

Neurologische Klinik und Poliklinik
der Technischen Universität München
Klinikum rechts der Isar
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. B. Hemmer)

**Der Rückenmarkquerschnitt auf Höhe C2/3 –
Einfluss von demographischen, körperbezogenen und
neuroanatomischen Parametern**

Christina Theresa Engl

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizin genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. E. J. Rummeny
Prüfer der Dissertation: 1. apl. Prof. Dr. M. Mühlau
2. Univ.-Prof. Dr. B. Meyer
3. Univ.-Prof. Dr. C. Zimmer (nur schriftliche Beurteilung)

Die Dissertation wurde am 28.08.2014 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 15.07.2015 angenommen.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	3
1 Einleitung	4
1.1 Anatomie des Rückenmarks	4
1.2 Das Rückenmark bei neurologischen Erkrankungen.....	5
1.3 Morphometrie des Rückenmarks	7
1.4 Determinanten des Rückenmarks	9
1.5 Aufgabenstellung.....	10
2 Material und Methoden.....	11
2.1 Probanden	11
2.2 Magnetresonanztomographie.....	12
2.3 Messung des Rückenmarkquerschnitts auf Höhe C2/3	12
2.4 Datenvorverarbeitung zur Erhebung globaler Volumina mittels Voxel- basierter Morphometrie des Gehirns	15
2.5 Statistische Analyse	19
2.5.1 Korrelationsanalysen des Rückenmarkquerschnitts auf Höhe C2/3 mit demographischen, körperbezogenen und neuroanatomischen Parametern	20
2.5.2 Voxel-weise Korrelationsanalyse des Rückenmarkquerschnitts auf Höhe C2/3 mit der cerebralen grauen und weißen Substanz.....	22
3 Ergebnisse	24
3.1 Der Rückenmarkquerschnitt auf Höhe C2/3.....	24
3.2 Korrelationsanalysen des Rückenmarkquerschnitts auf Höhe C2/3 mit demographischen, körperbezogenen und cerebralen Variablen	24
3.3 Voxel-weise Korrelation des Rückenmarkquerschnitts auf Höhe C2/3 mit der cerebralen grauen und weißen Substanz.....	25
4 Diskussion.....	27
5 Zusammenfassung	32
6 Literaturverzeichnis.....	34
7 Originalpublikation	38

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
cMRT	Craniale Magnetresonanztomographie
Lq	Liquor cerebrospinalis
EDSS	Expanded Disability Status Scale
FWE	Family-wise error
GS	Graue Substanz des zentralen Nervensystems
MNI	Montreal Neurological Institute
MR	Magnetresonanz
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Multiple Sklerose
RM	Rückenmark
RMQ	Rückenmarkquerschnitt
RMQ-C2/3	Rückenmarkquerschnittsfläche auf Höhe C2/3
sMRT	Spinale Magnetresonanztomographie
SPM	Statistical Parametric Mapping
TIV	Totales intracraniales Volumen
VBM	Voxel-basierte Morphometrie
WS	Weißer Substanz des zentralen Nervensystems
ZNS	Zentrales Nervensystem

1 Einleitung

Das Rückenmark (RM, Medulla spinalis) ist Teil des zentralen Nervensystems (ZNS) des Menschen. Es dient der Kommunikation zwischen Gehirn und Peripherie. Über afferente und efferente Nervenfasern leitet es Informationen zum bzw. aus dem Gehirn. Die Vereinigung beider Faserqualitäten zu einem Spinalnerv stellt den Übergang des zentralen in das periphere Nervensystem dar.

1.1 Anatomie des Rückenmarks

Ähnlich dem Gehirn wird das RM von Hirnhäuten umhüllt. Zwischen der direkt anliegenden Pia mater und der Arachnoidea befindet sich der Subarachnoidalraum, welcher den Liquor cerebrospinalis (Lq) enthält. Die Dura mater und das Periost sind allerdings nicht, wie im Gehirn, fest miteinander verwachsen, sondern bilden den Epiduralraum, der mit Fettgewebe und einem Venenplexus ausgefüllt ist und somit die Bewegung der Wirbelsäule ermöglicht. Bei Erwachsenen reicht das RM vom Foramen magnum des Os occipitale bis etwa in die Höhe der Lendenwirbelkörper 1/2. Unterhalb davon ziehen Hinter- und Vorderwurzeln in der Cauda equina nach kaudal. Segmente aus je einem Spinalnervenpaar mit ihrem zugehörigen RM-Abschnitt lassen sich den jeweiligen Wirbelkörpern zuordnen, was eine Unterteilung in fünf Bereiche ermöglicht: Pars cervicalis, thoracalis, lumbalis, sacralis und coccygis. Die von den Spinalnerven jeweils innervierten Hautareale, die sogenannten Dermatome, erlauben eine segmentale Gliederung der Haut und – umgekehrt – ihre Zuordnung zu den entsprechenden RM-Abschnitten.

Der Querschnitt des RM besteht aus einer zentralen grauen Substanz (GS, Substantia grisea) und der sie umgebenden weißen Substanz (WS, Substantia alba). Die schmetterlingsförmige GS enthält Perikaryen sowie deren marklose Fasern und Fortsätze. Über ihr Hinterhorn empfängt die GS sensorische Informationen über Schmerz und Temperatur aus dem Körper. In ihrem Vorderhorn wird motorische Information aus dem Gehirn verarbeitet und über die Fasern von Motoneuronen an die Muskeln weitergeleitet. Zwischen den Wirbelkörpern C8 bis L1 findet sich zusätzlich ein Seitenhorn, das präganglionäre vegetative Neurone des Sympathikus enthält. Die

WS hingegen entsteht durch myelinhaltige Axone, welche die Leitungsbahnen bilden. Diese leiten in ihren aufsteigenden Bahnen (im Wesentlichen über die Hinterstränge und den Tractus spinothalamicus lateralis) sensorische Informationen zum Gehirn; in ihren absteigenden Bahnen (größtenteils über die Pyramidenbahn) werden motorische Informationen vom Gehirn an die Peripherie weitergegeben. Damit stellt das RM die Verbindung zwischen zentralem und peripherem Nervensystem dar. Diese herausragende strategische Rolle bringt es mit sich, dass krankhafte RM-Prozesse mitunter für die Betroffenen verheerende Folgen haben.

1.2 Das Rückenmark bei neurologischen Erkrankungen

Bei einer Schädigung des RM wird die Weitergabe der in den Leitungsbahnen enthaltenen Information unterbrochen. Aufgrund der dicht nebeneinander gebündelten Bahnen führt dies je nach Ausprägung zu komplexen sensiblen und/oder motorischen Ausfallerscheinungen kaudal des Läsionsortes und in äußerster Form, dem vollständigen Querschnittssyndrom, zur kompletten Plegie und zum Verlust aller Sinnesqualitäten. Unter Berücksichtigung der Anatomie des RM lassen sich Schädigungen durch das klinische Erscheinungsbild meist genau lokalisieren. Anhand der spinalen Halbseitenläsion (Brown-Séquard-Syndrom) sollen anatomische Gegebenheiten im RM verdeutlicht werden (Schünke et al., 2006).

Die Durchtrennung *absteigender motorischer Bahnsysteme* ruft ipsilateral Lähmungserscheinungen unterhalb der betroffenen Seite hervor, da die Pyramidenbahn schon auf Höhe der Medulla oblongata kreuzt. Damit gehen Spastik und Hyperreflexie sowie das Auftreten des pathologischen Babinski-Reflexes (Bestreichen des lateralen Fußrandes führt zu einer Dorsalextension der Großzehe und einer Plantarflexion der restlichen Zehen) einher. Durch Atrophie der Vorderhornzellen des RM können in Höhe der Läsion ipsilateral schlaffe Paresen im entsprechenden Segment auftreten.

Hinsichtlich *sensorischer Bahnsysteme* bedingt eine Unterbrechung der Hinterstränge einen ipsilateralen Ausfall des Vibrationsempfindens, der Zweipunkte-Diskrimination sowie den Verlust des Lagesinns. Letzteres führt zu einer spinalen Ataxie, welche aber beim Brown-Séquard-Syndrom durch die zugleich bestehenden Paresen überschattet wird. Auf der betroffenen Körperhälfte bleiben Schmerz- und Temperaturempfinden vollständig erhalten. Die afferenten Fasern dieser Sinnesqualitäten (Tractus

spinothalamicus lateralis) kreuzen nämlich wenige Segmente über der Eintrittsstelle des Spinalnerven auf die andere Seite. Bei einer spinalen Halbseitenläsion findet sich ein Defizit für Schmerz und Temperatur also auf der kontralateralen Seite distal der Läsion. Zudem sind durch Irritationen der Hinterwurzel auch Parästhesien oder radikuläre Schmerzen im entsprechenden Dermatome oberhalb der Schädigung möglich.

Je nach Höhe des Befalls finden sich außerdem *vegetative Ausfallerscheinungen* wie ein Verlust der Steuerung von Blase und Mastdarm.

Eine derartige Schädigung des RM, wie die spinale Halbseitenläsion, tritt allerdings in der Realität nur sehr selten auf und dient eher dem anatomischen Verständnis. Weniger scharf umschriebene Krankheitsprozesse sind wesentlich häufiger. Beispielhaft soll hier die Auswirkung degenerativer, metabolischer und entzündlicher Vorgänge dargestellt werden (Bähr et al., 2009).

Zu einer Degeneration des 1. Motoneurons im motorischen Kortex des Gehirns (Willkürmotorik) sowie des 2. Motoneurons in den Vorderhornzellen des RM kommt es bei der amyotrophen Lateralsklerose. Eine Degeneration der Pyramidenbahn resultiert in spastischen Paresen und gesteigerten Reflexen. Dem stehen durch den Befall der Vorderhornzellen schlaffe Lähmungserscheinungen mit zunehmender Muskelatrophie und Hyporeflexie gegenüber. Typischerweise zeigen die Patienten zunächst Schwächen in der Arm- und Handmuskulatur, im weiteren Verlauf treten auch Paresen der unteren Extremitäten auf, was sich in Gangstörungen äußert. Sind motorische Hirnnervenkerne betroffen, atrophieren zunehmend auch Schluck- und Sprechmuskulatur (progressive Bulbärparalyse). Dadurch begünstigte Lungenentzündungen sowie Lähmungen der Atemmuskulatur sind häufige Ursachen für den frühen Tod bei dieser Erkrankung. Eine Einschränkung der Sensibilität findet sich bei der amyotrophen Lateralsklerose nicht.

Eine solche Störung der sensiblen Bahnen kennzeichnet hingegen die funikuläre Myelose, die durch einen Vitamin B12-Mangel entsteht und zu zerviko-thorakalen Entmarkungsherden in den Myelinscheiden der Hinterstränge führt. Die Unterbrechung dieser sensorischen Leitungsbahnen äußert sich in einer Störung des Vibrationsempfindens, der Zweipunkte-Diskrimination der Extremitäten und dem Verlust des Lagesinns, was in einer beeinträchtigten Bewegungskoordination, der spinalen Ataxie, resultiert. Zusätzlich kann ein Vitamin B12-Mangel auch Entmarkungsherde in der Pyramidenbahn hervorrufen. Spastische Lähmungen der

unteren Extremität mit gesteigerten Muskeleigenreflexen und einem beidseits positiven Babinski-Reflex sind die Folge und können unbehandelt zu einer Querschnittslähmung führen.

Die Folgen einer chronischen autoimmun bedingten Entzündung im ZNS manifestieren sich bei der Multiplen Sklerose (MS) (Compston and Coles, 2008). Hier werden die Myelinscheiden der Axone geschädigt, wodurch Läsionsherde in der WS im Gehirn und RM entstehen. Das Befallsmuster ist dabei so vielfältig wie die damit einhergehenden klinischen Symptome. Sind sensible Bahnsysteme des RM betroffen, äußert sich dies häufig in Parästhesien und Taubheitsgefühlen. Ein typisches Merkmal einer Schädigung der Hinterstränge ist das „Lhermitte-Zeichen“, bei dem bei Nackenbeugung elektrisierende Missempfindungen ausgelöst werden. Läsionsherde im motorischen System führen zum Auftreten von Pyramidenbahnzeichen (z.B. einem positiven Babinski-Reflex) und zu meist spastischen Lähmungen, was das alltägliche Leben der Patienten zusätzlich erschwert. Der aktuelle Schweregrad der Behinderung lässt sich dabei anhand des sog. Expanded Disability Status Scale (EDSS) beurteilen. Durch Demyelinisierung vegetativer Nervenfasern im RM können bei Patienten mit MS auch vegetative Symptome wie Blasen- und Mastdarmstörungen auftreten.

Letztendlich ist eine Schädigung jeglicher Art für die Betroffenen meist mit einer erheblichen Minderung der Lebensqualität verbunden, was den Stellenwert des RM als Schaltstelle zwischen peripherem und zentralem Nervensystem verdeutlicht.

1.3 Morphometrie des Rückenmarks

Trotz seiner bedeutenden Rolle war das Wissen über das RM bis in die späten 80er Jahre auf Ergebnisse aus postmortalen Untersuchungen beschränkt. Besonders die Magnetresonanztomographie (MRT) erlaubte schließlich neben bereits etablierten Verfahren zur Untersuchung des Gehirns auch das RM in vivo zu analysieren. Durch schnellere Akquisition der Magnetresonanz(MR)-Bilder und einem immer höheren Auflösungsvermögen wurde das RM zunehmend morphometrischen Untersuchungen zugänglich (Losseff et al., 1996), mit deren Hilfe sich anatomische Veränderungen detektieren und quantifizieren lassen (Ashburner et al., 2003).

Angesichts der Bedeutung einer spinalen Atrophie bei neurologischen Erkrankungen, wie beispielsweise der MS (Kidd et al., 1993, Losseff et al., 1996, Losseff and Miller,

1998, Miller et al., 2002), setzten viele Studien ihren Schwerpunkt auf die Untersuchung des Rückenmarkquerschnitts (RMQ).

