) und weißer Substanz (WM engl. für white matter) als auch eine möglichst hohe räumliche Auflösung bietet. Für eine korrekte Klassifizierung beider Substanzen ist eine eindeutige Grenze zwischen ihnen erforderlich. Häufig enthält ein Bildpunkt (Voxel), der entlang einer Gewebegrenze verläuft nicht nur eine Substanz, sondern eine Mischung aus zwei Substanzen. Solche Voxel werden typischerweise als GM klassifiziert (Frackowiak, Richard S. J et al. 2004, S. 702). Aufgrund dieses

Kapitel 1

Partialvolumeneffektes nimmt das Problem mit abnehmender räumlicher Auflösung linear zu (siehe Abbildung 4-1 und Abbildung 4-2).

Mit zunehmender räumlich isotroper (iso) Auflösung nehmen das Voxelvolumen, und folglich auch die Signalintensität, proportional mit der dritten Potenz der Kantenlänge ab. Die Magnetisierung nimmt jedoch mit ansteigender magnetischer Feldstärke linear zu. Seit der Jahrhundertwende hat sich die magnetische Feldstärke von 3T, die zurzeit in der klinischen Diagnostik häufig verwendet wird, auf bis zu 7T mehr als verdoppelt. Die höheren Feldstärken bringen eine Verbesserung des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses (SNR) mit sich, wovon Messungen mit hoher räumlicher Auflösung enorm profitieren. Allerdings kommen auch neue Problematiken hinzu. Die Wellenlänge der Resonanzfrequenz reduziert sich linear mit zunehmender Feldstärke und beträgt bei 7T ca. 11 cm in Gewebe. Damit ist die Wellenlänge meist kürzer als die Ausdehnung der abzubildenden Objekte, wie z.B. Abdomen oder Kopf. Die resultierende Anregung im Objekt wird deshalb ungleichmäßig und führt zu einer ortsabhängigen Variation der Kippwinkel. Daher gibt es Überhöhungen und Abschattungen im Bild durch Inhomogenität. Diese Inhomogenität kann durch verschiedene Techniken wie optimierte Sequenzen und Bildnachbearbeitung, die in dieser Arbeit erläutert werden, reduziert werden.

Ein zweites Problem ist die spezifische Absorptionsrate (SAR), die quadratisch mit der magnetischen Feldstärke zunimmt. Sicherheitsrichtlinien schreiben vor, wie viel Energie im Gewebe deponiert werden darf. Daher ist die Verwendung von Sequenzen wie Spin-Echo-Sequenzen, welche viele und starke Hochfrequenz (HF)-Pulse benötigen, beschränkt. Im Gegensatz hierzu sind die auf Gradientenecho (GE) basierende Sequenzen weniger sensitiv für die HF-Inhomogenität und die spezifische Absorptionsrate (SAR) ist geringer. Daher haben sich solche Gradientenecho-Sequenzen als geeignete Methoden für strukturelle Messungen bei 7T etabliert. Die magnetisierungspräparierte Gradientenecho-Aufnahme (MPRAGE) (Mugler und Brookeman 1990) erzeugt einen hohen T1-gewichteten Kontrast und ermöglicht hohe räumliche Auflösung und wird bereits seit über 10 Jahren für die voxelbasierte Morphometrie verwendet (Ashburner und Friston 2000). Durch Optimierung der HF-Pulse kann die Schwankungen der Intensität reduziert werden (Deichmann et al. 2000), jedoch variiert die Intensität der Bilder bei 7T weiterhin

stark. Van de Moortele (van de Moortele et al. 2009) demonstrierte eine optimierte Methode, welche die Bildinhomogenität von MPRAGE durch eine Gradientenecho (GE)-Referenzmessung korrigieren kann. Diese Methode verlängert die Dauer der Messung um ca. 60%. Marques (Marques et al. 2010) präsentierte ein Jahr später eine weiterentwickelte MPRAGE Sequenz, genannt MP2RAGE, in der beide Messungen (MPRAGE und GE) integriert wurden. Die Wirkung der beiden neuen Methoden auf die Bestimmung der kortikalen Dicken ist jedoch unklar. Im ersten Teil dieser Arbeit wird daher ein Vergleich der beiden Sequenzen *in vivo* mit einer isotropen räumlichen Auflösung von 0,7 mm durchgeführt. Die Reproduzierbarkeit wird getestet.

Es ist zwar bekannt, dass der menschlichen Kortex durchschnittlich 1,5 – 5 mm dick ist (Zilles 1990), jedoch gibt es noch keinen „Goldstandard“. Bisherige Studien konnten die kortikale Dicke dabei nur relativ zueinander vergleichen. Wie präzise die Ergebnisse wirklich sind, bleibt bisher unklar. Aufgrund der höheren räumlichen Auflösung der in dieser Arbeit verwendeten Methoden und der damit verbundenen Reduzierung des Partialvolumeneffektes, wird eine präzisere Bestimmung der kortikalen Dicken erwartet. Gemeinsam mit den immer höheren Auflösungen (von 2 mm iso auf 0,5 mm iso) wurden die Verarbeitungsmethoden für solche Bilddaten angepasst. Lüsebrink (Lüsebrink et al. 2013) hat berichtet, dass bei einer niedrigeren räumlichen Auflösung (1 mm iso) ein dickerer Kortex als bei einer höheren Auflösung (0,5 mm iso) bestimmt wird. Im zweiten Teil dieser Arbeit wurden *ex vivo* Gehirne gescannt, um eine sehr hohe räumliche Auflösung (bis zu 0,15 mm iso) durch sehr lange Scan-Zeiten erreichen zu können. Die kortikale Dicke wurde dann aus Datensätzen mit verschiedenen räumlichen Auflösungen bestimmt, um eine Näherung an die wahre kortikale Dicke zu erreichen.

Trotz der erzielten Fortschritte ist die räumliche Auflösung auch am 7T immer noch beschränkt. Das SNR nimmt wie die Volumina mit der dritten Potenz der Voxel-Kantenlänge ab. Bei zu hoher Auflösung wird daher das Bild so verrauscht, dass die morphometrische Analyse wieder an Genauigkeit einbüßt. Eine extrem lange Messdauer (>4h) und die extrem großen Datensätze (ca. 200 GB) machen solche Messungen sehr unhandlich. Außerdem führen Artefakte im MR-Bild und ungenaue

Kapitel 1

Bildverarbeitungsverfahren zu weiteren Problemen. Die räumliche Auflösung in der Histologie ist unter dem optischen Mikroskop hingegen viel höher (bis zu 0,02 mm x 0,02 mm). Die Substanz der Zellen wie Myelin, in der GM und in der WM reagieren unterschiedlich auf die Färbungsverfahren in der Histologie. Daher kann ein hoher Kontrast zwischen GM und WM durch eine geeignete Färbung erzeugt werden, was weitere Hinweise für eine Veränderung der kortikalen Dicken geben und eine genauere Diagnose ermöglichen kann. Der T1- und T2-Kontrast in der MRT zwischen GM und WM hängt häufig von der Präsenz des Myelin ab (Tofts 2003, S. 169–171). Als Vergleichsmaßstab der ermittelten kortikalen Dicken dienen histologische Ergebnisse, deren Genauigkeit um Größenordnungen höher ist. Deshalb ist es sinnvoll, einen Vergleich zwischen MR Bildgebung und Histologie durchzuführen. Damit kann die Übereinstimmung der mittels MR und Histologie bestimmten kortikalen Dicken direkt bestimmt werden. Jedoch ist die Histologie bisher nur zweidimensional. Sie lässt sich schwer mit dreidimensionalen MR-Daten vergleichen. Deshalb wird ein Verfahren im dritten Teil dieser Arbeit demonstriert und optimiert, mit dessen Hilfe von räumlich hochaufgelösten MRT-Aufnahmen bei 7T die histologischen 2D-Schnitte in 3D rekonstruiert werden und ein Vergleich zwischen den beiden ermöglicht wird.

Kapitel 2 ALLGEMEINE GRUNDLAGEN

Um eine MR-basierte Bestimmung der kortikalen Dicken besser zu verstehen, sollen hierzu im Folgenden zwei grundlegende Aspekte behandelt werden. Als Erstes wird die MR-Bildgebung besprochen. Die relevanten physikalischen Grundlagen, die für spätere Bildverarbeitung wichtig sind, werden erklärt. Hierbei wird beispielsweise auf die Aspekte SNR, Bildkontrast und Messsequenzen eingegangen. Teile dieser Themen sind in der Literatur bereits ausführlich beschrieben, so dass hier eine schlichte Wiederholung vermieden werden soll. Als Zweites werden die häufig verwendeten Bildbearbeitungsmethoden in dieser Arbeit erläutert. Hierzu zählen z.B. Inhomogenitätskorrektur, Registrierung und Segmentierung.

2.1 MR-Bildgebung

Die Entdeckung der physikalischen Grundlagen der Kernmagnetresonanz liegt bereits lange zurück. Der Zeeman-Effekt war die erste Beobachtung der Wechselwirkung zwischen Magnetfeld und Spins. Wolfgang Pauli begründete die Theorie im Jahr 1924. Die Kern-Magnet-Resonanz wurde danach in der physikalischen Chemie weiter entwickelt. Anfang der 70er Jahren beobachtete Raymond Damadian die Veränderung der Längsrelaxationszeit (T1) und der Querrelaxationszeit (T2) im Tumor. Paul Christian Lauterbur verwendete ein Gradientenfeld, um das MR-Signal räumlich zu kodieren. Zusammen mit Sir Peter Mansfield erhielt er für seine Arbeit 2003 den Nobelpreis für Physiologie oder Medizin.

Kapitel 2

2.1.1 Signal

In $s=1/2$ Systeme sowie Wasserstoffantom, Spins orientieren sich in einem äußeren Magnetfeld mit (up) oder entgegen (down) der Magnetfeldlinien. Aufgrund der Boltzmann-Verteilung gilt für die Differenz zwischen beiden Zuständen:

$$\Delta N \approx N \frac{\hbar \omega_0}{2kT} \quad (2-1)$$

wobei N die Anzahl der gesamten Spins, \hbar das Planck'sche Wirkungsquantum, k die Boltzmann-Konstante und T die Temperatur ist. Insgesamt befinden sich bei Körpertemperatur und $B_0 = 7\text{T}$ lediglich 1 ppm mehr Spins im niederenergetischen up-Zustand als im down-Zustand. Die Spins präzedieren mit der Larmorfrequenz:

$$\omega_0 = \gamma B_0 \quad (2-2)$$

wobei B_0 die magnetische Flussdichte, und γ das gyromagnetische Verhältnis ist. Die Longitudinalmagnetisierung, die entlang der äußeren Magnetfeldrichtung läuft, entspricht der Differenz der Besetzungszahlen der Zustände der Spins ΔN multipliziert mit $\gamma \hbar / 2$. Es folgt dann:

$$M_0 = \frac{\rho_0 \gamma^2 \hbar^2}{4kT} B_0 \quad (2-3)$$

ρ_0 ist hierbei die Spindichte. Es ist zu sehen, dass die Magnetisierung proportional zur Magnetfeldstärke ist.

2.1.2 Kontrast

In Gleichung (2-3) ist zu sehen, dass die Magnetisierung außerdem von der Spindichte abhängt. Die Gewebe im menschlichen Körper enthalten unterschiedlich viel Wasserstoff. Daraus resultiert ein sogenannter spindichtegewichteter Kontrast.

Die Longitudinalmagnetisierung wird durch eine elektromagnetische Welle mit der Larmorfrequenz in die transversale Ebene abgelenkt. Diese Welle wird

Hochfrequenzpuls (HF-Puls) genannt. Der Winkel der Ablenkung hängt linear vom Zeitintegral über den HF-Puls ab.

Die abgelenkte Magnetisierung wird nach der Anregung wieder in ihr Gleichgewicht zurückkehren. Je nachdem wie schnell die Spins die Energie, die sie vom HF-Puls bekommen haben, wieder an ihre Umgebung weitergeben können, dauert dieser Spin-Gitter-Relaxation genannte Prozess unterschiedlich lange. Seine Dauer wird durch die charakteristische T1-Zeit beschrieben. Die Magnetisierung in z-Richtung (parallel zum stationären externen Magnetfeld) nach der Zeit t lautet:

$$M_z(t) = M_z(0)e^{-t/T_1} + M_0(1 - e^{-t/T_1}) \quad (2-4)$$

wobei $M_z(0)$ die Magnetisierung direkt nach der Anregung ist.

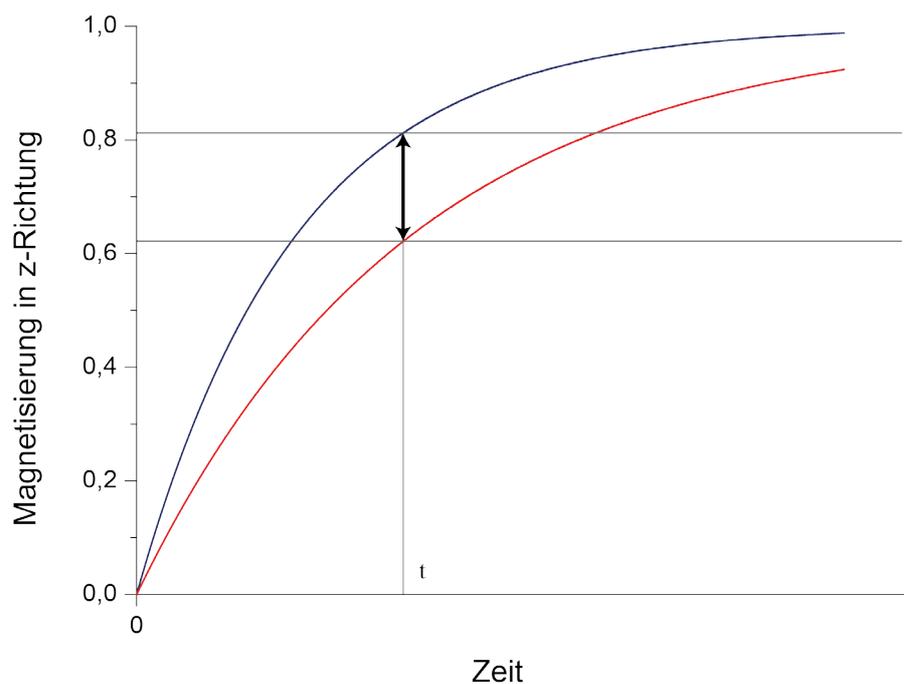


Abbildung 2-1: Darstellung der longitudinalen Magnetisierung nach einem HF-Puls. Rot: mit längerem T1; Blau: mit kürzerem T1.

Wenn zwei Gewebe mit längerem (rot) und kürzerem T1 (blau) zum Zeitpunkt t gemessen werden, ergibt sich ein Kontrast zwischen beiden Signalen. Dieser Kontrast wird T1-gewichteter Kontrast genannt (siehe Abbildung 2-1).

Kapitel 2

Aufgrund der Spin-Spin-Kopplung dephasieren die Spins in der transversalen Ebene. Die transversale Relaxationszeit charakterisiert den Prozess und wird als T2 bezeichnet. Die Magnetisierung in der transversalen Ebene M_{\perp} zum Zeitpunkt t ist:

$$M_{\perp}(t) = M_{\perp}(0)e^{-t/T_2} \quad (2-5)$$

Wenn zwei Gewebe mit längerem (rot) und kürzerem T2 (blau) zum Zeitpunkt t gemessen werden, ergibt sich ein T2-gewichteter Kontrast.

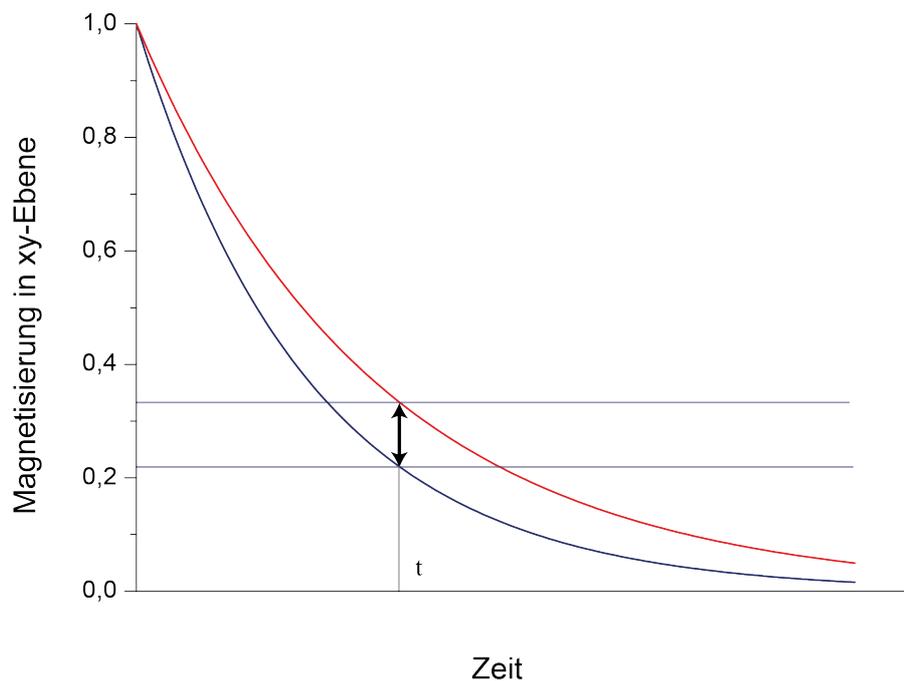


Abbildung 2-2: Darstellung der transversalen Magnetisierung nach einem HF-Puls. Rot: längeres T2; Blau: kürzeres T2.

In der Praxis gibt es noch eine zusätzliche Dephasierung, die durch die Inhomogenität des äußeren Magnetfelds verursacht wird. Diese wird gemeinsam mit der Spin-Spin-Relaxation (T2) durch die charakteristische Zerfallszeit T2* und den zugehörigen T2*-gewichtete Kontrast angegeben.

2.1.3 MR-Messverfahren

2D-Gradientenecho

Für eine Bildgebung muss das Signal ortskodiert sein. Bei einer zweidimensionalen Sequenz wird eine ausgewählte Schicht durch Einschalten des Gradienten in der z-

Richtung während des HF-Pulses angeregt. Danach wird ein Gradient in der y-Richtung eingeschaltet. Während dieser Zeit unterscheiden sich die Spins durch verschiedenen Larmorfrequenzen. Nach einem bestimmten Zeitabstand sind alle Spins entlang dieses Gradienten unterschiedlich dephasiert. Danach wird ein weiterer Gradient in der x-Richtung eingeschaltet. Das Signal wird über die Spulen detektiert und von ADC (ADC: Analog-Digital-Umsetzer) digitalisiert (siehe Abbildung 2-3).

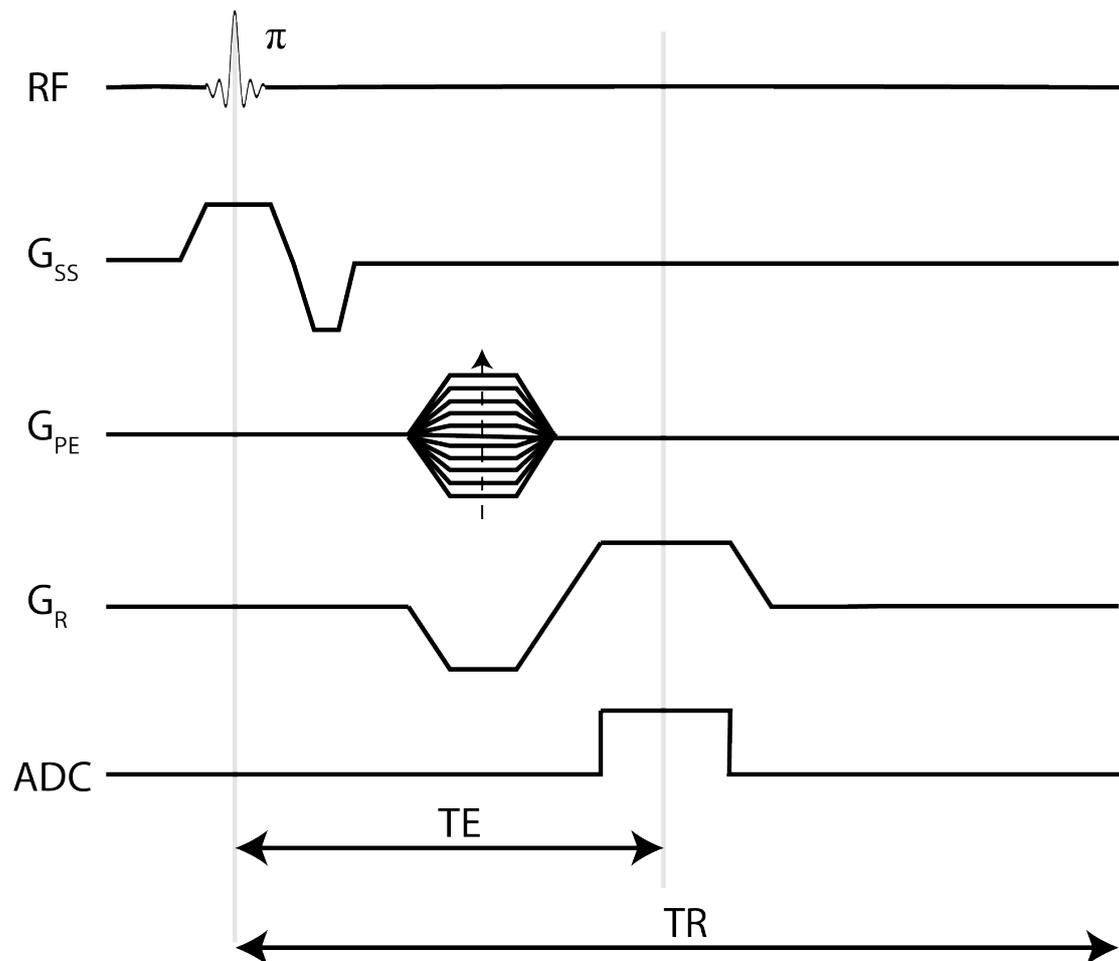


Abbildung 2-3: zweidimensionale Gradientenecho-Sequenz (Haacke 1999)

Dieses Signal kann im Rahmen des k-Raum-Formalismus im k-Raum dargestellt werden. Der Wert von k ist gegeben durch:

$$\mathbf{k} = \frac{1}{2\pi} \gamma \int \mathbf{G}(t) dt \quad (2-6)$$

$\mathbf{G}(t)$ ist der Gradient zum Zeitpunkt t . Dadurch kann das Signal definiert werden:

$$s(\mathbf{k}) = \int \rho(\mathbf{r}) e^{-i2\pi\mathbf{k}\mathbf{r}} d\mathbf{r} \quad (2-7)$$

Durch eine Fourier-Transformation ergibt sich:

$$\rho(\mathbf{r}) = \int s(\mathbf{k}) e^{+i2\pi\mathbf{k}\mathbf{r}} d\mathbf{k} \quad (2-8)$$

also ein Bild, welches die ortsabhängige Intensität wiedergibt. Wird eine GE-Sequenz im k-Raum betrachtet, so wird die Koordinate im k-Raum durch Anlegen von Gradienten in der x- und y-Richtung zum Ausgangspunkt der Datenaufnahme abgelenkt. Danach bewegt sich die k-Raum-Trajektorie in x-Richtung wenn der Lesegradient in der x-Richtung eingeschaltet ist. Mit unterschiedlich starken Phasenkodiergradienten y kann der k-Raum somit vollständig abgetastet werden.

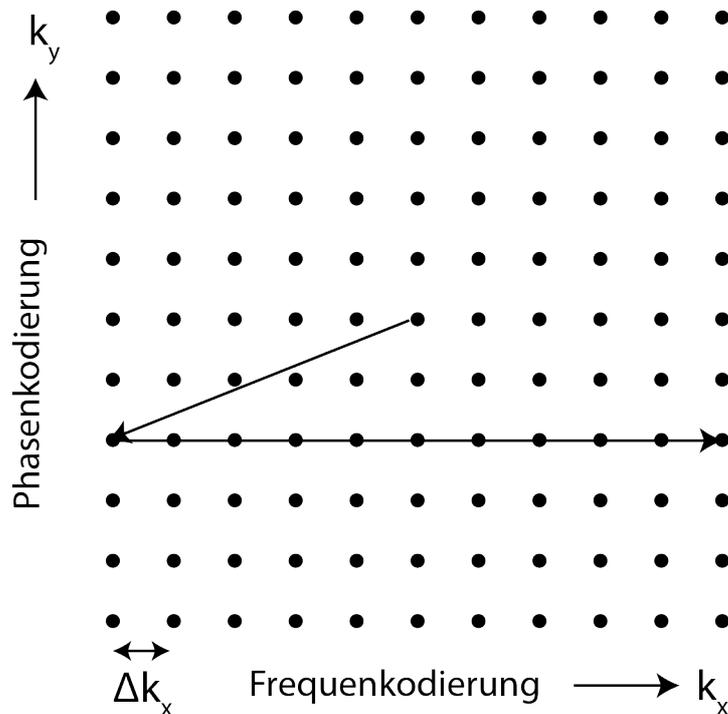


Abbildung 2-4: Datenerfassung im k-Raum für 2D-Bild (Haacke 1999, S. 169).

Eine dreidimensionale GE-Sequenz unterscheidet sich von einer zweidimensionalen GE-Sequenz nur dadurch, dass nach der Anregung auch in der z-Richtung ein Gradient zur Phasenkodierung eingeschaltet wird. Hier wird nicht eine Schicht angeregt, sondern ein Block mit einer Dicke TH. Die Schichten innerhalb dieses Blocks haben die Dicke TH/N_z (siehe Abbildung 2-5).

FLASH

Die Abbildung 2-5 zeigt eine Sequenz, die fast low angle shot (FLASH) genannt und häufig für die strukturelle Bildgebung verwendet wird. Wie am Name schon zu sehen ist, werden die Kippwinkel θ sehr klein gewählt. Durch sehr kurze Wiederholzeiten (TR), die viel kürzer sind als die üblichen T1-Relaxationszeiten, bleibt die longitudinale Magnetisierung in einem Gleichgewichtszustand. Dieser Zustand wird als Steady-State bezeichnet. Die Intensität ergibt sich zu:

$$\rho(\theta, T_E) = \rho_0 \sin \theta \frac{(1 - E_1)}{(1 - E_1 \cos \theta)} e^{-T_E/T_2^*} \quad (2-9)$$

wobei $E_1 = e^{-TR/T_1}$ ist. Das Signal wird maximal, wenn die Kippwinkel θ dem Erst-Winkel entsprechen:

$$\theta = \theta_E = \arccos(e^{-TR/T_1}) \quad (2-10)$$

Es ist in der Gleichung (2-9) zu sehen, dass unterschiedlicher Kontrast durch die Auswahl der Kippwinkel, TR und TE erzeugt werden kann. Für kleine Kippwinkel und kurze TR ist das Bild spindichtegewichtet. Für kleine Kippwinkel und lange TE ist das Bild T2*-gewichtet. Für große Kippwinkel und kurze TR ist das Bild T1-gewichtet.

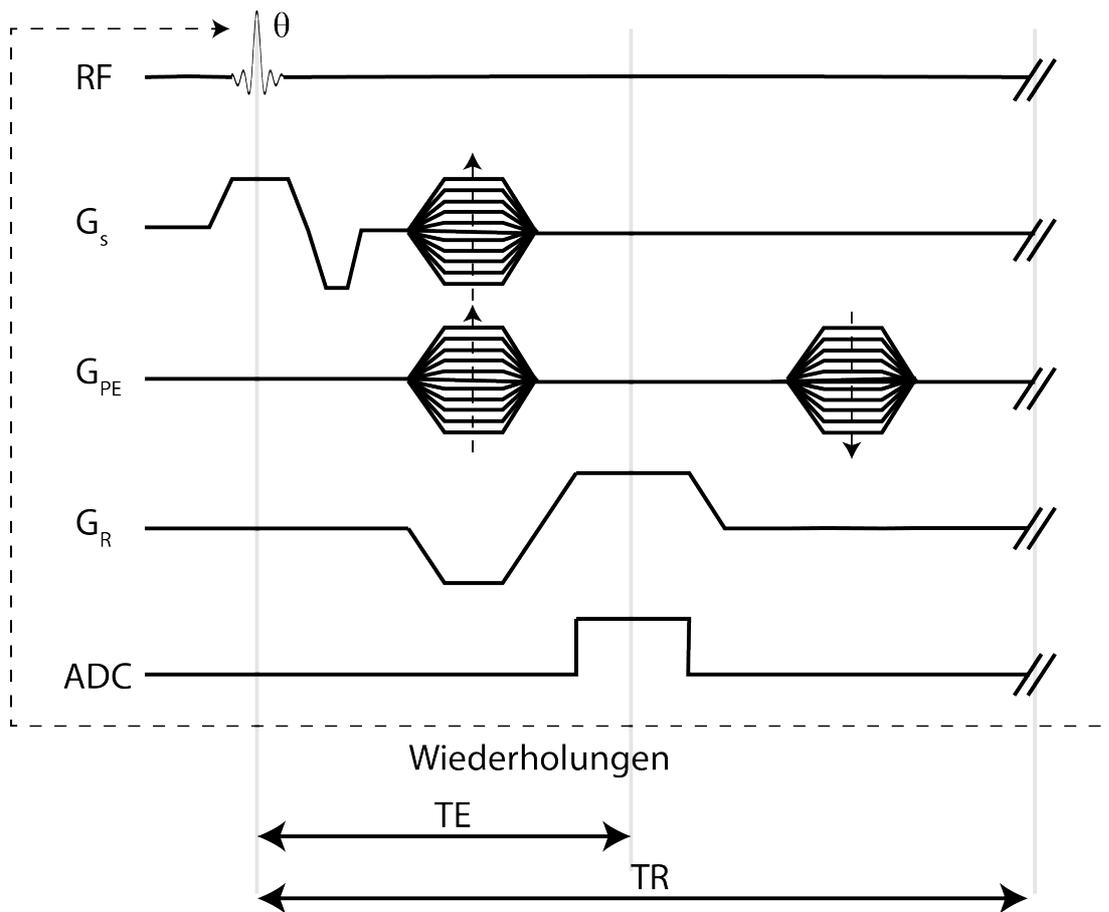


Abbildung 2-5: Stady-State FLASH-Sequenz (Haacke 1999).

MPRAGE

MPRAGE basiert auf FLASH. Zu Beginn der Sequenz wird die longitudinale Magnetisierung durch einen 180° -HF-Puls invertiert (siehe Abbildung 2-6). Die longitudinalen Magnetisierungen unterschiedlicher Gewebe kehren unterschiedlich schnell zu ihren Gleichgewichtszustand zurück (siehe Abbildung 2-1). Nach der Inversionszeit (TI), kommen die nächsten HF-Pulse mit kleinem Kippwinkel, um die longitudinale Magnetisierung in die X-Y-Ebene abzulenken. Je nachdem welche TI hier gewählt wird, befinden sich die longitudinalen Magnetisierungen unterschiedlicher Gewebe in einem unterschiedlichen Zustand und generieren somit unterschiedlich stark transversale Magnetisierung, welche den Kontrast entspricht. Danach werden diese Pulse nach zwischenzeitlicher Relaxation wiederholt. Durch die Anregung und zwischenzeitliche T1-Relaxation erreicht die Magnetisierung einen Gleichgewichtszustand.

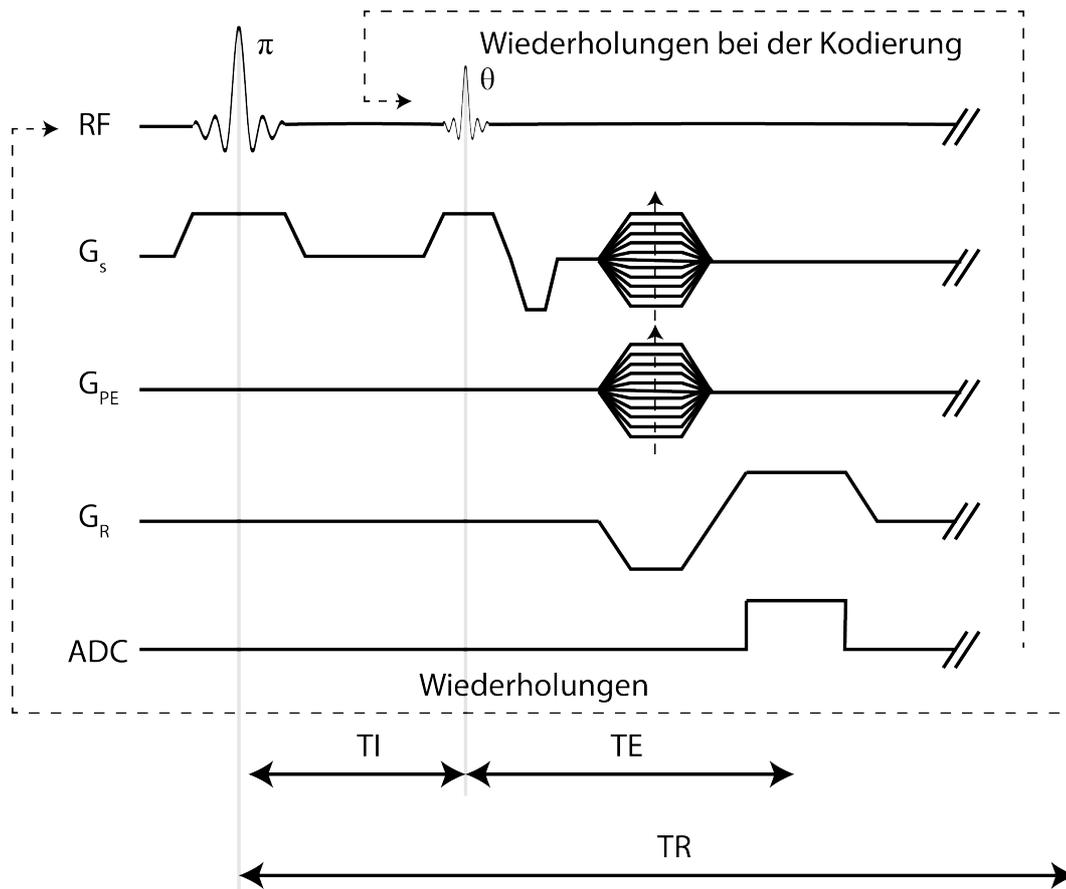


Abbildung 2-6: Sequenz für MPRAGE (Haacke 1999, S. 800)

Der Kontrast verändert sich nach der Zeit und ist aber direkt nach der TI am stärksten. Deshalb wird das Zentrum des k-Raums zum erst gemessen (siehe Abbildung 2-7).