Methoden zur manuellen Umrandung des RM an hochaufgelösten axialen Bildern (Kidd et al., 1993) zeichneten sich durch starke Untersucherabhängigkeit mit einem Mangel an Objektivität aus (Losseff and Miller, 1998). Die Techniken wurden zunehmend automatisiert (Losseff et al., 1996, Hickman et al., 2003, Vaithianathar et al., 2003), die Höhe der anatomisch untersuchten Region sorgfältig gewählt (Losseff et al., 1996), ungenaue Ausrichtungen des RM korrigiert und Partialvolumeneffekte reduziert; daraus resultierten hohe Reproduzierbarkeit und Reliabilität (Losseff et al., 1996, Hickman et al., 2003, Vaithianathar et al., 2003, Tench et al., 2005, Mann et al., 2007, Freund et al., 2010, Horsfield et al., 2010). Die Verfahren gründen entweder auf intensitätsbasierter (Losseff et al., 1996) oder gradientenbasierter (Hickman et al., 2003, Vaithianathar et al., 2003) Kantendetektion um Bildpunkte am Übergang zwischen RM-parenchym und Lq zu identifizieren. Die Anwendung aktiver Oberflächenmodelle erlaubt neben der Messung des Querschnitts (Horsfield et al., 2010) auch die Untersuchung des Volumens (Hickman et al., 2003).

In den letzten Jahren wurde gerade für MS-Patienten die Messung des RMQ auf Höhe der Bandscheibe C2/3 (RMQ-C2/3) in cranialen MR-Bildern (cMRTs) vorgeschlagen (Freund et al., 2010). Dies erlaubt eine effizientere Datenerhebung, da die Aufnahme eines zusätzlichen spinalen MRTs (sMRT) meist zu teuer und zeitaufwendig ist (Healy et al., 2012). Daher wird, obgleich der eigentlichen Notwendigkeit eines sMRTs, gerade bei Verlaufsuntersuchungen häufig nur ein cMRT angefertigt – also auf ein sMRT verzichtet. Das zervikale RM wird zudem reichlich von Lq umgeben (Losseff et al., 1996, Freund et al., 2010). Dadurch entsteht ein starker Kontrast der Gewebetypen, was die Anwendung automatisierter Methoden zur Messung des Querschnitts erlaubt. Vom anatomischen Standpunkt her betrachtet, rechtfertigt die relative Geradlinigkeit des RM (Tench et al., 2005) sowie die starke intraindividuelle Korrelation der Querschnitte über das gesamte RM (Kameyama et al., 1994, Healy et al., 2012) eine Beschränkung auf den oberen zervikalen Abschnitt. Die Sensitivität verschiedener Methoden hinsichtlich anatomischer Veränderungen wurde vor allem in Studien der MS analysiert. In fortgeschrittenen Stadien der MS zeigte sich eine signifikante Abnahme des RMQ (Kidd et al., 1993, Losseff and Miller, 1998, Stevenson et al., 1998). Ein Zusammenhang ergab sich auch zwischen dem EDSS-Score, also dem Fortschreiten der Erkrankung, und dem RMQ-C2/3 (Losseff et al., 1996, Losseff and Miller, 1998, Stevenson et al., 1998, Lin et al., 2003, Vaithianathar et al., 2003,

Horsfield et al., 2010). Die Verkleinerung des RMQ korrelierte dabei nicht mit jener des Gehirnvolumens, was vermuten lässt, dass dies tatsächlich pathologische Veränderungen im RM – unabhängig von denen des Gehirns – widerspiegelt (Losseff et al., 1996).

1.4 Determinanten des Rückenmarks

Zur Evaluierung von Pathologien des RM mit Hilfe des RMQ-C2/3 ist jedoch zunächst die Kenntnis der physiologischen Einflussgrößen unabdingbar. Abhängig von unterschiedlichen Methoden liegen konträre Ergebnisse darüber vor, welchen Effekt Faktoren wie Alter, Geschlecht sowie Kopf- und Körpergröße ausüben.

Histologische Untersuchungen wiesen mit höherem Alter degenerative Veränderungen der sensorischen und motorischen Fasern des RM nach; es zeigte sich sowohl eine Verringerung der Anzahl der Axone als auch ihrer Durchmesser (Tomlinson and Irving, 1977, Terao et al., 1996, Cruz-Sanchez et al., 1998). Mittels Diffusions-Tensor-Bildgebung wurden anhand von MR-Bildern mit zunehmendem Alter strukturelle Veränderungen im RM gemessen, nämlich eine Abnahme der zufälligen Diffusionsbewegung von Wassermolekülen (fractional anisotropy) im RM (Agosta et al., 2007, Van Hecke et al., 2008) bzw. in seiner mediospinalen Bahn (Lindberg et al., 2010). Die Diffusions-Tensor-Bildgebung ist eine diffusionsgewichtete Methode, bei der die fractional anisotropy als Marker für die Integrität und strukturelle Organisation der WS gemessen wird (Basser and Jones, 2002).

Im Gegensatz dazu führen morphologische Veränderungen, wie Atrophie, zu Veränderungen im RMQ (Tench et al., 2005). In einer post mortem Studie wurde hier dem Alter lediglich ein geringer Einfluss zugeschrieben (Kameyama et al., 1994). In vivo Untersuchungen des RMQ mit MR-Bildern zeigten weder unter Anwendung einer manuellen (Thorpe et al., 1993) noch einer semiautomatisierten Methode (Losseff et al., 1996, Rashid et al., 2006a, Agosta et al., 2007) eine Korrelation zwischen dem Querschnitt und dem Alter. In einer weiteren umfangreichen Studie wurde hingegen manuell eine Verkleinerung des Querschnitts mit zunehmendem Alter gemessen (Ishikawa et al., 2003). Auch das Volumen des Zervikalmarks verringerte sich in höherem Alter (Yanase et al., 2006).

Der Einfluss des Geschlechts auf den RMQ ist umstritten. Die Ergebnisse divergieren von einem signifikanten Unterschied (Ishikawa et al., 2003, Yanase et al., 2006, Mann

et al., 2007) über einen Trend (Losseff et al., 1996) bis hin zu gar keinem signifikanten Unterschied zwischen Frauen und Männern (Rashid et al., 2006b).

In vielen dieser Studien wurde jedoch unabhängig von der Methode eine starke Korrelation des RMQ mit der Kopfgröße, dem totalen intracranialen Volumen (TIV) (Rashid et al., 2006a, Rashid et al., 2006b), bzw. dem Gehirngewicht (Kameyama et al., 1994) festgestellt.

Hinsichtlich der Körpergröße zeigte sich bei größeren Menschen in der Regel ein größerer RMQ-C2/3 (Kameyama et al., 1994, Losseff et al., 1996).

Die Diskrepanz der Ergebnisse liegt vermutlich auch in einer Korrelation der Determinanten untereinander begründet. Rashid et al. (2006a) vermuten einen geschlechtsspezifischen Unterschied des TIV als Ursache. Das TIV ist nämlich bei Männern signifikant größer (Blatter et al., 1995, Nopoulos et al., 2000, Good et al., 2001a, Kruggel, 2006) und korreliert stark mit dem RMQ-C2/3 (Rashid et al., 2006a, Rashid et al., 2006b). Zwar zeigten Frauen in ihrer Studie einen kleineren RMQ-C2/3 als Männer, dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant nachdem TIV als Variable in die Analyse miteinbezogen wurde (Rashid et al., 2006a). Womöglich spiegelt ein geschlechtsspezifischer Unterschied des RMQ-C2/3 also lediglich unterschiedliche Kopfgrößen bei Frauen und Männern wider. Ob der Effekt der Körpergröße auf den RMQ-C2/3 ebenfalls über das TIV vermittelt wird, konnten Rashid et al. (2006a) mangels Verfügbarkeit dieser Determinante nicht beurteilen.

Um der Interkorrelation der physiologischen Determinanten Alter, Geschlecht und Körpergröße sowie TIV und Gehirnvolumen untereinander entgegenzutreten und ihren Einfluss auf den RMQ zu beurteilen, ist daher eine Untersuchung mit Berücksichtigung aller Parameter an einer möglichst großen Kohorte nötig. Die Ergebnisse sollten in einem statistischen Modell analysiert und – idealerweise – an einer zweiten Kohorte repliziert werden.

1.5 Aufgabenstellung

In der vorliegenden Arbeit soll eine Methode zur Messung des RMQ auf Höhe C2/3 mittels T1-gewichteter cMRTs entwickelt und die Rolle physiologischer Einflussgrößen wie Alter, Geschlecht und Körpergröße sowie TIV und Gehirnvolumen anhand gesunder Probanden in zwei großen Kohorten untersucht werden.

2 Material und Methoden

2.1 Probanden

Das Studienkollektiv setzte sich aus zwei Kohorten gesunder Probanden zusammen, die bei mehreren bildgebenden Untersuchungen bereits als Kontrollen dienten (Kohorte 1: Klinikum rechts der Isar, Technische Universität München; Kohorte 2: Klinikum Innenstadt, Ludwig-Maximilians-Universität München). Ausschlusskriterien waren eine bekannte neurologische oder psychiatrische Erkrankung in der Eigenanamnese oder bei Verwandten ersten Grades, vorhergehende Kopfverletzungen mit Bewusstseinsverlust, Kortikosteroideinnahme sowie Alkohol- oder Drogenmissbrauch. Die Studien wurden von den zuständigen Ethikkommissionen zugelassen und in Übereinstimmung mit der Erklärung von Helsinki durchgeführt. Demographische, körperbezogene und neuroanatomische Parameter der untersuchten Kohorten sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1 Demographische, körperbezogene und neuroanatomische Parameter der untersuchten Kohorten (modifiziert nach Engl et al., 2013)

	Kohorte 1	Kohorte 2
Anzahl	133	285
Alter in Jahren (Spannweite)	54,0 ± 11,6 (29–80)	33,8 ± 11,6 (18–65)
Geschlecht (männlich/weiblich)	60/73	151/134
Körpergröße in cm	170 ± 10,0	nicht bestimmt
<i>Männer</i>	178 ± 8,1	
<i>Frauen</i>	163 ± 5,3	
TIV in ml	1605 ± 173	1630 ± 184
<i>Männer</i>	1695 ± 120	1737 ± 148
<i>Frauen</i>	1531 ± 176	1511 ± 144
Volumen der cerebralen GS in ml	645 ± 80	704 ± 79
Volumen der cerebralen WS in ml	514 ± 69	511 ± 63
Volumen des cerebralen Lq in ml	446 ± 132	415 ± 105
RMQ-C2/3 in mm ² (Spannweite)	84,8 ± 9,1 (60–114)	91,3 ± 10,6 (72–111)

Mittelwert ± Standardabweichung

2.2 Magnetresonanztomographie

Sämtliche Bilder der Kohorte 1 wurden an nur einem Gerät (Magnetom Symphony, Siemens, Erlangen, Deutschland, Feldstärke: 1,5 Tesla) mit der gleichen Sequenz (Magnetization prepared rapid gradient echo = MPRAGE mit einer T1-Wichtung, TR: 4,3 ms, TE: 4,3 ms, 160 sagittale Schnitte, Voxelgröße: 1,0x1,0x1,0 mm³) aufgenommen. Alle Datensätze der Kohorte 2 wurden ebenfalls an nur einem Gerät (Magnetom Vision, Siemens, Erlangen, Deutschland, Feldstärke: 1,5 Tesla) mit derselben Sequenz (T1-gewichtete MPRAGE, TR: 11,6 ms, TE: 4,9 ms, Voxelgröße: 1,5x1,5x1,5 mm³) erhoben.

2.3 Messung des Rückenmarkquerschnitts auf Höhe C2/3

In Anlehnung an eine Studie von Freund et al. (2010) wurde der Querschnitt des RM in Kohorte 1 auf Höhe der Bandscheibe zwischen der Unterkante des zweiten Halswirbelkörpers C2 und der Oberkante des dritten Halswirbelkörpers C3 erhoben. Die Messung erfolgte in drei Schritten, die in Abbildung (Abb.) 1 illustriert sind:

1. Im ersten Schritt wurden die MR-Bilder mit Hilfe des Programms AMIRA (Amira 5.3.3, Visage Imaging, Inc.) manuell gedreht, sodass das RM in der untersuchten Höhe C2/3 senkrecht ausgerichtet war. Dazu wurde das *NIFTI* (Neuroimaging Informatics Technology Initiative) Format gewählt und die Aufnahmen zunächst im *Ortho Slice Model* in einer *Bounding Box* dargestellt. Dieses Modell erlaubt eine orthogonale Visualisierung von 3D-Bildern oder skalaren Daten. Dadurch kann der Untersucher das Bild in allen 3 Orientierungen gleichzeitig einsehen (Gaser, 2005) und anatomische Grenzen somit einfacher und zuverlässiger auffinden.
2. Im zweiten Schritt wurden die transformierten Bilder mit Hilfe der Software FSL (Functional MRI of Brain Software Library, www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/) segmentiert, ohne dass eine a priori Information einbezogen wurde. Zusammenhängende Regionen werden dabei je nach Signalintensität und bestimmten Homogenitätskriterien zusammengefasst. Mittels FAST (FMRIB's Automated Segmentation Tool) werden 3D-Bilder des Gehirns vollautomatisch in drei verschiedene Gewebeklassen segmentiert, nämlich in die drei

- Gewebekompartimente GS, WS und Lq. Zugleich werden auf Magnetfeldinhomogenitäten beruhende räumliche Intensitätsunterschiede weitgehend ausgeglichen. Der untersuchte RMQ dieser Studie umfasst sowohl die GS als auch die WS. Die Unterscheidung dieser beiden Kompartimente ist daher für die Messung des Querschnitts nicht notwendig. Deshalb wurden die Bilder in nur zwei Gewebeklassen unterteilt, nämlich in Gehirnparenchym, bestehend aus GS und WS, und in Lq. Dieser Vorgang wurde mittels *Hard Segmentation*, einer binären Segmentierung, durchgeführt. Jedes einzelne Voxel wird hier lediglich einer Klasse zugeordnet. Das Ergebnis besteht aus einem binären Bild, in dem das Parenchym klar von Lq abzugrenzen ist.
3. Im dritten Schritt wurden die binären Bilder mit AMIRA in einem *Label Field* abgebildet und die axiale Schicht des RM auf Höhe C2/3 dargestellt. Mit Hilfe der Funktionen *Fill Interior* und *Same Material Only* der *Magic Wand* Funktion werden nur die GS und WS, nicht aber der Lq markiert, sodass auf diese Weise der Querschnitt des RM in Höhe der Bandscheibe C2/3 gemessen werden kann.

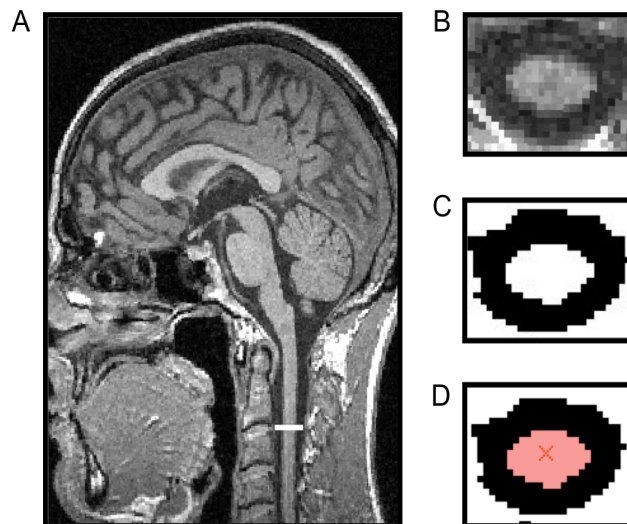


Abb. 1 **Messung des Rückenmarksquerschnitts auf Höhe C2/3 (Engl et al., 2013)**

Der Rückenmarksquerschnitt auf Höhe C2/3 wurde nach seiner senkrechten Ausrichtung zum Rückenmark auf Höhe C2/3 gemessen (Bild A: weiße Linie, sagittale Sicht; Bild B: axiale Sicht). Die Segmentierung in das Gehirnparenchym (bestehend aus grauer und weißer Substanz) und den Liquor cerebrospinalis ergibt ein binäres Bild (Bild C: axiale Sicht). Der Rückenmarksquerschnitt auf Höhe C2/3 wurde anhand dieser binären Karten gemessen (Bild D: axiale Sicht, Rückenmarksquerschnitt auf Höhe C2/3 rot markiert).

Für Kohorte 2 wurde diese Methode aufgrund der schlechteren Bildqualität modifiziert. In der angewandten Sequenz verringerte sich der Bildkontrast zwischen RM-Paranchym und L_q sowie die Auflösung ab der Höhe C2/3 in kaudaler Richtung erheblich. Aufgrund dessen wurde der RMQ auf einer Höhe gemessen, die einen deutlichen Kontrast bietet, was im Bereich von bis zu 10,5 mm – dies entspricht 7 Schichten – über der Höhe C2/3 möglich war.

Anatomisch gesehen war dieses Vorgehen gerechtfertigt, da in diesem Bereich lediglich dünne Nervenwurzeln das RM verlassen, und somit ein annähernd konstanter Querschnitt angenommen werden kann. Diese Annahme bestätigen auch die Ergebnisse von Losseff et al. (1996), welche eine nur geringe intraindividuelle Variabilität der Querschnitte des RM im oberen zervikalen Bereich ergaben. Dennoch wurde geprüft, inwiefern sich die gewählte Höhe auf die Messung des RMQ-C2/3 auswirkt. Dafür wurden aus beiden Kohorten jeweils 50 Probanden ausgewählt, deren Bilder bis zur Höhe C2/3 einen ausreichenden Kontrast und eine gute Auflösung für die korrekte Abgrenzung des RM aufwiesen. Die Messung erfolgte dann in der definierten Höhe sowie in drei weiteren Schichten oberhalb von C2/3. Unter Rücksicht auf unterschiedliche Schichtdicken der beiden Sequenzen erfolgte dies für Kohorte 1 (Schichtdicke 1,0) jeweils 5, 10 und 15 mm (5, 10 und 15 axialen Schichten entsprechend) oberhalb von C2/3 und für Kohorte 2 (Schichtdicke 1,5) jeweils 6, 10,5 und 15 mm (4, 7 und 10 axialen Schichten entsprechend) über dieser Höhe. In beiden Kohorten wurde weder ein signifikanter Unterschied zwischen den erhobenen RMQ-Werten 15 mm über C2/3 und bei C2/3 (p -Wert des gepaarten t -Tests $> 0,2$) noch eine systematische Verschiebung der Messwerte beobachtet. Um Letzteres zu prüfen, wurden die Werte der intraindividuellen Korrelationskoeffizienten zwischen den 4 untersuchten Höhen (unabhängige Variable: Höhe kodiert mit 0, 1, 2 oder 3) und dem jeweiligen RMQ-C2/3-Wert (abhängige Variable) in einem Einstichproben- t -Test auf ihre Signifikanz geprüft. Dabei zeigten die β -Werte keine signifikante Abweichung von 0.

Dennoch gelang bei 2 Datensätzen aus Kohorte 2 aufgrund schlechter Bildqualität die Messung des RMQ nicht, sodass diese Daten nicht berücksichtigt wurden.

2.4 Datenvorverarbeitung zur Erhebung globaler Volumina mittels Voxel-basierter Morphometrie des Gehirns

Mit Hilfe der Voxel-basierten Morphometrie (Ashburner and Friston, 2000) können strukturelle Unterschiede im Gehirn verschiedener Gruppen anhand hochaufgelöster dreidimensionaler MR-tomographischer Datensätze, im Folgenden vereinfacht „Bilder“ genannt, in vivo differenziert werden. Ausgehend von T1-gewichteten Bildern, die durch hohe Signalintensitäten einen starken Kontrast zwischen den drei intracranialen Gewebeklassen GS, WS und Lq bieten (Ashburner and Friston, 2000), werden die einzelnen Gehirne im Rahmen einer Vorverarbeitung vergleichbar gemacht, bevor sie der eigentlichen Analyse unterzogen werden.

Der Prozess umfasst die räumliche Normalisierung, die Segmentierung, die Biaskorrektur sowie das Glätten.

Räumliche Normalisierung

Um dem Problem starker morphologischer Unterschiede zwischen den individuellen Gehirnen entgegenzutreten, werden die Bilder im selben stereotaktischen Raum erfasst und dabei räumlich auf ein Referenzhirn (template) abgebildet (Ashburner and Friston, 2000), was einen Vergleich von Bildpunkten neuroanatomisch korrespondierender Strukturen zwischen verschiedenen Gehirnen ermöglicht. Der Raum wird durch ein Koordinatensystem ähnlich einem Talairach-Raum (Talairach and Tournoux, 1988) beschrieben, dessen Ursprung durch die Commissura anterior, und dessen Ausrichtung durch die Verbindung zwischen Commissura anterior und posterior definiert wird (= MNI-Raum des Montreal Neurological Institutes).

Die Normalisierung kann auf zweierlei Arten geschehen, die meist kombiniert werden. Bei der linearen Normalisierung (eine affine geradentreue Abbildung) wird durch Drehung, Translation, Streckung und Scherung die Ausrichtung und Größe des gesamten Gehirns angepasst um grobe Unterschiede auszugleichen; bei der nichtlinearen Normalisierung („warping“) werden zusätzlich lokale Unterschiede angeglichen um beispielsweise der anatomischen Variabilität der Gyri Rechnung zu tragen. Dazu werden die Gehirne deformiert, d.h. in manchen Regionen „gestreckt“ und in anderen „gestaucht“ (Ashburner and Friston, 2000). Jeder Bildpunkt eines jeden Gehirns entspricht dann idealerweise der gleichen anatomischen Struktur.

Segmentierung

Die meisten Fragestellungen erfordern eine separate Analyse von GS, WS und Lq. Bei der Segmentierung entstehen nach Unterteilung in diese Gewebeklassen aus jedem MR-Bild drei Bilder. Je nach Intensität wird jedem Voxel in einem „Gaussian Mixture Model“ (Ashburner and Friston, 1997) ein Wert zwischen 0 und 1 zugeordnet, was die Beurteilung der Wahrscheinlichkeit, in einem bestimmten Bildpunkt einen bestimmten Gewebetyp vorzufinden, erlaubt. Enthält ein Voxel aber zugleich Signalanteile mehrerer Kompartimente, wie beispielsweise an Übergängen von verschiedenen Geweben, treten Partialvolumeneffekte auf; das Voxel ließe sich also mehreren Klassen zuordnen und wird möglicherweise falsch klassifiziert (Mietzen and Gaser, 2009). Um diesen Effekt zu minimieren wird die Information aus der intensitätsbasierten Segmentierung über einen Bayes-Schätzer mit einer a priori Information über die räumliche Verteilung der Gewebetypen, den Wahrscheinlichkeitskarten, kombiniert (Ashburner and Friston, 1997). So können beispielsweise Voxel, die aufgrund ihrer Lokalisation a priori eine hohe Wahrscheinlichkeit für einen bestimmten Gewebetyp haben, „aufgewertet“ werden. Schließlich resultieren wiederum Karten, die für jedes Voxel seine Wahrscheinlichkeit für seine Zuordnung zu einem bestimmten Gewebetyp wiedergeben (Ashburner and Friston, 2000). Obwohl diese Bilder Wahrscheinlichkeiten aufweisen, werden deren Voxel-Werte zumeist als gewebespezifische Dichtewerte interpretiert.

Biaskorrektur

Während der MR-Aufnahme entstehen Intensitätsinhomogenitäten, da Magnetfelder nicht über das gesamte Gehirn hinweg gleich stark aufgebaut werden können. Dies soll mit einer Biaskorrektur ausgeglichen werden (Ashburner and Friston, 2000).

Glätten

Da die Normalisierung nie perfekt ist, werden weitere morphologische Varianzen der Bilder durch das Glätten („smoothing“) mit einem isotropen Gaußschen Filter ausgeglichen (Ashburner and Friston, 2000, Good et al., 2001b). Ungleichheiten, beispielsweise in der kortikalen Dicke verschiedener Gehirne, werden so in unterschiedlich hohe Amplituden der Voxelwerte übersetzt. Dafür wird jedes Volumenelement mit einer Region von umgebenden Voxeln verrechnet, wobei die Größe dieser Region durch die Größe des Gaußschen Filters bestimmt wird (Ashburner and Friston, 2000). Da sich die Auflösung dadurch verringert, sollte letztere

die kleinste neuroanatomische Struktur mitberücksichtigen, die im Rahmen der Analyse detektiert werden soll (Ashburner and Friston, 2000). Die Sensitivität für spezifische Veränderungen wird also durch ein adäquates Glätten dadurch verbessert, dass die Variabilität zwischen den Individuen weiter verringert wird (Whitwell, 2009). Ferner vermindert Glätten das Signal-Rausch-Verhältnis und erhöht die Validität parametrischer statistischer Tests dadurch, dass die Intensitätswerte der segmentierten Bilder, welche nahe den Extremen 0 und 1 liegen, durch das Glätten eher normalverteilt sind (Ashburner and Friston, 2000, Salmond et al., 2002).

Unified Segmentation

Diese Schritte der Normalisierung, Segmentierung und Biaskorrektur erfolgen in Form einer „Unified Segmentation“ im selben generativen Modell (Ashburner and Friston, 2005). Durch eine iterative Schrittfolge werden sie solange wiederholt, bis ein Bild mit der maximum a posteriori – der höchsten richtigen – Wahrscheinlichkeit entsteht. Mit diesem Algorithmus nähert man sich der Berechnung vieler unbekannter Parameter; denn die Normalisierung verlangt eine vorherige Gewebeklassifizierung und diese wiederum verlangt eine vorherige Normalisierung (Ashburner and Friston, 2005). Jeder einzelne Schritt funktioniert also dann am besten, wenn alle anderen Schritte bereits perfekt durchgeführt wurden. Ergibt bei der Durchführung dieses iterativen Algorithmus ein weiterer Schritt kein besseres Bild mehr, werden die Bilder geglättet. Einen anschaulichen Überblick über die Schritte der VBM gibt Abb. 2.

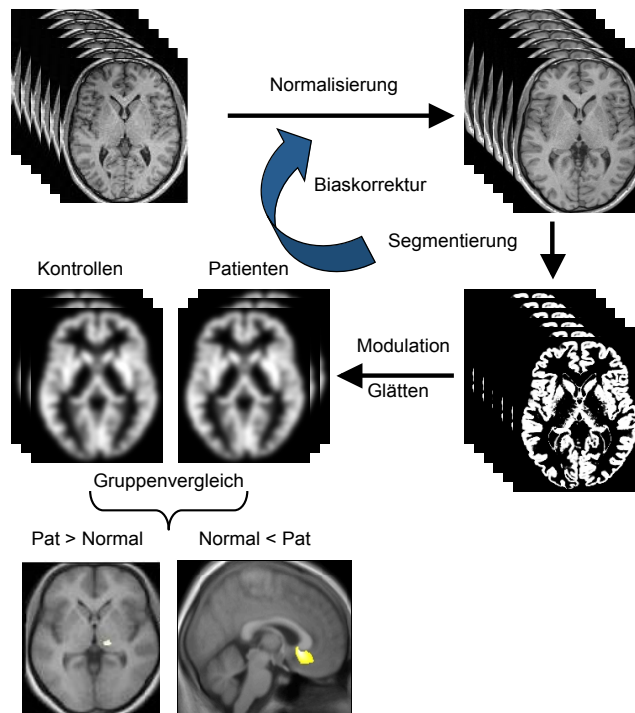


Abb. 2 Zusammenfassung der Voxel-basierten Morphometrie

Iterative Normalisierung, Segmentierung und Biaskorrektur T1-gewichteter magnetresonanztomographischer Bilder als Unified Segmentation (geschwungener Pfeil). Nach anschließendem Glätten und einer optionalen Modulation werden die Bilder Voxel für Voxel statistisch analysiert.

Abkürzung: Pat, Patienten

Der optionale Schritt der Modulation

Dabei wird die Idee der Tensor-basierten Morphometrie aufgegriffen und in die VBM integriert, was bedeutet, dass die vorgenommenen Veränderungen der räumlichen Normalisierung berücksichtigt und in der statistischen Analyse mit einberechnet werden. Damit gehen neben regionalen Konzentrationsunterschieden der GS und WS auch regionale Volumenänderungen in die Bilder ein (Ashburner and Friston, 2000). Man nutzt dabei die Tatsache, dass die Gehirne im Rahmen der linearen und nichtlinearen Normalisierung räumlich umschrieben deformiert, nämlich komprimiert bzw. dilatiert, werden. Die Information über den Grad dieser Deformation ist in jedem Voxel als dreidimensionaler Vektor enthalten. Mit Hilfe der sog. Jacobi-Determinante lassen sich diese Volumenänderungen nun quantifizieren und prozentual berechnen (Gaser, 2005). Dies ergibt eine durch Volumenänderungen berechnete Deformationsmatrix, die mit den durch Intensitätsunterschiede berechneten räumlich

normalisierten Wahrscheinlichkeitskarten der jeweiligen Gewebeklasse (GS bzw. WS) multipliziert wird (Good et al., 2001b). Damit erreicht man, dass die absolute Menge an GS bzw. WS in den modulierten Bildern schließlich derjenigen Menge in den nichtnormalisierten Bildern entspricht.