Aufgrund ihrer kurzen Messzeiten und ihrer Möglichkeit, hohen Kontrast zwischen GM und WM zu erzeugen ist die MPRAGE eine sehr verbreitete T1-gewichtete Sequenz für strukturelle Bildgebung. Mit zunehmender magnetischer Feldstärke nimmt die HF-Inhomogenität ebenfalls zu. Das Bild ist dann nicht mehr nur T1-gewichtet:

$$S_{MP} \propto \rho \tilde{M}_{MP} |B_1^-| \sin(V |B_1^+| \gamma \tau) e^{-TE/T_2^*} \quad (2-11)$$

Hierbei steht B_1^- für das Profil der Empfangsspule, B_1^+ für die HF-Pulse, τ für die Dauer der Pulse und V für eine Skalierung (Collins et al. 2005).

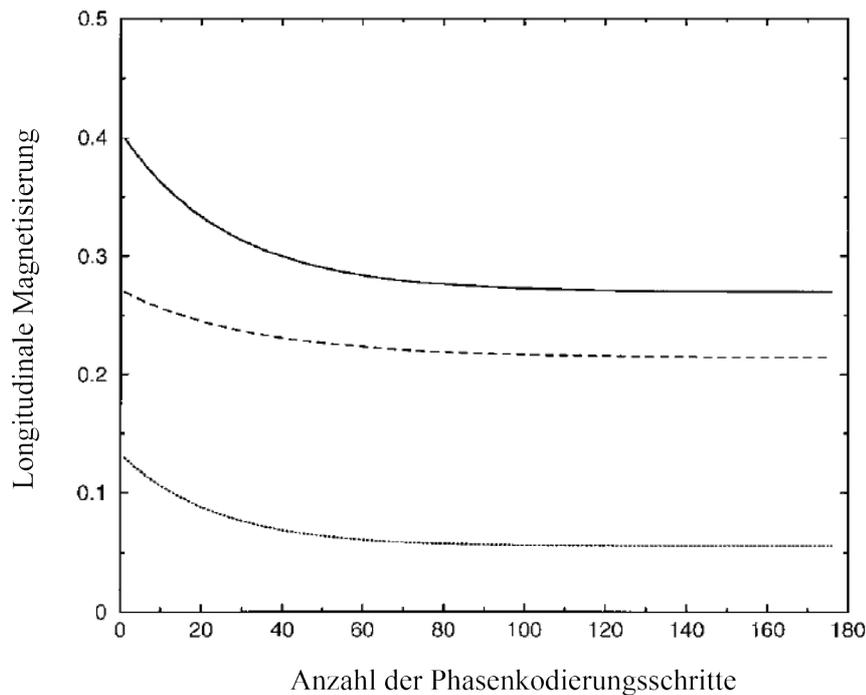


Abbildung 2-7: Beispielhafte Darstellung der Entwicklung der longitudinalen Magnetisierung von WM(—) und GM (- - -) und deren Kontrast (..)(Deichmann et al. 2000).

Van de Moortele (van de Moortele et al. 2009) schlug vor, dass die MPRAGE-Daten durch eine GE-Referenzmessung geteilt werden, welche keinen Inversions-Puls enthält und ein minimales TR hat. Dadurch hat diese Messung identische Signalabhängigkeiten wie die MPRAGE-Aufnahme, jedoch ohne die T1-Gewichtung durch den Inversionspuls. Nach einer Division der beiden Aufnahmen bleibt nur die T1-Gewichtung im Bild übrig.

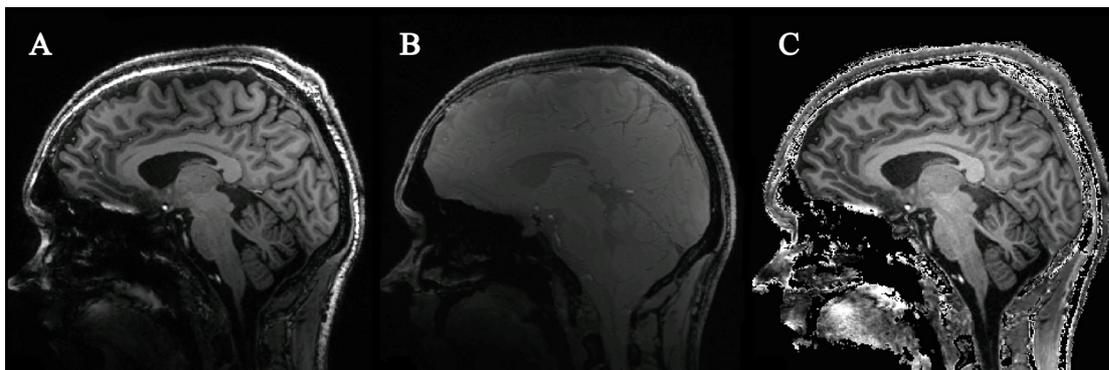


Abbildung 2-8: Inhomogenitätskorrektur für MPRAGE: (A) Ausgangsbild MPRAGE; (B) GE-Referenzmessung; (C) korrigierte MPRAGE

In der Abbildung 2-8 ist festzustellen, dass Bild B im Vergleich zu Bild A leicht inverse Intensitäten von GM und WM zeigt. Dadurch ist der Kontrast zwischen GM und WM nach der Division höher als vorher. Aufgrund der Fehlerfortpflanzung nimmt das SNR nach der Division ab:

$$SNR_{MP/GE} = \frac{SNR_{MP}}{\sqrt{1 + S_{MP/GE}^2}} \quad (2-12)$$

Je nach dem, welche Parameter in der Messung verwendet werden, nimmt das SNR durch die Korrektur um ca. 6% in der GM und ca. 16% in der WM ab (van de Moortele et al. 2009).

MP2RAGE

Basierend auf dieser Idee von van de Moortele, wurden beide Messungen zusammengeführt (siehe Abbildung 2-9). Durch die Kombination des ersten Abschnitts GRE_{T11} und des zweiten Abschnitts GRE_{T12} gemäß bleibt dann lediglich die von der Relaxationszeit T1 abhängige Komponente übrig.

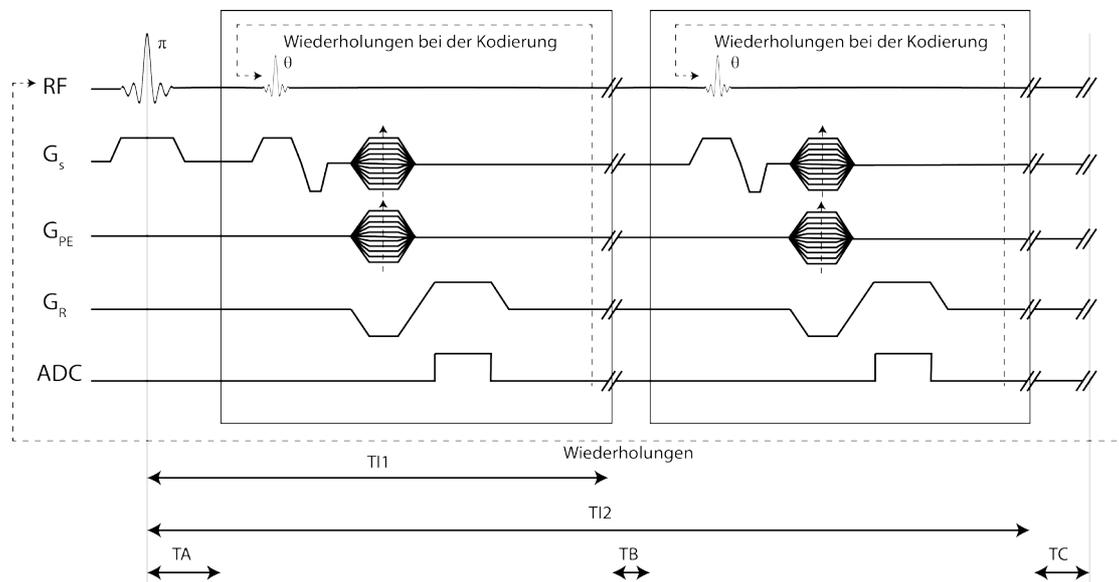


Abbildung 2-9: MP2RAGE Sequenz (Marques et al. 2010)

Das Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis (CNR) verhält sich nach der Kombination wie folgt:

$$CNR_{g1/g2} = \frac{MP2RAGE_{g1} - MP2RAGE_{g2}}{\sqrt{\sigma_{g1}^2 + \sigma_{g2}^2}} \cdot \frac{1}{\sqrt{MP2RAGE_{TR}}} \quad (2-13)$$

Die Messparameter wurden so optimiert, dass die Kombination ohne signifikante Reduzierung (<15%) des Kontrastes erfolgt. Es ist jedoch zu sehen, dass der Kontrast im Bild C leicht schwächer als in Bild A ist (siehe Abbildung 2-10). Die Inhomogenität wird hingegen deutlich reduziert. Dadurch können die T1-Werte quantifiziert werden und die sogenannte T1-Karte kann erstellt werden (Marques et al. 2010).

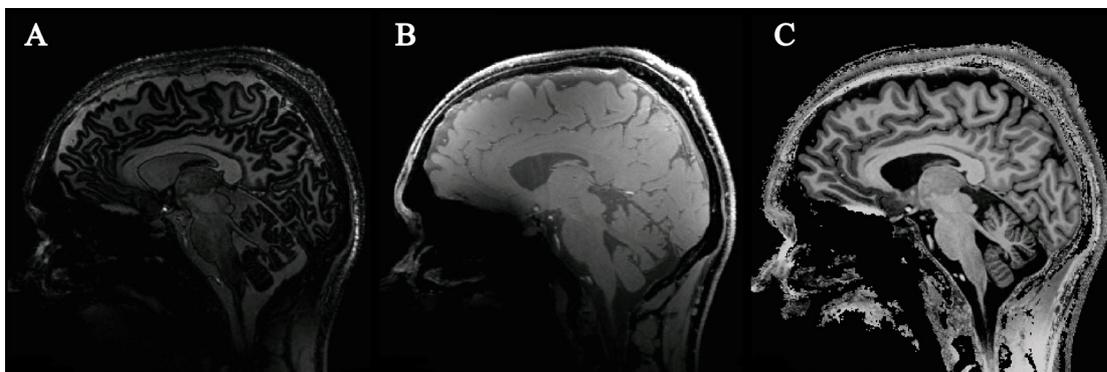


Abbildung 2-10: Bildrekonstruktion von GRE_{T11} (A) und GRE_{T12} (B) zum MP2RAGE-Bild(C).

2.1.4 Räumliche Auflösung und Filterung

L ist der gesamte Bereich, der aufgenommen und als FOV (field of view) bezeichnet wird. Δx ist die Länge eines Voxels und ist ein Maß für die kleinste darstellbare Struktur. Daher ergibt sich:

$$L = N\Delta x \quad (2-14)$$

wobei N die Anzahl der gesamten Voxel ist.

Mit Hilfe des Gradientenfeldes soll dieses FOV gemessen werden. Dies entspricht einer Bandbreite:

$$Bandbreite = \frac{1}{\Delta t} = \gamma \cdot G \cdot L \quad (2-15)$$

Δt der Abstand der Abtastung. Eine diskrete Gleichung von (2-6) kann geschrieben werden als:

$$\Delta k = \gamma \cdot G \cdot \Delta t \quad (2-16)$$

Aus den obigen zwei Gleichungen ergibt sich:

$$L = \frac{1}{\Delta k} = N \Delta x \quad (2-17)$$

Somit ist die Auflösung:

$$\Delta x = \frac{1}{N \Delta k} . \quad (2-18)$$

Das bedeutet, die Auflösung ist umgekehrt proportional zu gesamte k-Raum-Größe. Wird der k-Raum gekürzt oder zentrisch mit einen Tief-Pass gefiltert, so reduziert sich die Auflösung. Der übrig gebliebene Anteil ist die langwellige Struktur, der entfernte Anteil ist dann die kurzwellige Struktur.

Diese Manipulation im k-Raum wird zum Beispiel in der Bildbearbeitung bei der Filterung der langwelligen Struktur wie Inhomogenität verwendet (Haacke 1999).

2.2 Bildverarbeitung

Ein großer Teil dieser Arbeit handelt von Bildbearbeitung. Für die spätere Weiterverarbeitung spielt die Inhomogenitätskorrektur eine entscheidende Rolle. Ebenfalls wichtig ist die Registrierung, die zum Vergleich verschiedener Bildtypen miteinander notwendig ist. Schließlich werden mit der Segmentierung und der Berechnung der kortikalen Dicken zwei Schwerpunkte dieser Arbeit erläutert.

2.2.1 Inhomogenitätskorrektur

Als Inhomogenität bezeichnet man die nichtanatomische Intensitätsvariation im Bild. Sie tritt nicht erst bei 7T auf, sondern auch bei den klinisch genutzten Feldstärken von 1,5T und 3T. Ursachen für eine Inhomogenität liegen beispielsweise,

ungleichmäßiger HF-Anregung (B_{1+}) aufgrund dielektrischer Effekte, ortsabhängigen Empfindlichkeiten der Empfangsspulen (B_{1-}) und Bewegung der Probanden. Diese Inhomogenität soll so gut wie möglich reduziert werden, ohne anatomische Informationen zu verlieren. Die Methoden MPRAGE/GE und MP2RAGE (siehe Abschnitt 2.1.3) sind bereits Inhomogenitätskorrekturen. Alternativ zu dieser Korrektur während der Akquisition kann sie ebenfalls durch Nachbearbeitung der Bilder durchgeführt werden.

Es gibt zahlreiche Algorithmen, die grob in vier Kategorien eingeteilt werden können (Hou 2006):

1. Tiefpassfilterung: Gauß-Filter
2. Anpassung der Oberflächen: Maximum-Likelihood-Methode, Entropieminimierung
3. Statistische Modellierungen: Bayessche Statistik, Nonparametric Nonuniform Intensity Normalization (N3)
4. Sonstige

In dieser Arbeit werden die besonders verbreiteten Methoden der Tiefpassfilterung und N3 erläutert.

Tiefpassfilterung

Die Tiefpassfilterung, z.B. durch Gauß-Filter, ist eine der am häufigsten verwendeten Methoden für die Inhomogenitätskorrektur, weil sie einfach zu implementieren ist. Das Bild wird durch eine diskrete Tiefpassfunktion

$$h_f(x) = \Delta k \sum_{p=-n}^{n-1} H_f(p\Delta k) e^{i2\pi p\Delta k x} \quad (2-19)$$

gefaltet, wobei H_f die diskrete Fourier-Transformation des Filters im k -Raum ist. Es gilt die Beziehung:

$$H_f(0) = \sum_{q=-N}^{N-1} h_f(q\Delta x) \quad (2-20)$$

Die räumliche Auflösung vom MR-Bild nach der Faltung mit diesem Filter ist definiert durch:

$$\Delta x_{MRT,f} = \frac{1}{h_f(0)} \sum_{q=-N}^{N-1} h_f(q\Delta x) \quad (2-21)$$

Beschreibt man diese Gleichung mit dem k-Raum-Formalismus so folgt:

$$\Delta x_{MRT,f} = \frac{1}{\Delta k} \frac{H_f(0)}{\sum_{p=-N}^{N-1} H_f(p\Delta k)} \quad (2-22)$$

Es ist bekannt, dass der Tiefpassfilter seine maximale Größe im Zentrum hat:

$$H_f(0) \geq H_f(k) \quad (2-23)$$

Deshalb folgt aus Gleichung (2-23) und Gleichung (2-19) (Haacke 1999, S. 269–283):

$$\Delta x_{MRT,f} \geq \frac{1}{2N\Delta k} = \Delta x \quad (2-24)$$

Ein größeres Δx bedeutet eine niedrigere räumliche Auflösung. Die native Auflösung im Bild (Anzahl der Pixel) bleibt zwar noch immer gleich, aber die Strukturen im Bild werden unschärfer (Haacke 1999).

Für die Faltung des Bildes mit einer Filterfunktion gilt nach dem Faltungstheorem:

$$f(x) \otimes h(x) \xrightarrow{FT} F(k) \cdot H(k) \quad (2-25)$$

Die Faltung im Ortsraum ist also eine Multiplikation im k-Raum. Dabei wird das Signal außerhalb des Zentrums im k-Raum unterdrückt. Dadurch bleibt nur die langwellige Struktur im Bild. Wenn das gefilterte Bild vom originalen Bild subtrahiert wird, bleibt nur die kurzwellige Struktur im Bild. Da die Inhomogenität meistens eine langwellige Struktur hat und die anatomische Struktur meistens kurzweilig ist, kann die Inhomogenität so entfernt werden. Gleichzeitig wird die langwellige anatomische Struktur im Bild aber auch entfernt. Luo stellte ein Model vor, wie mittels Singularitäts-Funktions-Analyse die anatomischen langwelligen

Kapitel 2

Strukturen erhalten werden können (Luo et al. 2005). Ein häufiger Nebeneffekt der Tiefpassfilterung ist eine Schattierung des Objektes am Rand, welche jedoch durch homomorphe Filterung deutlich reduziert werden kann (Gonzalez und Woods 1993).

N3

Während bei der Tiefpassfilterung das Signal im niedrigen Frequenzbereich unterdrückt wird, maximiert eine andere Methode, N3 (Nonparametric Nonuniform Intensity Normalization), die Häufigkeit für einen bestimmten Grauwert. Angenommen, die Strukturen (wie WM, GM, CSF usw.) entsprechen einigen Peaks im Histogramm. Inhomogenität im Bild führt zu einer Verbreiterung dieser Peaks. Die Strategie von N3 ist, diese Peaks zu maximieren. Gegeben ist das aufgenommene Bild

$$v(x) = u(x)f(x) + n(x) , \quad (2-26)$$

wobei $u(x)$ das wahre Bild, $f(x)$ das Biasfeld und $n(x)$ das Rauschen ist. Da das Problem eine Funktion mit Multiplikation und Addition ist, muss es vereinfacht werden, indem das Rauschen weggelassen wird. Danach kann die Gleichung (2-27) in eine logarithmische Funktion umgeschrieben werden:

$$\log(v(x)) = v'(x) = u'(x) + f(x) \quad (2-27)$$

Es wird definiert, dass U , F und V die Häufigkeitsverteilungen der Grauwerte von $u'(x)$, $f'(x)$ und $v'(x)$ sind. Das Ergebnis V ist eine Faltung von U und F :

$$V(v') = F(v') * U(v') = \int F(v' - u')U(u')du' \quad (2-28)$$

Das Biasfeld ist zumeist eine Gauß'sche Normalverteilung, deshalb wird hier $F(f')$ als solche definiert. Wieder aus dem Faltungssatz ergibt sich hier:

$$V(v') = U(u') * F(f') = IFT(\tilde{U} \cdot \tilde{F}) \quad (2-29)$$

wobei

$$\tilde{G} = \frac{\tilde{F}^*}{|\tilde{F}|^2 + Z^2} \quad (2-30)$$

$$\tilde{U} \approx \tilde{G}\tilde{V}$$

ist. \tilde{F}^* ist die Fourier-transformierte Konjugierte zu F, Z ist der Skalierungsfaktor für die Gauß-Filter. Aus Gleichung (2-31) kann die abgeschätzte Verteilung des Grauwertes U(u') bestimmt werden. Jedoch ist hier noch keine Ortsinformation in dieser Abschätzung enthalten. Das biasfeldfreie Bild u' im Ort x wird über U und F für ein Ergebnis v' abgeschätzt. Der Erwartungswert E[u'|v'] für u' am Ort x bei gegebenem v' ist gegeben durch:

$$E[u'|v'] = \frac{\int_{-\infty}^{\infty} u' F(v'-u') U(u') du'}{\int_{-\infty}^{\infty} F(v'-u') U(u') du'} \quad (2-31)$$

Daher kann das Biasfeld auch abgeschätzt werden durch:

$$f'(v'(x)) = v'(x) - E[u'|v'] \quad (2-32)$$

Dieses Biasfeld wird durch eine B-Spline-Funktion geglättet, daher wird diese Abschätzung weniger durch Rauschen beeinflusst. Es ergibt sich ein neues u(x). Dieser Vorgang wird so lange wiederholt, bis das Biasfeld einen definierten Schwellwert erreicht (Sled et al. 1998).

Der Code für N3 ist als Open Source online verfügbar¹.

2.2.2 Registrierung

Unter Registrierung versteht man, ein Bild durch lineare und/oder nichtlineare Transformation möglichst exakt auf ein anderes Bild zu legen, sodass die beiden Bilder räumlich miteinander überlagert sind. Je nach der Art der Transformation

¹ <http://www.bic.mni.mcgill.ca/software/N3>

Kapitel 2

kann eine Registrierung in rigide, affine oder nichtlineare Transformation unterteilt werden, jeweils mit 6, 12 oder >12 Freiheitsgraden. Diese zwölf Freiheitsgrade sind lineare Translationen, Rotationen, Skalierungen und Scherungen in den drei Raumrichtungen.

Die Registrierungsalgorithmen sind sehr komplex, das Verfahren kann in die folgenden Probleme aufgeteilt werden.

Definition der Ähnlichkeitsmaße

Je nach dem Bildkontrast beider Bilder können verschiedene Ähnlichkeitsmaße definiert werden. Für Bilder mit ähnlicher Intensitätsverteilung können die Summe der absoluten Differenzen (MSQ) oder der Korrelationskoeffizient (CC engl. für correlation coefficient) verwendet werden. Für zwei Bilder mit unterschiedlicher Bildintensität (z.B. T1- und T2*-gewichtete) kann die Mutual Information (MI) verwendet werden (Avants et al. 2011a).

Modellierung des Verschiebungsvektors

Hier wird erfasst, wie die Voxel im Bild verschoben werden. Beim linearen elastischen Modell werden die Voxel wie ein Feld linear verschoben. Beim Modell der elastischen Membran zum Beispiel wird das Objekt als ein Ganzes betrachtet. Innerhalb der Grenze kann das Bild elastisch verformt werden. Die äußere Kraft wirkt über die Membran der inneren Kraft entgegen. Bei einer Freiformdeformation erhält jeder Voxel alle Freiheitsgrade, sich zu bewegen (Henn et al. 1997).

Optimierungsstrategie

Die Optimierungsstrategie entscheidet sich zwischen verschiedenen Registrierungsmethoden. Während die meisten Methoden das Bild zum Referenzbild hin verformen, ändert Advanced Normalization Tools² (ANTs) beide Bilder, sodass sie sich in der Mitte treffen (Avants et al. 2011b). Bei der Methode DARTEL (**D**iffeomorphic **A**natomical **R**egistration **T**hrough **E**xponential **L**ie algebra)

² ANTs (v.1.9.x): <http://www.picsl.upenn.edu/ANTS/>

wird die Wahrscheinlichkeit von GM, WM und Hintergrund unter der Bedingung maximiert, dass der Populationsparameter den Wert im Muster von GM, WM und Hintergrund annimmt (Ashburner 2007).

2.2.3 Segmentierung

Unter Segmentierung wird hier eine Klassifizierung des Gehirnbildes in GM, WM und CSF verstanden. Im Idealfall kann ein Bild durch Schwellwerte der Intensität in verschiedene Gewebe unterteilt werden. Aufgrund des Partialvolumeneffekts ist die Grenze zwischen zwei Geweben jedoch verwischt. Ein fester Schwellwert kann daher meistens nicht korrekt abgeschätzt werden. Regionenbasierte Verfahren, z.B. Region Growing, starten mit einem Punkt auf einem homogenen Gewebe (beispielsweise WM). Der Punkt wächst bis zur Grenze zu einer anderen Intensität. Während diese Verfahren immer noch die Intensität betrachten, basieren andere Verfahren auf Kantenerkennung, bei der die Änderung der Struktur berücksichtigt wird. Eine Kombination beider Verfahren ergibt sich bei dem Graph Cut (Boykov et al. 2001). Diese Methode wird häufig verwendet, um störende Reste im Bild, wie Schädelknochen, zu extrahieren.

Das Bild ist meistens inhomogen und verrauscht. Das führt zu einer fehlerbehafteten Segmentierung. Ashburner entwickelte eine Unified Segmentation (Ashburner und Friston 2005), die durch Inhomogenität und Rauschen hervorgerufene Fehler reduzieren kann. Für die Klassifizierung wird hier Multiple Mixture of Gaussian verwendet. In diesem Verfahren werden für jedes Gewebe zur besseren Beschreibung mehrere Gauß-Funktionen angepasst, da die Verteilungen in der Praxis zumeist nicht einer Gauß'schen Normalverteilung entsprechen.

Die Wahrscheinlichkeit zur Identifikation von GM, WM, CSF und Hintergrund bei der Segmentierung wird durch die bayes'sche Wahrscheinlichkeitsformalisierung berechnet, wobei die Populationsparameter den Wert der Intensitätsverteilungen der jeweiligen Muster annehmen (siehe Abbildung 2-12).

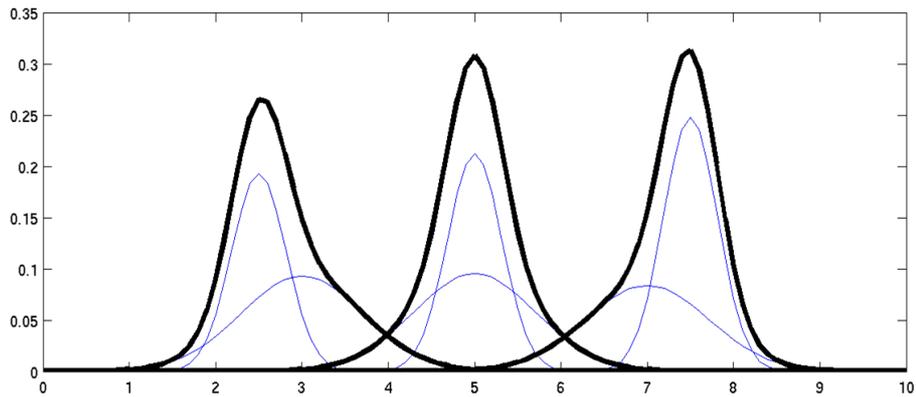


Abbildung 2-11: Drei Gewebe (drei Peaks in schwarz) werden jeweils durch zwei gauß'sche Funktionen (blau) moduliert (Ridgway G.).

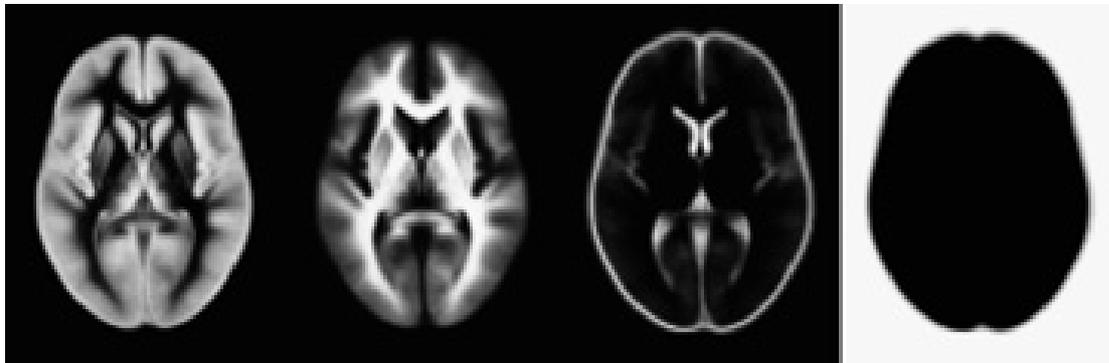


Abbildung 2-12: Die Muster der Wahrscheinlichkeitsverteilung für GM, WM, CSF und Hintergrund (von links nach rechts) (Ashburner und Friston 2005).

Durch Inhomogenitätskorrektur und Deformation des Bildes wird die Klassifizierung iterativ mit dem Levenberg-Marquardt-Algorithmus optimiert. Dieser optimiert die Parameter für die Inhomogenitätskorrektur und Deformation derart, dass kleine Änderungen der Parameter erlaubt sind, sofern der iterierte Wert noch vom Minimum entfernt ist (Freund und Hoppe 2007). Dieser Optimierungsschritt wird so lange wiederholt, bis es keine wesentliche Verbesserung mehr gibt. Die Abbildung 2-13 zeigt beispielhaft Ergebnisse dieser Segmentierungsmethode.

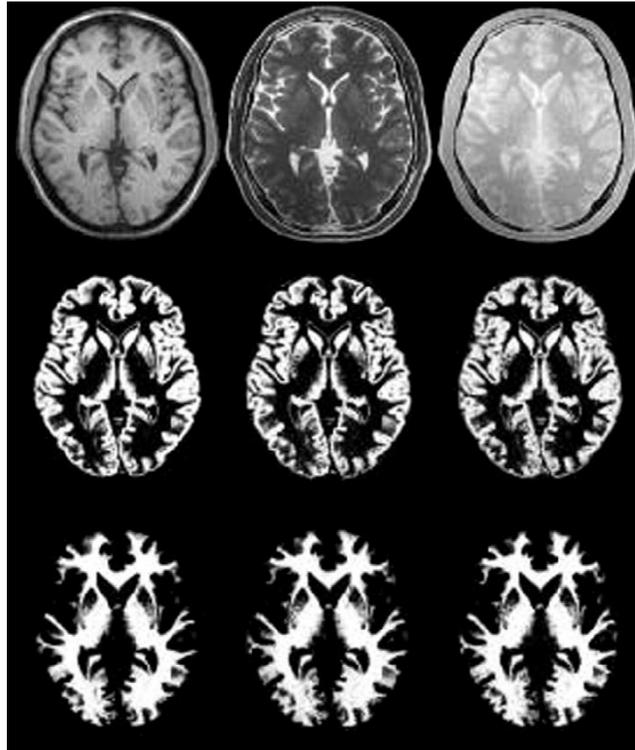


Abbildung 2-13: T1- (links), T2- (Mitte) und spindichtegewichtete (rechts) Bilder mit jeweiligen segmentierten GM (mittlere Reihe) und WM (untere Reihe) Bilder (Ashburner und Friston 2005).

2.2.4 Berechnung der kortikalen Dicken

Die kortikale Dicke ist der Abstand zwischen der Grenze von GM/WM und der Grenze von GM/CSF. Jedoch ist die Definition der Trajektorie dieses Abstandes keineswegs trivial. Häufig wird der euklidische Abstand gewählt. Hierbei wird schrittweise der jeweils am nächsten benachbarte Pixel gesucht. Entlang dieser Trajektorie wird eine Vektorkarte erstellt, die Danielsson Distance Map genannt wird (Danielsson 1980).

Eine andere Definition für den Abstand über die Laplace-Gleichung wird immer häufiger in die Software implementiert (Acosta et al. 2009). Die Trajektorie muss dabei folgende Bedingung erfüllen.

$$\nabla^2 \Psi = \frac{\partial^2 \Psi}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \Psi}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 \Psi}{\partial z^2} = 0 \quad (2-33)$$

Kapitel 3 KORTIKALE DICKE *IN VIVO*

3.1 Einleitung

Die strukturelle Bildgebung mit einer hohen Bildqualität steht immer im Vordergrund der MRT-Technik. Die wichtigsten Kriterien für die hohe Bildqualität sind möglichst hohes SNR, Auflösung und Kontrast zwischen WM und GM, niedrige Inhomogenität und kurze Messdauer. Strukturelle Bildgebung wird nicht nur für die morphometrische Analyse wie zum Beispiel die Bestimmung der kortikalen Volumina und Dicken verwendet, sondern auch als Referenzbild für die funktionelle Bildgebung.

Die MPRAGE-Sequenz (Mugler und Brookeman 1990) ist eine dieser zeiteffizienten Methoden, die hohen Kontrast zwischen GM, WM und CSF erzeugen kann. Ihr T1-Kontrast wurde in einer späteren Arbeit optimiert und die Inhomogenität wurde ebenso reduziert (Deichmann et al. 2000). Es wurde zum Beispiel für die voxelbasierte Morphometrie verwendet (Deichmann et al. 2000; Ashburner und Friston 2000).