Alle MR-Bilder wurden mit der Toolbox für Voxel-basierte Morphometrie (VBM8) (<http://dbm.neuro.uni-jena.de/vbm8>), einer Erweiterung der Statistical Parametric Mapping Software (SPM8, <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm>), auf beschriebene Weise vorverarbeitet.

Dieser Kernprozess wird mit VBM8 noch verfeinert, indem zusätzliche a priori Information über die räumliche Verteilung der Gewebeklassen aus einem *Hidden Markov Random Field* Modell (Cuadra et al., 2005) mit eingeschlossen wird. Damit werden Voxel nicht isoliert betrachtet, sondern in Bezug zu einer bestimmten Anzahl umgebender Voxel, deren Informationen bei der Klassifizierung des Bildpunktes berücksichtigt werden. Voxel, die mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht zu der umgebenden Gewebeklasse gehören, werden entfernt, Lücken innerhalb eines bestimmten Gewebetyps geschlossen und Bildrauschen minimiert. Auch Partialvolumeneffekte werden durch ein adaptives maximum a posteriori Verfahren berücksichtigt (Rajapakse et al., 1997). Schlussendlich ist ein Algorithmus (Ashburner, 2007) integriert, der starke Verformungen zulässt (high-dimensional warping) und damit eine sehr gute Normalisierung erreicht (DARTEL, Diffeomorphic Anatomical Registration using Exponentiated Lie algebra).

Die Qualität der bearbeiteten Bilder wurde nach jedem Schritt genau geprüft, bevor sie mit dem voreingestellten isotropen Gaußschen Filter von 8 mm FWHM (full width at half maximum) geglättet wurden.

Die Werte der globalen Hirnvolumina für GS und WS wurden standardmäßig aus der ersten Segmentierung entnommen. Aus technischen Gründen (Engl et al., 2013) wurde hier die Vorgängerversion von VBM8, VBM5, verwandt. TIV wurde schließlich aus der Summe der globalen Volumina für GS, WS und Lq berechnet.

2.5 Statistische Analyse

Nach diesem Vorverarbeitungsprozess werden die MR-Bilder Voxel für Voxel, also Voxel-basiert, über das gesamte Gehirn hinweg statistisch analysiert. Unter

Anwendung des „Allgemeinen Linearen Modells“ (General Linear Model, GLM) (Friston, 1995) entstehen Bilder statistischer Parameter, die Regionen aufzeigen in denen sich die Konzentration an – beispielsweise GS – signifikant zwischen verschiedenen Gruppen unterscheidet (Ashburner and Friston, 2000). Sie enthalten die Ergebnisse statistischer Tests für zahlreiche Voxel und müssen für multiple Vergleiche korrigiert werden, um das Auftreten falsch positiver Ergebnisse zu vermindern. Dies geschieht zumeist mit Hilfe Gaußscher Zufallsfelder; eine Bonferroni-Korrektur beispielsweise wäre bei 1 Million Voxel sehr konservativ. In der vorliegenden Arbeit wurde eine family-wise error (FWE) Korrektur (Friston KJ, 1993) durchgeführt. Dabei wird in der Annahme eines Gaußschen Zufallsfeldes für jedes Cluster die Wahrscheinlichkeit angegeben, nur durch Zufall entstanden zu sein (Friston et al., 1996). Als signifikant gelten also nur diejenigen statistischen Effekte, die diese Korrektur überleben.

Mit Hilfe von SPM gelingt schließlich die dreidimensionale Darstellung der statistischen Karten und eine farbige Markierung derjenigen Voxel, für die die Nullhypothese (es besteht kein Volumenunterschied in Gewebeklassen der verschiedenen Gruppen) abgelehnt wurde. Anhand des in SPM8 implementierten MNI-Koordinatensystems werden die ermittelten signifikanten Unterschiede zwischen den Datensätzen lokalisiert.

Da die MR-Bilder der beiden Kohorten an zwei unterschiedlichen Geräten aufgenommen wurden, lassen sich die erhobenen absoluten Werte der Variablen nicht miteinander vergleichen. Aufgrund dessen wurde zuerst Kohorte 1 untersucht; die Ergebnisse wurden dann in Kohorte 2 reproduziert.

2.5.1 Korrelationsanalysen des Rückenmarkquerschnitts auf Höhe C2/3 mit demographischen, körperbezogenen und neuroanatomischen Parametern

In die statistische Korrelationsanalyse gingen sowohl die demographischen und körperbezogenen als auch die Variablen der globalen Hirnvolumina ein. Erstere beinhalten Alter, Geschlecht, Körpergröße und totales intracraniales Volumen (TIV); letztere umfassen GS, WS, Lq, sowie das Gehirnvolumen (GS plus WS). Zwischen diesen Variablen besteht ein komplexer Zusammenhang, der in Abb. 3 dargestellt wird. Eine bekannte Korrelation zweier Variablen ist durch Doppelpfeile gekennzeichnet. Mit

zunehmendem Alter verkleinert sich sowohl das Gehirnvolumen (Good et al., 2001b, Kruggel, 2006) als auch die Körpergröße (Sorkin et al., 1999); eine altersabhängige Verminderung des TIV ist jedoch vernachlässigbar (Good et al., 2001b, Buckner et al., 2004, Kruggel, 2006). Die Variablen Geschlecht (Frauen, -1; Männer +1), Körpergröße und TIV sind dreifach miteinander assoziiert. Zum einen sind Männer durchschnittlich nicht nur größer als Frauen (Gustafsson and Lindenfors, 2004), sondern haben auch ein größeres TIV (Good et al., 2001a). Zum anderen findet sich bei größeren Menschen auch ein größeres TIV bzw. Gehirngewicht (Ho et al., 1980). Werden Männer und Frauen allerdings separat betrachtet, wird diese positive Korrelation zwischen der Körpergröße und TIV vernachlässigbar (Peters, 1991). Insofern lassen sich jeder der drei Variablen Geschlecht, Körpergröße und TIV je zwei Pendants zuordnen.

In Abb. 3 verbinden Pluszeichen darüber hinaus Variablen der globalen Hirnvolumina, die zusammengerechnet eine weitere Variable ergeben. Die Summe aus GS und WS ergibt das Gehirnvolumen (GS + WS), TIV errechnet sich aus dem Gehirnvolumen und dem Lq. So gesehen, können sowohl Lq und Gehirnvolumen, als auch GS und WS als Pendant-Paare betrachtet werden.

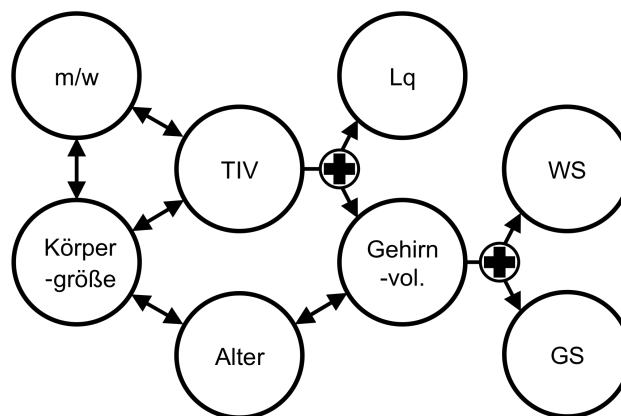


Abb. 3 Zusammenhang zwischen den untersuchten Variablen

Bekannte Korrelationen sind durch Doppelpfeile markiert. Cerebrale Variablen, die zusammen eine weitere Variable ergeben, werden durch Pfeile mit einem Plus verbunden.

Abkürzungen: m/w, männlich/weiblich
Gehirnvolum., Gehirnvolumen

All diese Korrelationen weisen einen hohen Grad an Kollinearität auf. Diese führt an sich zwar in multiplen linearen Regressionsmodellen zu keinen falsch positiven Ergebnissen, vermag jedoch zu einem drastischen Anstieg der Konfidenzintervalle zu führen, was eine Verminderung der statistischen Teststärke zur Folge hat und die Wahrscheinlichkeit, existierende Effekte zu übersehen, vergrößert (Fox and Mathers, 1997). Anstatt alle Variablen in eine einfache lineare Regressionsanalyse einzuschließen, wurden daher schrittweise einfache und partielle Korrelationsanalysen hypothesengesteuert durchgeführt. Dies ergab die in Abb. 4 dargestellte Korrelationsmatrix. Die untersuchten Variablen sind in der obersten Zeile angeführt. Die erste Zeile zeigt die Pearson's Korrelationskoeffizienten, die sich aus der einfachen Korrelationsanalyse des RMQ-C2/3 mit jeder einzelnen Variable ergaben. Da das Alter neben einigen der untersuchten Variablen möglicherweise auch den RMQ-C2/3 beeinflusst (Ishikawa et al., 2003), werden in der zweiten Zeile die entsprechenden Korrelationskoeffizienten der partiellen Korrelationsanalyse des RMQ-C2/3 mit jeder Variable gezeigt, nachdem für das Alter korrigiert wurde (1 Störvariable, nämlich Alter). Die dritte Zeile schließlich zeigt die Werte der partiellen Korrelationsanalyse des RMQ-C2/3 mit jeder Variable, nachdem sie sowohl für das Alter als auch für ein Pendant, welches in der untersten Zeile aufgeführt ist, korrigiert wurde (2 Störvariablen).

2.5.2 Voxel-weise Korrelationsanalyse des Rückenmarkquerschnitts auf Höhe C2/3 mit der cerebralen grauen und weißen Substanz

Es wurden zwei Voxel-weise Korrelationsanalysen des RMQ-C2/3 mit der cerebralen GS und WS über das gesamte Gehirn hinweg durchgeführt. Damit sollte geklärt werden, ob der RMQ-C2/3 in verschiedenen Gehirnregionen unterschiedlich stark mit den jeweiligen Gewebekomponenten korreliert. Dazu wurden die vorverarbeiteten Bilder der GS und WS mit Hilfe von SPM8 in zwei multiplen linearen Regressionsmodellen analysiert. RMQ-C2/3 wurde in die Modelle als „variable of interest“ eingeschlossen; Alter und Geschlecht galten hinsichtlich ihres beträchtlichen Einflusses auf die cerebrale GS und WS (Good et al., 2001a, Good et al., 2001b) als Störvariablen. Das globale Volumen der GS bzw. WS wurde als zusätzliche Störvariable mit eingeführt, um sicherzustellen, dass diese Untersuchungen nicht zufällig jene Gehirnareale aufdecken, die Voxel-weise mit dem globalen Volumen

korrelieren. Es ist hierbei erwähnenswert, dass die Ergebnisse der Voxel-weisen Analyse bei einer solchen Korrektur für die in den einfachen und partiellen Korrelationsanalysen aufgezeigten Effekte (vgl. 2.5.1) korrigiert sind. Als Signifikanzniveau wurde ein Voxelschwellenwert von $p < 0,05$ FWE-korrigiert (Friston et al., 1996) festgelegt.

Um die Aussagekraft der Ergebnisse dieser Voxel-weisen Analyse mit den Ergebnissen der Korrelationen des RMQ-C2/3 mit demographischen, körperbezogenen und neuroanatomischen Parametern zu vergleichen, wurden Karten berechnet, welche Voxel für Voxel die zugehörigen Korrelationskoeffizienten wiedergeben (Abb. 5).

3 Ergebnisse

3.1 Der Rückenmarkquerschnitt auf Höhe C2/3

Der durchschnittliche Wert des RMQ-C2/3 lag bei $84,8 \pm 9,1 \text{ mm}^2$ in Kohorte 1 (N=133) und bei $91,3 \pm 10,6 \text{ mm}^2$ in Kohorte 2 (N=285).

3.2 Korrelationsanalysen des Rückenmarkquerschnitts auf Höhe C2/3 mit demographischen, körperbezogenen und cerebralen Variablen

In der älteren Kohorte 1 (Tabelle 1) wurde eine Verringerung des RMQ-C2/3 mit zunehmendem Alter festgestellt. Die einfache lineare Regression ergab eine Verkleinerung des Querschnitts um 2 mm^2 pro Jahrzehnt. In der jüngeren Kohorte 2 (Tabelle 1) zeigte sich keine altersabhängige Verminderung des RMQ-C2/3. Erwartungsgemäß wiesen Geschlecht, Körpergröße und TIV einen hohen Grad an Interkorrelation auf ($p < 0,001$). So war das TIV bei Männern größer als bei Frauen ($r = -0,59$ in Kohorte 1; $r = -0,61$ in Kohorte 2). Ein starker Zusammenhang zeigte sich in Kohorte 1 zwischen dem TIV und der Körpergröße ($r = 0,49$); der Körpergröße und dem Geschlecht ($r = -0,75$) sowie zwischen der Körpergröße und dem Alter ($r = -0,37$). Diese eng assoziierten Variablen (Geschlecht, Körpergröße und TIV) korrelierten entweder signifikant mit dem RMQ-C2/3 oder zeigten einen Trend zur Korrelation ($p < 0,1$). Bei der partiellen Korrelationsanalyse, in der jeweils für Alter und ein Pendant korrigiert worden war, blieb als potenzieller Einflussfaktor auf den RMQ-C2/3 nur das TIV übrig (Abb. 4).

Die Analysen der beiden Komponenten des TIV (Gehirnvolumen und Lq) ergab nur für das Gehirnvolumen einen signifikanten Einfluss auf den RMQ-C2/3. Beide Kompartimente des Gehirnvolumens (GS und WS) korrelierten signifikant mit dem RMQ-C2/3. Die WS erklärte signifikant die Varianz des RMQ-C2/3, nachdem für die GS korrigiert worden war; was umgekehrt nicht der Fall war (Abb. 4).

Kohorte 1	Hirnvolumina				Demographische Parameter						
	Variablen		Hirn	Lq	TIV		m/w		Größe		- Alter
	WS	GS									
Keine	0,52	0,35	0,49	0,11	0,28		0,16		0,19		0,25
Alter	0,49	0,25	0,43	0,01	0,28		0,12		0,11		n/a
Alter & 1 Störvariable	0,43	0,00	0,44	0,07	0,26	0,27	0,02	0,06	0,03	0,03	n/a
Störvariablen	GS	WS	Lq	Hirn	m/w	Größe	TIV	Größe	TIV	m/w	

Kohorte 2	Hirnvolumina				Demographische Parameter						
	Variablen		Hirn	Lq	TIV		m/w		Größe		- Alter
	WS	GS									
Keine	0,37	0,21	0,31	0,08	0,26		0,12		n/a		0,00
Alter	0,37	0,25	0,34	0,09	0,26		0,12		n/a		n/a
Alter & 1 Störvariable	0,28	0,01	0,34	0,07	0,25	n/a	0,06	n/a	n/a	n/a	n/a
Störvariablen	GS	WS	Lq	Hirn	m/w	Größe	TIV	Größe	TIV	m/w	

Skala	Kohorte 1		P-Werte								
	Korrelationskoeffizienten		0,10	0,12	0,14	0,17	0,20	0,30	0,40	0,50	0,60
	Kohorte 2		P-Werte								
			0,10	0,05							

Abb. 4 Korrelationsanalyse des Rückenmarkquerschnitts auf Höhe C2/3 mit den untersuchten Variablen (modifiziert nach Engl et al., 2013)

Die Korrelationsmatrizes der einfachen und partiellen Korrelationsanalyse der untersuchten Variablen mit dem Rückenmarkquerschnitt auf Höhe C2/3 sind für beide Kohorten getrennt angegeben. Um überwiegend positive Werte zu erhalten, wurden die Alterswerte zuvor mit -1 multipliziert („-Alter“). Die untersuchten Variablen sind in der obersten Zeile aufgeführt. Die erste Zeile zeigt die Pearson’s Korrelationskoeffizienten, welche sich aus der einfachen Korrelationsanalyse des Rückenmarkquerschnitts auf Höhe C2/3 mit einer jeden Variable ergaben. Die zweite Zeile gibt diejenigen der partiellen Korrelationsanalyse zwischen dem Rückenmarkquerschnitt auf Höhe C2/3 und einer jeden Variable an, nachdem für das Alter korrigiert worden war (1 Störvariable). Die dritte Zeile zeigt dementsprechendes nach Korrektur für das Alter und ein Pendant (2 Störvariablen), welches in der untersten Zeile angeführt wird. Wie zuunterst angegeben, wurden beide Korrelationsmatrizes gleichermaßen anhand der Korrelationskoeffizienten von Weiß nach Dunkelgrau skaliert, mit der Ausnahme, dass nur signifikante Korrelationen ($p < 0,05$) grauskaliert sind.

Abkürzungen: m/w, männlich/weiblich
n/a, nicht anwendbar
Hirn, Gehirnvolumen

3.3 Voxel-weise Korrelation des Rückenmarkquerschnitts auf Höhe C2/3 mit der cerebralen grauen und weißen Substanz

In keiner der beiden Kohorten wurden innerhalb der GS Regionen gefunden, die mit dem RMQ-C2/3 korrelierten, auch nicht nach Herabsetzung des Voxelschwellenwerts auf ein Signifikanzniveau von $p < 0,001$ (unkorrigiert). Eine ausgedehnte Korrelation des RMQ-C2/3 zeigte sich hingegen in beiden Kohorten mit Regionen innerhalb der WS, und zwar mit einer deutlichen Betonung der cerebrospinalen Bahnen. Dieser

Effekt vergrößerte sich nach kaudal und reichte bis zur untersten Schicht des Hirnstamms, die in die Analyse miteinbezogen wurde. Ab Höhe des Mittelhirns lag der Varianzanteil des RMQ-C2/3, welcher vom lokalen Gehalt der WS erklärt wurde, in der Größenordnung des vom Gehirnvolumen erklärbaren Varianzanteils (vgl. Abb. 4 und 5).

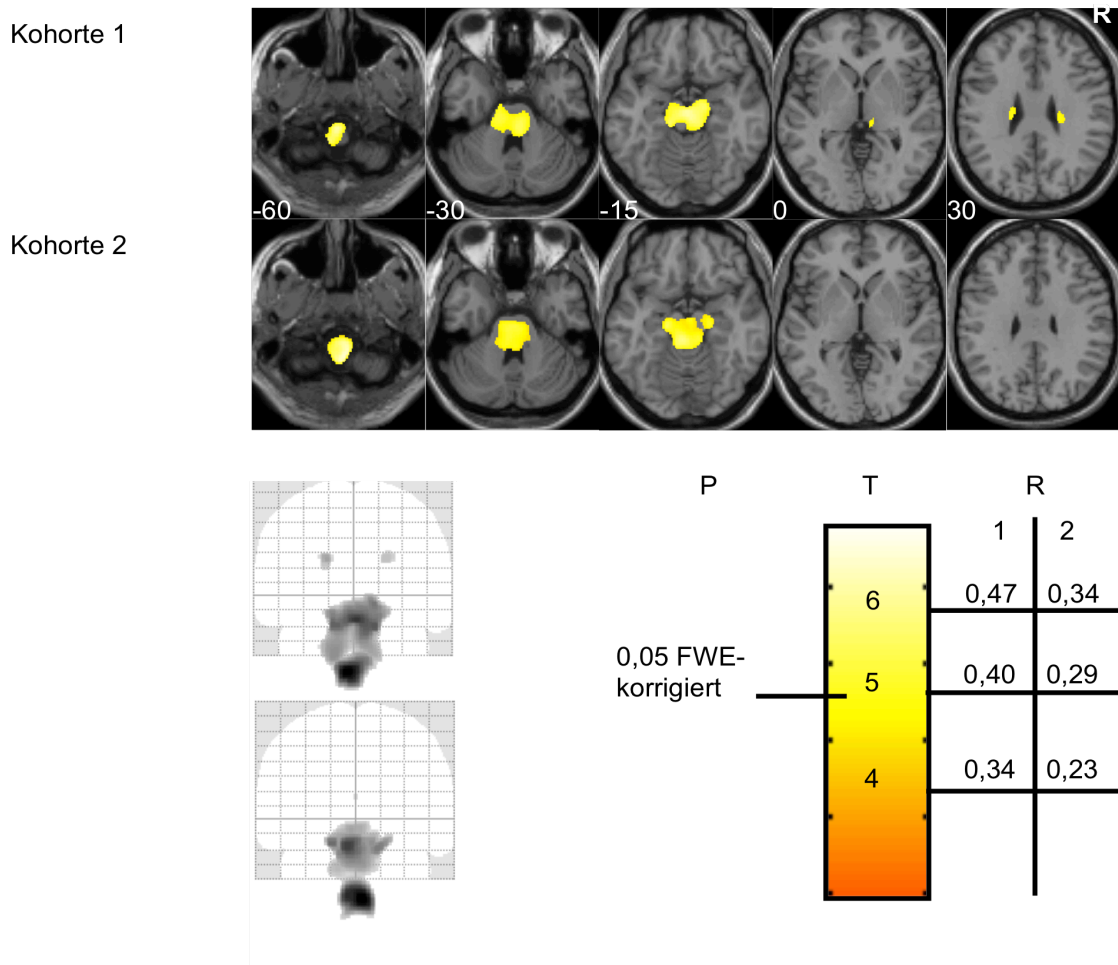


Abb. 5 Korrelation des Rückenmarkquerschnitts auf Höhe C2/3 mit regionaler weißer Substanz (modifiziert nach Engl et al., 2013)

Oben: Regionen mit zunehmendem Gehalt an weißer Substanz bei zunehmender Querschnittsgröße des Rückenmarks auf Höhe C2/3 sind für beide Kohorten angezeigt. Axiale Schichten werden auf das template in SPM abgebildet. Die MNI-Koordinaten sind links von jedem Bildelement angegeben.

Unten: Maximale Intensitätsprojektionen sind links angezeigt. Die Farbskalierung der oben dargestellten Effekte ist rechts unten angegeben (T-Werte mit Signifikanzschwelle sowie – für jede Kohorte extra – die R-Werte).

Abkürzungen: FWE, Family-wise error
 P, p-Wert
 R, Korrelationskoeffizient
 T, T-Wert

4 Diskussion

In dieser Studie wurde der Zusammenhang verschiedener demographischer, körperbezogener und neuroanatomischer Parameter mit dem RMQ-C2/3 anhand cranialer T1-gewichteter MR-Bilder zweier gesunder Kohorten untersucht. Angeregt wurde die Analyse von der Idee, den RMQ-C2/3 anhand cranialer MR-Bilder zu bestimmen und ihn auf diese Weise zur Quantifizierung pathologischer Veränderungen im RM bei neurologischen Krankheiten, wie beispielsweise der MS, zu etablieren.

Als potenzielle Einflussfaktoren auf den RMQ-C2/3 wurden Alter, Geschlecht und Körpergröße sowie TIV und globale Hirnvolumina analysiert.

In Analogie zum Gehirn (Blatter et al., 1995) könnte man eine Atrophie des RM mit zunehmendem Alter vermuten. Tatsächlich finden sich diesbezüglich widersprüchliche Ergebnisse in der Literatur. So wurde in einigen Untersuchungen ein solcher Zusammenhang (Ishikawa et al., 2003) bzw. ein Zusammenhang zum Volumen des Zervikalmarks (Yanase et al., 2006) beschrieben; andere Autoren hingegen stellten keine Assoziation zwischen dem Alter und dem RMQ-C2/3 fest (Kameyama et al., 1994, Agosta et al., 2007). In dieser Studie wurde nur in Kohorte 1 eine Verringerung des RMQ-C2/3 mit zunehmendem Alter gefunden. Dieses Studienkollektiv war durchschnittlich älter, was darauf hinweist, dass ein altersabhängiger Effekt des RMQ-C2/3 erst im späteren Leben eine Rolle spielt. Obwohl signifikant, wirkt er sich dennoch gering aus. Die gemessene Verringerung des RMQ-C2/3 von 2 mm^2 pro Jahrzehnt sowie den durchschnittlichen RMQ-C2/3-Wert von 85 mm^2 im Alter von 54 Jahren angenommen, würde sich der RMQ-C2/3 vom 34. bis zum 74. Lebensjahr von 89 auf 81 mm^2 verkleinern. Bei einer kreisrunden Form des RMQ-C2/3 bedeutete dies eine Minderung seines Durchmessers von $18,9$ auf $18,0 \text{ mm}$, was knapp unterhalb der hier angewendeten Voxelgröße und somit nahe der Nachweisgrenze liegt. Tatsächlich gelang der Nachweis nur in Kohorte 1, deren Datensätze sich auch durch eine höhere Auflösung auszeichneten. Eine Verringerung des RMQ-C2/3 mit zunehmendem Alter aufzuzeigen, war also womöglich in Kohorte 2 auch aufgrund der größeren Voxel der MR-Sequenz erschwert. Angesichts der geringen Querschnittsverringerung pro Jahrzehnt ließe sich dies auch nur bei ausreichend breiter Altersverteilung nachweisen. Dies war im Gegensatz zu Kohorte 2 (Altersspanne 18–65) in Kohorte 1

(Altersspanne 29–80) eher der Fall. Daraus lässt sich ein im Vergleich zum Gehirn geringer Alterseffekt auf das RM vermuten, der nur in älteren Kohorten mit breiter Altersverteilung detektiert werden kann, und der selbst dann noch technisch anspruchsvoll ist.

Die Variablen Geschlecht, Körpergröße und TIV wiesen erwartungsgemäß in beiden Kohorten eine starke Interkorrelation auf und korrelierten allesamt entweder signifikant mit dem RMQ-C2/3 oder zeigten einen Trend zur Korrelation. Die Effekte von Körpergröße und Geschlecht auf den RMQ-C2/3 konnten letztlich nicht voneinander differenziert werden, da beide nach Korrektur für das TIV nicht mehr signifikant waren. Demgegenüber blieb der Effekt von TIV auf den RMQ-C2/3 sowohl nach Korrektur für das Geschlecht als auch für die Körpergröße signifikant. Eine naheliegende und bereits andernorts formulierte Interpretation (Rashid et al., 2006a) ist, dass Körpergröße und Geschlecht nur indirekten Einfluss auf den RMQ-C2/3 nehmen, nämlich über die Kopfgröße bzw. das TIV. Die Vermutung ist darin begründet, dass Männer im Vergleich zu Frauen und größere im Vergleich zu kleineren Menschen ein größeres TIV aufweisen (vgl. 1.4 bzw. 2.5.1).

Die Analyse der beiden Komponenten des TIV, Lq und Gehirnvolumen, ergab nur für letzteres einen unabhängigen und signifikanten Effekt auf den RMQ-C2/3. Bei der Unterscheidung zwischen dem Einfluss der cerebralen GS und WS, konnte die WS die Varianz des RMQ-C2/3 unabhängig von der GS signifikant erklären, was umgekehrt nicht zutrif. Diese Hypothese konnte außerdem mit Hilfe der VBM gestützt werden. Es wurde eine Voxel-weise Analyse zwischen dem RMQ-C2/3 und der cerebralen GS und WS über das gesamte Gehirn hinweg durchgeführt, wobei zuvor für das Gesamtvolumen des jeweiligen Gewebekompartiments korrigiert worden war, sodass die Ergebnisse eine zusätzliche Information zur einfachen und partiellen Korrelationsanalyse des RMQ-C2/3 mit globalen Hirnvolumina liefern. Vor dieser Analyse wurden innerhalb der GS Zusammenhänge zwischen dem RMQ-C2/3 und solchen Regionen für möglich gehalten, die, wie beispielsweise die perizentrale Region, mit dem RM verbunden sind. Dafür sprach zum einen die Tatsache, dass die Größe der neuronalen Zellkörper des motorischen Kortex signifikant mit der Körpergröße korreliert (Ho et al., 1992); je größer ein Mensch, umso größer also die Perikaryen im motorischen Kortex. Zum anderen wurde eine Korrelation des RMQ-C2/3 mit der Anzahl neuronaler Somata dieser kortikalen Areale erwogen, welche unabhängig von der Korrelation mit der Gesamtzahl cerebraler Neurone ist. Allerdings bildete sich in keiner einzigen cerebralen Region eine Korrelation zwischen ihrem

Gehalt an GS mit dem RMQ-C2/3 ab. Dies deutet darauf hin, dass die Anzahl der Neurone, welche das RM durchziehen eher durch die Gehirngröße als durch den Gehalt an GS in bestimmten Gehirnregionen determiniert wird.