Mit der zunehmenden magnetischen Feldstärke nimmt das SNR linear zu. Das ermöglicht noch höhere räumliche Auflösung und eine noch schnellere Aufnahme. Jedoch nimmt die Inhomogenität des B1-Feldes zu (Collins et al. 2005). Diese Inhomogenität kann durch Bildbearbeitung, insbesondere Tiefpass (Gauß-Filterung, Polynom-Filterung usw.), N3 bias field correction und weitere, (Hou 2006), reduziert werden. Insbesondere bei niedrigen Feldstärken kann die B1-Inhomogenität außerdem bereits durch die Verwendung von Mehrkanal-Oberflächenspulen und ihrer Sensitivitätskarten reduziert werden (Roemer et al., 1990). Die bei hohen Feldstärken kürzeren Wellenlängen wiederum verstärken die

B1-Inhomogenität. Diesen Einfluss lässt sich durch die Anwendung einer parallelen HF-Anregung entgegenwirken (Katscher, Börnert 2006). Diese Technik benötigt jedoch zusätzliche Hardware, die zurzeit klinisch nicht verfügbar ist.

Die Methode MPRAGE/GE (siehe 2.1.3) (van de Moortele et al. 2009) reduziert die Inhomogenität durch eine Referenzmessung und wird bereits häufig verwendet. Lüsebrink zeigte eine Abnahme der ermittelten kortikalen Dicke mit steigender Auflösung (Lüsebrink et al. 2013). Eine ähnliche Methode, MP2RAGE, sollte aber zeiteffizienter sein als die von Van de Moortele (Marques et al. 2010). Sie wird zurzeit ähnlich häufig in Studien verwendet. Jedoch ist die Wirkung beider Methoden auf die Bestimmung der kortikalen Dicken unklar. Kürzlich hat Fujimoto über einen Vergleich der Bestimmung der kortikalen Dicken aus Multiecho-MPRAGE (MEMPRAGE) und MP2RAGE berichtet. Die mehrfache Bestimmung der kortikalen Dicken zeigte dabei Abweichungen von 0,15mm (6%, MPRAGE) bzw. 0,19 mm (8%, MP2RAGE) (Fujimoto et al. 2013). Die Auflösung der Daten in diesem Vergleich betrug überall 1 mm. Alle Daten wurden mit der oberflächenbasierten Methode FreeSurfer³ prozessiert, welche alle Daten unabhängig von der ursprünglichen Auflösung auf die Auflösung 1 mm normalisiert.

In dieser Arbeit werden ebenso die beiden Sequenzen verglichen, jedoch mit der räumlichen Auflösung von 0,7 mm, die zurzeit häufig bei einer 7T-MR-Messung verwendet wird. Um eine so hohe Auflösung während der Bearbeitung nicht durch Downsampling zu verlieren, werden die Daten durch eine voxelbasierte Methode prozessiert. FSL⁴ und SPM⁵, die in einer früheren Arbeit von Lüsebrink (Lüsebrink et al. 2013) präsentiert wurden, wurden für die Segmentierung der WM, GM und CSF verwendet. Als Kontrolle wird auch FreeSurfer in den Vergleich einbezogen. Die Reproduzierbarkeit der Bestimmung der kortikalen Dicken wird geprüft.

³ FreeSurfer: v.5.3.0

⁴ FSL (v.5.0): fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki

⁵ SPM (Statistical Parametric Mapping, v8): <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>

3.2 Methoden

Vier 20-30 Jahre alte Probanden wurden jeweils vier Mal im 7T Scanner (Magnetom, Siemens, Erlangen) gescannt. Bei jeder Sitzung wurde der Proband zuerst mit den Sequenzen MPRAGE und GE gescannt, woraufhin eine MP2RAGE-Messung folgte. Nach den drei Sequenzen wurde der Proband neu positioniert, wieder in den Scanner eingeschoben und in einer neuen Sitzung gescannt. Die dritte und vierte Sitzung folgte jeweils an einem anderen Tag innerhalb einer Woche. Die Parameter für die Sequenzen sind folgende:

MPRAGE: TR=2300 ms, TE=2,91 ms, TI=1050 ms, FA=8°, GRAPPA=2, Auflösung=0,7 mm iso, Phase-und Slice Partial Fourier = 7/8 und 6/8, Messdauer = 5:47 Minuten

GE: TR=1260 ms, TE=2,36 ms, FA=8°, GRAPPA=2, Auflösung=0,7 mm iso, Phase-und Slice Partial Fourier = 7/8 und 6/8, Messdauer = 3:10 Minuten

MP2RAGE: TR=5000 ms, TE=2,84 ms, TI1=900 ms, TI2=2750, FA=7°, GRAPPA=2, Auflösung=0,7 mm iso, Phase partial Fourier = 6/8, Messdauer = 10:55 Minuten

Die 3D -Volumendaten wurden wie folgt verarbeitet:

1. GE-Daten wurden auf MPRAGE-Daten registriert. MPRAGE-Daten wurden durch GE-Daten dividiert. GE-Daten wurden mit einem Schwellwert als Maske für MPRAGE-Daten verwendet.
2. Das Datenvolumen aus dem zweiten Kontrast vom MP2RAGE wurde mit einem Schwellwert als Maske für MP2RAGE-Daten verwendet.
3. Die Intensitäten beider Bilder wurden mit FreeSurfer korrigiert und normalisiert.
4. Der Schädel wurde mit FreeSurfer entfernt.
5. WM, GM und CSF wurden durch FSL (FAST Toolbox) und SPM8 segmentiert.
6. Voxelbasierte kortikale Dicke wurde mit ARCTIC (Plug-in in 3D-Slicer⁶) bestimmt.

⁶ 3D-Slicer (v. 3.6.3): www.slicer.org

7. Die oberflächenbasierte kortikale Dicke wurde mit FreeSurfer bestimmt, welches die Daten während der Bildbearbeitung auf die Auflösung 1 mm iso umrechnet.
8. Die kortikale Dicke des ganzen Gehirns wurde in 24 Hirnregionen geteilt und ermittelt.
9. Statistische Analyse (ANOVA: Vier Probanden, vier Wiederholungen, zwei Sequenzen und drei Segmentierungen) wurde durchgeführt.
10. Zur 3D-Visualisierung wurde MRlcro⁷ verwendet.

3.3 Ergebnisse

Wie in der Abbildung 3-1 zu sehen ist, erzeugen MPRAGE/GE und MP2RAGE optisch eine sehr ähnliche Bildqualität, wobei es minimale Variationen der Homogenität gibt. Die Koeffizienten dieser Variationen können als Verhältnis zwischen Standardabweichung und Mittelwert der selektierten Gewebe definiert werden (Vovk et al. 2007). Man geht davon aus, dass die WM relativ homogen ist, deshalb wird WM hier als selektiertes Gewebe betrachtet. Diese Koeffizienten sind $0,0609 \pm 0,0004$ für MPRAGE und $0,0557 \pm 0,0007$ für MP2RAGE bei einer viermaligen Wiederholung der Messung an einem Proband. Im Gegensatz dazu ist das Kontrast-zu-Rausch-Verhältnis (CNR) zwischen WM und GM bei MPRAGE mit $0,2656 \pm 0,0064$, größer als beim MP2RAGE mit $0,2482 \pm 0,0079$. Der visuelle Eindruck in der Abbildung bestätigt das ebenso.

⁷ MRlcron (v.4/2011): <http://www.mccauslandcenter.sc.edu/mricro/mricron/index.html>

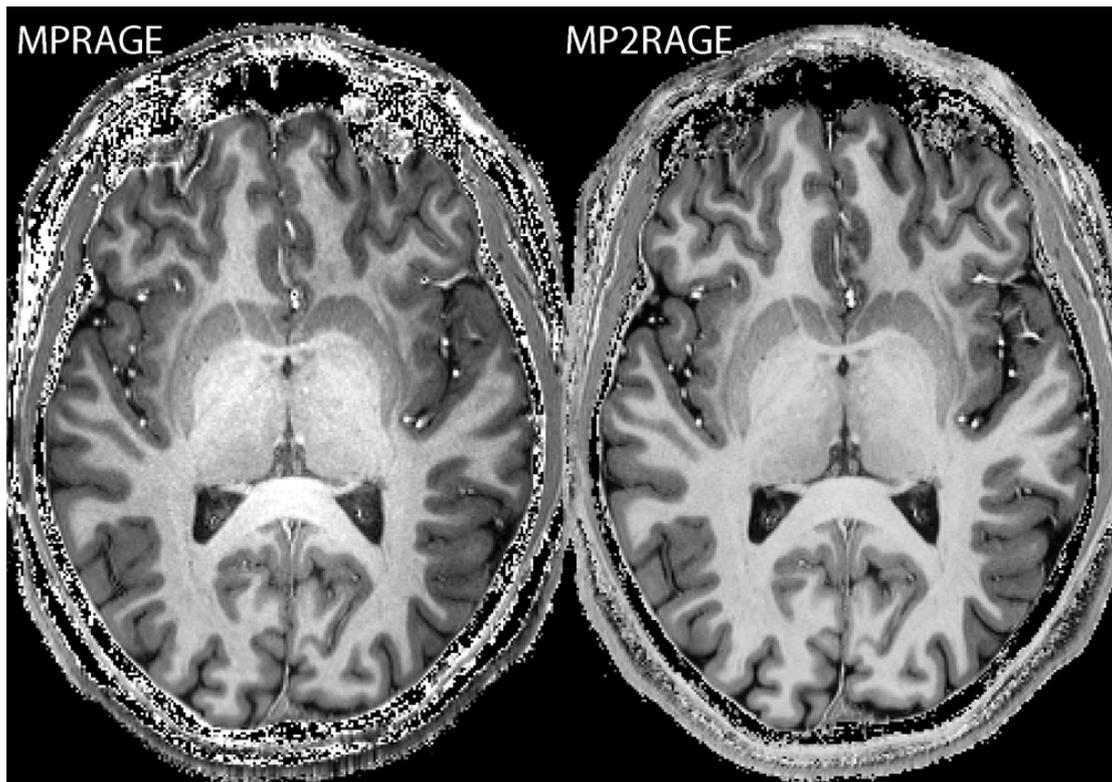


Abbildung 3-1: T1-gewichtete MPRAGE dividiert von GE (links) und MP2RAGE (rechts) mit 0,7 mm iso Auflösung.

Die kortikalen Dicken in den individuellen Regionen werden innerhalb eines Probanden verglichen. Aus der Abbildung 3-3 ist zu sehen, dass die Reproduzierbarkeit unter Verwendung von MPRAGE/GE mit allen drei Methoden (SPM, FSL und FreeSurfer) höher ist, als bei Verwendung von MP2RAGE. Während FreeSurfer sehr robuste Ergebnisse liefert, zeigt SPM eine deutliche Abhängigkeit von der verwendeten Sequenz.

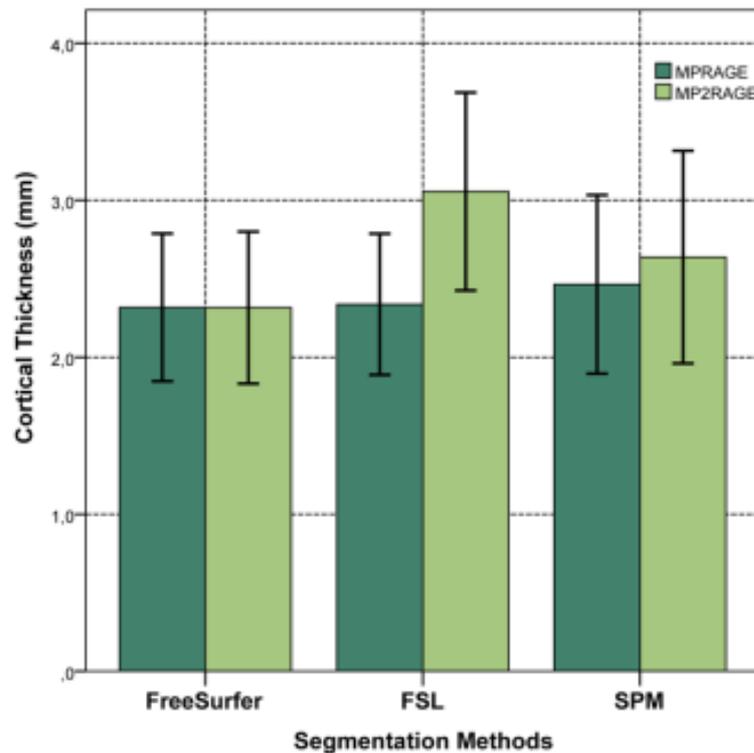


Abbildung 3-2: Die Mittelwerte der kortikale Dicken vom ganzen Gehirn, prozessiert durch FreeSurfer und ARCTIC (3D Slicer) mit Segmentierungen von FSL und SPM.

Ein ähnliches Ergebnis kann auch regional beobachtet werden. Während FreeSurfer robuste Resultate für MPRAGE/GE und MP2RAGE erzeugt, berechnet FSL wesentlich höhere kortikale Dicken mit MP2RAGE als mit MPRAGE/GE (siehe Tabelle 3-1). Frontal-, Parietal- und Occipitallappen sind ausgewählte Regionen, für den man sich am meisten interessiert.

Tabelle 3-1: Kortikale Dicke (in mm) in sechs ausgewählten Regionen; Vergleich von Sequenzen und Segmentierungsmethoden; gemittelt über vier Probanden und jeweils vier Messungen

| | | Linke Hemisphäre | | | Rechte Hemisphäre | | |
|------------|-----------|------------------|-----------|-----------|-------------------|-----------|-----------|
| | | Frontal | Parietal | Occipital | Frontal | Parietal | Occipital |
| SPM | MPRAGE/GE | 2,50±0,28 | 2,73±0,23 | 2,50±0,09 | 2,55±0,14 | 2,64±0,14 | 2,55±0,05 |
| | MP2RAGE | 2,44±0,22 | 2,56±0,24 | 2,33±0,15 | 2,51±0,23 | 2,54±0,15 | 2,41±0,11 |
| FSL | MPRAGE/GE | 2,14±0,12 | 2,51±0,11 | 2,33±0,05 | 2,21±0,05 | 2,39±0,11 | 2,26±0,08 |
| | MP2RAGE | 2,91±0,15 | 3,32±0,16 | 2,97±0,10 | 3,17±0,17 | 3,08±0,12 | 2,96±0,14 |
| FreeSurfer | MPRAGE/GE | 2,40±0,19 | 2,63±0,13 | 2,55±0,11 | 2,38±0,25 | 2,66±0,10 | 2,52±0,05 |
| | MP2RAGE | 2,37±0,22 | 2,60±0,12 | 2,44±0,07 | 2,29±0,24 | 2,60±0,13 | 2,43±0,04 |

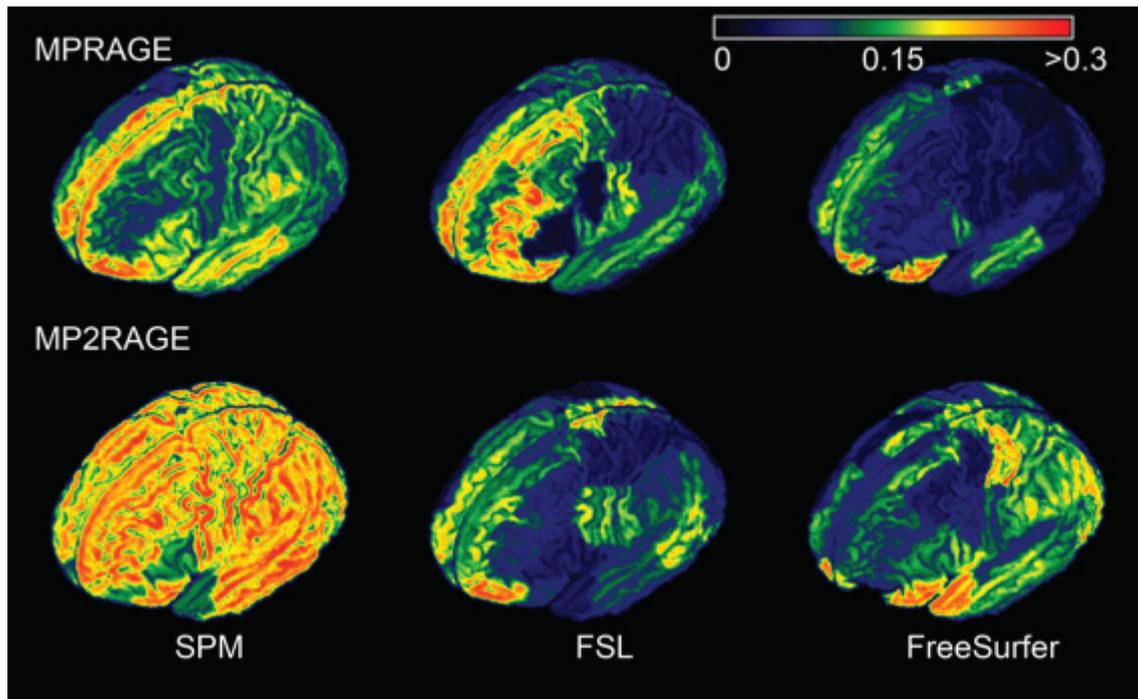


Abbildung 3-3: Standardabweichung des Reproduzierbarkeitstests der kortikalen Dicken eines Probanden. Mittelwerte jeder Kombination: MPRAGE: 0,2243 mm (SPM), 0,2223 mm(FSL) und 0,1430 mm (FreeSurfer). MP2RAGE: 0,3924 mm (SPM), 0,2330 mm (FSL) und 0,1926 mm (FreeSurfer).

Kapitel 4 *EX VIVO* BILDGEBUNG UND KORTIKALE DICKE

4.1 Einleitung

Im vorherigen Kapitel wurde die kortikale Dicke mittels hochaufgelöster in vivo MR-Bildgebung bestimmt. Trotz solch hoher Auflösung (0,7 mm iso) ist die Messgenauigkeit beschränkt. Vor allem wegen des Partialvolumeneffekts nimmt die Messgenauigkeit bei zunehmender Auflösung (siehe Abbildung 4-1) zu. Die Abbildung 4-1 zeigt eine schematische Darstellung für den Partialvolumeneffekt, bei dem die GM in Abhängigkeit von der räumlichen Auflösung unterschiedlich abgeschätzt wird.

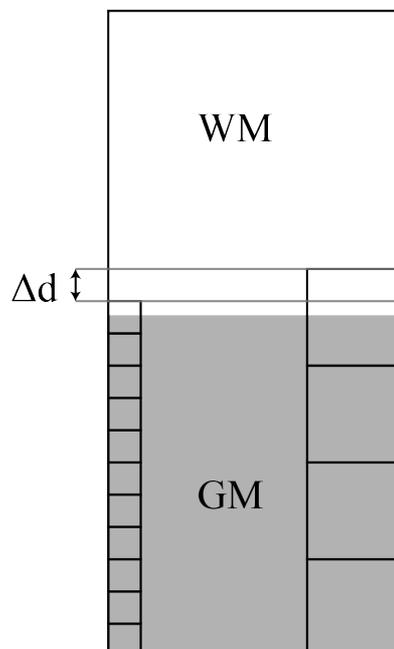


Abbildung 4-1: Schematische Darstellung für den Partialvolumeneffekt. WM und GM sollen klassifiziert werden. Die kleineren Quadrate auf der linken Seite stellen eine höhere räumliche Auflösung dar, die größeren Quadrate auf der rechten Seite die niedrigere.

Kapitel 4

In Abhängigkeit vom festgelegten Schwellwert kann der Anteil GM sowohl über- als auch unterschätzt werden. Eine vereinfachte Simulation der Abweichung der kortikalen Dicken in Abhängigkeit von der räumlichen Auflösung und der gewählten Schwellwerte ist hier in der Abbildung 4-2 dargestellt. Es ist zu sehen, dass GM bei der niedrigen räumlichen Auflösung um Δd mehr geschätzt wurde, als bei der höheren räumlichen Auflösung, wenn ein Schwellwert unter 50% ebenso als GM klassifiziert wird.

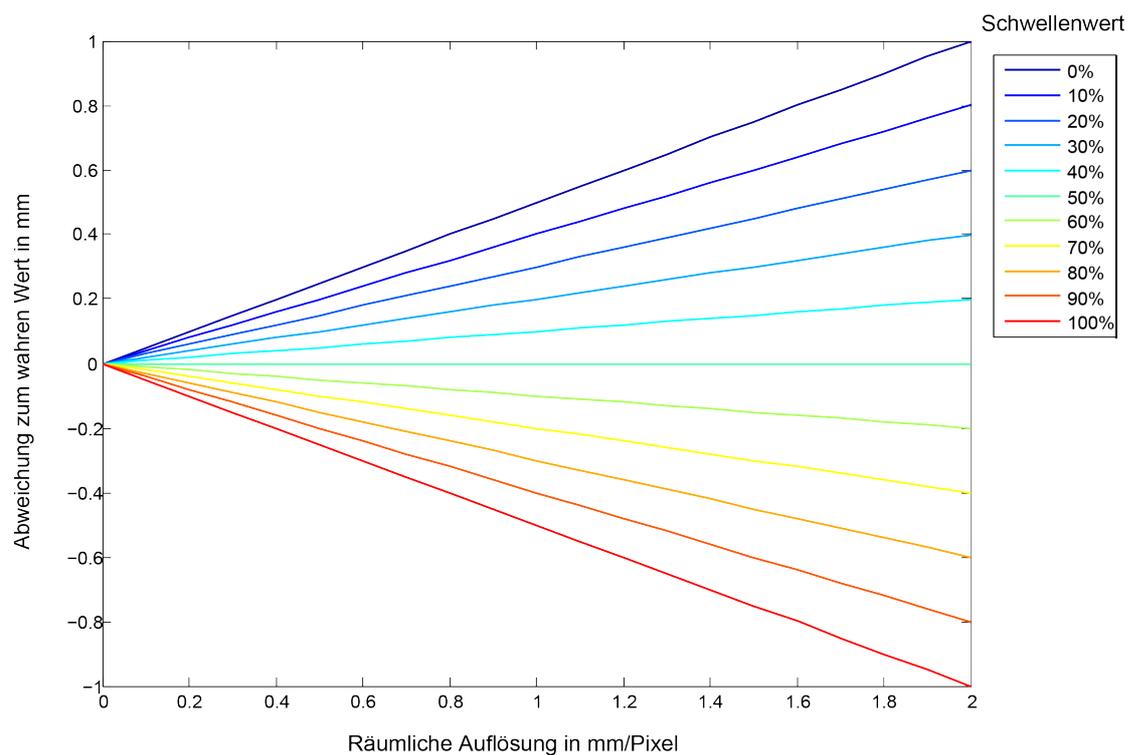


Abbildung 4-2: Simulierte Abweichung der kortikalen Dicke aufgrund des Partialvolumeneffektes in Abhängigkeit von räumlicher Auflösung (von 0 bis 2 mm/Pixel) und Schwellwerte (von 0% bis 100%) für die Klassifizierung.

Würden die Voxel mit einem Grauwert unter 50% ebenfalls als GM klassifiziert werden, so würde zu viel GM klassifiziert. Diese Phänomen wurde bereits von Ashburner berichtet (Frackowiak, Richard S. J et al. 2004, S. 703). Des Weiteren ist die graue Substanz des Gehirns keine glatte Fläche, sondern gefaltet. Es entstehen Gyri und Sulci. Manche davon können bei niedrigen Auflösungen im Bild verschwimmen und falsch segmentiert werden. Zusätzlich nimmt das SNR bei zunehmender Auflösung kubisch ab und Bewegungsartefakte bei zunehmender Messdauer zu. Diese zwei Störfaktoren verstärken die Messungenauigkeit.

Wie bereits erwähnt wurde, berichtete Lüsebrink über eine Abnahme der kortikale Dicke bei zunehmender Auflösung. Wegen des fehlenden „Goldstandards“ ist es jedoch sehr schwer zu beurteilen, welche Werte der realen kortikalen Dicken entsprechen. Aufgrund des Partialvolumeneffektes wären die Werte von der Auflösung 0,5 mm iso genauer als bei 1 mm iso. Die Abweichung zur Realität war jedoch unklar. Deshalb wird der Verlauf der kortikalen Dicken in Abhängigkeit von der Auflösung schrittweise in diesem Kapitel untersucht werden. Eine Annäherung zum wahren Wert wird erwartet.

Die Messdauer nimmt mit zunehmender Auflösung zu. Für ein besseres SNR wird außerdem auf Beschleunigungsmethoden wie GRAPPA verzichtet. Insgesamt kann dadurch eine hochaufgelöste Messung (0,15 mm iso) länger als drei Stunden dauern, weshalb eine *in vivo*-Messung undenkbar ist. Für solch extrem lange Messungen wurde daher ein *ex vivo* Hirn verwendet. *Ex vivo* kommt, ebenso wie auch *in vivo*, aus dem Lateinischen und bedeutet „außerhalb des Lebendigen“. In dieser Arbeit wurde ein *ex vivo* Gehirn genutzt, das nach dem Tod aus dem Schädel entnommen wurde.

Über die ultra-hochaufgelöste MR-Bildgebung mit kleinen Proben aus *ex vivo* Hirn wurde bereits in vielen Veröffentlichung berichtet. Wegen ihrer hohen Auflösung kann eine *ex vivo* MR-Bildgebung zum Beispiel für Forschung der Histopathologie an neurologischen Erkrankungen, wie beispielsweise multipler Sklerose, verwendet werden (Geurts, J. J. G. et al. 2008). Manche neurologisch interessanten Hirnregionen, z.B. der Hippocampus (Yushkevich et al. 2009), Thalamus (Massey et al. 2011), Hypothalamus, Habenula (Strotmann et al. 2013) oder einige Brodmann Areale (Augustinack et al. 2013) wurden bereits *ex vivo* mit ultra-hochaufgelöster MR-Bildgebung, teilweise in Kombination mit histologischen Analysen, untersucht. Eine MR-Aufnahme einer *ex vivo* Hirnhemisphäre mit einer Auflösung von 0,1 mm iso wurde gezeigt (Iacono et al. 2011). Jedoch gab es noch keine Bildgebung mit einer ultrahohen Auflösung (<0,2 mm) für ein ganzes Gehirn. Die automatischen Verfahren, die Morphometrie für *in vivo* Gehirne unterstützen und im letzten Kapitel verwendet wurden, basieren alle auf Bildgebung des ganzen Gehirns. Deshalb wird ein solches ultra-hochaufgelöstes, ganzes *ex vivo* Hirn gemessen.

In erster Linie soll die Messmethode für ein *ex vivo* Hirn angepasst werden. Hyare berichtete bereits über die Veränderungen der T1- und T2-Werte. Ein fixiertes *ex vivo* Hirn hat einen reduzierten Wasseranteil im Gewebe (Hyare et al. 2008). Je nach Fixierungsdauer ist der Verlust des Wasseranteiles unterschiedlich. Das führt zu einer individuellen Abnahme des T1-Werts. Hingegen nimmt das Signal generell bei abnehmendem T1-Wert zu. Das bedeutet ein besseres SNR im Vergleich zu einer *in vivo* Messung bei gleicher Auflösung.

In dieser Studie wurde ein *ex vivo* Hirn mit einer Auflösung von 150 μm iso gescannt. Die kortikale Dicke wurde anschließend mit ähnlichen, aber angepassten Methoden wie für MPRAGE/GE und MP2RAGE ermittelt.

4.2 Methoden

4.2.1 Ultra-hochauflöste MR-Bildgebung

Zwei mit Formalin fixierte menschliche Gehirne wurden als Messobjekt ausgesucht. Ein Gehirn, Gehirn I genannt, wurde im Jahr 1988 entnommen. Genauere Angaben zu diesem Gehirn wurden nicht mehr gefunden. Dennoch ist das Gehirn durch die über 20-jährige Fixierung ausgehärtet und behielt seine Form. Das zweite Gehirn, Gehirn II, stammt aus dem Jahr 2010 und war zum Messzeitpunkt 6 Monate in Formalin fixiert. Der Spender von Gehirn II war 64 Jahre alt und war durch akutes Herzversagen, nach Myokardinfarkt, gestorben. Es lagen keine neurologischen Erkrankungen vor. Beide Gehirne wurden zuerst *in situ* (noch im Schädel) durch Injektion von Formalin (10% Histofix; Carl Roth GmbH + Co KG) in die linke und rechte innere Halsschlagader fixiert. Das Blut wurde ausgespült und das Gehirn durch Formalin fixiert. Nach 24 Stunden wurden die Gehirne aus dem Schädel entfernt und in 10 % Formalin aufbewahrt.

Eine Plastikkugel als Behälter wurde für die MR-Messung optimiert und angefertigt. Die Kugel besteht aus zwei halbkugelförmigen Schalen und einem zylindrischen Ring. Die Schalen können mit dutzenden Plastikschrauben mit dem Ring verschraubt werden. Der Ring verlängert die gesamte Form des Behälters, weil das Hirn eine längliche Form hat. Zwei Gummiringe an den Kanten der Schalen dichten

den Behälter ab. Vor der MRT-Messung wurden die Gehirne in den Behälter hineingebracht. Der Behälter wurde mit Formalin gefüllt. Vorhandene Luftblasen wurden in einer Vakuumkammer durch Abpumpen entfernt, da die Luft eine andere Suszeptibilität hat als Hirngewebe und Formalin und daher starke Feldinhomogenität und somit Artefakte erzeugen kann, welche vielfach größer sind als die Blase selbst.



Abbildung 4-3: Behälter für das *ex vivo* Hirn. Links: beide aufgeschraubten Hälften. Rechts: zusammengebauter Behälter.

Die Gehirne wurden im 7T-Ganzkörperscanner (Magnetom 7T Siemens, Deutschland, Erlangen) mit der 32-Kanal-Spule gemessen. Da der Behälter nicht transparent war und auch nicht beliebig in der Spule positioniert werden konnte, konnten die Gehirne nicht in der Position, wie ein Mensch auf dem Rücken im Scanner liegt, gemessen werden. Deshalb muss das Bild am Scanner neu orientiert werden. Es konnte jedoch nicht so orientiert werden, dass alle drei Schnittebenen (Koronal-, Sagittal- und Transversalebene) in Bild- und Objektraum übereinstimmen. Die Transformation zwischen beiden Räumen konnte auch nicht festgestellt werden. Deshalb wurde das Bild so gedreht, dass alle Schnittebenen jeweils eine korrekte Ebene zeigen, jedoch ohne Berücksichtigung der korrekten Zuordnung. Die korrekte Zuordnung wurde danach offline mit Hilfe einer Vorlage vorgenommen (siehe folgender Abschnitt). Bei der Drehung des Bildes wurde eine Ebene an der vorderen Kommissur (AC, für anterior commissure) und der hinteren Kommissur (PC, für posterior commissure) orientiert.

Eine Gradientenecho-Sequenz wurde vorher manipuliert. Die Beschränkung des Datenvolumens für Online-Bildrekonstruktion (ca. 50 GB) und das Downsampling

zur Verhinderung von Rückfaltung des Objektes wurden entfernt. Dadurch wurde die Hälfte des Datenvolumens gespart und vergrößerte das Datenvolumen theoretisch bis zur Kapazität des Festplattenspeichers vom Scanner (ca. 280 GB). Beide Gehirne wurden mit folgenden Parametern gescannt: TR = 28 ms, TE = 15 ms, Kippwinkel = 15°, Bandbreite = 70 Hz/Pixel, Auflösung = 0,15 mm iso, Matrixgröße = 1280×1280×1024, 1 Mittelung und die totale Aufnahmezeit = 5,7 h. Das Gehirn I wurde mit folgenden Parametern gescannt: TR = 16 ms, TE = 6,7 ms, Kippwinkel = 14°, Bandbreite = 70 Hz/Pixel, Auflösung = 0,15 mm iso, Matrixgröße = 1280×1280×1024, 4 Mittlungen, totale Messdauer = 4 × 3,2 h. Der jeweilige Datensatz hat eine Größe von 230 GB, die aus dem Speicher des Scanners exportiert wurde und offline auf einer Workstation (4 x Six-Core AMD Operon™ Prozessoren, 2,8 GHz, 128 GB RAM) mit MATLAB® ausgelesen und rekonstruiert wurde.

Konventionell werden die Daten von allen Kanälen der Spule mit Sum-of-Squares (SOS) kombiniert. Die Methode SOS funktioniert relativ gut für Daten mit hohem SNR. Jedoch wurde hier eine Auflösung von 0,15 mm iso genutzt. Im Vergleich zu der Auflösung von 1 mm iso ist das SNR bei 0,15 mm iso nur 1/296 davon. Deshalb wurden die Daten aus der 32-Kanal-Spule mit einer adaptiven Rekonstruktion kombiniert, welche eine optimale Sensitivitätskarte für jede Spule berechnet (Walsh et al. 2000).

Als Hilfsmittel wurden die Gehirne auch in einem 3T-Ganzkörperscanner (Magnetom Trio, Siemens, Deutschland, Erlangen) mit MPRAGE gescannt. Die Parameter waren wie folgt: TR = 2500 ms, TE = 3,47 ms, TI = 1100 ms, Kippwinkel = 8° und Auflösung = 0,6 mm iso. Mit Hilfe dieser Daten wurde eine Maske für die 7T-Daten erzeugt, was im nächsten Abschnitt erklärt wird.

4.2.2 Messung der kortikalen Dicken des *ex vivo* Gehirns

Vorbereitung der Datensätze

Das aus den Rohdaten rekonstruierte Bild wurde im NIFTI-Format gespeichert. Eine NIFTI-Datei enthält nicht nur das Bild in 2, 3 oder 4 Dimensionen, sondern auch einen sogenannten „Header“ (Kopf). Dieser beinhaltet einige Informationen über das Bild, z.B. die Auflösung, die Orientierung des Bildes, die Skalierung der Grauwerte

für die Intensität, Datentypen der Zahlen usw. Diese Informationen müssen korrekt vorliegen, um später den NIFTI-Datensatz weiter bearbeiten zu können.