Im Gegensatz dazu, konnte solch eine regionale Akzentuierung für die Korrelation zwischen der cerebralen WS mit dem RMQ-C2/3 eindeutig nachgewiesen werden. Dieser Effekt zeigte sich in den cerebrospinalen Bahnen und vergrößerte sich nach kaudal. Er reichte bis zur untersten Schicht des Hirnstamms, die in die Analyse einbezogen wurde, also bis zur Höhe des Foramen magnum, das sich in etwa 5 cm über dem untersuchten RMQ-C2/3 befindet. Wichtig ist hierbei, dass der Effekt ungefähr ab Höhe des Mittelhirns, im Bereich von jenem des Gehirnvolumens lag, was darauf hindeutet, dass der Grad an axonaler Myelinisierung innerhalb der kortikospinalen Bahnen wesentlich zur Größe des RMQ-C2/3 beiträgt. Der Gehalt an WS konnte aus methodischen Gründen nur bis zur Höhe des Foramen magnum bestimmt werden. Es wird aber vermutet, dass sich der kraniokaudale Gradient des aufgezeigten Effekts fortsetzt, was einen noch stärkeren Einfluss der axonalen Myelinisierung auf den RMQ-C2/3 – als in dieser Analyse geschätzt – bedeuten würde. Dieses zunächst überraschende Ergebnis wird mit einer grob vereinfachten Sichtweise vorstellbar. Angenommen man vernachlässigt Gliazellen und berücksichtigt nur Neurone, dann spiegelt das Gesamtvolumen der GS die Anzahl und Größe neuronaler Somata wider; das Gesamtvolumen der WS repräsentiert die Anzahl der Axone und deren Gehalt an WS, also den individuellen Grad der axonalen Myelinisierung. Letztere Annahme wird von Studien über den Myelingeht im ZNS im Verlauf der Ontogenese gerechtfertigt (Barkovich, 2000). Zunehmende Myelinisierung des sich entwickelnden Gehirns resultiert nämlich in einem zunehmend hyperintensiven Signal in T1-gewichteten MR-Bildern. Geht man nun weiter davon aus, dass ein größeres Gehirn in der Regel über mehr und/oder größere cerebrospinale Axone mit der Peripherie verbunden ist, werden die Ergebnisse dieser Studie verständlich. Die Korrelation mit den globalen Volumina der GS und WS legt nahe, dass der RMQ-C2/3 zum einen von der Anzahl durchziehender Axone determiniert wird, und – in gleichem Maße – von der Größe cerebrospinaler Axone und ihrem Grad an Myelinisierung, was sich in dem zusätzlichen Effekt des cerebralen Volumens der WS (nach Korrektur für das cerebrale Volumen der GS) und in den Ergebnissen der Voxel-basierten Analyse widerspiegelt. Ist diese Schlussfolgerung richtig, so ließe sich auch der geringe Alterseffekt auf den RMQ-C2/3 erklären. Die WS erwies sich nämlich bei cerebraler Atrophie resistenter gegenüber Alterseffekten (Pfefferbaum et al., 1994, Good et al., 2001b, Tisserand et

al., 2004, Kruggel, 2006). Dies bedeutete, dass auch der RMQ-C2/3 mit zunehmendem Alter nur geringfügig atrophiert, da dieser über die WS determiniert wird.

Basierend auf der Interpretation der Ergebnisse dieser Studie, wird ein Modell über die Determinanten des RMQ-C2/3 vorgeschlagen. Es wird in Form eines Diagramms in Abb. 6 veranschaulicht.

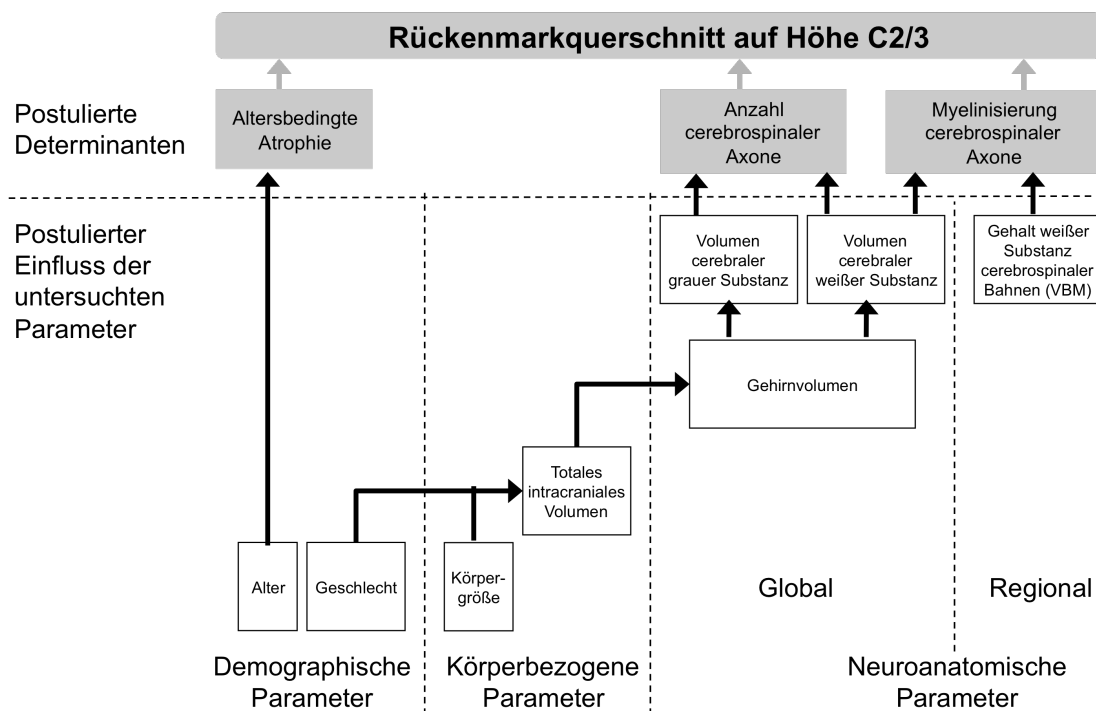


Abb. 6 Modell über Determinanten des Rückenmarkquerschnitts auf Höhe C2/3 (modifiziert nach Engl et al., 2013)

Die Graphik gibt eine Übersicht über die vorgeschlagenen Determinanten des Rückenmarkquerschnitts auf Höhe C2/3. Er ist hauptsächlich durch eine altersabhängige Atrophie, der Anzahl an cerebros spinalen Axonen und den Grad der axonalen Myelinisierung in den cerebros spinalen Bahnen determiniert (graue Kästen), was durch die grauen Pfeile dargestellt wird. Die in dieser Studie untersuchten Parameter (weiße Kästen) beeinflussen den Rückenmarkquerschnitt auf Höhe C2/3 über diese drei Determinanten in unterschiedlichem Maße direkt oder indirekt, was durch die schwarzen Pfeile dargestellt wird.

Ihm zufolge wird der RMQ-C2/3 hauptsächlich über eine altersabhängige Atrophie, die Anzahl der cerebros spinalen Axone und dem Grad der axonalen Myelinisierung determiniert. Das Geschlecht und die Körpergröße korrelieren indirekt mit dem RMQ-C2/3, und zwar über das TIV, das selbst wiederum indirekt über das Gehirnvolumen

mit dem RMQ-C2/3 korreliert. Der RMQ-C2/3 korreliert mit der cerebralen GS als Ausdruck der geschätzten Anzahl cerebrospinaler Axone. Selbiges gilt für die Korrelation des RMQ-C2/3 mit der cerebralen WS, die jedoch auch den Grad der axonalen Myelinisierung in Bahnen der WS widerspiegelt. Dieser Zusammenhang ist regional innerhalb der cerebrospinalen Bahnen deutlich ausgeprägt.

Eine Einschränkung dieser Studie liegt in der Verwendung von cMRTs. Dadurch konnten weder die Länge des RM, noch Querschnitte in seinen unterschiedlichen Abschnitten berücksichtigt werden. Letztere zeigen zwar einen hohen Grad an intraindividuellem Korrelation (Kameyama et al., 1994, Healy et al., 2012), dennoch ist der RMQ-C2/3 womöglich nicht repräsentativ für das gesamte RM und die Schlussfolgerung der Studie somit auch nicht zwangsläufig darauf übertragbar (Sherman et al., 1990). Auch die unterschiedliche Altersverteilung der beiden Kohorten und die fehlenden Angaben zur Körpergröße in Kohorte 2, ließen nur bedingt eine Beurteilung des RMQ-C2/3 hinsichtlich dieser Variablen zu.

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse wird für MR-Studien des RM vorgeschlagen, vor allem in älteren Populationen mit einer breiten Altersverteilung für das Alter und für nur eine weitere Variable mit folgender Priorität zu korrigieren: Volumen der cerebralen WS, Gehirnvolumen, TIV, und Geschlecht.

Abgesehen von der Verfügbarkeit, muss jedoch auch eine mögliche Interferenz der jeweils untersuchten Erkrankung mit diesen Variablen sorgfältig berücksichtigt werden. Manche neurologische Erkrankungen – beispielsweise die Chorea Huntington oder die kindliche MS – gehen nicht nur mit einer Gehirnatrophie, sondern auch mit einer Verringerung des TIV einher (Nopoulos et al., 2011, Kerbrat et al., 2012).

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass das Gehirnvolumen und der Gehalt an WS in den cerebrospinalen Bahnen mit dem RMQ-C2/3 korrelieren. Es wird vermutet, dass abgesehen von der Anzahl der Axone, die durch das RM ziehen, der individuelle Grad an Myelinisierung dieser Axone wesentlich zur Größe des RMQ-C2/3 beiträgt. Die Erkenntnisse dieser Studie können bei der Auswertung von Studienergebnissen über das RM bei Gesunden und Kranken als auch bei der Beurteilung pathologischer RM-Veränderungen bei einzelnen Patienten nützlich sein.

5 Zusammenfassung

Der Rückenmarkquerschnitt auf Höhe C2/3 ist möglicherweise ein aussagekräftiger Parameter um Veränderungen des Rückenmarks zu detektieren und somit den Grad der spinalen Beteiligung bei neurologischen Erkrankungen, wie beispielsweise der Multiplen Sklerose, zu quantifizieren. Die Messung an cranialen Magnetresonanzen-Bildern vorzunehmen, bietet hier vor allem den Vorteil, dass mit nur einer Untersuchung Gehirn und Rückenmark erfasst werden und somit eine große Anzahl von Datensätzen schnell und kostengünstig akquiriert wird. Zum anderen rechtfertigen die anatomischen Begebenheiten, wie die intraindividuelle Korrelation der Querschnitte, mitunter die Beschränkung auf den oberen zervikalen Bereich.

Um Pathologien untersuchen zu können, ist jedoch zunächst die Kenntnis der physiologischen Determinanten des Rückenmarks erforderlich. Obwohl grundlegend, gibt es dazu nur wenige Daten.

In dieser Studie wurde daher der Einfluss demographischer, körperbezogener und neuroanatomischer Parameter auf den Rückenmarkquerschnitt auf Höhe C2/3 ermittelt. Als potenzielle Faktoren galten dabei Alter, Geschlecht, Körpergröße und totales intracraniales Volumen sowie das Gehirnvolumen mit seinen einzelnen Bestandteilen graue Substanz, weiße Substanz und Liquor cerebrospinalis. Ihre Auswirkung auf den Rückenmarkquerschnitt auf Höhe C2/3 wurde in zwei unterschiedlichen Kohorten mit 133 bzw. 285 gesunden Probanden sowohl durch einfache und partielle Korrelationsanalysen als auch mit Hilfe der Voxel-basierten Morphometrie durch Voxel-weise Korrelationsanalysen mit der cerebralen grauen und weißen Substanz untersucht.

Der bekannte, aber geringe Einfluss des Alters konnte in dem älteren Studienkollektiv bestätigt werden. Bei der Analyse der Variablen Geschlecht, Körpergröße und totales intracraniales Volumen, wies nur das totale intracraniale Volumen nach Korrektur für die jeweils anderen Variablen eine signifikante Korrelation mit dem Rückenmarkquerschnitt auf Höhe C2/3 auf. Innerhalb der cerebralen Variablen zeigte das Gehirnvolumen eine stärkere Korrelation mit dem Rückenmarkquerschnitt auf Höhe C2/3 als das totale intracraniale Volumen. Die beiden Volumina der Gehirnkompimente graue und weiße Substanz korrelierten signifikant mit dem Rückenmarkquerschnitt auf Höhe C2/3. Die Varianz des Rückenmarkquerschnitts auf

Höhe C2/3 ließ sich durch das Volumen der weißen Substanz – nach Korrektur für das Volumen der grauen Substanz – signifikant erklären. Das Gegenteil war jedoch nicht der Fall. Dementsprechend zeigte sich auch mit der Voxel-basierten Morphometrie kein signifikanter Effekt von cerebralen Regionen der grauen Substanz, wohingegen der Gehalt an weißer Substanz in den cerebrospinalen Bahnen stark mit dem Rückenmarkquerschnitt auf Höhe C2/3 korrelierte. Dieser Effekt vergrößerte sich entlang eines kraniokaudalen Gradienten und reichte bis hin zur untersten Höhe des Hirnstamms, die in die Studie miteinbezogen wurde.

Schlussfolgernd legen die Ergebnisse nahe, dass der Rückenmarkquerschnitt auf Höhe C2/3 zum einen durch das Gehirnvolumen, und damit durch die Anzahl durchziehender Axone, sowie zum anderen durch den Gehalt an weißer Substanz in den cerebrospinalen Bahnen im Wesentlichen determiniert wird.

Die Erkenntnisse dieser Studie können in weiteren Studien des Rückenmarks als Grundlage zur Evaluation von physiologischen und pathologischen Veränderungen nützlich sein.

6 Literaturverzeichnis

- Agosta F, Lagana M, Valsasina P, Sala S, Dall'Occhio L, Sormani MP, Judica E, Filippi M (2007) Evidence for cervical cord tissue disorganisation with aging by diffusion tensor MRI. *Neuroimage* 36:728-735.
- Ashburner J (2007) A fast diffeomorphic image registration algorithm. *Neuroimage* 38:95-113.
- Ashburner J, Csernansky JG, Davatzikos C, Fox NC, Frisoni GB, Thompson PM (2003) Computer-assisted imaging to assess brain structure in healthy and diseased brains. *Lancet Neurol* 2:79-88.
- Ashburner J, Friston K (1997) Multimodal image coregistration and partitioning – a unified framework. *Neuroimage* 6:209-217.
- Ashburner J, Friston KJ (2000) Voxel-based morphometry – the methods. *Neuroimage* 11:805-821.
- Ashburner J, Friston KJ (2005) Unified segmentation. *Neuroimage* 26:839-851.
- Bähr M, Frotscher M, Duus P (2009) *Neurologisch-topische Diagnostik*. Stuttgart: Thieme Verlag.
- Barkovich AJ (2000) Concepts of myelin and myelination in neuroradiology. *AJNR Am J Neuroradiol* 21:1099-1109.
- Basser PJ, Jones DK (2002) Diffusion-tensor MRI: theory, experimental design and data analysis – a technical review. *NMR Biomed* 15:456-467.
- Blatter DD, Bigler ED, Gale SD, Johnson SC, Anderson CV, Burnett BM, Parker N, Kurth S, Horn SD (1995) Quantitative volumetric analysis of brain MR: normative database spanning 5 decades of life. *AJNR Am J Neuroradiol* 16:241-251.
- Buckner RL, Head D, Parker J, Fotenos AF, Marcus D, Morris JC, Snyder AZ (2004) A unified approach for morphometric and functional data analysis in young, old, and demented adults using automated atlas-based head size normalization: reliability and validation against manual measurement of total intracranial volume. *Neuroimage* 23:724-738.
- Compston A, Coles A (2008) Multiple sclerosis. *Lancet* 372:1502-1517.
- Cruz-Sanchez FF, Moral A, Tolosa E, de Bellerocche J, Rossi ML (1998) Evaluation of neuronal loss, astrogliosis and abnormalities of cytoskeletal components of large motor neurons in the human anterior horn in aging. *J Neural Transm* 105:689-701.
- Cuadra MB, Cammoun L, Butz T, Cuisenaire O, Thiran JP (2005) Comparison and validation of tissue modelization and statistical classification methods in T1-weighted MR brain images. *IEEE Trans Med Imaging* 24:1548-1565.
- Engl C, Schmidt P, Arsic M, Boucard C, Biberacher V, Röttinger M, Etgen T, Nunnemann S, Koutsouleris N, Reiser M, Meisenzahl E, Mühlau M (2013) Brain size and white matter content of cerebrospinal tracts determine the upper cervical cord area: evidence from structural brain MRI. *Neuroradiology* 55:963-970.
- Fox N, Mathers N (1997) Empowering research: statistical power in general practice research. *Fam Pract* 14:324-329.
- Freund PA, Dalton C, Wheeler-Kingshott CA, Glensman J, Bradbury D, Thompson AJ, Weiskopf N (2010) Method for simultaneous voxel-based morphometry of the

- brain and cervical spinal cord area measurements using 3D-MDEFT. *J Magn Reson Imaging* 32:1242-1247.
- Friston KJ, Holmes A, Poline JB, Price CJ, Frith CD (1996) Detecting activations in PET and fMRI: levels of inference and power. *Neuroimage* 4:223-235.
- Friston KJ, Holmes, A. P., Worsley, K. J., Poline, J.-B., Frith, C. D., and Frackowiak, R. S. J. (1995) Statistical parametric maps in functional imaging: A general linear approach. *Hum Brain Mapp* 2:189-210.
- Friston KJ, Frackowiak RS, Mazziotta JC, Evans AC (1993) Assessing the significance of focal activations using their spatial extent. *Hum Brain Mapp* 1:210-220.
- Gaser C (2005) Morphometrie. In: Funktionelle Bildgebung in Psychiatrie und Psychotherapie (Walter, H., Hrsg.), Stuttgart: Schattauer Verlag, 89-104.
- Good CD, Johnsrude I, Ashburner J, Henson RN, Friston KJ, Frackowiak RS (2001a) Cerebral asymmetry and the effects of sex and handedness on brain structure: a voxel-based morphometric analysis of 465 normal adult human brains. *Neuroimage* 14:685-700.
- Good CD, Johnsrude IS, Ashburner J, Henson RN, Friston KJ, Frackowiak RS (2001b) A voxel-based morphometric study of ageing in 465 normal adult human brains. *Neuroimage* 14:21-36.
- Gustafsson A, Lindenfors P (2004) Human size evolution: no evolutionary allometric relationship between male and female stature. *J Hum Evol* 47:253-266.
- Healy BC, Arora A, Hayden DL, Ceccarelli A, Tauhid SS, Neema M, Bakshi R (2012) Approaches to normalization of spinal cord volume: application to multiple sclerosis. *J Neuroimaging* 22:e12-19.
- Hickman SJ, Coulon O, Parker GJ, Barker GJ, Stevenson VL, Chard DT, Arridge SR, Thompson AJ, Miller DH (2003) Application of a B-spline active surface technique to the measurement of cervical cord volume in multiple sclerosis from three-dimensional MR images. *J Magn Reson Imaging* 18:368-371.
- Ho KC, Gwozdz JT, Hause LL, Antuono PG (1992) Correlation of neuronal cell body size in motor cortex and hippocampus with body height, body weight, and axonal length. *Int J Neurosci* 65:147-153.
- Ho KC, Roessmann U, Straumfjord JV, Monroe G (1980) Analysis of brain weight. II. Adult brain weight in relation to body height, weight, and surface area. *Arch Pathol Lab Med* 104:640-645.
- Horsfield MA, Sala S, Neema M, Absinta M, Bakshi A, Sormani MP, Rocca MA, Bakshi R, Filippi M (2010) Rapid semi-automatic segmentation of the spinal cord from magnetic resonance images: application in multiple sclerosis. *Neuroimage* 50:446-455.
- Ishikawa M, Matsumoto M, Fujimura Y, Chiba K, Toyama Y (2003) Changes of cervical spinal cord and cervical spinal canal with age in asymptomatic subjects. *Spinal Cord* 41:159-163.
- Kameyama T, Hashizume Y, Ando T, Takahashi A (1994) Morphometry of the normal cadaveric cervical spinal cord. *Spine (Phila Pa 1976)* 19:2077-2081.
- Kerbrat A, Aubert-Broche B, Fonov V, Narayanan S, Sled JG, Arnold DA, Banwell B, Collins DL (2012) Reduced head and brain size for age and disproportionately smaller thalami in child-onset MS. *Neurology* 78:194-201.
- Kidd D, Thorpe JW, Thompson AJ, Kendall BE, Moseley IF, MacManus DG, McDonald WI, Miller DH (1993) Spinal cord MRI using multi-array coils and fast spin echo. II. Findings in multiple sclerosis. *Neurology* 43:2632-2637.
- Kruggel F (2006) MRI-based volumetry of head compartments: normative values of healthy adults. *Neuroimage* 30:1-11.

- Lin X, Tench CR, Turner B, Blumhardt LD, Constantinescu CS (2003) Spinal cord atrophy and disability in multiple sclerosis over four years: application of a reproducible automated technique in monitoring disease progression in a cohort of the interferon beta-1a (Rebif) treatment trial. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 74:1090-1094.
- Lindberg PG, Feydy A, Maier MA (2010) White matter organization in cervical spinal cord relates differently to age and control of grip force in healthy subjects. *J Neurosci* 30:4102-4109.
- Losseff NA, Miller DH (1998) Measures of brain and spinal cord atrophy in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 64 Suppl 1:102-105.
- Losseff NA, Webb SL, O'Riordan JI, Page R, Wang L, Barker GJ, Tofts PS, McDonald WI, Miller DH, Thompson AJ (1996) Spinal cord atrophy and disability in multiple sclerosis. A new reproducible and sensitive MRI method with potential to monitor disease progression. *Brain* 119:701-708.
- Mann RS, Constantinescu CS, Tench CR (2007) Upper cervical spinal cord cross-sectional area in relapsing remitting multiple sclerosis: application of a new technique for measuring cross-sectional area on magnetic resonance images. *J Magn Reson Imaging* 26:61-65.
- Mietchen D, Gaser C (2009) Computational morphometry for detecting changes in brain structure due to development, aging, learning, disease and evolution. *Front Neuroinform* 3:25.
- Miller DH, Barkhof F, Frank JA, Parker GJ, Thompson AJ (2002) Measurement of atrophy in multiple sclerosis: pathological basis, methodological aspects and clinical relevance. *Brain* 125:1676-1695.
- Nopoulos P, Flaum M, O'Leary D, Andreasen NC (2000) Sexual dimorphism in the human brain: evaluation of tissue volume, tissue composition and surface anatomy using magnetic resonance imaging. *Psychiatry Res* 98:1-13.
- Nopoulos PC, Aylward EH, Ross CA, Mills JA, Langbehn DR, Johnson HJ, Magnotta VA, Pierson RK, Beglinger LJ, Nance MA, Barker RA, Paulsen JS (2011) Smaller intracranial volume in prodromal Huntington's disease: evidence for abnormal neurodevelopment. *Brain* 134:137-142.
- Peters M (1991) Sex differences in human brain size and the general meaning of differences in brain size. *Can J Psychol* 45:507-522.
- Pfefferbaum A, Mathalon DH, Sullivan EV, Rawles JM, Zipursky RB, Lim KO (1994) A quantitative magnetic resonance imaging study of changes in brain morphology from infancy to late adulthood. *Arch Neurol* 51:874-887.
- Rajapakse JC, Giedd JN, Rapoport JL (1997) Statistical approach to segmentation of single-channel cerebral MR images. *IEEE Trans Med Imaging* 16:176-186.
- Rashid W, Davies GR, Chard DT, Griffin CM, Altmann DR, Gordon R, Kapoor R, Thompson AJ, Miller DH (2006a) Upper cervical cord area in early relapsing-remitting multiple sclerosis: cross-sectional study of factors influencing cord size. *J Magn Reson Imaging* 23:473-476.
- Rashid W, Davies GR, Chard DT, Griffin CM, Altmann DR, Gordon R, Thompson AJ, Miller DH (2006b) Increasing cord atrophy in early relapsing-remitting multiple sclerosis: a 3 year study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 77:51-55.
- Salmond CH, Ashburner J, Vargha-Khadem F, Connelly A, Gadian DG, Friston KJ (2002) Distributional assumptions in voxel-based morphometry. *Neuroimage* 17:1027-1030.
- Schünke M, Schulte E, Schumacher U, Voll M, Wesker K (2006) Prometheus – Kopf und Neuroanatomie. Stuttgart: Thieme Verlag.
- Sherman JL, Nassaux PY, Citrin CM (1990) Measurements of the normal cervical spinal cord on MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol* 11:369-372.

- Sorkin JD, Muller DC, Andres R (1999) Longitudinal change in height of men and women: implications for interpretation of the body mass index: the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Am J Epidemiol* 150:969-977.
- Stevenson VL, Leary SM, Losseff NA, Parker GJ, Barker GJ, Husmani Y, Miller DH, Thompson AJ (1998) Spinal cord atrophy and disability in MS: a longitudinal study. *Neurology* 51:234-238.
- Talairach J, Tournoux P (1988) Co-planar stereotaxic atlas of the human brain: 3-dimensional proportional system: an approach to cerebral imaging. Stuttgart, New York: Georg Thieme.
- Tench CR, Morgan PS, Constantinescu CS (2005) Measurement of cervical spinal cord cross-sectional area by MRI using edge detection and partial volume correction. *J Magn Reson Imaging* 21:197-203.
- Terao S, Sobue G, Hashizume Y, Li M, Inagaki T, Mitsuma T (1996) Age-related changes in human spinal ventral horn cells with special reference to the loss of small neurons in the intermediate zone: a quantitative analysis. *Acta Neuropathol* 92:109-114.
- Thorpe JW, Kidd D, Kendall BE, Tofts PS, Barker GJ, Thompson AJ, MacManus DG, McDonald WI, Miller DH (1993) Spinal cord MRI using multi-array coils and fast spin echo. I. Technical aspects and findings in healthy adults. *Neurology* 43:2625-2631.
- Tisserand DJ, van Boxtel MP, Pruessner JC, Hofman P, Evans AC, Jolles J (2004) A voxel-based morphometric study to determine individual differences in gray matter density associated with age and cognitive change over time. *Cereb Cortex* 14:966-973.
- Tomlinson BE, Irving D (1977) The numbers of limb motor neurons in the human lumbosacral cord throughout life. *J Neurol Sci* 34:213-219.
- Vaithianathar L, Tench CR, Morgan PS, Constantinescu CS (2003) Magnetic resonance imaging of the cervical spinal cord in multiple sclerosis – a quantitative T1 relaxation time mapping approach. *J Neurol* 250:307-315.
- Van Hecke W, Leemans A, Sijbers J, Vandervliet E, Van Goethem J, Parizel PM (2008) A tracking-based diffusion tensor imaging segmentation method for the detection of diffusion-related changes of the cervical spinal cord with aging. *J Magn Reson Imaging* 27:978-991.
- Whitwell JL (2009) Voxel-based morphometry: an automated technique for assessing structural changes in the brain. *J Neurosci* 29:9661-9664.
- Yanase M, Matsuyama Y, Hirose K, Takagi H, Yamada M, Iwata H, Ishiguro N (2006) Measurement of the cervical spinal cord volume on MRI. *J Spinal Disord Tech* 19:125-129.

7 Originalpublikation

Engl C, Schmidt P, Arsic M, Boucard C, Biberacher V, Röttinger M, Etgen T, Nunnemann S, Koutsouleris N, Reiser M, Meisenzahl E, Mühlau M (2013) Brain size and white matter content of cerebrospinal tracts determine the upper cervical cord area: evidence from structural brain MRI. *Neuroradiology* 55:963-970.

Brain size and white matter content of cerebrospinal tracts determine the upper cervical cord area: evidence from structural brain MRI

Christina Engl · Paul Schmidt · Milan Arsic · Christine C. Boucard · Viola Biberacher · Michael Röttinger · Thorleif Etgen · Sabine Nunnemann · Nikolaos Koutsouleris · Maximilian Reiser · Eva M. Meisenzahl · Mark Mühlau

Received: 29 November 2012 / Accepted: 9 May 2013 / Published online: 29 May 2013
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2013

Abstract

Introduction Measurement of the upper cervical cord area (UCCA) from brain MRI may be an effective way to quantify spinal cord involvement in neurological disorders such as multiple sclerosis. However, knowledge on the determinants of UCCA in healthy controls (HCs) is limited.

Methods In two cohorts of 133 and 285 HCs, we studied the influence of different demographic, body-related, and brain-related parameters on UCCA by simple and partial correlation analyses as well as by voxel-based morphometry (VBM) across both cerebral gray matter (GM) and white matter (WM).

Results First, we confirmed the known but moderate effect of age on UCCA in the older cohort. Second, we studied the correlation of UCCA with sex, body height, and total intracranial volume (TIV). TIV was the only variable that correlated significantly with UCCA after correction for the other variables. Third, we studied the correlation of UCCA with brain-related parameters. Brain volume correlated stronger with UCCA than TIV. Both volumes of the brain tissue compartments GM and WM correlated with UCCA significantly. WM volume explained variance of UCCA after correction for GM volume, whilst the opposite was not observed. Correspondingly, VBM did not yield any brain region, whose GM content correlated significantly with UCCA, whilst cerebral WM content of cerebrospinal tracts strongly correlated with UCCA. This latter effect increased along a craniocaudal gradient.