Erzeugen einer Maske

Aus der Abbildung 4-4A ist zu ersehen, dass der Hintergrund, das Signal des Formalins, eine ähnliche Intensität wie das Gehirn selbst hat. Der Kontrast zwischen beiden ist äußerst gering, was ein großes Problem bei der späteren Bildbearbeitung und Analyse darstellen kann (siehe Abbildung 4-3 und Abschnitt 6.3).

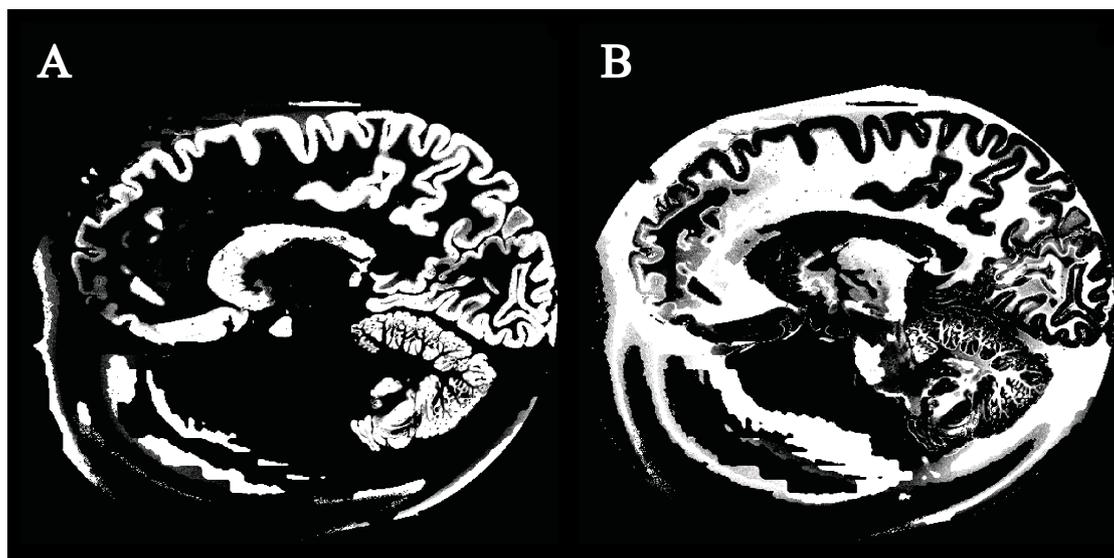


Abbildung 4-4: Ergebnisse zur Segmentierung mit Hintergrund (A: GM; B: WM)⁸.

In der Abbildung 4-4 wurden GM und WM nicht sauber segmentiert. Der Hintergrund wurde als GM oder WM klassifiziert. Deshalb muss der Hintergrund entfernt werden, wie in der Abbildung 4-5 gezeigt wird.

⁸ Prozessiert von Dr. Christian Gaser, Structural Brain Mapping Group, Universität Jena.

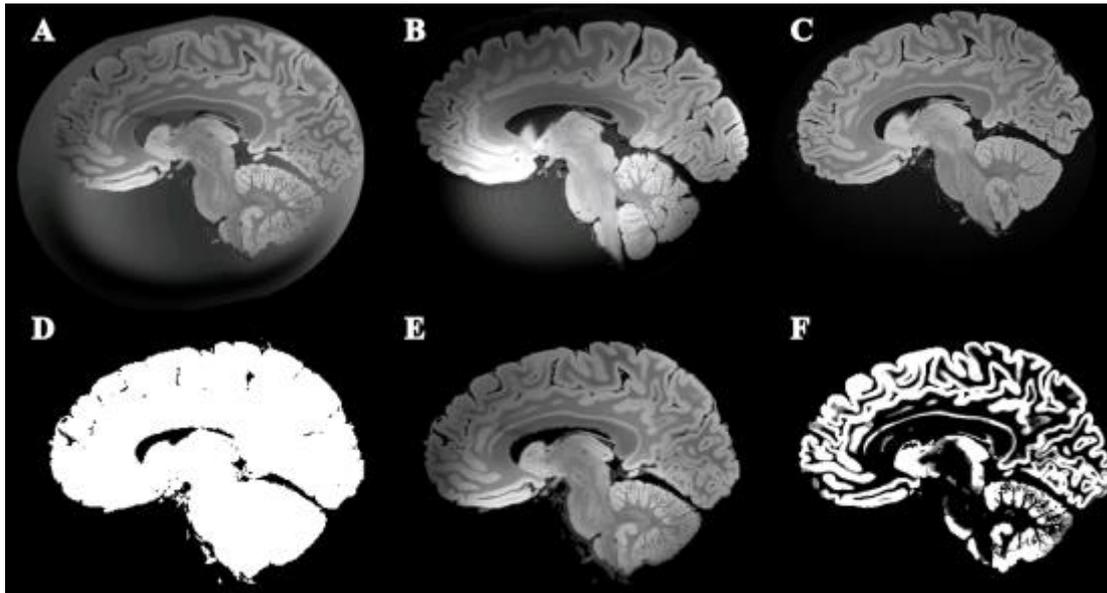


Abbildung 4-5: Arbeitsschritte um den Hintergrund zu entfernen. A: Ultra-hochauflöste 7T-Daten (FLASH), hier heruntergerechnet auf 0,3 mm iso; B: MPRAGE-Daten vom 7T; C: MPRAGE-Daten vom 3T; D: Maske aus 3T-Daten; E: Bild A ohne Hintergrund; F: Segmentierte GM vom Bild E als Beispiel für die Anwendung.

MPRAGE kann zwar das Signal vom Formalin unterdrücken, jedoch ist wegen der B1-Feldinhomogenität bei 7T ein starker Hotspot im Bild (Abbildung 4-5 B) zu sehen, welcher sich selbst durch Inhomogenitätskorrektur nicht entfernen lässt. Im Gegensatz dazu zeigt die MPRAGE-Messung bei 3T fast gar keinen Hotspot (Abbildung 4-5 C). Durch einen festgelegten Schwellwert kann eine Maske erzeugt werden. Als Vorbereitung wurden das Referenzbild (Bild A, ultra-hochauflöste 7T Daten) und das zu registrierende Bild (Bild C, MPRAGE Daten aus 3T) mit N3 korrigiert. Das Bild C wurde dann auf Bild A registriert. Mit dieser Transformation wurde die Maske (Bild D) zu Bild A transformiert. Die neue Maske kann dann auf Bild A angewendet werden (Abbildung 4-5 E). Abbildung 4-5 F zeigt klassifizierte GM nach der Segmentierung.

Bestimmung der kortikale Dicke in verschiedenen Auflösungen

Der Datensatz ohne Hintergrund mit der Auflösung 0,3 mm iso wurde in andere niedrigere Auflösungen im k-Raum umgerechnet, wodurch sich die Bilder ausschließlich in der Auflösung unterscheiden. Die Auflösungen höher als 0,3 mm iso konnten aufgrund technischer Limitierungen (vermutlich eine fehlerhafte 64-bit Implementierung des Softwares) nicht ausgewertet werden. Die Daten wurden

durch die Toolbox VBM8 in SPM8 segmentiert, jedoch ohne die Funktion zur Entfernung des Schädels. GM, WM und CSF wurden klassifiziert (siehe Abbildung 4 5),



Abbildung 4-6: Segmentierung eines Datensatzes mit 0,3 mm iso Auflösung. A: GM; B: WM; C: CSF. Der weiße Pfeil zeigt die falsche WM, die sich außerhalb der GM befindet.

wobei CSF hier nicht existierte. Wegen nicht perfekter Maskierung können kleine Teile des Hintergrunds fälschlicherweise als WM klassifiziert werden, welche sich außerhalb des GM befindet und entfernt werden muss. Die drei Wahrscheinlichkeitskarten wurden zuerst binarisiert, wobei mit den Schwellwerten 25% für GM, 50% für WM und 100% für CSF gearbeitet wurde. Die drei binären Bilder wurden übereinander gelegt (Abbildung 4-7 A), und zwar so, dass GM oben, WM in der Mitte und CSF unten liegt, wodurch GM die höchste Priorität hat. Die Grenze des binären Bildes (Abbildung 4-7 C) zwischen GM und WM wurde durch einen Gauß-Filter erweitert (Abbildung 4-7 D). Innerhalb der Erweiterung darf keine WM existieren, da WM immer von GM umgeben ist. Auch besteht die WM aus einem verbundenen Stück, das nicht allein als eine Insel existiert. Deshalb wurde eine Analyse für Zusammenhangskomponenten durchgeführt, um die größte zusammenhängende Komponente zu finden und den Rest zu entfernen. Die braune Fläche in der Abbildung 4-7 E zeigt die Fläche, die entfernt wird.

ARCTIC funktioniert nicht mit dem *ex vivo* Gehirn, da die FLIRT-Registrierung in ARCTIC das *ex vivo* Gehirn nicht auf *in vivo* Muster registrieren kann. Um dieses Problem zu umgehen konnte nur die Funktion, CortiThickCLP verwendet werden,

um die Kalkulation der kortikalen Dicken durchführen zu können. Die Ausgangsdaten sind die Karte der kortikalen Dicken an der Grenze zwischen WM und GM und zwischen GM und CSF, deren Grauwerte der Dicke entspricht.

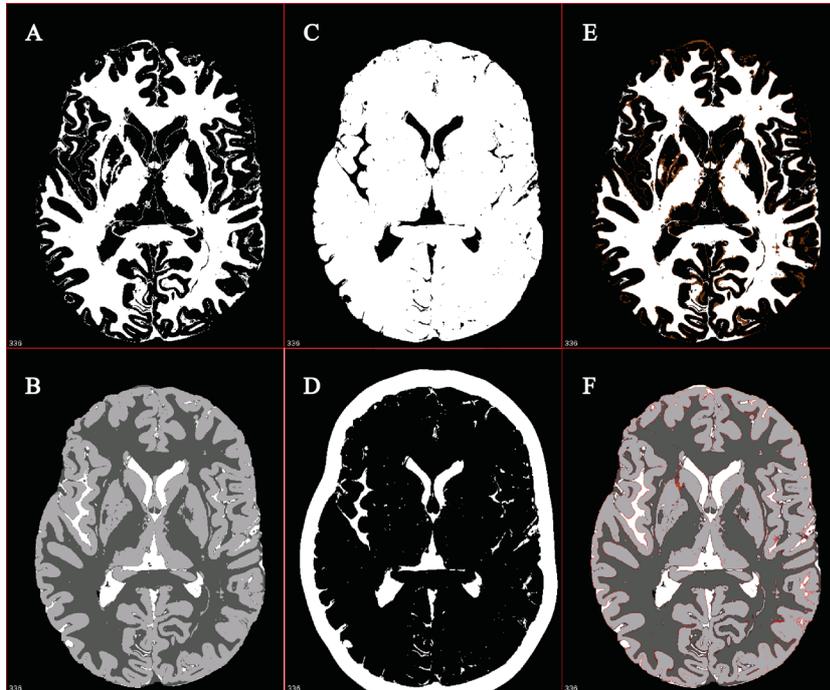


Abbildung 4-7: Darstellung zur Entfernung der falsch klassifizierten WM. A: Direktes Binärbild für WM nach der Segmentierung; B: Direkte labelmap nach der Segmentierung: Weiß für CSF, hellgrau für GM und dunkelgrau für WM; C: Mask für WM und GM; D: die erwartete Mask von C; E: Optimierte WM, braun für entfernte Fläche; F: Optimierte labelmap. Die farbige Linie steht für die Grenze, die als Kortex berechnet wird.

Gruppenanalyse der kortikalen Dicke des *ex vivo* Hirns

VBM8 bietet die Möglichkeit, die Transformation vom Datensatz zum Muster zu speichern sie wiederholt zu verwenden. Daher werden die Parzellationskarten mit 24 Teilen (Abbildung 4-8 A) und mit 98 Teilen (Abbildung 4-8 B) jeweils in den nativen Raum jeweiliger Auflösung transformiert. Aus der Karte der kortikalen Dicken wurden die Mittelwerte zu jedem Teil berechnet und in Abhängigkeit von der Auflösung geplottet.

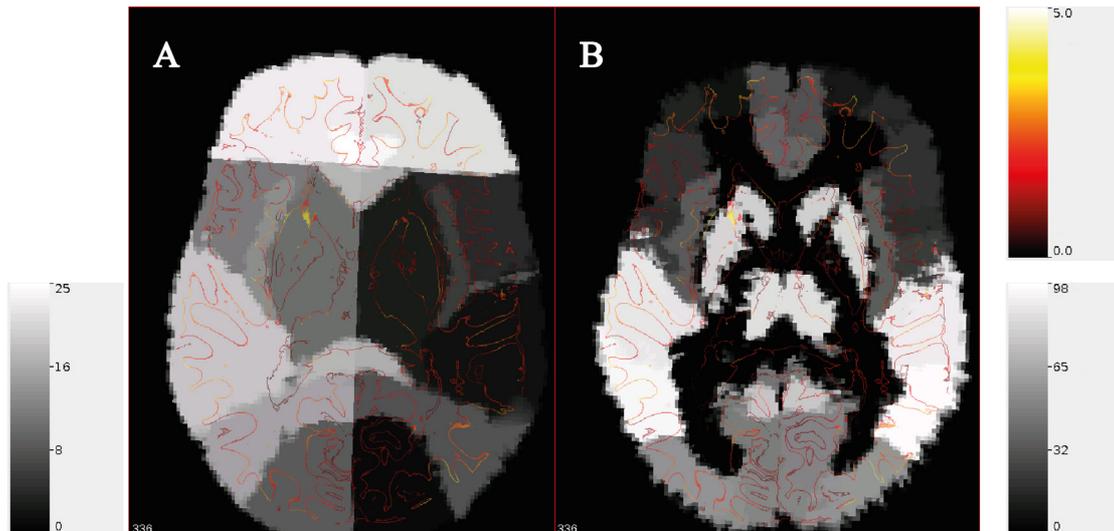


Abbildung 4-8: Darstellung der Aufteilungen der kortikalen Dicken des Hirns. Bild A wurde in 24 Teile zerlegt, Bild B in 98 Teile. Die Graustufe entspricht der Indexnummer des Teils. Die farbige Linie entspricht der kortikalen Dicke (Farbtionskala rechts oben) an den Grenzen zwischen GM und WM.

4.3 Ergebnisse

4.3.1 Ultra-hochauflöste MR-Bildgebung

Wie in Abbildung 4-9 zu sehen, kann die adaptive Rekonstruktion das SNR im Vergleich mit dem SOS-Algorithmus um den Faktor 1,3 für WM und 1,7 für GM erhöhen.

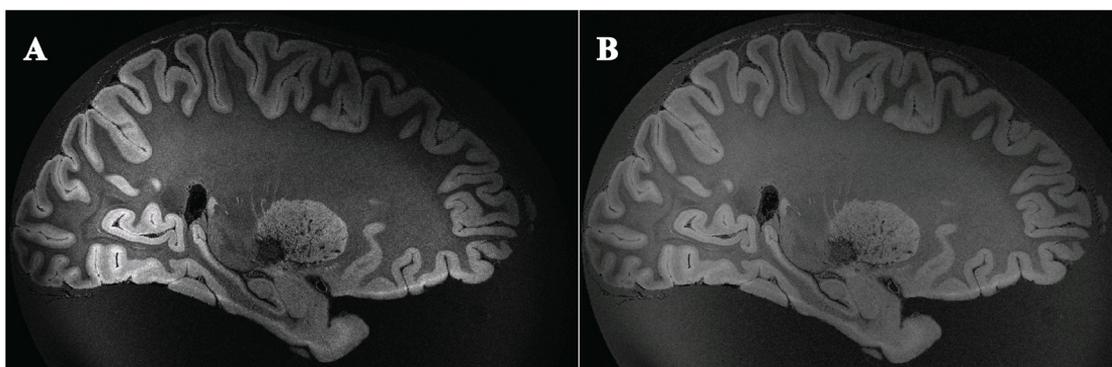


Abbildung 4-9: Die adaptive Rekonstruktion (B) verbessert die Homogenität und die globale SNR im Vergleich mit SOS (A).

Hierbei zeigt HB2 mit höheren SNR und räumlicher Auflösung deutlich mehr Details in anatomischen Strukturen, z.B. beim primären visuellen Kortex (Brodmann-Areal 17, V1; Area striata) oder Nucleus dentatus (Abbildung 4-10).

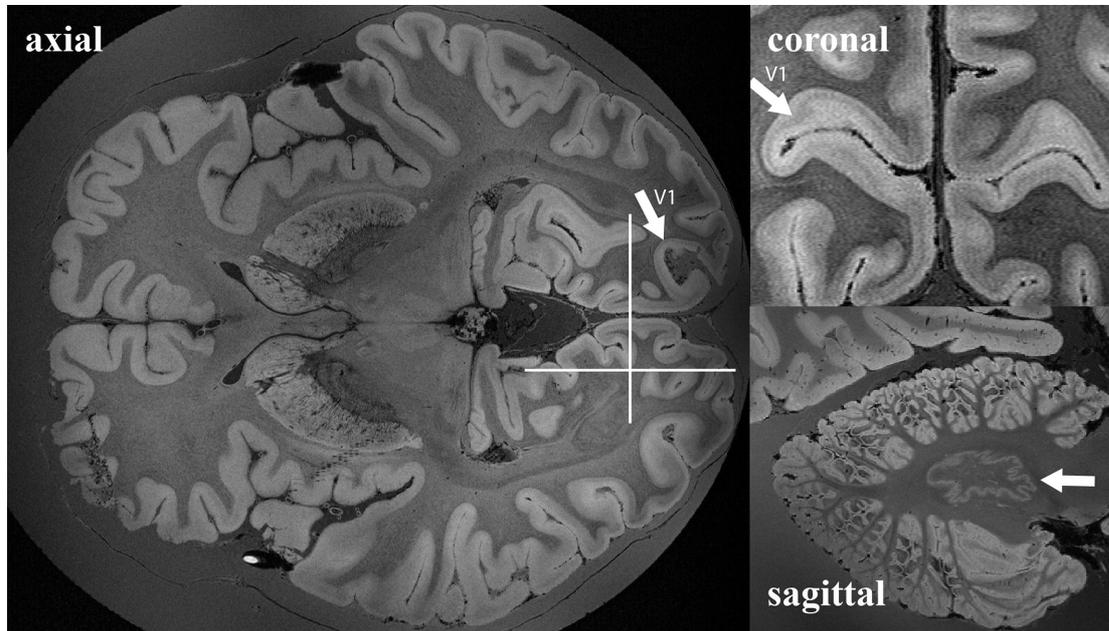


Abbildung 4-10: Das protonendichte-gewichtete Bild mit einer Auflösung von 0,15 mm iso in drei Ansichten. In Transversal- und Koronalebene ist der primäre visuelle Kortex mit einem weißen Pfeil markiert. Sagittal ist der Nucleus Dentatus gekennzeichnet.

4.3.2 Bestimmung der kortikalen Dicken des *ex vivo* Gehirns

Zwei Beispiele der Bestimmung der kortikalen Dicken bei einer Auflösung von 0,3 mm iso und 1 mm iso werden in Abbildung 4-11 gezeigt. Die höhere Auflösung (links) zeigt im Vergleich mit der niedrigeren Auflösung (rechts) eine deutlich genauere Segmentierung. Vor allem konnte die niedrigere Auflösung eine Struktur wie den Nucleus Dentatus gar nicht darstellen und wurde dort deshalb auch fehlerhaft segmentiert.

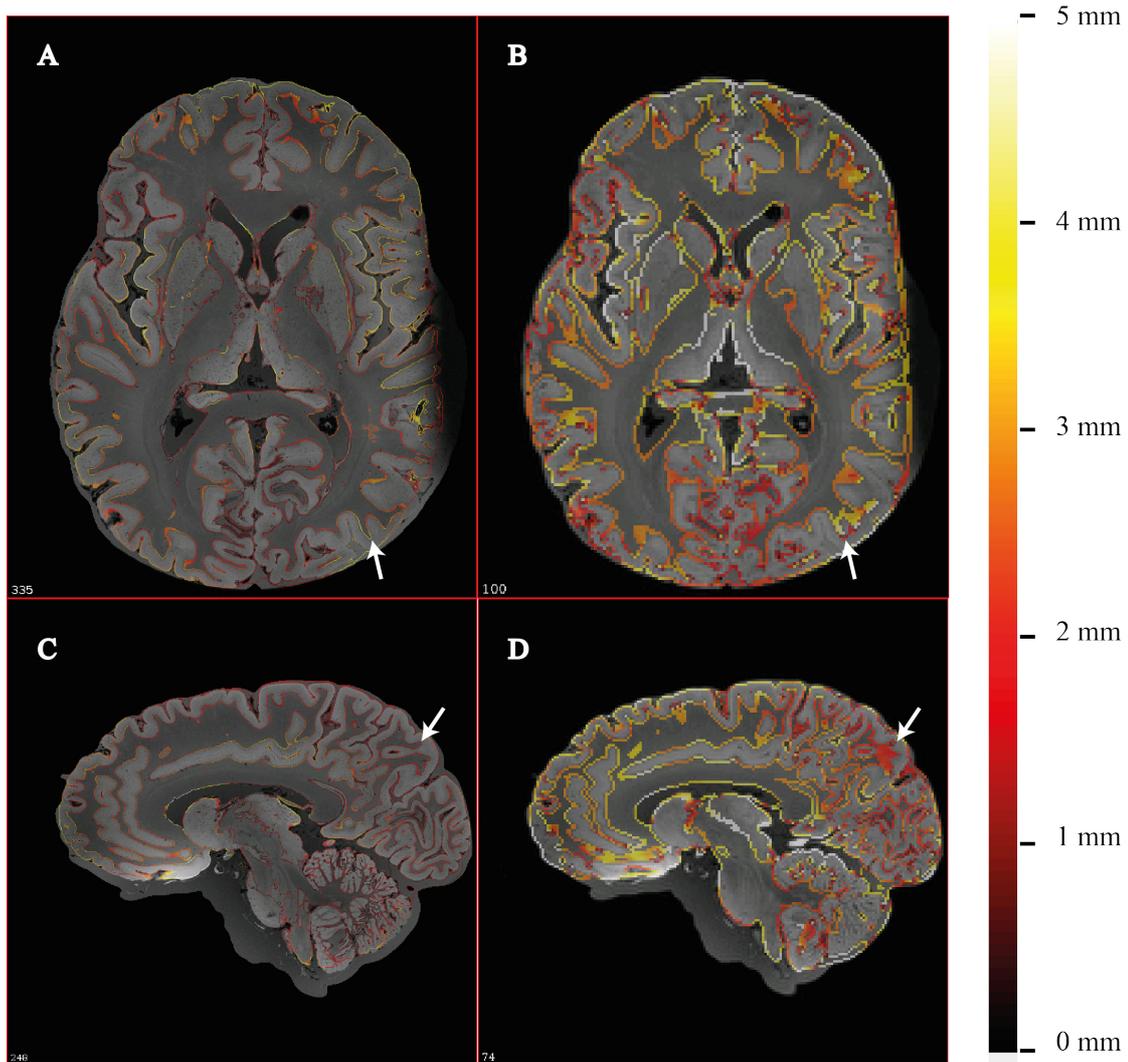


Abbildung 4-11: Vergleich der Qualität der Segmentierung für Auflösungen von 0,3 mm iso (A,C) und 1 mm iso (B,C) in Transversal-(A,B) und Sagittalebene (C,D). Die weißen Pfeile zeigen Stellen, bei denen die Segmentierung bei hochauflösenden Daten präziser ist, als bei einer niedrigen Auflösung.

Die kortikale Dicke in Abhängigkeit von der Auflösung wird in der Abbildung 4-11 gezeigt, sie nimmt bei zunehmender Auflösung ab. Es ist auch zu sehen, dass diese Abnahme nichtlinear ist. Theoretisch sollte die kortikale Dicke bei sehr hoher räumlicher Auflösungen gegen ihren wahren Wert konvergieren. Deshalb wird dieses Verhalten als quadratische oder exponentielle Funktion vermutet. Eine Regression mit einer quadratischen Funktion

$$Y = A + B * X^2 \quad (4-1)$$

ist in der Abbildung 4-12 zu sehen.

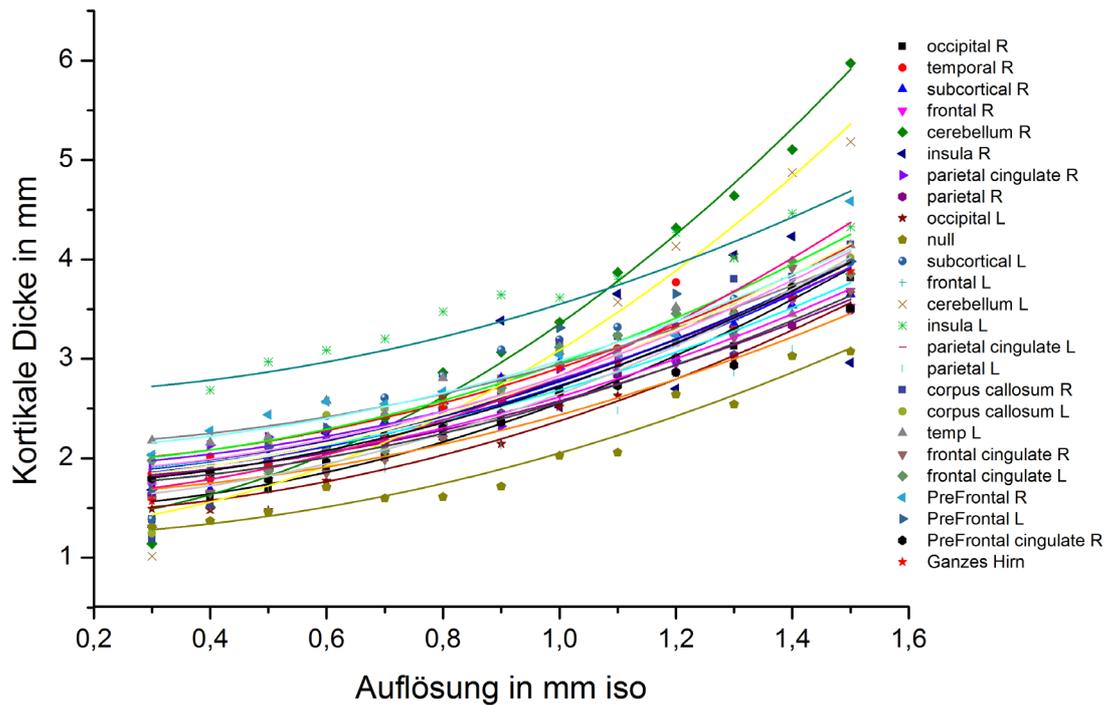


Abbildung 4-12: Diagramm der kortikalen Dicken in Abhängigkeit von der Auflösung beim Gehirn I. Das Gehirn wurde in 24 Regionen eingeteilt (siehe Parzellationskarte, Abbildung 4-8). Durch die Messdaten wurde eine quadratische Funktion gelegt.

Der durchschnittliche Korrelationskoeffizient beträgt hier $R^2 = 0,9231 \pm 0,0778$.

Eine Regression mit einer exponentiellen Funktion

$$y = A + B * e^{(C*x)} \quad (4-2)$$

wird in Abbildung 4-13 dargestellt.

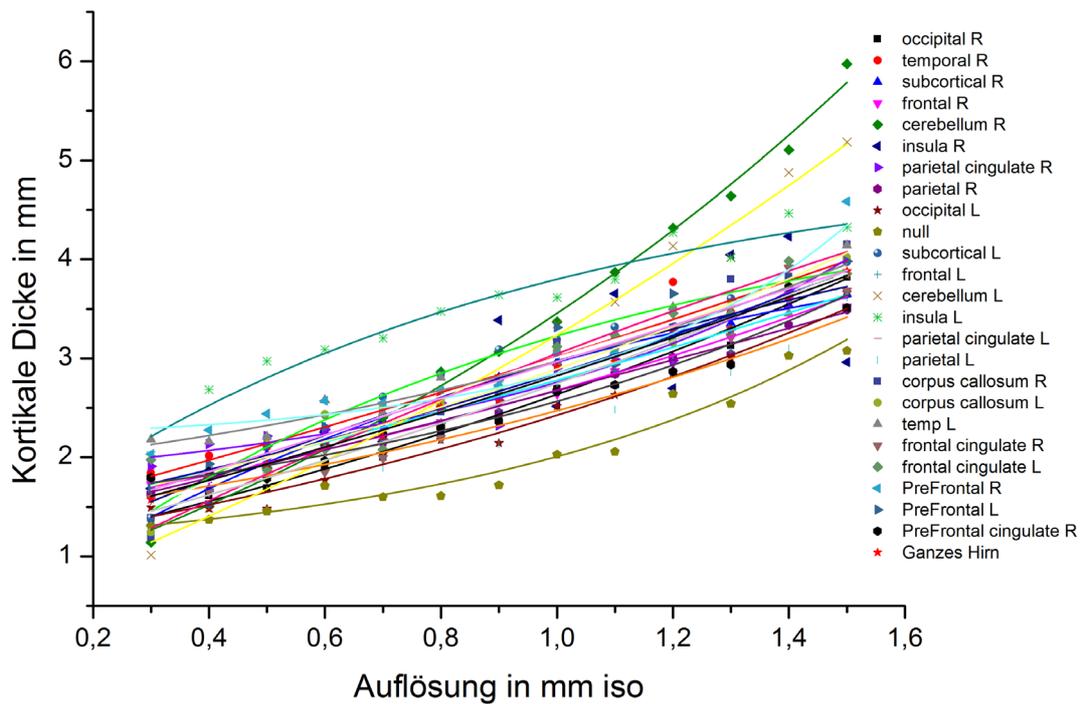


Abbildung 4-13: Diagramm der kortikalen Dicken in Abhängigkeit von der Auflösung beim Gehirn I. Das Gehirn wurde in 24 Regionen eingeteilt (siehe Parzellationskarte, Abbildung 4-8). Durch die Messdaten wurde eine exponentielle Funktion gelegt

Der durchschnittliche Korrelationskoeffizient beträgt $R^2 = 0,9487 \pm 0,1993$.

Alternativ wurden die Werte der Dicke mit einer Parzellationskarte in 98 Regionen geteilt und gemittelt. Die Ergebnisse wurden in Abbildung 4-14 und Abbildung 4-15 geplottet und jeweils eine quadratische sowie eine exponentielle Funktion daran angepasst.

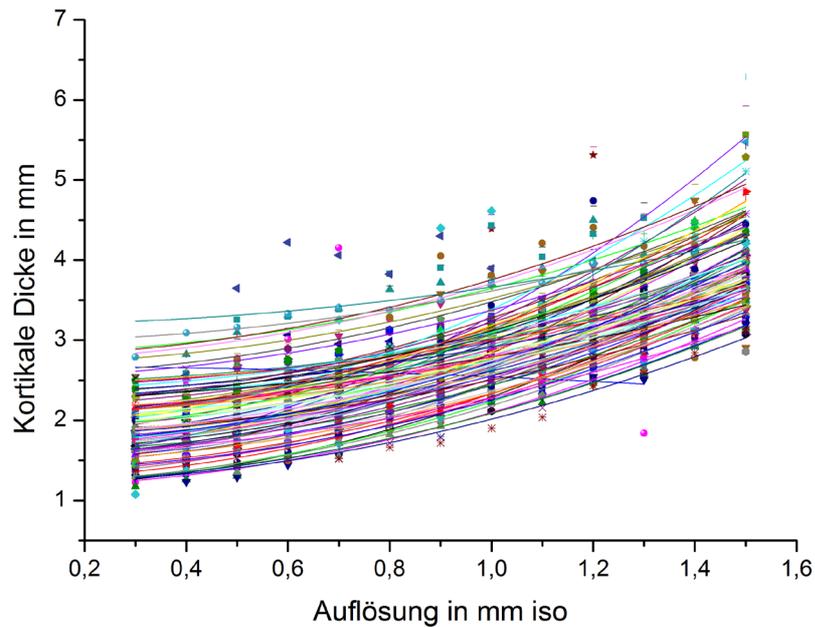


Abbildung 4-14: Diagramm der kortikalen Dicken in Abhängigkeit von der Auflösung beim Gehirn I. Das Gehirn wurde in 98 Regionen eingeteilt (siehe Parzellationskarte, Abbildung 4-8). Durch die Messdaten wurde eine quadratische Funktion gelegt.

Der durchschnittliche Korrelationskoeffizient beträgt $R^2 = 0,8368 \pm 0,1708$.

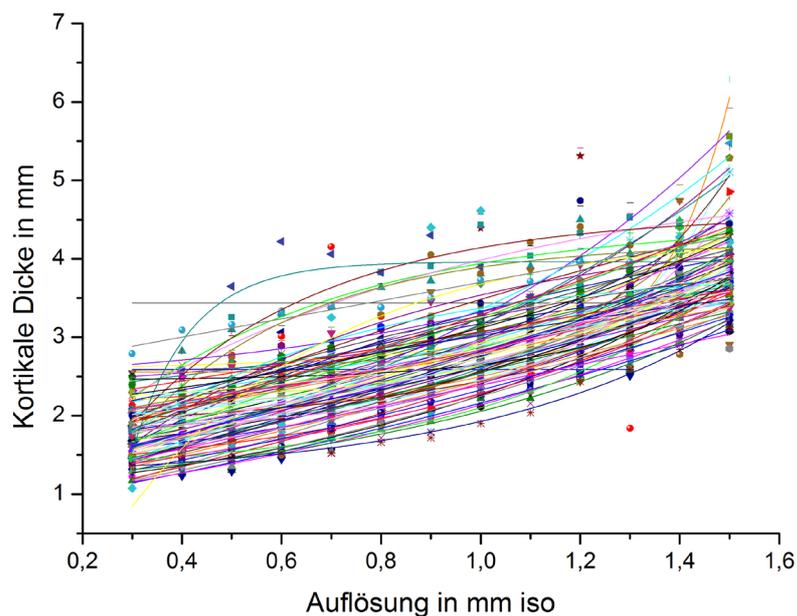


Abbildung 4-15: Diagramm der kortikalen Dicken in Abhängigkeit von der Auflösung beim Gehirn I. Das Gehirn wurde in 24 Regionen eingeteilt (siehe Parzellationskarte, Abbildung 4-8). Durch die Messdaten wurde eine exponentielle Funktion gelegt.

Der durchschnittliche Korrelationskoeffizient beträgt $R^2 = 0,8650 \pm 0,1915$.

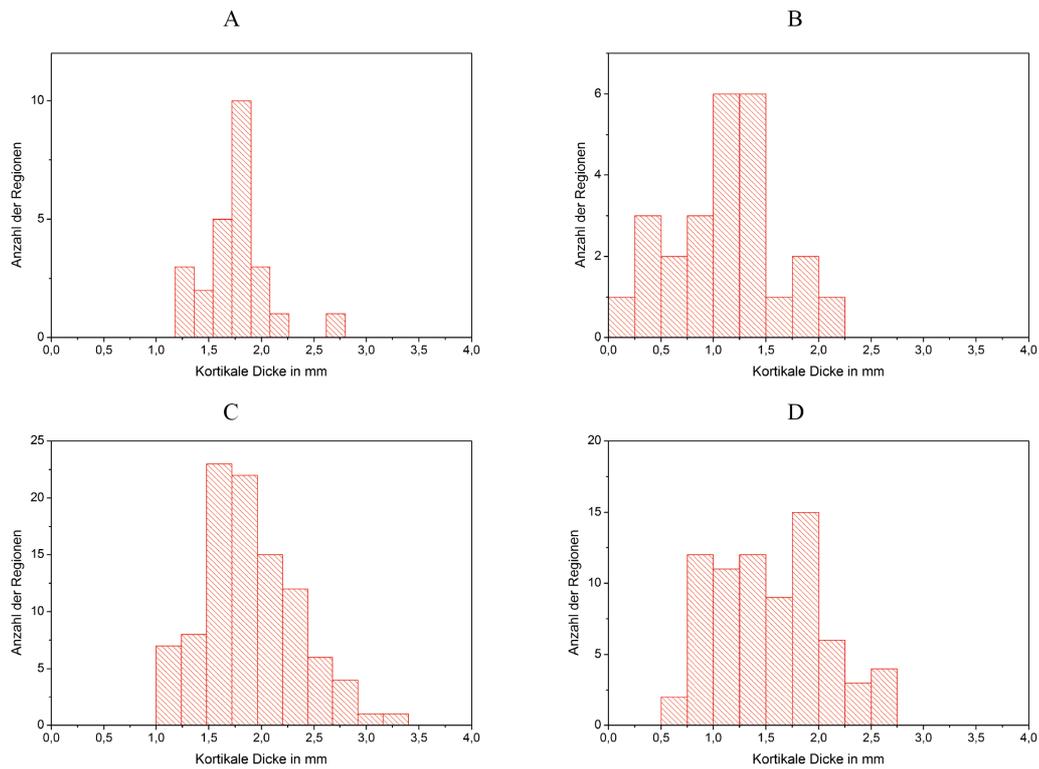


Abbildung 4-16: Histogramm zur Verteilung der berechneten kortikalen Dicken verschiedener Regionen bei Gehirn I, wenn die Auflösung gegen Null geht. Das Gehirn wurde in 24 (oben A und B) und 98 (unten C und D) Regionen aufgeteilt. Die Berechnungen entstanden aus der quadratischen (A und C) und exponentiellen Näherung (B und D).

Es ist zu sehen, dass die aus den Näherungsfunktionen berechneten kortikalen Dicken in verschiedenen Regionen im Gehirn meist zwischen 1,50 und 2,25 mm verteilt sind. Die kortikale Dicke kann real nicht unter 0,5 mm liegen, weshalb die Ergebnisse mit der Unterteilung in 24 Regionen besser nachvollziehbar sind als diejenigen mit 98 Regionen. Aus gleichem Grund ist auch die quadratische Funktion der exponentiellen Näherung vorzuziehen, da letztere Ergebnisse weit unterhalb 1 mm liefern.

Aus der Abbildung 4-16-A wurde die durchschnittliche kortikale Dicke beim Gehirn I zu $1,75 \pm 0,30$ mm berechnet, wenn die Voxelgröße gegen Null gehen würde.

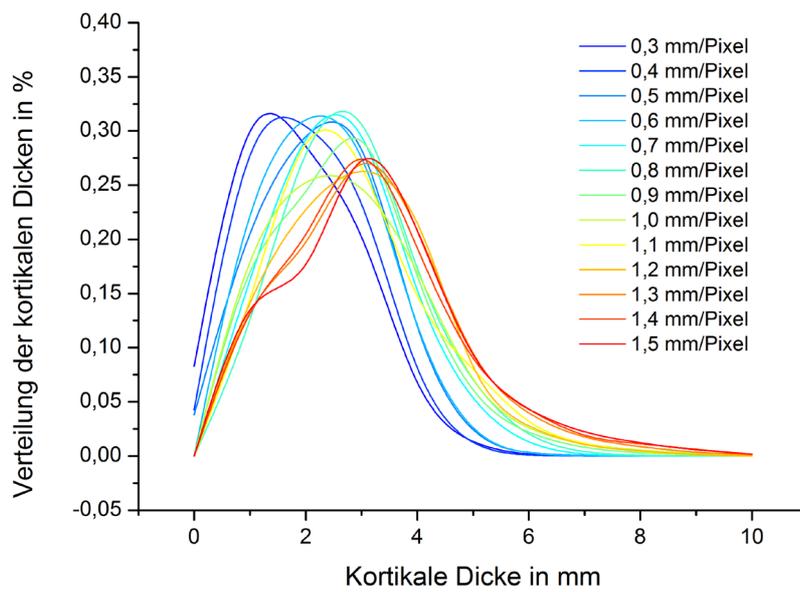


Abbildung 4-17: Normalisierte Häufigkeit der Verteilung von kortikalen Dicken in Abhängigkeit von der Auflösung beim Gehirn I.

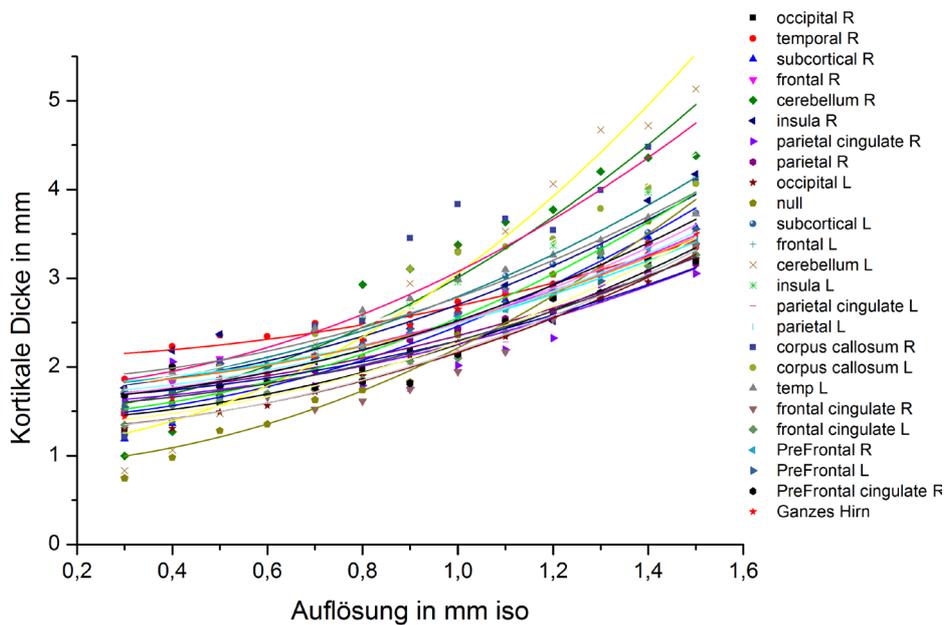


Abbildung 4-18: Diagramm der kortikalen Dicken in Abhängigkeit von der Auflösung beim Gehirn II. Das Gehirn wurde in 24 Regionen eingeteilt (siehe Parzellationskarte, Abbildung 4-8) Durch die Messdaten wurde eine quadratische Funktion gelegt.

Der durchschnittliche Korrelationskoeffizient beträgt $R^2 = 0,9316 \pm 0,0582$.

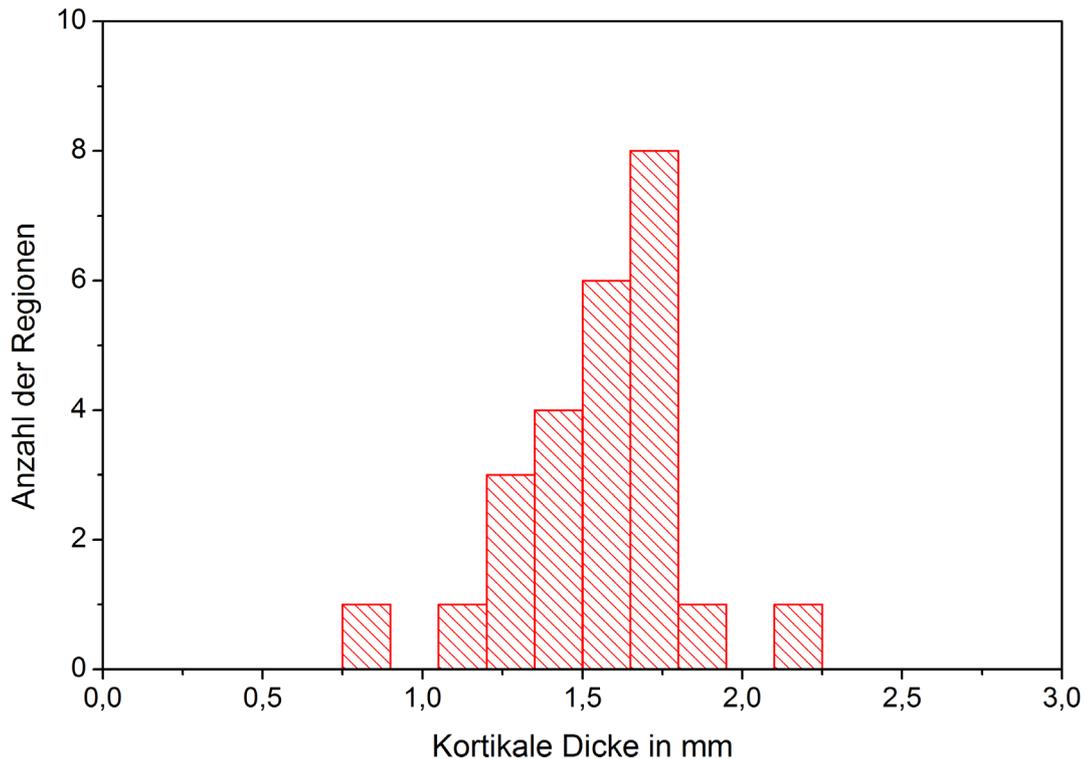


Abbildung 4-19: Histogramm zur Verteilung der berechneten kortikalen Dicken verschiedener Regionen beim Gehirn II, wenn die Auflösung gegen Null geht.

Aus Abbildung 4-19 konnte die durchschnittliche kortikale Dicke unter der Annahme, dass die Voxelgröße gegen Null ginge, beim Gehirn II zu $1,55 \pm 0,26$ mm berechnet werden.

Die Ergebnisse aus den *ex vivo* Daten in 0,5 und 1 mm iso Auflösungen werden mit den früheren *in vivo* Studien (Lüsebrink et al. 2013) verglichen. Die kortikale Dicke in den linken und rechten Frontal-, Parietal- und Occipitallappen werden gemittelt (siehe Tabelle 4-1).

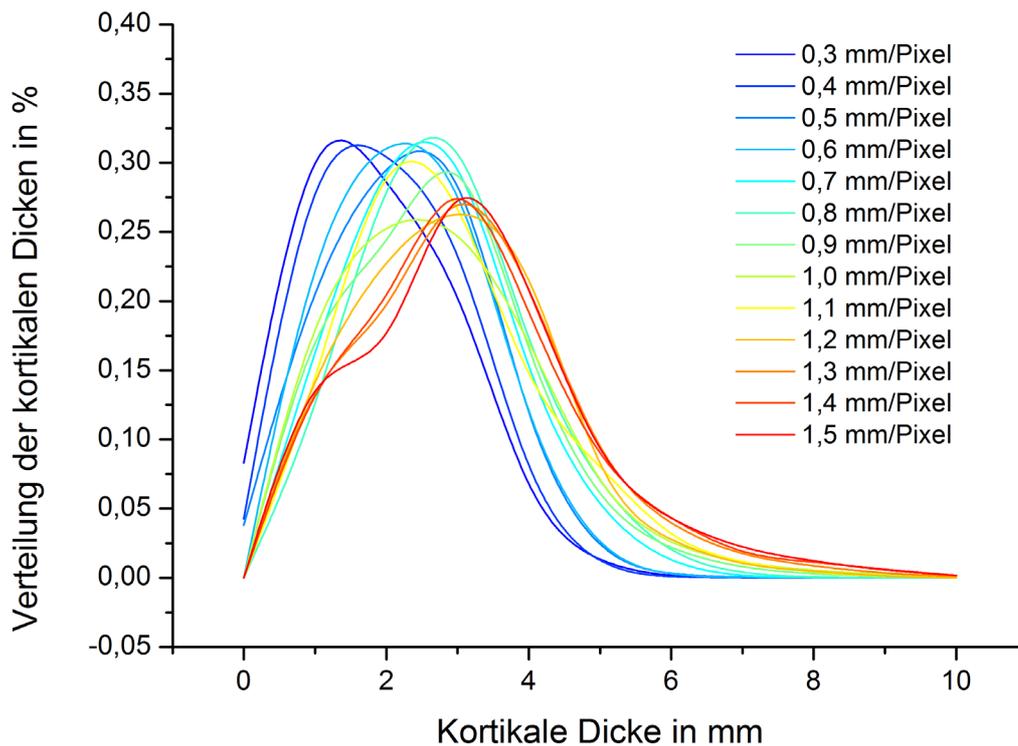


Abbildung 4-20: Die normalisierte Häufigkeit der Verteilung der kortikalen Dicke in Abhängigkeit von der Auflösung beim Gehirn II.

Tabelle 4-1: Mittelwerte der kortikalen Dicke in mm

| | | Linke Hemisphäre | | | Rechte Hemisphäre | | |
|----------------|---------------------|------------------|----------|-----------|-------------------|----------|-----------|
| | | Frontal | Parietal | Occipital | Frontal | Parietal | Occipital |
| <i>in vivo</i> | 1 mm ³ | 2,85 | 2,69 | 2,60 | 2,89 | 2,72 | 2,66 |
| | 0,5 mm ³ | 2,60 | 2,31 | 2,21 | 2,61 | 2,31 | 2,12 |
| <i>ex vivo</i> | 1 mm ³ | 3,02 | 2,72 | 2,52 | 2,64 | 2,67 | 2,69 |
| | 0,5 mm ³ | 1,98 | 1,68 | 1,48 | 1,97 | 1,93 | 1,69 |

Um die Ergebnisse anschaulicher darzustellen, werden die Werte in folgendem Balkendiagramm gezeichnet.

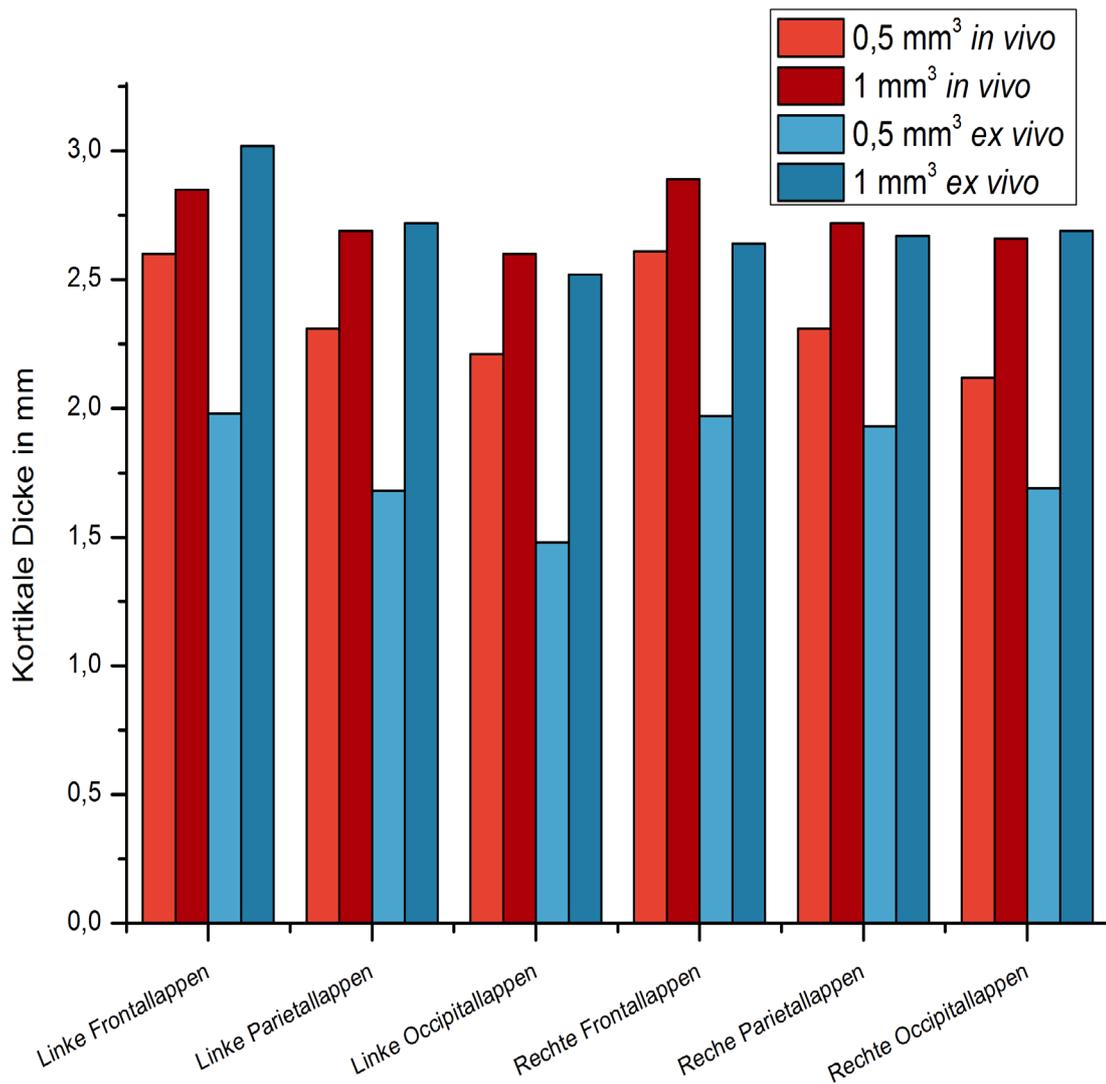


Abbildung 4-21: Vergleich der ermittelten kortikalen Dicke *in vivo* und *ex vivo* mit 0,5 mm und 1 mm iso Auflösungen.

In der Abbildung 4-21 ist zu sehen, dass die kortikale Dicke mit 0,5 mm iso Auflösung immer geringer ist als mit 1 mm iso Auflösung, sowohl bei *in vivo* als auch *ex vivo* Daten. Die Verhältnisse zwischen den Hirnregionen sind unabhängig von der Auflösung und für beide Gehirne konstant. Bei 0,5 mm iso Auflösung sind die kortikalen Dicken bei *ex vivo* Daten generell niedriger als bei *in vivo* Daten. Es gibt keinen systematischen Unterschied für die Auflösung 1 mm von *ex vivo* und *in vivo* Daten.

Kapitel 5 VORBEREITUNG ZUR BESTIMMUNG DER KORTIKALEN DICKE MITTELS HISTOLOGIE

5.1 Einleitung

Zwar ist die Bestimmung der kortikalen Dicken mittels MR-Bildgebung eine sehr verbreitete Methode, jedoch hat sie auch einige Nachteile:

1. Anhand einer MRT-Messung kann zwar die Auflösung des Bildes bis 0,15 mm iso für ein ganzes *ex vivo* Gehirn erreichen werden, aber das SNR ist sehr stark beeinträchtigt.
2. Inhomogenität verschlechtert die Bildqualität.
3. Je nachdem, wie lang das *ex vivo* Gehirn in Formalin fixiert wurde, dringt das Formalin unterschiedlich tief ein. Diese Eindringung ist als eine Rinde, am äußeren Teil des Gehirns zu erkennen, die die Intensität der GM stört.
4. Der Kontrast zwischen GM und WM in der MR-Bildgebung ist zwar deutlich, jedoch nicht so ausgeprägt wie zum Beispiel in der Histologie (Abbildung 5-1).

Im Gegensatz dazu wird *ex vivo* Histologie wenig von diesen Faktoren beeinflusst. Je nach Färbungsmethode kann der Kontrast zwischen GM und WM unterschiedlich stark erzeugt werden. Im Fall des Beispiels (Abbildung 5-1) zeigt die histologische Schicht deutlich besseren Kontrast.

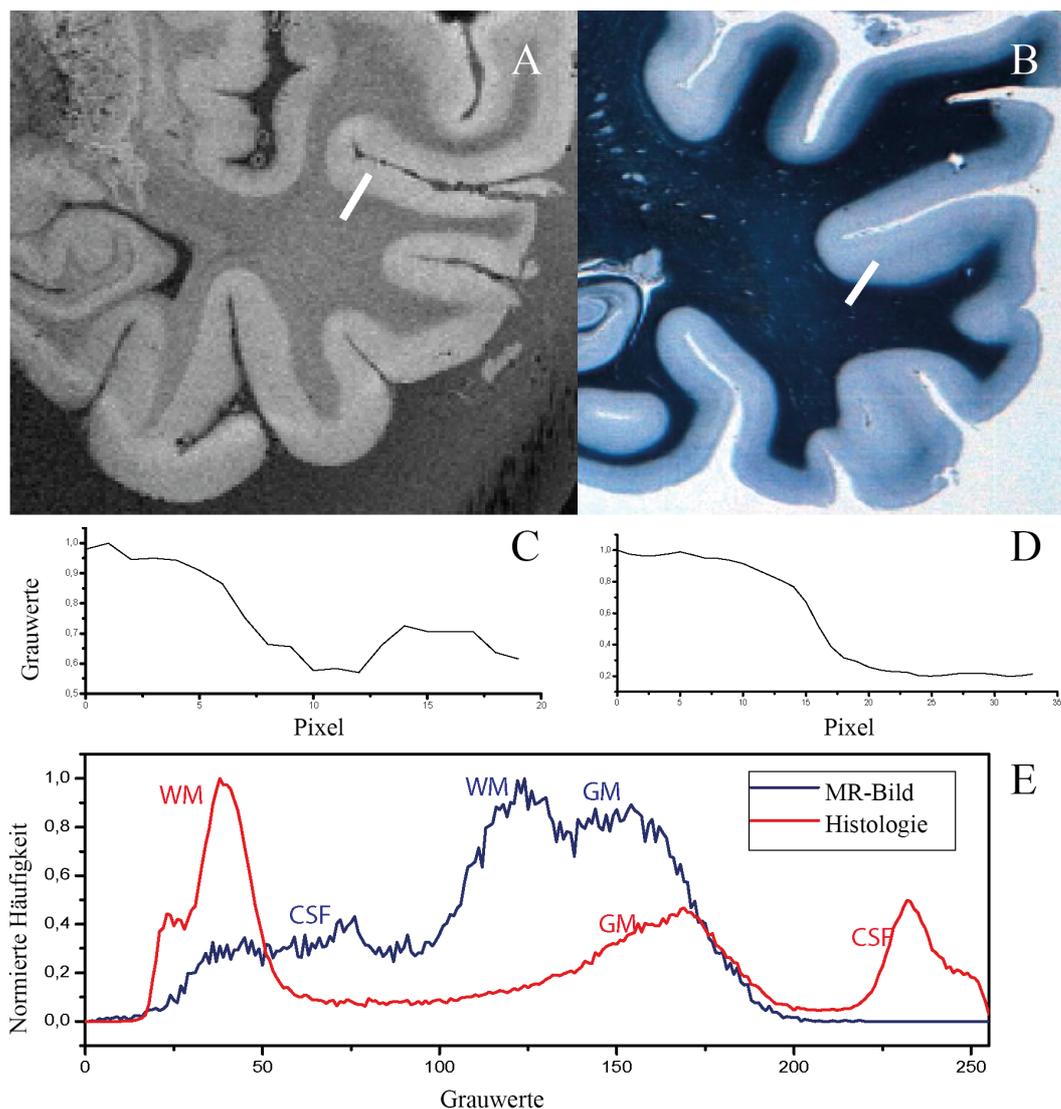


Abbildung 5-1: Vergleich des Kontrasts zwischen MR-Bildgebung und histologischen Schnitten. A: *ex vivo* MR-Bild; B: Histologischer Schnitt mit Markscheiden-Nissl Färbung; C: Grauwertprofil aus der markierten Linie in A; D: Grauwertprofil aus der markierten Linie in B; E: Grauwertverteilung von A (blau) und B (rot).

Die Probe wird in der Histologie normalerweise in 20 μm dicke Schnitte geschnitten. Jeder zehnte Schnitt wird durch eine Färbungsmethode gefärbt. Das heißt, dass die Auflösung in der Richtung des Schnittes bis zu 200 μm erreichen kann. Nach einem optischen Fotoscanner kann ein 2D-Bild mit hohem SNR erzeugt werden. Ein noch größerer Vorteil der Histologie ist, dass eine Auflösung von bis zu 0,2 μm in der Ebene ohne großen Verlust des SNR (Abbildung 5-2) mittels optischer Mikroskopie erreicht werden kann. Deshalb kann die *ex vivo* Histologie als „Goldstandard“ für die Bestimmung der kortikalen Dicke mit der MRT verwendet werden.

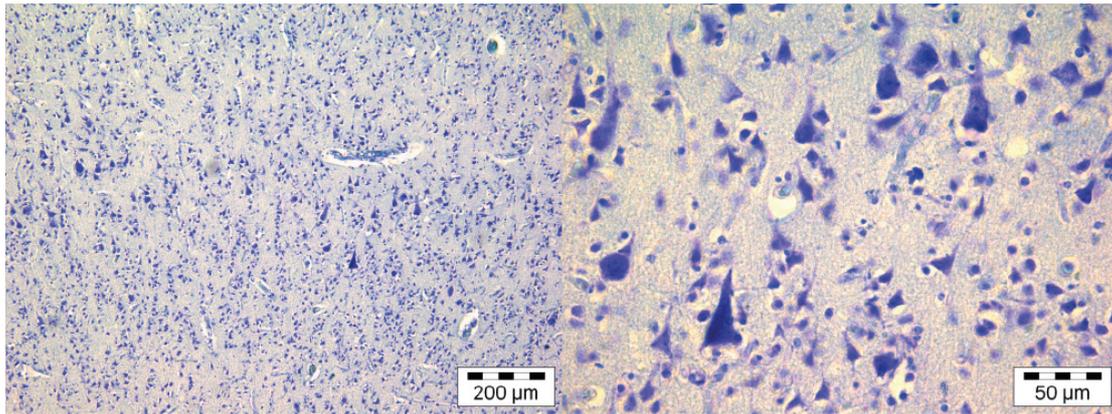


Abbildung 5-2: Beispiel eines mit Nissl gefärbten histologischen Schnittes im Bereich vom Gyrus temporalis superior unter einem optischen Mikroskop mit zwei verschiedenen Vergrößerungen.

Der Nachteil der Histologie gegenüber MRT ist, dass die Bildgebung nur in 2D möglich ist. Bei einem einfachen Stapel aller 2D-Schnitte sind die Ausrichtungen zwischen den Schnitten falsch. Außerdem ist die Hirnstruktur beim Schneiden innerhalb einer Ebene zerrissen, gestaucht, gedehnt, gefaltet oder getrennt. Zusätzlich sind die Bilder durch Luftblasen, Staub usw. gestört (Ju et al. 2006). Außerdem gibt es durch Inhomogenität innerhalb einer Ebene und zwischen den Schnitten sowie ungleichmäßiger Belichtung weitere Störfaktoren (Malandain und Bardinet 2003; Malandain et al. 2004; Chakravarty et al. 2006). All diese Faktoren beschränken die histologische Kontrolle von Hypothesen zugehöriger anatomischer MR-basierter Parzellationen. Sie verhindern außerdem auch die Umwandlung der histologischen Information in ein dreidimensionales Volumen.

Die Methoden zur histologischen Rekonstruktion in der Literatur können grob in zwei Gruppen eingeteilt werden: Entweder ohne eine räumliche Referenz, welche die geometrische Information innerhalb einer Ebene beinhaltet (Chakravarty et al. 2006; Kim et al. 1997; Ourselin et al. 2001a; Ourselin et al. 2001b; Pitiot und Guimond 2008), oder mit dieser (Yang et al. 2012a; Yushkevich et al. 2006). In der ersten Methode werden die Schnitte nur mit ihren benachbarten Schnitten registriert. Diese Methode kann aber nicht garantieren, dass die rekonstruierte Form des *ex vivo* Gehirns der Realität entspricht. Vor allem wegen der Fehlerfortpflanzung bei der Registrierung entsteht ein sogenannter „Bananeneffekt“: Eine lineare Struktur wird in einer räumlichen Kurve rekonstruiert (Beare et al.

2008). Eine Registrierungsmethode mit Glättung, um die kontinuierlichen anatomischen Strukturen zu glätten, kann zwar die Rekonstruktionsqualität optisch verbessern, jedoch ist die Wirkung gegen den „Bananeneffekt“ unklar. In der zweiten Methode können eine zugefügte Marke (Bardinet et al. 2002; Yelnik et al. 2007), Blockface Bildgebung (Bürgel et al. 1999; Chakravarty et al. 2008; Dauguet et al. 2007; Denk und Horstmann 2004; Meyer et al. 2006; Schmitt et al. 2007; Schormann und Zilles 1998; Uberti et al. 2009), und/oder MRT-Bildgebung (Malandain et al. 2004; Yang et al. 2012a; Yushkevich et al. 2006) als räumliche Referenz verwendet werden. Kürzlich hat Amunts Studie ein ultra-hochauflöstes 3D-Menschenhirn mit Hilfe der Blockface-Bildgebung rekonstruiert (Amunts et al. 2013). Die Blockface-Bildgebung unterstützt die histologische Rekonstruktionsbearbeitung mit einer räumlichen Referenz, beispielsweise einer Landmarke, welche mit einer Digitalkamera beim histologischen Schneiden mitfotografiert wird (Schormann und Zilles 1998; Dauguet et al. 2007; Uberti et al. 2009). Weil diese Bildgebung fast keine Verschiebung zwischen den Schnitten zeigt, kann sie als eine absolute und korrekte Referenz für das erzeugte histologische Volumen verwendet werden. Jedoch erfordert die Blockface-Bildgebung zusätzliche Ausrüstungen für das Experiment und verkompliziert die histologische Rekonstruktion. Eine nichtlineare Registrierung von der Histologie zu MRT wird letztendlich immer noch benötigt, um die Histologie mit MRT-Bildgebung vergleichen zu können. In Kapitel 4 ist es gelungen, eine MRT-Bildgebung mit der Auflösung von 150 μm iso im 7T aufzunehmen, welche eine ähnliche Auflösung (200 μm) wie in der Histologie in der Richtung des Scheidens hat.

Deshalb wird in dieser Studie erstmals die Möglichkeit einer histologischen Rekonstruktion mit Hilfe hochauflöster MR-Bildgebung bei 7T untersucht.

5.2 Methode

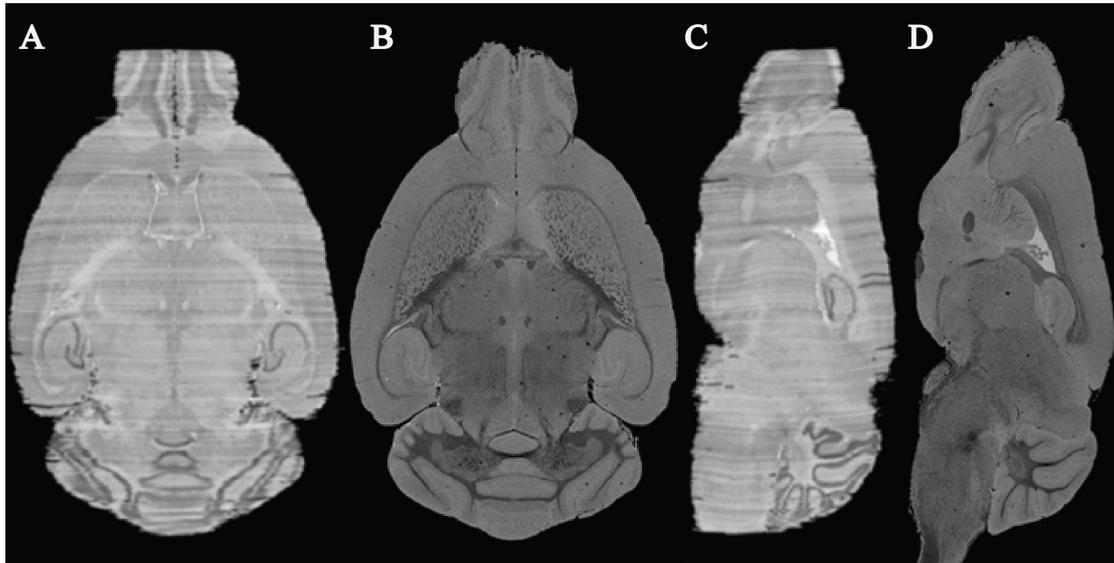


Abbildung 5-3: Histologische 3D-Volumen-Rekonstruktion aus früheren Studien (Yang et al. 2012b). A und C sind die rekonstruierten histologischen 3D-Volumina; B und D sind die zugehörigen MR-3D-Volumina.

Zwei mit Formalin fixierte Menschengehirne wurden in einem Ganzkörper-MR-Scanner (Magnetom 7T Siemens, Germany, Erlangen) gescannt. Das erste Hirn, das HB1 genannt wurde, entstand aus einen Abschnitt von *anterior* bis *posterior* aus dem mittleren Hirnbereich, mit dem Teil von *corpus callosum*, wo sich die subkortikale Struktur befindet. Die anatomische MR-Bildgebung wurde mittels Fast Low Angle Shot (FLASH) mit folgenden Parametern durchgeführt: TR = 28 ms, TE = 18 ms, Kippwinkel = 11°, Bandbreite = 80 Hz/Pixel, Auflösung = 20x20x30 μm^3 , 10 Mittelungen und einer gesamten Messdauer von 40,3 h. Danach wurde das Hirn mit Paraffin in einen Block eingebettet. Nach Vorbereitung und Deparaffination wurde das Hirn in Schichten zu 20 μm geschnitten. Jede zehnte Schicht wurde durch Nissl gefärbt. Deshalb hat die Histologie in dieser Richtung eine räumliche Auflösung von 200 μm . Diese Schichten wurden in einem Flachbrettscanner mit einer Auflösung von 42 μm /Pixel digitalisiert.

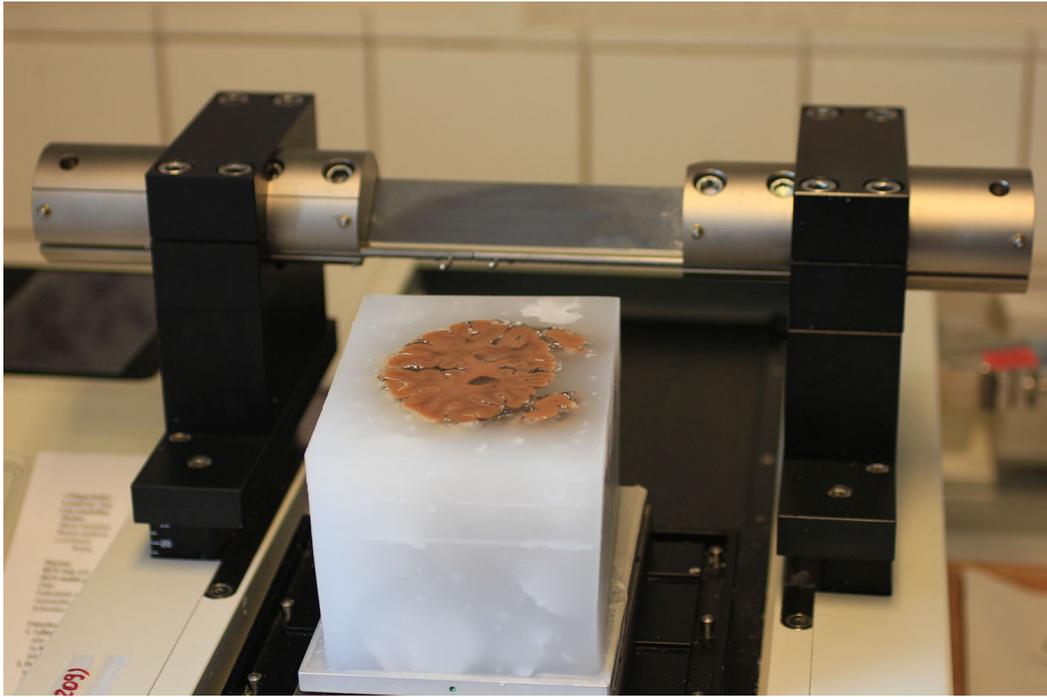


Abbildung 5-4: Mikrotom für histologisches Schneiden.

5.2.1 Histologische Rekonstruktion

Mit der gleichen Technik wie in Abbildung 5-3 wurden die histologischen Schichten des HB1 im 3D-Volumen mit folgenden Schritten rekonstruiert:

1. MRT-Messung wie oben beschrieben.
2. Standardprozess für Histologie und Färbung.
3. Die durch Scannen digitalisierten, farbigen Bilder wurden in 8-bit Graustufenbilder mit identischen Gewichtungen für jeden Farbkanal konvertiert. Um die Berechnungszeit zu reduzieren, wurde die Auflösung der Bilder um den Faktor zwei heruntgerechnet, was einer Matrixgröße von 2058x1536 und einer Auflösung von 85 μm entspricht. Das Hintergrundrauschen wie z.B. Beschriftungen, Verunreinigungen usw., wurde durch morphologische Operationen wie z.B. Eroding, Dilating und Connectivity Analysis (Gonzalez et al. 2009) entfernt.

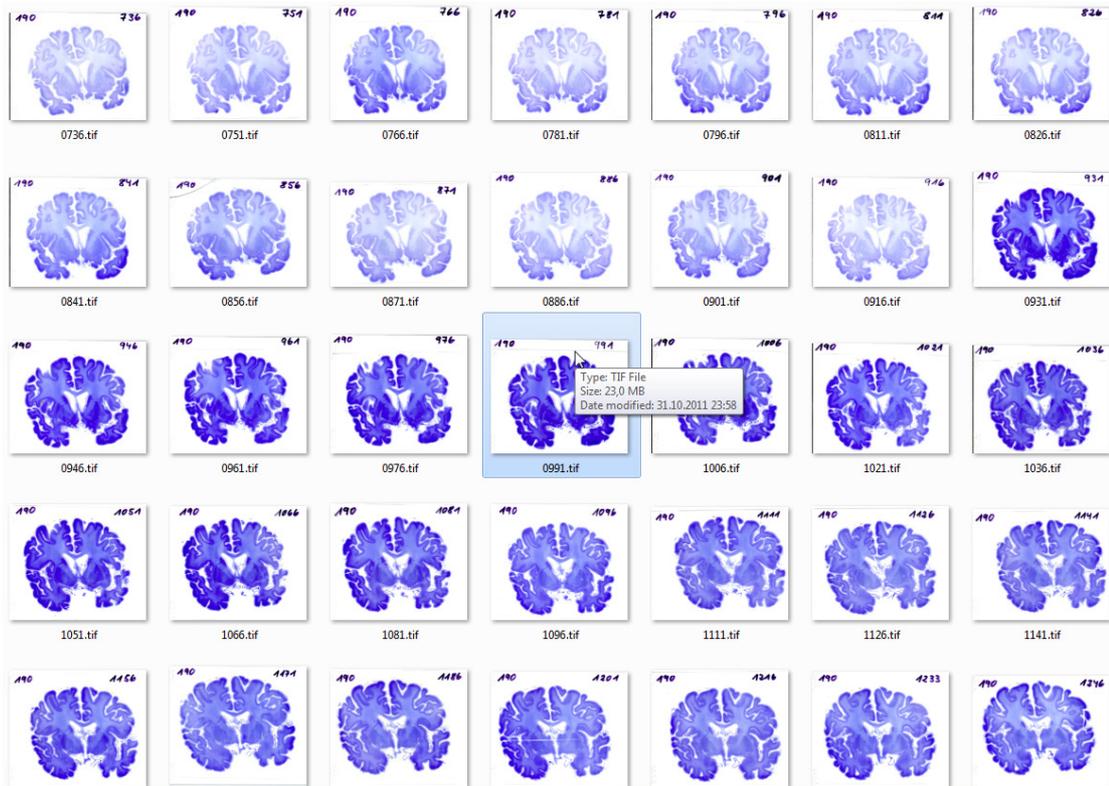


Abbildung 5-5: Screenshot einiger histologischer Schnitte, die durch Nissl gefärbt und mit einer Marke nummeriert wurden.

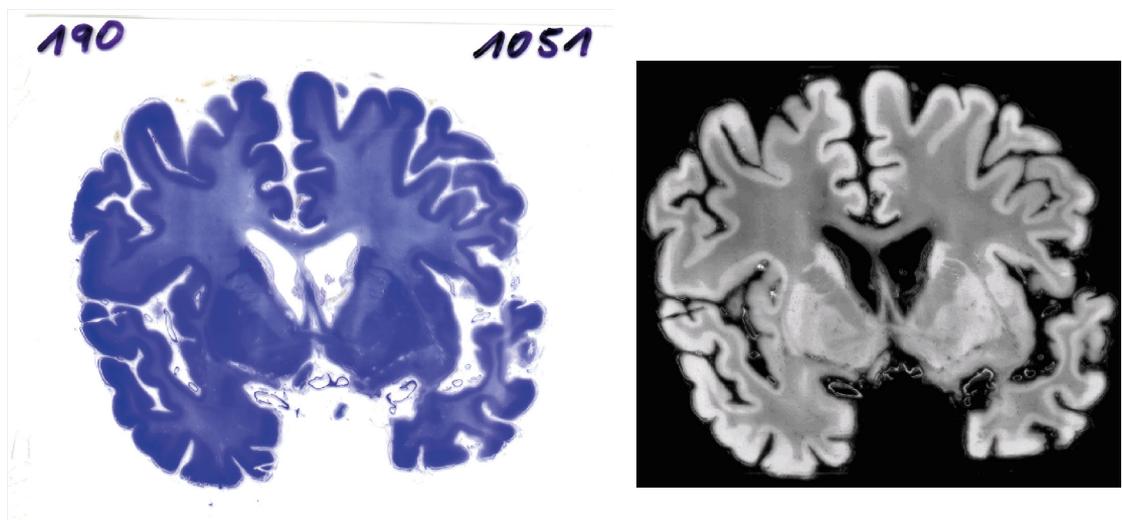


Abbildung 5-6: Vor und nach der Umwandlung in Graustufen und Entfernung des Hintergrunds in der histologischen Schicht.

4. Der Unterschied der Intensität zwischen den Schichten wurde minimiert. Durch Histogrammanpassung und einer manuell ausgesuchten Schicht als Referenzbild wurden die Intensitäten aller Schichten normalisiert.

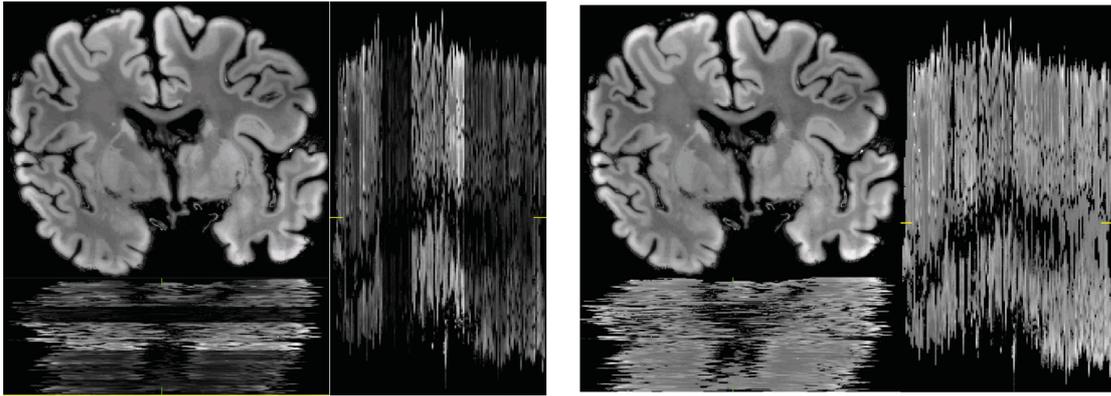


Abbildung 5-7: Darstellung der Intensitätskorrektur mittels Histogramm-Anpassung, vorher (links) und nachher (rechts).

5. Jede Schicht wurde mit ihrer benachbarten Schicht durch Rigid-Registrierung transformiert. Hierzu wurde das Open Source-Program ANTs (Advanced Normalization Tools (Avants et al. 2011b)) verwendet mit der Option Normalized Mutual Information (NMI) als Ähnlichkeitsmaß. Um die Bilder mit großem Unterschied registrieren zu können, wurde eine Strategie mehrfacher Durchgänge benutzt. Für jeden Durchgang wurden verschiedene Parameter bei ANTs eingesetzt. Um den Verlust der räumlichen Auflösung nach mehrfach Durchgängen durch die Interpolationen zu minimieren, wurden alle Transformationsmatrizen zu einer zusammengefügt. Nach der Registrierung wurden alle 2D-Schichten in ein 3D-Volumen zusammen überführt. Dieses 3D-Volumen wurde dann in Schritten mit dem MRT-Volumen affin registriert.

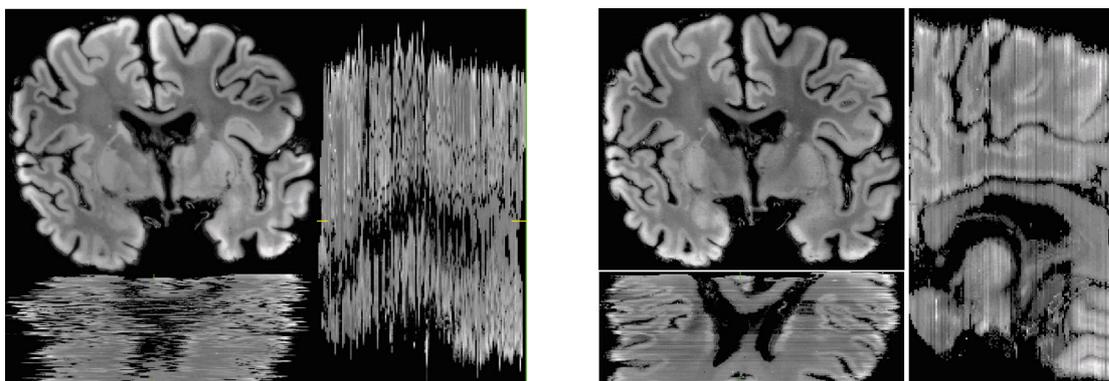


Abbildung 5-8: Darstellung der paarweise nicht formverändernden (rigid Body) Registrierung mit benachbarten Schichten, vorher (links) und nachher (rechts)

- Als Bildvorbereitung wurde die B1-Feldinhomogenität durch Anwendung eines Gauß-Filters entfernt. Die FWHM betrug 5 mm, wie in einer früheren Arbeit empfohlen (Yang et al. 2012b).

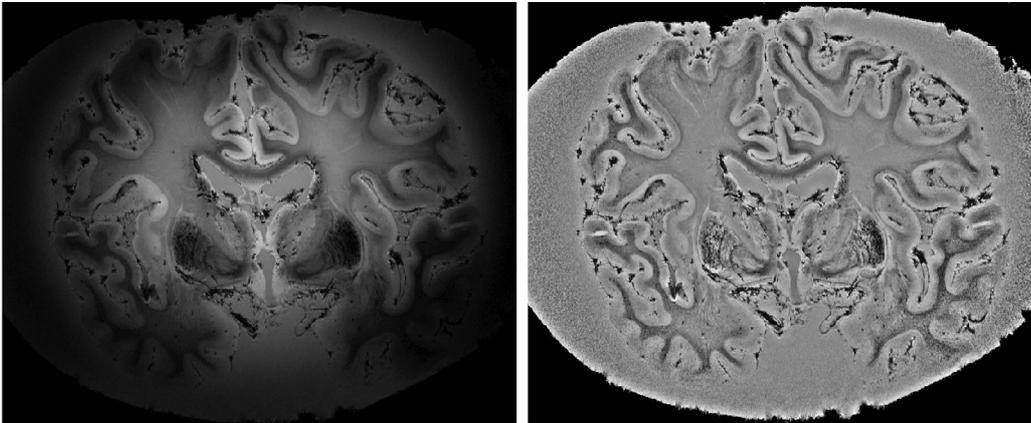


Abbildung 5-9: Intensität-Korrektur mit Gauß-Filter, vorher (links) und nachher (rechts)

- Das Hintergrundrauschen vom Formalin wurde in dem Open-Source-Programm MIPAV (MIPAV, 2012) durch manuelle Maskierung entfernt. Diese Schritte könnten in Zukunft durch eine Maske, die beim 3T erzeugt werden könnte, automatisiert werden (Abbildung 4-5).

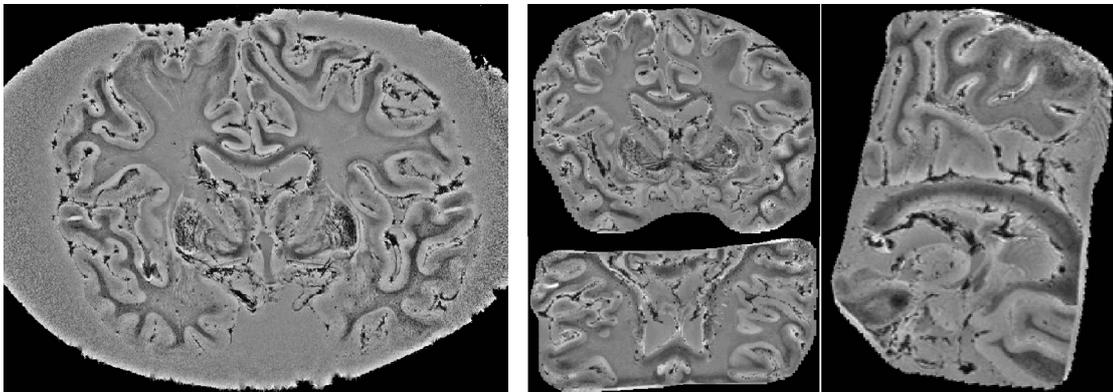


Abbildung 5-10: Entfernen des Hintergrundes der MR-Daten, vorher (links) und nachher (rechts) in drei Aussichtsebenen.

- Das MR-3D-Volumen wurde auf das histologische 3D-Volumen registriert. Die 2D-Schichten vom MR-3D-Volumen wurden getrennt. Die zugehörigen Schichten in den histologischen Schichten konnten gefunden werden.
- Die histologischen Schnitte wurden durch eine nichtlineare Transformation auf ihre zugehörigen MR-2D-Schichten registriert. Danach wurden Sie wieder

in ein 3D-Volumen überführt, worauf das MR-3D-Volumen wiederum affin registriert wurde.

Schritte 8 und 9 sollten so lang wiederholt werden bis sich das Ähnlichkeitsmaß zwischen MR- und histologischem Volumen nicht mehr signifikant verbessert. Als Ähnlichkeitsmaß wurde wie in Schritt 5 erwähnt NMI genutzt. Die Transformation wurde anschließend durch die kombinierte Transformationsmatrix aller Schritte durchgeführt.

5.3 Ergebnisse

5.3.1 Ergebnisse vom HB1

Die histologischen Schnitte vor und nach der Entfernung des Hintergrundrauschens wurden in der Abbildung 5-9 gezeigt. Ein Vergleich der histologischen Schnitte ohne und mit einer Intensitätskorrektur wurde dargestellt. Wie man sieht, wurden die Intensitätsfluktuationen über die Schichten deutlich reduziert (Abbildung 5-7).

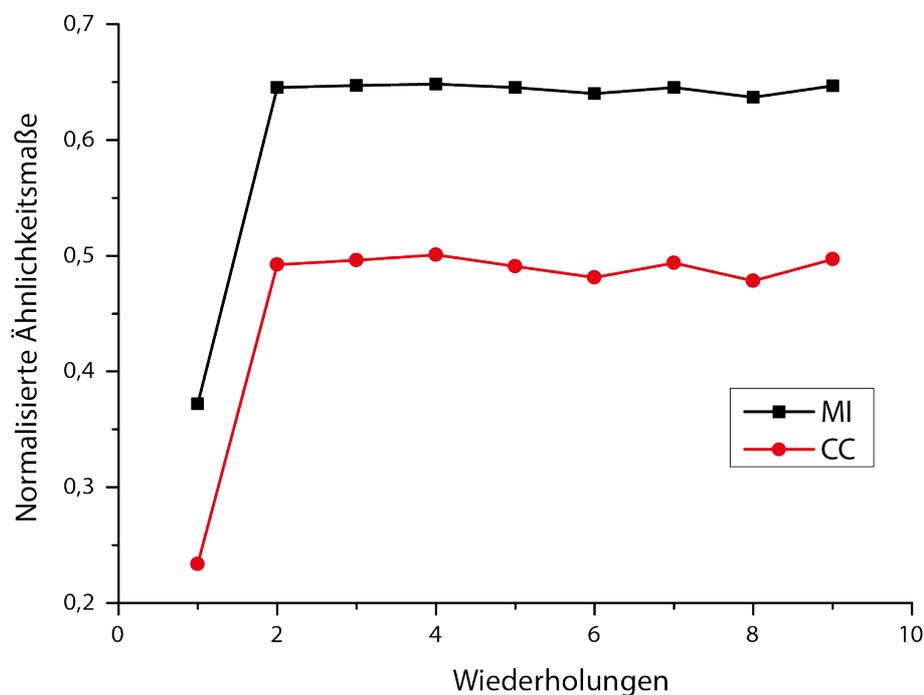


Abbildung 5-11: Die Mittelwerte der Ähnlichkeitsmaße Kreuzkorrelation (CC) und MI im Verlauf der Iterationen.

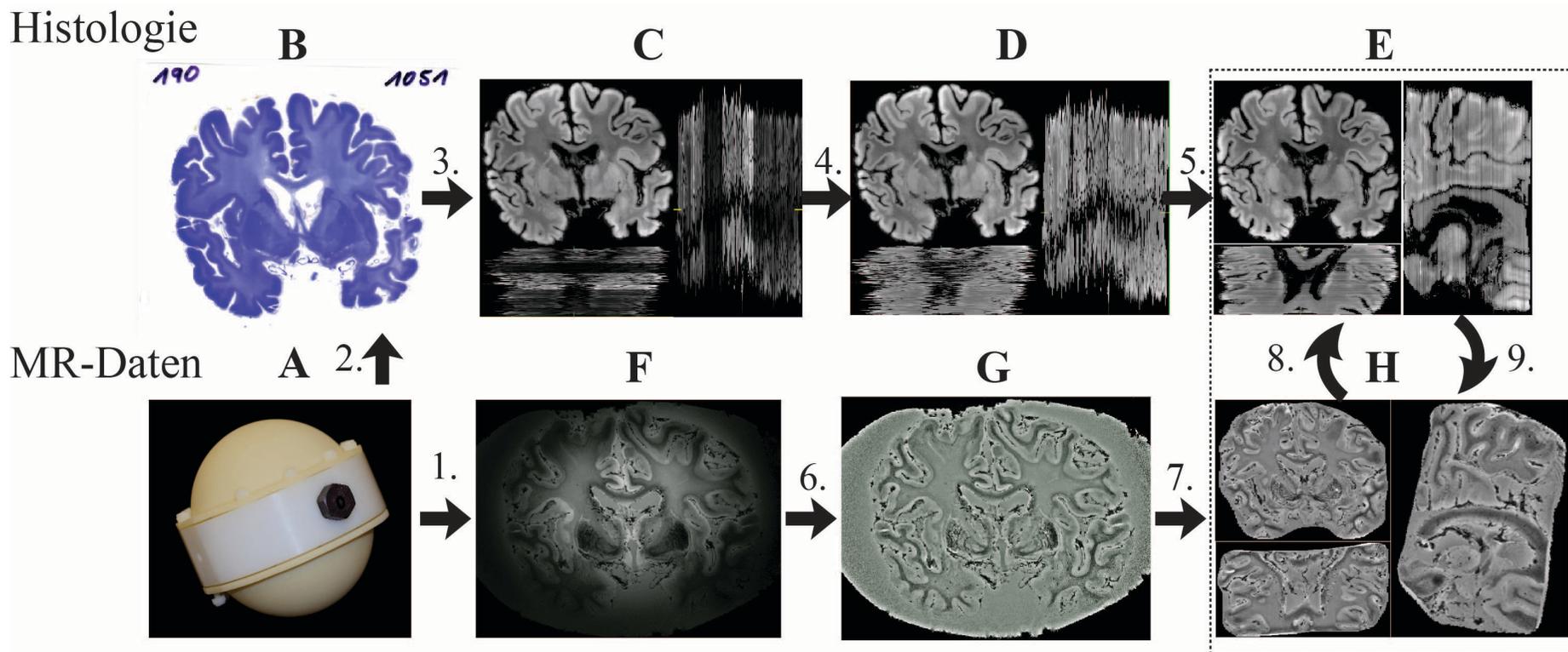


Abbildung 5-12: Verarbeitungsverläufe der histologische Rekonstruktion mittels MRT. 1. MR-Bildgebung beim 7T; 2. Standardisierte Verarbeitung für die Histologie und Färbung; 3. Umwandeln der farbigen Bilder in Grauwerte; 4. Intensitätsnormalisierung zwischen den Schnitten mittels Histogrammanpassung; 5. Rigid Registrierung zwischen benachbarten Schnitten; 7. Entfernung des Hintergrundrauschens im MR-Bild; 8. Affine Registrierung von MR-3D-Volumen zu den histologischen 3D-Volumen; 9. Nichtlineare Registrierung der histologischen 2D-Schnitte zu den 2D-MR-Schichten.

Kapitel 5

Abbildung 5-12 zeigt die Veränderung zweier Ähnlichkeitsmaße zwischen benachbarten histologischen Schichten während der affinen Registrierung. 15 zufällige Schichten wurden ausgesucht und die Ähnlichkeitsmaße zu Ihren Nachbarschichten gemittelt. Bereits nach dem ersten Durchgang konnte keine signifikante Verbesserung der Ähnlichkeitsmaße MI (schwarz) und CC (rot) festgestellt werden. Um sicher zu sein, wurden vier Durchgänge durchgeführt.

Die starke Inhomogenität in den MR-Daten konnte durch Gauß-Filterung deutlich reduziert werden, wie man in der Abbildung 5-13 durch visuelle Einschätzung feststellen kann. Die Abmessung der Homogenität durch Gray-Level Co-occurrence Matrices (GLCM) (Haralick et al. 1973) zeigt, dass die Homogenitätswerte von 0,8382 auf 0,9951 verbessert wurden. Das stimmt mit dem visuellen Eindruck überein. Da N3 die Homogenität nur bis auf 0,9810 verbessern konnte, zeigt die Gauß-Filterung die bessere Korrektur. Die Abbildung 5-13 B und C bestätigen auch diesen Eindruck. Das Histogramm des originalen Bildes (Abbildung 5-13) zeigt einen sehr ausgeprägten dunklen Bereich. Nach einer N3-Korrektur (Abbildung 5-13, Mitte) ist dieser stark reduziert. Aber der dunkle Bereich ist immer noch stärker als nach Gauß-Filterung (Abbildung 5-13 C). Auf der Spitze des Histogramms sieht man zwei Peaks, wie in der Vergrößerung erkennbar. Der linke Peak zeigt das Signal der WM, der rechte Peak der GM.

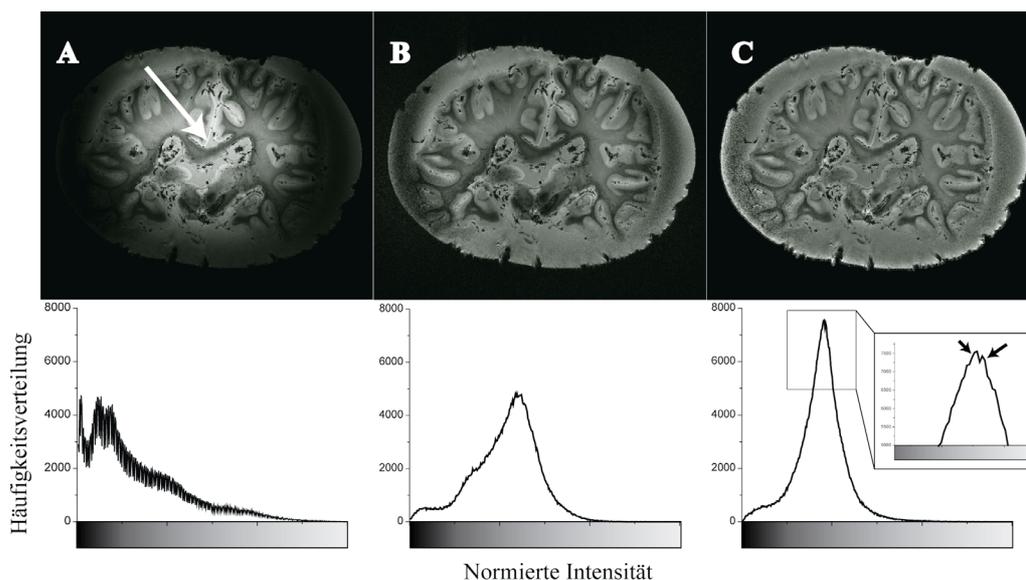


Abbildung 5-13: Beispiel der Inhomogenitätskorrektur für die originalen Daten (A) mittels N3 bias field correction (B) und Gauß-Filter (C). Die unteren Histogramme zeigen die

Intensitätsverteilungen. Der weiße Pfeil zeigt den Hotspot. Der linke schwarze Pfeil zeigt das Signal der WM, der rechte Pfeil von GM und Formalin.

Ein registrierter histologischer Schnitt und die zugehörige MR-Schicht wird in der Abbildung 5-14 links als Checker-Board-Ansicht präsentiert. Die konstituierte Struktur zwischen den Kästchen zeigt eine sehr gute Übereinstimmung beider Bildmodalitäten.

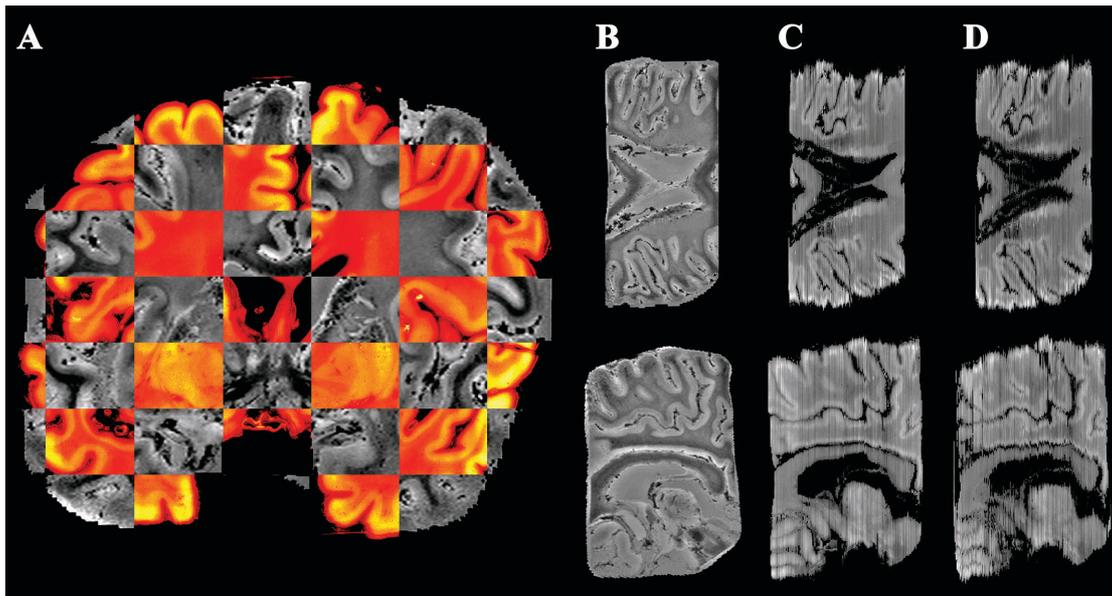


Abbildung 5-14: Beispiel einer histologischen Rekonstruktion des HB1. A: Checker-Board Ansicht der affinen registrierten MR-Schicht (grau) und des histologischen Schnitts. B: MR-3D-Volumen im Raum der Histologie, nach dreidimensionaler affiner Registrierung. C: Histologisches 3D-Volumen nach der zweidimensionalen affinen Registrierung zwischen den benachbarten Schnitten. D: Histologisches 3D-Volumen nach zweidimensionaler nichtlinearer Registrierung von Histologie zur MR. Die obere Reihe liegt in der Transversal-, die untere in der Sagittalebene.

Die nichtlineare Registrierung der histologischen 2D-Schnitte auf die zugehörigen MR-2D-Schichten hat die Ähnlichkeitsmaße beider Bildmodalitäten nicht verbessert, sondern eher verschlechtert. In einem indirekten Vergleich fällt der NMI-Wert von benachbarten histologischen Schnitten im Durchschnitt von 0,65 auf 0,55 (Abbildung 5-14).

Das MR-Volumen konnte erfolgreich auf einen T1-Template-MNI-Raum (BIC 2009) registriert werden. Über diese Transformationsmatrix und die inverse Matrix aus Schritt 6 konnte das histologische Volumen auch mit diesem Template registriert werden.

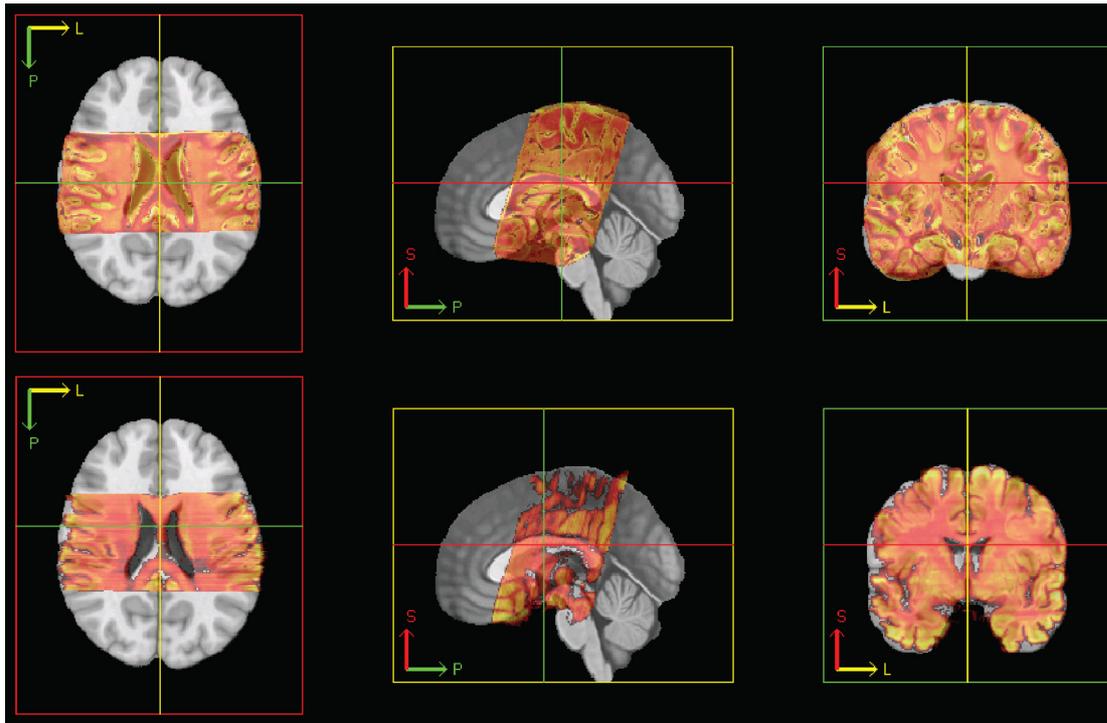


Abbildung 5-15: Darstellung einer linearen Registrierung von MR (oben) und Histologie (unten) zu einem T1-Template in Transversalebene (links), Sagittalebene (mittel) und Frontalebene (rechts).

Kapitel 6 DISKUSSION

In den letzten Jahren sind die technischen Möglichkeiten und Anwendungsbereiche von 7T-MR-Tomographie rasant vorangeschritten. Wegen der Proportionalität des SNR zur Feldstärke ist die räumliche Auflösung in der Bildgebung bei 7T auf ein neues Level gestiegen. Davon profitiert die strukturelle Bildgebung enorm. Vor allem wegen des Partialvolumeneffektes kann die Bestimmung der kortikalen Dicken präziser werden.

6.1 Kortikale Dicken *in vivo*

Mit zunehmender Feldstärke nehmen Inhomogenität und SAR-Belastung zu. Für T1-gewichtete Bildgebung, die häufig in der morphometrischen Analyse verwendet wird, hat sich das Gradientenecho als geeignete Methode etabliert, sowohl aufgrund der Unempfindlichkeit gegenüber HF-Inhomogenität als auch wegen der niedrigen SAR-Belastung. Um die Inhomogenität zu reduzieren, wurden die Techniken MPRAGE/GE und MP2RAGE optimiert. Die Wirkungen auf die Bestimmung der kortikalen Dicken für diese beiden Optimierungsmethoden wurden im ersten Teil dieser Arbeit untersucht.

Die kortikale Dicke mit räumlich hochaufgelöster MPRAGE/GE und MP2RAGE bei 7T kann sowohl mit voxelbasierten (SPM und FSL) als auch mit oberflächenbasierten (FreeSurfer) Methoden erfolgreich bestimmt werden. Die MPRAGE/GE liefert generell eine geringere Standardabweichung des Reproduzierbarkeitstests als MP2RAGE. Die Standardabweichung des Reproduzierbarkeitstests von MPRAGE mit FreeSurfer beträgt 0,1430 mm, welche vergleichbar mit den Werten 0,145 mm von Fujimoto (Fujimoto et al. 2013) und 0,140 mm von Han (Han et al. 2006) für 3T Daten sind. Gleiches gilt für die Daten mit MP2RAGE: In dieser Arbeit lag die

Standardabweichung des Reproduzierbarkeitstests bei 0,193 mm, bei Fujimoto waren es 0,189 mm (Fujimoto et al. 2013). Im Gegensatz zur oberflächenbasierten Methode in FreeSurfer, sind die voxelbasierten Methoden in SPM und FSL empfindlicher, wobei die Methode von SPM mit MP2RAGE am empfindlichsten ist. Diese Erkenntnis stimmt mit der Aussage von Clarksons Arbeit überein (Clarkson et al. 2011).

Dieser Unterschied hat zwei mögliche Ursachen. Zum einen lassen sich die unterschiedlichen Messparameter bei MPRAGE/GE und MP2RAGE nicht vereinheitlichen und können so verschiedene Effekte im Bild verursachen. Die Inhomogenität bei MP2RAGE ist zwar geringer als bei MPRAGE/GE. Jedoch ist der Kontrast bei MP2RAGE in unseren Messungen geringer als bei MPRAGE/GE (siehe Abschnitt 3.3). Das kann eventuell die Klassifizierung der GM und WM beeinflussen.

Aufgrund ihrer komfortablen Bedienung wird die MP2RAGE-Sequenz immer populärer. Die Vermutung, dass die Gesamtmesszeit durch MP2RAGE reduziert werden kann, kann in dieser Arbeit nicht bestätigt werden. In unseren Messungen beträgt die Messzeit für MPRAGE/GE ca. 9 Minuten, für MP2RAGE ca. 10 Minuten. Eine ununterbrochene Messung bedeutet eine stärkere Belastung für den Probanden, welcher durchgehend still liegen muss. Das GE-Bild enthält weniger kurzweilige Strukturen. Wenn der Proband sich in diesem Messzeitraum leicht bewegen würde, würde es das MPRAGE/GE-Bild nicht wesentlich beeinträchtigen, deshalb ist das Risiko von Bewegungsartefakten bei MP2RAGE bis zu 40% höher als bei MPRAGE/GE. Die Abbildung 6-1 zeigt, dass die Segmentierung von einem Bild mit Bewegungsstörung deutlich schlechter ist als von einem ohne diese Störung. Daher ist die Reproduzierbarkeit bei MP2RAGE als geringer anzunehmen. Eine Bewegungskorrektur mittels Position-Tracking könnte das Problem lösen und die Segmentierung wesentlich verbessern (siehe Abbildung 6-1) (Stucht et al. 2012).

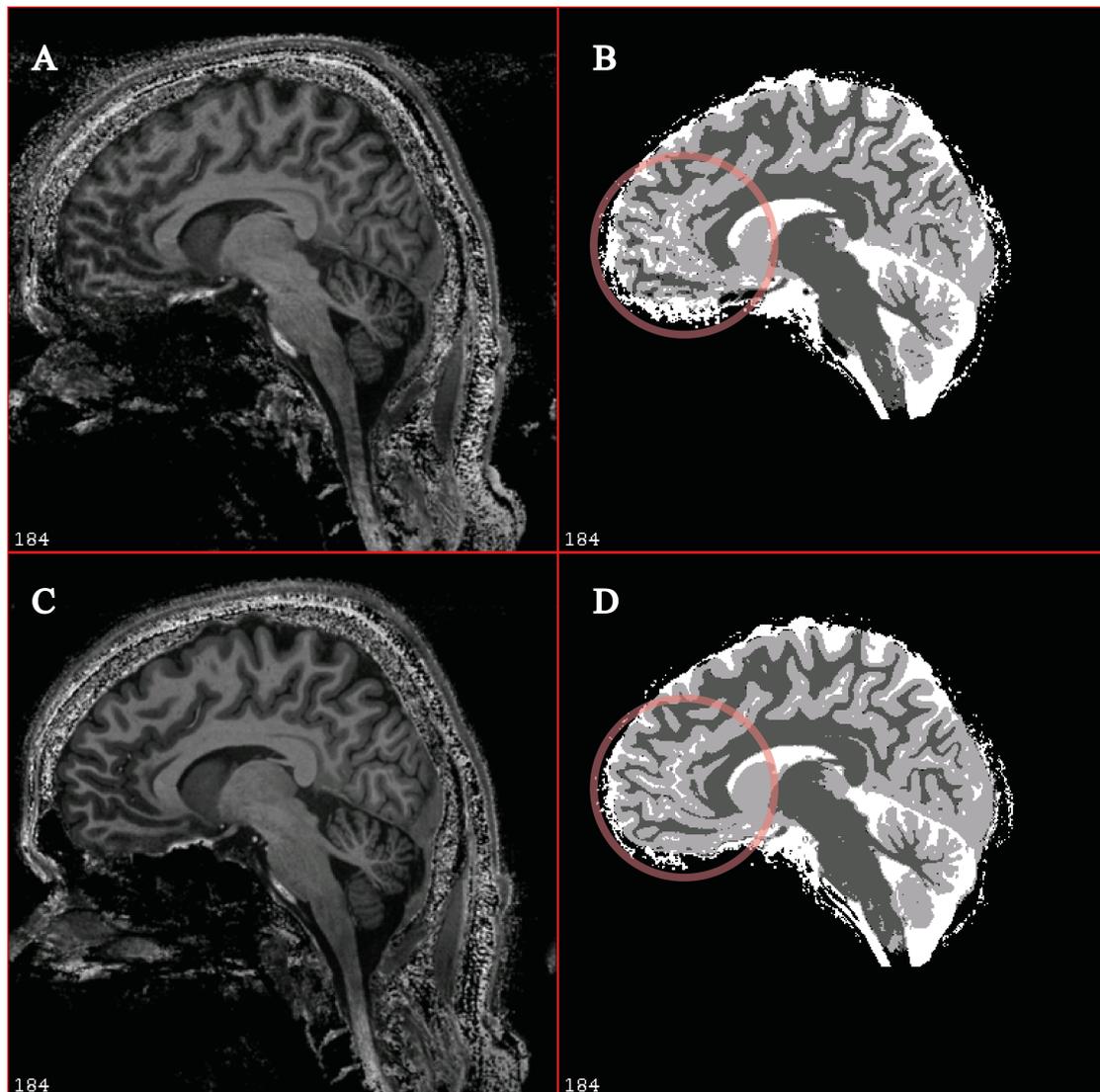


Abbildung 6-1: Vergleich der Segmentierungen ohne (A und B) und mit (C und D) Bewegungskorrektur. Die Auflösung hier beträgt 0,6 mm iso. A und C sind T1-gewichtete Bilder. B und D sind segmentierte WM (dunkelgrau), GM (hellgrau) und CSF (weiß). Rot markierte Kreise zeigen die Stellen, an denen mit Bewegungskorrektur besser segmentiert wird.

Ein Vorteil von MP2RAGE bleibt dennoch, dass eine quantitative T1-Karte direkt (siehe Abbildung 6-2) aus den gemessenen Daten erhalten werden kann. Diese Karte ist unabhängig von Inhomogenität und Messparametern (Marques et al. 2010) und wird bereits in klinischen Untersuchungen verwendet (Tanner et al. 2012). Aufgrund der hohen Auflösung bei 7T wird der Myelin-Gehalt im Kortex mit Hilfe der quantitativen T1-Karte untersucht (Geyer et al. 2011). Um diese Karte zu erzeugen nimmt jedoch aufgrund der Fehlerfortpflanzung bei der Berechnung das

Rauschen im Bild ebenfalls zu, welche die Genauigkeit der bestimmten kortikalen Dicken reduzieren könnte.

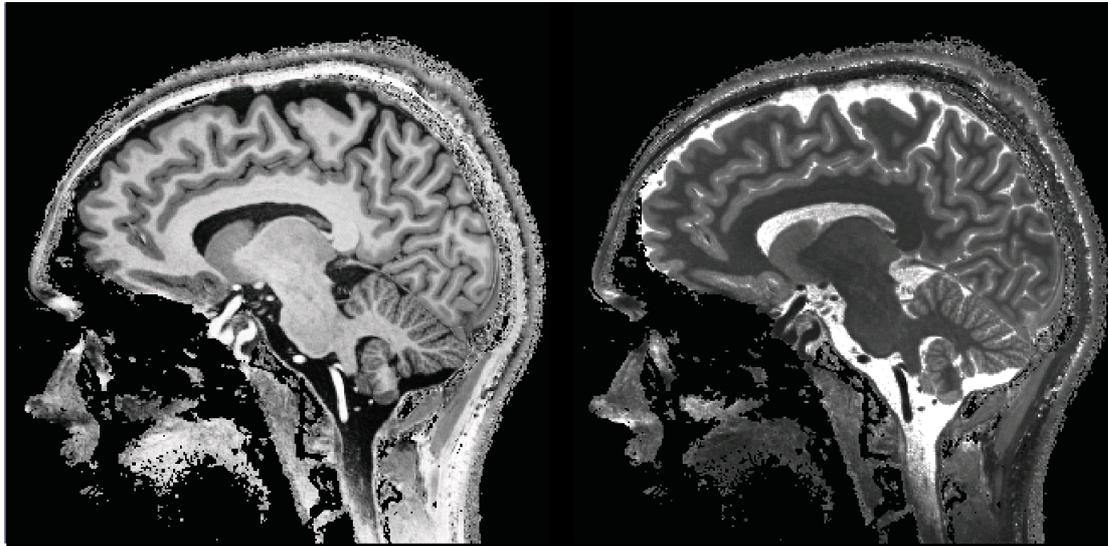


Abbildung 6-2: MP2RAGE T1-gewichtetes Bild (links) und ihr T1-Bild (rechts).

Kürzlich zeigte Korber eine neue Segmentierungsmethode, in der das MP2RAGE-Bild mit einem Markov Random Field basierten Graph Cut, ohne ATLAS, in GM, WM, CSF, Muskel, Fett und Luft klassifiziert werden kann (Kober et al. 2012). Das Bild kann jedoch nicht vollständig von Inhomogenität und Artefakt befreit werden und die Graph-Cut-Methode verhält sich zudem relativ empfindlich bezüglich Intensitätsschwankungen. Zudem ist das Rauschen ein weiterer Störfaktor für diese Methode, wie es bereits im Abstract zu sehen ist. Eine systematische Untersuchung und Optimierung dieser Methode ist noch erforderlich.

6.2 Kortikale Dicke *ex vivo*

Die Reproduzierbarkeit der Bestimmung der kortikalen Dicken lässt sich zwar zwischen den Sequenzen vergleichen, trotzdem ist es noch unklar, wie präzise die Bestimmung ist und ob dieser Aufwand für eine höhere Auflösung wirklich sinnvoll ist. Bei einigen Fragestellungen, wie der Diagnose von Alzheimer, sind sehr hohe Auflösungen erforderlich. Deshalb wird die kortikale Dicke in Abhängigkeit von der räumlichen Auflösung im zweiten Teil dieser Arbeit diskutiert. Aufgrund der extrem langen Messzeit (5,7 h) für räumlich ultra-hochaufgelöste Bilder, wurde ein *ex vivo*

Hirn als Messobjekt verwendet. Die Mess- und Bildbearbeitungsmethoden wurden daher entsprechend angepasst.

Um höhere Auflösung zu erreichen und damit die kortikale Dicke bestimmen zu können, wurden die *ex vivo* Gehirne im 7T-MRT gescannt. Durch den Verzicht auf Oversampling, kann das Datenvolumen halbiert werden, weshalb die durch die Speicherkapazität (200 GB) limitierte Auflösung gleichzeitig erhöht werden kann. Eine Offline-Bildrekonstruktion ermöglichte zudem die Umgehung der Volumenbegrenzung durch den Bildrekonstruktionsrechner am Scanner. Die adaptive Rekonstruktion verbessert das SNR und die Homogenität deutlich im Vergleich zur konventionellen Sum-of-Squares-Methode. Meines Wissens war dies die erste Bildgebung bei einer Auflösung von 150 μm iso für ein ganzes Gehirn. Viele feine Strukturen, z. B. V1, sind dadurch in der MRT sichtbar. Es ist auch gelungen, die Daten vom *ex vivo* Gehirn in einer passenden Orientierung im Scanner aufzunehmen und nach der Rekonstruktion in einem richtigen Format, z.B. mit richtiger Definition für Orientierung und Ursprung, zu speichern, damit eine spätere Bildanalyse möglich wird.

Im Vergleich zu Verarbeitungsschritten bei *in vivo* Daten müssen einige Schritte für *ex vivo* Daten angepasst werden. Vor allem wurde der Hintergrund vom Formalin durch eine zusätzliche Aufnahme bei 3T, welche als Maske verwendet wurde, entfernt. N3 wurde verwendet, um die Inhomogenität zu reduzieren. VBM8 wurde statt der normalen Segmentierung in SPM verwendet, um die *ex vivo* Daten in GM, WM und CSF segmentieren zu können. Nach der Segmentierung wurde die falsch segmentierte WM, die sich außerhalb der GM befand, durch eine Erweiterung der Grenze zwischen GM und CSF entfernt. Jedoch ist der Kortex an manchen Stellen sehr dünn, weshalb diese Erweiterung nicht zu groß gewählt werden darf. Ansonsten würde auch die richtig segmentierte WM aus Versehen entfernt werden.

Statt direkt mit ARCTIC zu rechnen, muss die Funktion CortThickCLP zur Kalkulation der Dicken verwendet werden. Die Karten für die kortikalen Dicken an der Grenze zwischen GM und WM oder zwischen GM und CSF können in 24 oder 98 Hirnregionen durch die Parzellationskarten 24 bzw. 98 geteilt werden. Die Mittelwerte in jeder Region werden berechnet und in Abhängigkeit von der

Kapitel 6

Auflösung im Diagramm (Abbildung 4-12, Abbildung 4-13, Abbildung 4-14, Abbildung 4-15, Abbildung 4-18) dargestellt. Die Verläufe folgen eher einer quadratischen als einer exponentiellen Funktion. Wenn die aus der Regressionsfunktion berechneten kortikalen Dicken als reale Werte angenommen werden, würden die kortikalen Dicken mit einer Auflösung von 0,5 mm iso um ca. 10% , und diejenigen mit einer Auflösung von 1 mm iso um ca. 40% von diesen abweichen.

Die Ursache für diese Abweichungen wurde als Partialvolumeneffekt identifiziert. Viele Modelle wurden vorgeschlagen, in denen die grauen Voxel mit 50/50 oder 80/20 der GM bzw. WM zugerechnet werden (Laidlaw et al. 1998; Shattuck et al. 2001; Tohka et al. 2004). Alle Modelle basieren auf gauß'schen Normalverteilungen der Intensitäten. Bei niedriger räumlichen Auflösung ist die Intensitätsverteilung jedoch keine gauß'sche Normalverteilung mehr (Frackowiak, Richard S. J et al. 2004, S. 703). Ashburner schlug vor, die Anzahl der gauß'schen Funktionen, die für die Anpassung verwendet werden, zu 2:2:2:4 für GM, WM, CSF und den Rest zu wählen (Ashburner und Friston 2005). Jedoch nimmt die Halbwertsbreite dieser Verteilung für GM mit abnehmender Auflösung zu (siehe Abbildung 6-3). Mit dem Bayes-Klassifikator werden bei niedrigerer Auflösung immer mehr Voxel als GM klassifiziert. Dieser systematische Fehler kann eventuell durch die Methode von Acosta minimiert werden, welche bei der Berechnung der Dicke den Partialvolumeneffekt berücksichtigt (Acosta et al. 2009). Der Einfluss dieser Methode wurde hinsichtlich der räumlichen Auflösung bisher noch nicht untersucht. Außerdem kann eine niedrige räumliche Auflösung Gyri und Sulci nicht zuverlässig darstellen, wodurch bei der Segmentierung in diesen Bereichen WM und CSF als GM identifiziert werden (siehe Abbildung 4-11).

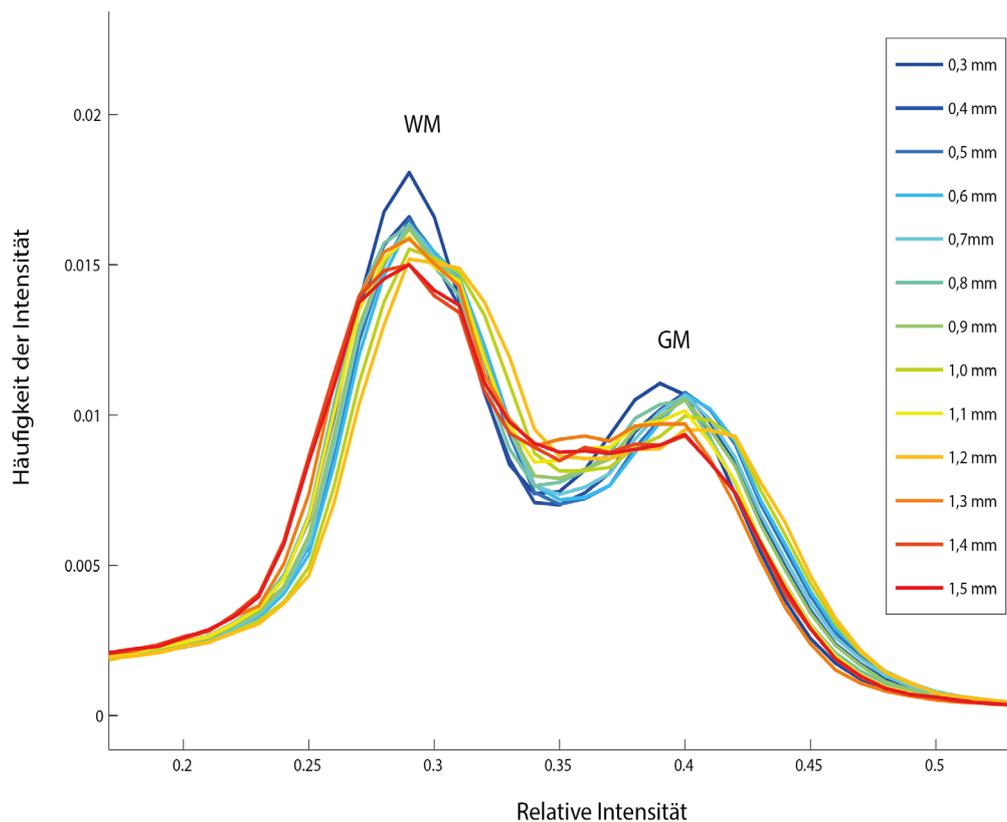


Abbildung 6-3: Histogramm der 3D MR-Bild mit Abschnitt für WM und GM in verschiedene Auflösung (0,3 mm bis 1,5 mm iso)

Mit dieser Erkenntnis und den räumlich hochaufgelösten Messmethoden ist es in der Zukunft nicht nur möglich, die Methode zur Bestimmung der kortikalen Dicke systematisch auf den Einfluss der Auflösungen zu prüfen, sondern auch einen neuen Algorithmus zu entwickeln, welcher automatisch an die räumliche Auflösung angepasst wird und die auftretenden systematischen Fehler korrigiert. Darüber hinaus können die kortikalen Dicken bei einer theoretisch sehr hohen Auflösung geschätzt werden.

Diese Ergebnisse aus *ex vivo* Daten werden mit früheren Studien (Lüsebrink et al. 2013) mit *in vivo* Daten verglichen. Es ist eine Reduzierung der kortikalen Dicke bei *ex vivo* Daten zu erwarten. Grund dafür ist ein Schrumpfen des Gehirns bei der Fixierung in Formalin (Mouritzen Dam 1979). Die *in vivo* Verhältnisse der kortikalen Dicken zwischen den Hirnregionen sind *ex vivo* ebenso zu sehen. Das weist darauf hin, dass die Messergebnisse für die *ex vivo* Daten unter Berücksichtigung der

Bearbeitungsschritte mit *in vivo* vergleichbar sind. Einige Anpassungen sind jedoch erforderlich.

Obwohl das Gehirn mit 0,15 mm iso gescannt wurde, konnten die Daten wegen des zu großen Datenvolumens nicht verarbeitet werden. Die Software ANTs für die Registrierung und VBM8 für die Segmentierung, ist nicht kompatibel mit Daten, die größer als 2 GB sind. Diese Software sollte in der Zukunft an solch große Datenvolumina angepasst werden. Die Methode zur Berechnung der kortikalen Dicke im 3D-Slicer verwendet den euklidischen Abstand (Danielsson 1980; Xiaolan Zeng et al. 1999). Häufig wird die Laplace-Gleichung als Abstandsmaß ebenso verwendet (Jones et al. 2000; Acosta et al. 2009). Lerch berichtete in seiner Arbeit (Lerch und Evans 2005), dass der Abstand verknüpfender Knoten (MacDonald et al. 2000) am präzisesten ist, da diese Methode unempfindlich gegenüber der Segmentierung ist. Jedoch verwendet die Methode von MacDonald Glättung und Unschärfe, die nicht für die hochaufgelösten Daten geeignet sind (Haidar und Soul 2006). Kürzlich berichtete Wähner, dass die Laplace-Gleichung mit den Schichtungen des Kortexes nicht übereinstimmt. Er demonstrierte danach ein „equi-volume“ Model, welches die Dicke beim Gyrus und Sulcus des Kortexes berücksichtigt, und deren Volumenteil bei der kortikalen Segmentierung konstant bleiben soll (Wähner et al. 2013). Diese neue Methode sollte besser für die ultra-hochaufgelösten Daten geeignet sein.

6.3 Histologische Rekonstruktion

Aufgrund der Verformung des *ex vivo* Hirns, welche die Bestimmung der kortikalen Dicke erschwert, und der systematischen Fehler in der Segmentierung und Kalkulation kann die kortikale Dicke immer noch von der Realität abweichen. Um die kortikale Dicke in der Wirklichkeit messen zu können und noch höhere Genauigkeit zu erreichen, sollte ein Gehirn aufgeschnitten und gemessen werden. Jedoch sind alle geschnittenen Schichten in 2D, welche nicht direkt mit einem 3D-MR-Bild verglichen werden können. Deshalb sollten die histologischen Schichten wieder in ein 3D-Volumen rekonstruiert werden. Eine frühere Arbeit mit dem Gehirn einer Maus (Yang et al. 2012b) hat die Möglichkeit und die

Reproduzierbarkeit der Rekonstruktion histologischer Volumina mit Hilfe von hochaufgelösten strukturellen MRT-Aufnahmen des gleichen Gehirns gezeigt. Die verlorene Information über den räumlichen Zusammenhang zwischen benachbarten Schnitten wurde wiederhergestellt. Die nichtlineare Deformation wurde dadurch korrigiert. Die Ergebnisse dieser Datenpaare von histologischen und MR-Volumina eines gleichen Gehirns im gleichen Bildraum ermöglicht eine integrierte morphologische Analyse in 3D. Zum ersten Mal wurde in dieser Arbeit versucht, die gleiche Methode an einem fixierten Menschenhirn mit Hilfe von 7T-MRT umzusetzen. Der große Vorteil von 7T-MRT besteht darin, dass sich die ultrahohe Auflösung an die Schichtdicke (0,2 mm) der Histologie annähert. Die MRT-Daten zeigten in den Blockfach-Bildern (Amunts et al. 2013), wie in Kapitel 4 gezeigt, reichlich Kontrast und Struktur. Außerdem konnte dieser Kontrast noch durch Anpassung der Messparameter geändert werden.

Trotz vieler Besonderheiten des Menschenhirns funktionierte die Methode ohne große Schwierigkeiten. Hierbei wurden aber auch ein paar technische Herausforderungen festgestellt, wie die Variation der Bildintensität und das Hintergrundsignal des Formalins, welches sich nicht vollständig und automatisiert entfernen ließ. Diese Probleme konnten in unserer Arbeit teilweise gelöst werden, weshalb ein digitalisiertes histologisches 3D-Volumen rekonstruiert werden konnte. Eine Videodemonstration findet sich unter Weblink⁹ oder auf der beigefügten CD.

Dies ist aber nur der erste Schritt für eine MR-geführte Normalisierung von histologischen Informationen in einem 3D-standardisierten Raum. Das Ziel ist, vom selben Gehirn die kortikale Dicke mittels MR und Histologie zu bestimmen und die beiden Daten vergleichen zu können, wie Abbildung 6-4 schematische darstellt.

Ein *ex vivo* Gehirn wird zuerst im MR mit ultrahoher Auflösung gescannt. Aus dem strukturellen 3D-Volumen wird die kortikale Dicke bestimmt. Das Gehirn wird danach in der Histologie geschnitten und mit verschiedenen Färbungsverfahren gefärbt, zum einen mit Färbung 1, welche einen guten Kontrast zwischen GM und

⁹ <https://www.youtube.com/watch?v=KVHPdsjgmUc>

Kapitel 6

WM erzeugen kann, zum anderen mit Färbung 2, durch welche bestimmte Zellgruppen hervorgehoben werden. Aus den zweidimensionalen histologischen Schnitten mit Färbung 1 kann die kortikale Dicke bestimmt werden. Die Schnitte werden mit Hilfe von MR-3D-Volumen rekonstruiert. Durch diese ergibt sich eine Transformation Tr1. Die histologischen Schnitte mit Färbung 2 können direkt mit Transformation Tr2 auf Färbung 1 registriert werden. Durch die Transformationen Tr1 und Tr2 und ihre jeweiligen inversen Transformationen können alle drei Bildtypen aufeinander abgebildet werden. Mit der Transformation Tr3 von MR zum Muster können alle drei Bildtypen auf das Muster normalisiert werden. Damit kann nicht nur die kortikale Dicke mittels MR mit der Realität in der Histologie verglichen werden, sondern auch mit dem Befund in der Histologie. Dadurch lässt sich die Ursache der Erkrankungen eventuell auf pathologischer Ebene erklären.

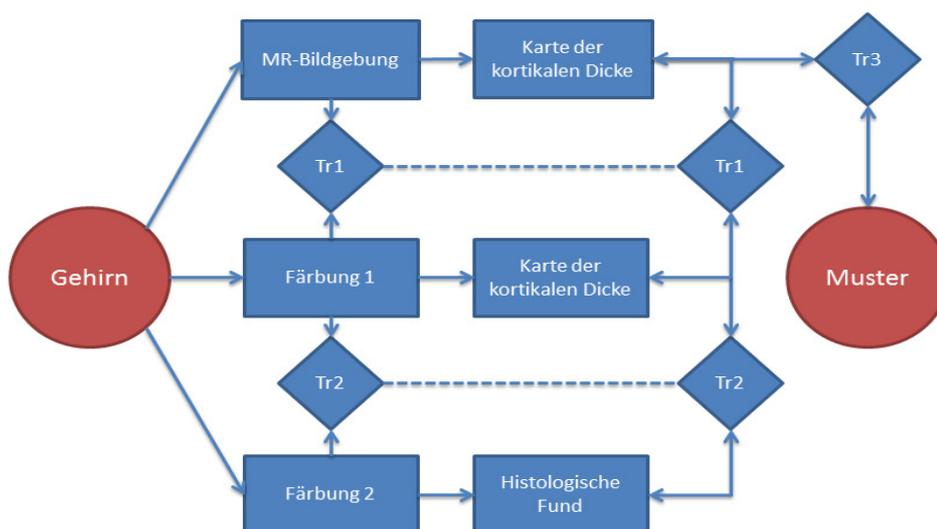


Abbildung 6-4: Schematische Darstellung zur Messung der kortikalen Dicke: Vergleich von Histologie und MRT.

Während sich die frühere Arbeit (Malandain et al. 2004; Yang et al. 2012b; Yushkevich et al. 2006) am Mausgehirn auf die Bildnachbearbeitung der histologischen Daten, z. B. Korrektur der Inhomogenität der Färbung, Überlappen und Zerreißen des Bildes, fokussierte, konzentrierten wir uns in dieser Arbeit auf

die Optimierung der MR-Daten beim ultra-hohen Magnetfeld. Eine passende Aufnahme der MR-Daten und eine bessere Bildrekonstruktion wurde gefordert. Trotz der starken HF-Inhomogenität konnte die Gauß-Filterung die Inhomogenität fast vollständig entfernen und zeigte auch bessere Ergebnisse als N3 (siehe Abbildung 5-13).

Eine erfolgreiche Rekonstruktion der histologischen Schichten war nur möglich, da die Variation der Intensität zwischen den Schichten, welche durch ungleichmäßige Färbung verursacht wurde, mit Histogrammanpassung normalisiert wurde. Alle Schritte der Rekonstruktion funktionieren vollautomatisch, bis auf Schritt 7, wo der Hintergrund vom Formalin nicht durch die Verfahren, die im Kapitel 4 verwendet wurden, entfernt werden konnte. Mit Anwendung der angepassten Messprotokolle und adaptiver Rekonstruktion wie im Kapitel 4 konnte die räumliche Auflösung erhöht werden. Gleichzeitig war die Messzeit von 40 Stunden auf 6 Stunden reduziert und die Bildhomogenität wurde verbessert. Außerdem wurde nach dieser und weiteren Messungen festgestellt, dass die Konzentration des Formalins die Inhomogenität beeinflussen konnte. Als das Gehirn im Formalin mit niedriger Konzentration (3.5%) gemessen wurde, waren starke Hotspots im zentralen Bereich des Gehirns zu sehen (Abbildung 5-13). Die Intensität der Hotspots konnten reduziert werden, wenn das Gehirn im Formalin mit höherer Konzentration (7%) gemessen wurde. Dies ermöglichte die weitere Bildbearbeitung und Morphometrie-Analyse der Daten. Die Konzentration darf aber nicht zu hoch sein, weil das hochkonzentrierte Formalin das Gehirn austrocknet und das Schneiden erschwert.

Der mangelhafte Hintergrundkontrast scheint die Ursache für die suboptimale nichtlineare Registrierung und die Schwierigkeit bei der automatischen Entfernung des Hintergrundrauschens durch Formalin zu sein. Dies ist bei den Mausstudien kein Problem gewesen, weil das Mausgehirn in einer wasserstoffatomfreien Flüssigkeit lag, welche kein Signal im Bild gab. Hyare berichtete über eine Stabilität sowohl in der MR-Messung als auch für die histologischen Prozesse mit Fomblin-Lösung (Hyare et al. 2008). Jedoch wurde die Probe nur bis zu einen Tag im Fomblin eingelegt. Für längere Messungen ist die Wirkung des Fomblins noch unklar, was in der Zukunft untersucht werden muss.

Kapitel 6

Da ein Spendergehirn sehr wertvoll, die histologische Bearbeitung sehr zeitaufwendig und kostspielig ist, wurde kein ganzes *ex vivo* Hirn neu gemessen und geschnitten. Die neue Technik und die Kenntnisse aus Kapitel 4 und Kapitel 5 konnten im Promotionszeitraum nicht für eine neue Probe verwendet werden (Yang et al. 2013).

Kapitel 7 ZUSAMMENFASSUNG

Die MR-basierte Bestimmung der kortikalen Dicken spielt eine wichtige Rolle in der neurowissenschaftlichen Forschung. Jedoch gibt es bisher noch keinen „Goldstandard“ für eine Kontrolle. Aufgrund des Partialvolumeneffektes nimmt die Messgenauigkeit mit steigender räumlicher Auflösung zu. Drei Stufen in der Auflösung für *in vivo*, *ex vivo* und Histologie werden in dieser Arbeit untersucht bzw. diskutiert. MR-Systeme mit 7 Tesla ermöglichen die MR-Bildgebung mit noch höheren räumlichen Auflösungen, bspw. 0,7 mm iso *in vivo* und 0,15 mm iso *ex vivo*. Mit Hilfe von 7T-Bildgebung können zweidimensionale histologische Schnitte, die noch höher aufgelöst werden können (bis zu 0,02 mm iso), wieder in das dreidimensionale Volumen rekonstruiert werden.

Mit steigender Feldstärke werden Probleme wie starke HF-Inhomogenität und hohes SAR bedeutender als bei einer niedrigeren Feldstärke. MPRAGE/GE und MP2RAGE sind häufig verwendete Lösungen, um die HF-Inhomogenität zu reduzieren. Die Zuverlässigkeit dieser Methoden zur Bestimmung der kortikalen Dicken ist jedoch unklar. Im ersten Teil dieser Arbeit wurde gezeigt, dass die Daten von MPRAGE und MP2RAGE mit der räumlichen Auflösung von 0,7 mm iso erfolgreich mit allen drei Methoden, SPM, FSL und FreeSurfer segmentiert werden können und dass diese Daten zur Bestimmung der kortikalen Dicke verwendet werden können. Die Reproduzierbarkeit der Bestimmung von MPRAGE/GE mit allen drei Segmentierungsmethoden ist höher als von MP2RAGE. In bestimmten Regionen ist die Messung mit SPM und MP2RAGE am sensitivsten. Sowohl global als auch regional ist die Segmentierungsmethode FreeSurfer robuster als SPM und FSL.

Um noch höhere Auflösung und Präzision zu erreichen wurde ein *ex vivo* Gehirn gescannt. Die Mess- und Verarbeitungsmethode wie sie bei *in vivo* Untersuchungen

verwendet wird, wurde hier für *ex vivo* modifiziert und angepasst: Beispielsweise erfolgte eine Referenzmessung im 3T für die Hirnextraktion statt einer Schädelentfernung. Zudem wurde eine Segmentierung mit VBM8 durchgeführt, welches eine bessere Registrierung, Filterung und Klassifizierung als SPM hat, und manuelle Verarbeitungsschritte für die Bestimmung und Statistik statt ARCTIC. Die Ergebnisse zeigen, dass sich die Genauigkeit, mit der die kortikalen Dicken in Abhängigkeit von der räumlichen Auflösung ermittelt werden können, durch eine quadratische Funktion annähern lässt. Daraus kann die kortikale Dicke mit einer sehr hohen räumlichen Auflösung extrapoliert werden, die kleiner als die Literaturwerte für *in vivo* ist. Der Grund dafür ist ein Schrumpfen des Gehirns durch die Fixierung. Es ist ebenso zu sehen, dass die kortikale Dicke mit einer räumlichen Auflösung von 1 mm mit vierfach größerer Abweichung zum „Quasi-Goldstandard“ bestimmt werden, als bei 0,5 mm. Mit dieser Methode konnte der systematische Fehler bei der Bestimmung der kortikalen Dicken zum ersten Mal bestimmt werden.

Aufgrund zunehmenden Rauschens bei steigender räumlicher Auflösung und des zunehmenden Mess- und Bearbeitungsaufwands ist die MR-Bildgebung nicht geeignet, um noch höhere Präzision zu erreichen. Im dritten Teil dieser Arbeit wird die Möglichkeit zum ersten Mal demonstriert, wie histologische 2D-Schnitte mittels ultra-hoch räumlich aufgelöster MR-Bildgebung in ein 3D-Volumen rekonstruiert werden können. Aufgrund des mangelhaften Kontrasts zwischen Objekt und Hintergrund und der starken Inhomogenität im Bild, welches vor dieser Arbeit aufgenommen wurde, kann diese Rekonstruktion nur bis zum vorletzten Verarbeitungsschritt erfolgreich durchgeführt werden. Trotzdem wird die Lösung für das Problem in dieser Arbeit bereits erklärt. Die bisherige Arbeit an Mäusen und das Ergebnis in dieser Arbeit zeigen deutlich die Zuverlässigkeit dieser Methode. Aufgrund der sehr hohen räumlichen Auflösung der Histologie ist diese Rekonstruktion nicht nur geeignet, um als „Goldstandard“ zur Bestimmung der kortikalen Dicken zu gelten, sondern auch für viele andere neurowissenschaftliche Forschungsmethoden wie DTI und MRS. Dadurch kann man wie in der Vergangenheit üblich, die neue Generation der MR-Technik mit der Pathologie und der Histologie vergleichen, wobei aber der Aufwand im Gegensatz zu früheren

Methoden erheblich reduziert ist. Die Bedeutung der neuen MR-Technik in der Neurowissenschaft kann dadurch besser erkannt und weiter bestätigt werden.

Kapitel 8 LITERATURVERZEICHNIS

Acosta, Oscar; Bourgeat, Pierrick; Zuluaga, Maria A.; Fripp, Jurgen; Salvado, Olivier; Ourselin, Sébastien (2009): Automated voxel-based 3D cortical thickness measurement in a combined Lagrangian–Eulerian PDE approach using partial volume maps. In: *Medical Image Analysis* 13 (5), S. 730–743. DOI: 10.1016/j.media.2009.07.003.

Amunts, Katrin; Lepage, Claude; Borgeat, Louis; Mohlberg, Hartmut; Dickscheid, Timo; Rousseau, Marc-Étienne et al. (2013): BigBrain. An Ultrahigh-Resolution 3D Human Brain Model. In: *Science* 340 (6139), S. 1472–1475. DOI: 10.1126/science.1235381.

Ashburner, John (2007): A fast diffeomorphic image registration algorithm. In: *NeuroImage* 38 (1), S. 95–113. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2007.07.007.

Ashburner, John; Friston, Karl J. (2000): Voxel-Based Morphometry—The Methods. In: *NeuroImage* 11 (6), S. 805–821. DOI: 10.1006/nimg.2000.0582.

Ashburner, John; Friston, Karl J. (2005): Unified segmentation. In: *NeuroImage* 26 (3), S. 839–851. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2005.02.018.

Augustinack, Jean C.; Huber, Kristen E.; Stevens, Allison A.; Roy, Michelle; Frosch, Matthew P.; van der Kouwe, André J.W. et al. (2013): Predicting the location of human perirhinal cortex, Brodmann's area 35, from MRI. In: *NeuroImage* 64, S. 32–42. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2012.08.071.

Avants, B. B.; Tustison, N.; Song, G. (2011a): Advanced Normalization Tools (ANTs). Version 1.5.

Avants, Brian B.; Tustison, Nicholas J.; Song, Gang; Cook, Philip A.; Klein, Arno; Gee, James C. (2011b): A reproducible evaluation of ANTs similarity metric performance in brain image registration. In: *NeuroImage* 54 (3), S. 2033–2044. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2010.09.025.

Bardinet, É.; Ourselin, S.; Dormont, D.; Malandain, G.; Tandé, D.; Parain, K. et al. (2002): Co-registration of Histological, Optical and MR Data of the Human Brain. In: Takeyoshi Dohi und Ron Kikinis (Hg.): *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention — MICCAI 2002*, Bd. 2488. Berlin Heidelberg: Springer (Lecture Notes in Computer Science), S. 548–555.

Beare, R.; Richards, K.; Murphy, S.; Petrou, S.; Reutens, D. C. (2008): An assessment of methods for aligning two-dimensional microscope sections to create image volumes. In: *J Neurosci Methods* 170 (2), S. 332–344.

BIC (2009): ICBM 2009a Nonlinear Asymmetric 1×1×1mm template, zuletzt geprüft am 2013.

Boykov, Yuri; Veksler, Olga; Zabih, Ramin (2001): Fast approximate energy minimization via graph cuts. In: *Pattern Analysis and Machine Intelligence, IEEE Transactions on* 23 (11), S. 1222–1239.

Bürgel, U.; Schormann, T.; Schleicher, A.; Zilles, K. (1999): Mapping of histologically identified long fiber tracts in human cerebral hemispheres to the MRI volume of a reference brain. position and spatial variability of the optic radiation. In: *NeuroImage* 10 (5), S. 489–499.

Chakravarty, M. M.; Bedell, B. J.; Zehntner, S. P.; Evans, A. C.; Collins, D. L. (2008): Three-dimensional reconstruction of serial histological mouse brain sections. In: *Proc. the 5th IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro*, S. 987–990.

Chakravarty, M. M.; Bertrand, G.; Hodge, C. P.; Sadikot, A. F.; Collins, D. L. (2006): The creation of a brain atlas for image guided neurosurgery using serial histological data. In: *NeuroImage* 30 (2), S. 359–376.

Clarkson, Matthew J.; Cardoso, M. Jorge; Ridgway, Gerard R.; Modat, Marc; Leung, Kelvin K.; Rohrer, Jonathan D. et al. (2011): A comparison of voxel and surface based cortical thickness estimation methods. In: *NeuroImage* 57 (3), S. 856–865. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2011.05.053.

Collins, Christopher M.; Liu, Wanzhan; Schreiber, Weston; Yang, Qing X.; Smith, Michael B. (2005): Central brightening due to constructive interference with, without, and despite dielectric resonance. In: *J Magn Reson Imaging* 21 (2), S. 192–196. DOI: 10.1002/jmri.20245.

Danielsson, Per-Erik (1980): Euclidean distance mapping. In: *Computer Graphics and Image Processing* 14 (3), S. 227–248. DOI: 10.1016/0146-664X(80)90054-4.

Dauguet, Julien; Delzescaux, Thierry; Condé, Françoise; Mangin, Jean-François; Ayache, Nicholas; Hantraye, Philippe; Frouin, Vincent (2007): Three-dimensional reconstruction of stained histological slices and 3D non-linear registration with in-vivo MRI for whole baboon brain. In: *Journal of Neuroscience Methods* 164 (1), S. 191–204. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2007.04.017.

Deichmann, R.; Good, C. D.; Josephs, O.; Ashburner, J.; Turner, R. (2000): Optimization of 3-D MP-RAGE Sequences for Structural Brain Imaging. In: *NeuroImage* 12 (1), S. 112–127. DOI: 10.1006/nimg.2000.0601.

Denk, Winfried; Horstmann, Heinz (2004): Serial block-face scanning electron microscopy to reconstruct three-dimensional tissue nanostructure. In: *PLoS Biol* 2 (11), S. 1900–1909.

Frackowiak, Richard S. J.; Friston, Karl J.; Frith, Christopher D.; Dolan, Raymond J.; Price, Cathy J.; Zeki, Semir et al. (2004): Human brain function. 2. ed. Amsterdam: Elsevier.

Freund, Roland W.; Hoppe, Ronald H. (2007): Stoer, Bulirsch: Numerische Mathematik 1. 10., neu bearb. Aufl. Berlin: Springer (Springer-Lehrbuch).

Fujimoto, Kyoko; Polimeni, Jonathan R.; van der Kouwe, Andre J.W.; Reuter, Martin; Kober, Tobias; Benner, Thomas et al. (2013): Quantitative comparison of cortical surface reconstructions from MP2RAGE and multi-echo MPRAGE data at 3 and 7T. In: *NeuroImage*. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2013.12.012.

Geurts, J. J. G.; Blezer, E. L. A.; Vrenken, H.; Toorn, A.; Castelijns, J. A.; Polman, C. H. et al. (2008): Does high-field MR imaging improve cortical lesion detection in multiple sclerosis? In: *J Neurol* 255 (2), S. 183–191. DOI: 10.1007/s00415-008-0620-5.

Gonzalez, Rafael C.; Woods, Richard E. (1993): Digital image processing. Reprint. with corr. Reading, Mass. [u.a.]: Addison-Wesley (World student series).

Gonzalez, Rafael C.; Woods, Richard E.; Eddins, Steven L. (2009): Digital image processing using MATLAB: Gatesmark Publishing Knoxville.

Haacke, E. Mark (1999): Magnetic resonance imaging. Physical principles and sequence design. New York: Wiley.

Haidar, Haissam; Soul, Janet S. (2006): Measurement of Cortical Thickness in 3D Brain MRI Data: Validation of the Laplacian Method. In: *Journal of Neuroimaging* 16 (2), S. 146–153. DOI: 10.1111/j.1552-6569.2006.00036.x.

Han, Xiao; Jovicich, Jorge; Salat, David; van der Kouwe, Andre; Quinn, Brian; Czanner, Silvester et al. (2006): Reliability of MRI-derived measurements of human cerebral cortical thickness: The effects of field strength, scanner upgrade and manufacturer. In: *NeuroImage* 32 (1), S. 180–194. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2006.02.051.

Haralick, R. M.; Shanmugam, K.; Dinstein, Its'Hak (1973): Textural Features for Image Classification. In: *Systems, Man and Cybernetics, IEEE Transactions on SMC-3* (6), S. 610–621. DOI: 10.1109/tsmc.1973.4309314.

Henn, Stefan; Schormann, Thorsten; Engler, Knut; Zilles, Karl; Witsch, Kristian (1997): Elastische Anpassung in der digitalen Bildverarbeitung auf mehreren Auflösungsstufen mit Hilfe von Mehrgitterverfahren. In: W. Brauer, Erwin Paulus und Friedrich M. Wahl (Hg.): *Mustererkennung 1997*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg (Informatik aktuell), S. 392–399.

Hou, Zujun (2006): A Review on MR Image Intensity Inhomogeneity Correction. In: *International Journal of Biomedical Imaging* 2006 (2), S. 1–11. DOI: 10.1155/IJBI/2006/49515.

Hyare, H.; Powell, C.; Thornton, J. S.; Parke, H.; Mancini, L.; Yousry, T. et al. (Hg.) (2008): Perfluoropolyethers in Magnetic Resonance Microscopy: Effect on Quantitative Magnetic Resonance Imaging Measures and Histological Properties of Formalin-Fixed Brain Tissue. *Intl. Soc. Mag. Reson. Med.* (16, 1719).

Iacono, M. I.; Makris, N.; Mainardi, L.; Gale, J.; Van Der Kouwe, A.; Mareyam, A. et al. (Hg.) (2011): Ultra-high resolution atlas-based 14 segmentation of GPi for deep brain stimulation in Parkinson's disease. the 19th Annual Meeting of International Society of Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM). Montreal, Canada. 2603 Bände.

Jones, S. E.; Buchbinder, B. R.; Aharon, I. (2000): Three-dimensional mapping of cortical thickness using Laplace's equation. In: *Hum Brain Mapp* 11 (1), S. 12–32.

Ju, Tao; Warren, Joe; Carson, James; Bello, Musodiq; Kakadiaris, Ioannis; Chiu, Wah et al. (2006): 3D volume reconstruction of a mouse brain from histological sections using warp filtering. In: *Journal of Neuroscience Methods* 156 (1-2), S. 84–100. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2006.02.020.

Kim, B.; Boes, J. L.; Frey, K. A.; Meyer, C. R. (1997): Mutual information for automated unwarping of rat brain autoradiographs. In: *NeuroImage* 5 (1), S. 31–40.

Kober, Tobias; Roche, Alexis; Esteban Sanz-Dranguet, Oscar; Gorthi, Subrahmanyam; Rives, Delphine; Bach-Cuadra, Meritzel et al. (Hg.) (2012): Atlas-free brain tissue segmentation using a single T1-weighted MRI acquisition. International Society for Magnetic Resonance in Medicine 20. Melbourne, Australia. 753 Bände.

Kuperberg, Gina R.; Broome, Matthew R.; McGuire, Philip K.; David, Anthony S.; Eddy, Marianna; Ozawa, Fujiro et al. (2003): Regionally localized thinning of the cerebral cortex in schizophrenia. In: *Arch. Gen. Psychiatry* 60 (9), S. 878–888. DOI: 10.1001/archpsyc.60.9.878.

Laidlaw, David H.; Fleischer, Kurt W.; Barr, Alan H. (1998): Partial-volume Bayesian classification of material mixtures in MR volume data using voxel histograms. In: *Medical Imaging, IEEE Transactions on* 17 (1), S. 74–86.

Lerch, J. P. (2004): Focal Decline of Cortical Thickness in Alzheimer's Disease Identified by Computational Neuroanatomy. In: *Cerebral Cortex* 15 (7), S. 995–1001. DOI: 10.1093/cercor/bhh200.

Lerch, Jason P.; Evans, Alan C. (2005): Cortical thickness analysis examined through power analysis and a population simulation. In: *NeuroImage* 24 (1), S. 163–173. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2004.07.045.

Luo, Jianhua; Zhu, Yuemin; Clarysse, Patrick; Magnin, Isabelle (2005): Correction of bias field in MR images using singularity function analysis. In: *IEEE Trans Med Imaging* 24 (8), S. 1067–1085. DOI: 10.1109/TMI.2005.852066.

Lüsebrink, Falk; Wollrab, Astrid; Speck, Oliver (2013): Cortical thickness determination of the human brain using high resolution 3T and 7T MRI data. In: *NeuroImage* 70, S. 122–131. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2012.12.016.

MacDonald, David; Kabani, Noor; Avis, David; Evans, Alan C. (2000): Automated 3-D Extraction of Inner and Outer Surfaces of Cerebral Cortex from MRI. In: *NeuroImage* 12 (3), S. 340–356. DOI: 10.1006/nimg.1999.0534.

Malandain, G.; Bardinet, E. (2003): Intensity compensation within series of images. In: *Lecture Notes in Computer Science*, S. 41–49.

Malandain, G.; Bardinet, E.; Nelissen, K.; Vanduffel, W. (2004): Fusion of autoradiographs with an MR volume using 2-D and 3-D linear transformations. In: *NeuroImage* 23 (1), S. 111–127.

Marques, José P.; Kober, Tobias; Krueger, Gunnar; van der Zwaag, Wietske; van de Moortele, Pierre-François; Gruetter, Rolf (2010): MP2RAGE, a self bias-field corrected sequence for improved segmentation and T1-mapping at high field. In: *NeuroImage* 49 (2), S. 1271–1281. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2009.10.002.

Massey, L.A; Miranda, M.A; Zrinzo, L.; Al-Helli, O.; Parkes, H.G; Thornton, J.S et al. (2011): High resolution MR anatomy of the subthalamic nucleus: Imaging at 9.4T with histological validation. In: *NeuroImage*. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2011.10.016.

Meyer, C. R.; Moffat, B. A.; Kuszpit, K. K.; Bland, P. L.; McKeever, P. E.; Johnson, T. D. et al. (2006): A methodology for registration of a histological slide and in vivo MRI volume based on optimizing mutual information. In: *Mol Imaging* 5 (1), S. 16–23.

Mouritzen Dam, A. (1979): Shrinkage of the brain during histological procedures with fixation in formaldehyde solutions of different concentrations. In: *J Hirnforsch* 20 (2), S. 115–119.

Mugler, J. P.; Brookeman, J. R. (1990): Three-dimensional magnetization-prepared rapid gradient-echo imaging (3D MP RAGE). In: *Magn Reson Med* 15 (1), S. 152–157.

Narr, K. L.; Bilder, R. M.; Toga, A. W.; Woods, R. P.; Rex, D. E.; Szeszko, P. R. et al. (2005): Mapping Cortical Thickness and Gray Matter Concentration in First Episode Schizophrenia. In: *Cerebral Cortex* 15 (6), S. 708–719. DOI: 10.1093/cercor/bhh172.

Ourselin, S.; Bardinet, E.; Dormont, D.; Malandain, G.; Roche, A.; Ayache, N. et al. (2001a): Fusion of Histological Sections and MR Images. Towards the Construction of an Atlas of the Human Basal Ganglia. In: Wiroj Niessen und MaxA Viergever (Hg.): *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention – MICCAI 2001*, Bd. 2208: Springer Berlin Heidelberg (Lecture Notes in Computer Science), S. 743–751.

Ourselin, S.; Roche, A.; Subsol, G.; Pennec, X.; Ayache, N. (2001b): Reconstructing a 3D structure from serial histological sections. In: *Image Vis Comput* 19 (1-2), S. 25–31.

Pitiot, Alain; Guimond, Alexandre (2008): Geometrical regularization of displacement fields for histological image registration. In: *Med Image Anal* 12 (1), S. 16–25.

Ridgway G.: Voxel-Based Morphometry with Unified Segmentation. Online verfügbar unter http://www0.cs.ucl.ac.uk/staff/G.Ridgway/zurich/seg_vbm_zurich2010.ppt, zuletzt geprüft am 06.03.2014.

Sailer, M. (2003): Focal thinning of the cerebral cortex in multiple sclerosis. In: *Brain* 126 (8), S. 1734–1744. DOI: 10.1093/brain/awg175.

Schmitt, Oliver; Modersitzki, Jan; Heldmann, Stefan; Wirtz, Stefan; Fischer, Bernd (2007): Image registration of sectioned brains. In: *Int J Comput Vis* 73 (1), S. 5–39.

Schormann, Thorsten; Zilles, Karl (1998): Three-dimensional linear and nonlinear transformations. An integration of light microscopical and MRI data. In: *Hum Brain Mapp* 6 (5-6), S. 339–347. DOI: 10.1002/(sici)1097-0193(1998)6:5/6<339::aid-hbm3>3.0.co;2-q.

Shattuck, David W.; Sandor-Leahy, Stephanie R.; Schaper, Kirt A.; Rottenberg, David A.; Leahy, Richard M. (2001): Magnetic resonance image tissue classification using a partial volume model. In: *NeuroImage* 13 (5), S. 856–876.

Sled, J. G.; Zijdenbos, A. P.; Evans, A. C. (1998): A nonparametric method for automatic correction of intensity nonuniformity in MRI data. In: *IEEE Trans Med Imaging* 17 (1), S. 87–97. DOI: 10.1109/42.668698.

Strotmann, Barbara; Kögler, Carsten; Bazin, Pierre-Louis; Weiss, Marcel; Villringer, Arno; Turner, Robert (2013): Mapping of the internal structure of human habenula with ex vivo MRI at 7T. In: *Front. Hum. Neurosci.* 7. DOI: 10.3389/fnhum.2013.00878.

Stucht, Daniel; Yang, Shan; Schulze, Peter; Danishad, Appu; Kadashevich, Ilja; Bernarding, Johannes et al. (Hg.) (2012): Improved Image Segmentation with Prospective Motion Correction in MRI. *Bildverarbeitung für die Medizin*. Online verfügbar unter http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-28502-8_7.

Tofts, Paul (2003): Quantitative MRI of the brain. Measuring changes caused by disease. Chichester, West Sussex, Hoboken, NJ: Wiley.

Tohka, Jussi; Zijdenbos, Alex; Evans, Alan (2004): Fast and robust parameter estimation for statistical partial volume models in brain MRI. In: *NeuroImage* 23 (1), S. 84–97.

Uberti, Mariano; Liu, Yutong; Dou, Huanyu; Mosley, R. Lee; Gendelman, Howard E.; Boska, Michael (2009): Registration of in vivo MR to histology of rodent brains using blockface imaging. In: SPIE, S. 726213–726213-11.

van de Moortele, Pierre-François; Auerbach, Edwards J.; Olman, Cheryl; Yacoub, Essa; Uğurbil, Kâmil; Moeller, Steen (2009): T1 weighted brain images at 7 Tesla unbiased for Proton Density, T2* contrast and RF coil receive B1 sensitivity with simultaneous vessel visualization. In: *NeuroImage* 46 (2), S. 432–446. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2009.02.009.

Vovk, Uro; Pernus, Franjo; Likar, Botjan (2007): A Review of Methods for Correction of Intensity Inhomogeneity in MRI. In: *IEEE Trans. Med. Imaging* 26 (3), S. 405–421. DOI: 10.1109/TMI.2006.891486.

Wähner, M. D.; Dinse, J.; Weiss, M.; Streicher, M. N.; Waehnert, P.; Geyer, S. et al. (2013): Anatomically motivated modeling of cortical laminae. In: *NeuroImage*. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2013.03.078.

Xiaolan Zeng; Staib, L. H.; Schultz, R. T.; Duncan, J. S. (1999): Segmentation and measurement of the cortex from 3-D MR images using coupled-surfaces propagation. In: *Medical Imaging, IEEE Transactions on* 18 (10), S. 927–937. DOI: 10.1109/42.811276.

Yang, Shan; Yang, Zhengyi; Fischer, Karin; Zhong, Kai; Stadler, Jörg; Godenschweger, Frank et al. (2013): Integration of ultra-high field MRI and histology for connectome based research of brain disorders. In: *Front Neuroanat* 7, S. 31. DOI: 10.3389/fnana.2013.00031.

Yang, Shan; Yang, Zhengyi; Reutens, David C.; Speck, Oliver; Walter, Martin (2012a): Volumetric Reconstruction of Post Mortem Human Brain Histological Sections using

7T MRI Volume as Guidance. In: Proc. 29th ESMRMB. Lisbon, Portugal, 4-6 October, 2012, S. 650.

Yang, Zhengyi; Richards, Kay; Kurniawan, Nyoman D.; Petrou, Steven; Reutens, David C. (2012b): MRI-guided volume reconstruction of mouse brain from histological sections. In: *Journal of Neuroscience Methods* 211 (2), S. 210–217. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2012.08.021.

Yelnik, J.; Bardinet, E.; Dormont, D.; Malandain, G.; Ourselin, S.; Tande, D. et al. (2007): A three-dimensional, histological and deformable atlas of the human basal ganglia. I. Atlas construction based on immunohistochemical and MRI data. In: *NeuroImage* 34 (2), S. 618–638. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2006.09.026.

Yushkevich, Paul A.; Avants, Brian B.; Pluta, John; Das, Sandhitsu; Minkoff, David; Mechanic-Hamilton, Dawn et al. (2009): A high-resolution computational atlas of the human hippocampus from postmortem magnetic resonance imaging at 9.4 T. In: *NeuroImage* 44 (2), S. 385–398. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2008.08.042.

Yushkevich, Paul A.; Avants, Brian B.; Ng, Lydia; Hawrylycz, Michael; Burstein, Pablo D.; Zhang, Hui; Gee, James C. (2006): 3D Mouse Brain Reconstruction from Histology Using a Coarse-to-Fine Approach. In: Josien P. W. Pluim, Boštjan Likar und Frans A. Gerritsen (Hg.): *Biomedical Image Registration*, Bd. 4057. Berlin Heidelberg: Springer (Lecture Notes in Computer Science), S. 230–237.

ANHANG

Glossar

| | |
|---------------------|--|
| AC | a nterior c ommissure |
| ADC | analog zu digital Konverter |
| ANTs | a dvanced n ormalization t ools |
| CSF | Liquor cerebrospinalis, Gehirn-Rückenmarks-Flüssigkeit |
| ex vivo | außerhalb des Lebendigen |
| FLASH | fast low angle shot |
| FOV | field of view |
| frontal | stirnseitig |
| GE | Gradientenecho |
| GM | Graue Substanz |
| HF | Hochfrequenz |
| in vivo | im Lebendigen |
| iso | isotrop |
| Kortex, kortikal | Großhirnrinde |
| MP2RAGE | Magnetization Prepared 2 Rapid Acquisition Gradient Echoes |
| MPRAGE | Magnetization Prepared Rapid Gradient Echo |
| MR | Magnetresonanz |
| MRT | Magnetresonanztomografie |
| N3 | Nonparametric Nonuniform Intensity Normalization |
| occipital | zum Hinterkopf gehörig |
| parietal | seitlich |
| PC | posterior commissure |

| | |
|-------|---|
| SNR | Signal-zu-Rausch-Verhältnis |
| SoS | sum of squares |
| SPM | Statistical Parametric Mapping |
| T1 | longitudinale Relaxationszeit |
| T2 | transversale Relaxationszeit |
| Voxel | Volumenelemente in dreidimensionales Gitter zu einem Pixel, zusammengesetzt aus volumetric und pixel |
| WM | Weißer Substanz |

DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich allen danken, die mir den Abschluss dieser Promotionsarbeit ermöglichten.

Den ersten Platz in dieser Reihe nimmt Herr Prof. Dr. Oliver Speck ein, der mich bereits in der Arbeit gefördert hat und der mir mit Ratschlägen zur Seite stand. Nicht zuletzt durch die freundliche und engagierte Betreuung hat mich diese Arbeit belehrt und mir viel Freude bereitet.

Darüber hinaus möchte ich mich bei meinem zweiten Betreuer, Herrn PD Dr. med. Martin Walter, für die Unterstützung dieser Arbeit und des Austausches in Australien bedanken.

Außerdem möchte ich meinen Kollegen, Dr. -Ing. Frank Godenschweger, Dr. rer. nat. Myung-Ho In und Dipl. -Ing. Daniel Stucht, für ihre technische Unterstützung bei dieser Arbeit danken. Insbesondere bedanke ich mich bei Dr. Meng Li für die zahlreichen fachlichen Diskussionen. Ebenso möchte ich mich gern bei unseren Kooperationspartnern, Frau Karin Fischer vom Institut für Anatomie, Dr. rer. nat. Martin Kanowski von der Abteilung der Universitätsklinik für Neurologie, Dr. med. Tonio Ball, Dipl. -Bio. Johanna Derix und Dipl. -Bio. Lukas Fiederer an der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg und Dr. Zhengyi Yang und Dr. Viktor Vegh an der Universität Queensland in Brisbane bedanken.

Ich möchte hier nicht vergessen, der gesamten Arbeitsgruppen BMMR und CANLAB für die angenehme und hilfsbereite Arbeitsatmosphäre zu danken.

Für die mühsame Durchsicht und Korrektur dieser Arbeit möchte ich Herr Sebastian Hupfeld, Dipl.-Phys. Michel Ramm, Dr. rer. nat. Sebastian Wolf und M. Sc. Ariane Fillmer danken.

Diese Gelegenheit möchte ich nutzen, meiner deutschen Tante Erika Lehmann, meine Gastfamilien, Familie Rosenburg und Familie Buchenau, den Freunden aus meiner ehemaligen WG und vielen anderen dafür zu danken, dass sie mir während meines 11 jährigen Studiums in Deutschland das Gefühl gegeben haben, zu Hause zu sein.

Meinen Eltern danke ich sehr, dass sie mich seit 30 Jahren immer mit Liebe unterstützt haben. Meine Frau, Xing Chen, danke ich sehr, dass sie mich motiviert und immer an mich geglaubt hat. Ohne sie wäre die Arbeit hier kaum möglich gewesen.

Danksagung zu meinen Eltern in Chinesisch:

感谢我的父母 30 年来对我的爱!

ERKLÄRUNG

Hiermit erkläre ich, dass ich die von mir eingereichte Dissertation zu dem Thema

„Bestimmung kortikaler Dicke mit räumlich hoch- und ultra-hochauflöster MRT bei 7 Tesla“

selbständig verfasst, nicht schon als Dissertation verwendet habe und die benutzten Hilfsmittel und Quellen vollständig angegeben wurden.

Weiterhin erkläre ich, dass ich weder diese noch eine andere Arbeit zur Erlangung des akademischen Grades doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.) an einer anderen Einrichtungen eingereicht habe.

Magdeburg, September 2014

Shan Yang