Conclusion UCCA is mainly determined by brain volume as well as by WM content of cerebrospinal tracts.

C. Engl · P. Schmidt · M. Arsic · C. C. Boucard · V. Biberacher · T. Etgen · S. Nunnemann · M. Mühlau (✉)
Department of Neurology, Klinikum rechts der Isar, Technische Universität München, Ismaningerstr. 22,
81675 Munich, Germany
e-mail: muehlau@lrz.tum.de

C. Engl · M. Arsic · C. C. Boucard · V. Biberacher · S. Nunnemann · M. Mühlau
TUM-Neuroimaging Center, Klinikum rechts der Isar, Technische Universität München, Munich, Germany

P. Schmidt
Department of Statistics, Ludwig-Maximilians-University München, Munich, Germany

M. Röttinger
Department of Radiology, Klinikum rechts der Isar, Technische Universität München, Munich, Germany

M. Röttinger
Münchener Institut für Neuroradiologie, Munich, Germany

T. Etgen
Department of Neurology, Klinikum Traunstein, Traunstein, Germany

N. Koutsouleris · E. M. Meisenzahl
Department of Psychiatry and Psychotherapy, Ludwig-Maximilians-Universität München, Munich, Germany

M. Reiser
Department of Radiology, Ludwig-Maximilians-Universität, Munich, Germany

Keywords Age · Cranial MRI · Healthy controls · Sex · Upper cervical cord area

Introduction

Measurement of the upper cervical cord area (UCCA) may be an effective way to quantify spinal cord involvement in neurological disorders. Although imperfect, the approach to estimate the degree of spinal cord damage by measuring the cross-sectional area at only one level is promising as it is

well feasible and justified by the fact that spinal cord areas show a high degree of intra-individual correlation across segments despite physiological enlargement of the spinal cord in the cervical and lumbar region [1, 2]. In 1996, UCCA, as measured from spinal cord MRI at the level of C2/3, was proposed as a marker of disease progression in multiple sclerosis (MS) [3]. In a later longitudinal study, a decline of UCCA was demonstrated in MS patients but not in healthy controls (HCs). Of note, the decline in UCCA did not correlate with the decline in brain volume, suggesting that UCCA indeed reflects pathology of the spinal cord independent of that of the brain [3]. In a cross-sectional study in MS patients and HCs, a correlation of UCCA with total intracranial volume (TIV) was observed [4]. However, even in HCs, knowledge on the determinants of the spinal cord size is incomplete, although it constitutes a prerequisite for the study of the spinal cord in health and disease. Some but not all studies have demonstrated UCCA to decrease with age, to increase with body height, and to be smaller in women compared to men [2, 5–7]. Further, data on the relationship between spinal cord size and brain-related parameters are also limited [8]. Here, we determined to what extent UCCA is influenced by the demographic parameters of age and sex, by the body-related parameters of body height and TIV as well as by the brain-related parameters of gray matter (GM) and white matter (WM) volume. We also performed voxel-wise correlation analyses of UCCA across both cerebral GM and WM in order to clarify whether correlations of UCCA vary across brain regions. We followed the proposal of Freund et al. [9] and measured UCCA from high-resolution brain images also covering the upper cervical cord, which enabled us to simultaneously perform voxel-based morphometry (VBM) across the brain in two large cohorts of HCs.

Methods

We analyzed two cohorts of HCs. As images were acquired at different scanners, absolute values of brain-related parameters cannot be compared between cohorts. Hence, we first analyzed cohort 1 and replicated our findings in cohort 2.

Subjects

We studied two cohorts of normal subjects that had served as HCs in several imaging studies including two with pooled data, namely 1 on cohort 1 [10] and another on cohort 2 [11]. The studies were approved by the respective ethics committee and performed in accord with the Declaration of Helsinki. Demographic, body-related, and brain-related parameters of both cohorts are given in Table 1.

Magnetic resonance imaging

All brain images of cohort 1 were acquired on the same scanner (Magnetom Symphony, Siemens, Erlangen, Germany; field strength, 1.5 T; sequence, T1-weighted magnetization prepared rapid gradient echo (MPRAGE); TR, 11.1 ms; TE, 4.3 ms; slices, 160; voxel size, $1.0 \times 1.0 \times 1.0 \text{ mm}^3$). All brain images of cohort 2 were acquired on the same scanner (Magnetom Vision, Siemens, Erlangen, Germany; field strength, 1.5 T; sequence, T1-weighted MPRAGE, TR, 11.6 ms; TE, 4.9 ms; voxel size, $1.5 \times 1.5 \times 1.5 \text{ mm}^3$).

Measurement of the upper cervical cord area

Measurement of UCCA at the level of the C2–3 vertebral disc comprised three steps (Fig. 1). First, the original images were manually rotated by the use of commercially available software (Amira 5.3.3, Visage Imaging, Inc.) resulting in a perpendicular orientation of the cervical cord around the level of C2–3. Second, images were segmented without a priori probability maps into the two classes of brain parenchyma (GM and WM) as well as cerebrospinal fluid (CSF) by the use of FSL software (www.fmrib.ox.ac.uk/fsl). This procedure (“hard segmentation”) resulted in binary maps (brain parenchyma, 1; CSF, 0). UCCA could now be determined easily from axial slices of these binary maps by counting contiguous voxels of UCCA and considering the voxel size.

For cohort 2, we modified measurement of UCCA. Because, in the images available, contrast and definition decreased along a craniocaudal gradient starting at about the level of C2–3, we determined UCCA 10.5 mm, i.e., seven slices, above the C2–3 level. Although a previous study demonstrated that the volumetric measurement at the higher level of the medulla oblongata can also predict spinal cord involvement of MS [12], we considered whether this change in methods may have caused a bias in our measurements. From an anatomical view, this seems unlikely as only very thin nerve roots leave the spinal cord there, so that UCCA can be assumed almost constant. Yet, we confirmed our assumption by further analyses. We chose 50 HCs from cohort 1 and 50 HCs from cohort 2, whose images showed sufficient contrast and definition to measure UCCA down to the level of C2–3. Besides this level, UCCA was measured at three further levels above C2–3. Accounting for the different slice thickness of both sequences, we chose the following levels: +5, +10, and +15 mm corresponding to 5, 10, and 15 axial slices (cohort 1; slice thickness, 1.0 mm), and +6, +10.5, and +15 mm corresponding to 4, 7, and 10 axial slices (cohort 2; slice thickness, 1.5 mm). In both cohorts, we observed neither a significant difference of UCCA between the levels C2–3 and C2–3 +15 mm (paired *t* tests, $P > 0.2$ for both comparisons) nor a systematic shift. To test the latter, β values of intra-individual correlation coefficients (independent variable, 4 levels labeled 0, 1, 2, and 3; dependent variable,

Table 1 Demographic, body-related, and brain-related parameters of the study cohorts

	Cohort 1	Cohort 2
Number of healthy controls	133	285
Age in years (range)	54.0±11.6 (29–80)	33.8±11.6 (18–65)
Sex (male/female)	60/73	151/134
Body height in cm	170±10.0	n.d.
Total intracranial volume in ml	1605±173	1630±184
Volume of cerebral gray matter in ml	645±80	704±79
Volume of cerebral white matter in ml	514±69	511±63
Volume of cerebrospinal fluid in ml	446±132	415±105
Upper cervical cord area in mm ² (range)	84.8±9.1 (60–114)	91.3±10.6 (72–111)

Mean values ± standard deviations are given

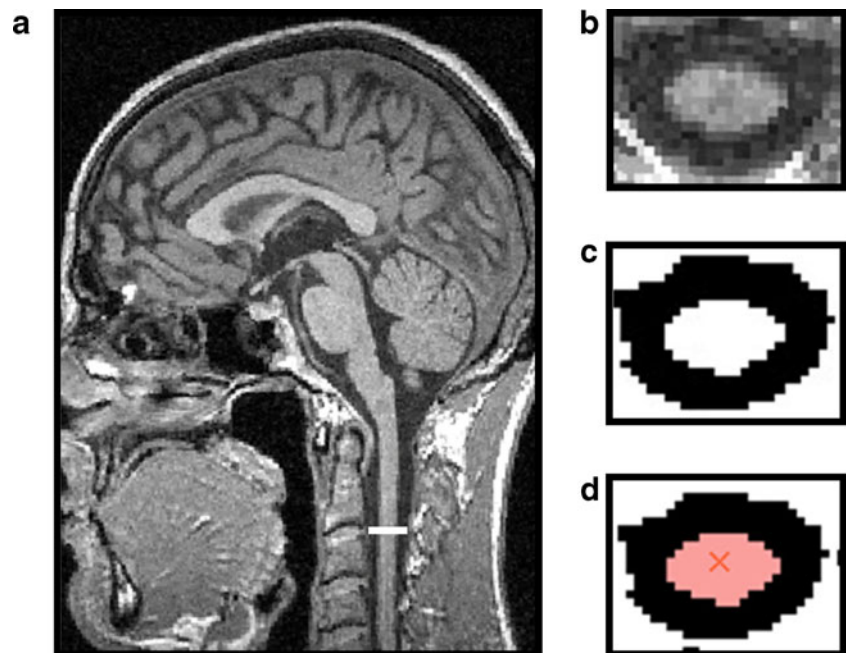
UCCA values) were subjected to a one-sample *t* test ($P>0.2$ for both comparisons). However, we were unable to measure UCCA in 2 of the 287 subjects of cohort 2 because of poor image quality. These images were excluded from analysis.

Image preprocessing for voxel-wise analysis and measurement of global volumes

We used SPM8 software (<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm>) and its VBM8 toolbox (<http://dbm.neuro.uni-jena.de/vbm8>). Brain images were normalized and segmented into the tissue classes of GM, WM, and CSF by VBM8. This tool provides a sophisticated preprocessing pipeline [13] including high-dimensional warping also called “DARTEL” [14]. The resulting GM and WM images were modulated to account for volume changes resulting from the normalization process [13]. After each preprocessing step, images were thoroughly inspected to monitor quality. Finally, GM and WM images were smoothed with a

Gaussian kernel of 8 mm full width at half maximum (default option of SPM8 and VBM8). TIV was estimated by the sum of global volumes of GM, WM, and CSF. In SPM, these values are derived from the first segmentation step by summing up the respective tissue probability maps, which are in the original (“native”) space. Yet, VBM8 generated implausible TIV values. While we observed the known difference between men and women [15], we also found an implausible strong negative correlation with age. We assume that the former effect is due to the brain extraction strategy of VBM8. In consequence, external CSF spaces seem to be incompletely covered and, hence, TIV values biased by brain size. Accounting for this problem, we used the precursor version of VBM8, VBM5. Here, the normalization procedure also accounts for extracerebral structures; accordingly, we have not observed an implausible correlation of TIV with age while we still found the known difference between men and women to the same degree [15].

Fig. 1 Measurement of the upper cervical cord area. The upper cervical cord area was determined after perpendicular orientation around the level of C2–3 (**a**: white line, sagittal view; **b**: axial view). Segmentation into the two classes of brain parenchyma (gray plus white matter) and cerebrospinal fluid results in binary maps (**c**: axial view). The binary maps of brain parenchyma were used to measure the upper cervical cord area (**d**: axial view, upper cervical cord area in red)



Simple and partial correlation analyses of demographic, body-related, and brain-related parameters with the upper cervical cord area

With regard to the influence on UCCA, we analyzed the demographic parameters of age and sex, the body-related parameters of self-reported body height and TIV as well as the brain-related parameters of GM volume, WM volume, and brain volume (GM plus WM). TIV can be regarded both brain-related, since it correlates with brain size [16], and body-related, since it reflects head size, which can be estimated more simply by head circumference [17]. To justify our correlation analyses, some relationships among the variables under investigation are to be considered. With increasing age, body height [18] and brain volume decrease [16]. Moreover, there is a complex relationship among body height, sex, and TIV. On average, men are larger than women and have larger TIVs [15]. Body height correlates with TIV, although this has rarely been observed after control for sex-related effects [19]. In this respect, each of the three variables has two counterparts. With regard to brain-related variables, two pairs of variables sum up to another variable (GM+WM=Brain, Brain+CSF=TIV). In this respect, CSF and brain as well as GM and WM can be interpreted as pairs of counterparts as well. To preserve statistical power, we decided not to create a single linear regression

model with UCCA as dependent variable and all parameters described above as independent variables but to perform simple and partial correlation analyses in a hypothesis-driven and stepwise manner resulting in the correlation matrix shown in Fig. 2. As age interferes not only with some of the variables under investigation [16] but also with UCCA [6], age was included in all partial correlation analyses. Given the hierarchical nature of the analyses described in this section, we did not correct for multiple statistical tests.

Voxel-wise correlation analyses of the upper cervical cord area across cerebral gray and white matter

We also performed two voxel-wise correlation analyses of UCCA, one across cerebral GM and the other across cerebral WM, in order to clarify, whether correlations of UCCA with each of these tissue compartments vary across brain regions. Smoothed normalized GM and WM images were analyzed by two multiple linear regression models as implemented in SPM8. In these models, voxel values constitute the dependent variable. Of the independent variables, only the variable of interest (i.e., UCCA) was weighted so that the correlation under investigation was corrected for variance explained by the remaining independent variables. Hence, the latter can be regarded as nuisance variables. This way, we included age and sex, since both variables

Cohort 1	Brain-related variables				Body-related and demographic variables						
	Variables		Brain	CSF	TIV	Sex	Height	-Age			
	WM	GM									
None	0.52	0.35	0.49	0.11	0.28	0.16	0.19	0.25			
Age	0.49	0.25	0.43	0.01	0.28	0.12	0.11	n/a			
Age & 1 nuisance variable	0.43	0.00	0.44	0.07	0.26	0.27	0.02	0.06	0.03	0.03	n/a
Nuisance variables	GM	WM	CSF	Brain	Sex	Size	TIV	Height	TIV	Sex	

Cohort 2	Brain-related variables				Body-related and demographic variables						
	Variables		Brain	-CSF	TIV	Sex	Height	-Age			
	WM	GM									
None	0.37	0.21	0.31	0.08	0.26	0.12	n/a	0.00			
Age	0.37	0.25	0.34	0.09	0.26	0.12	n/a	n/a			
Age & 1 nuisance variable	0.28	0.01	0.34	0.07	0.25	n/a	0.06	n/a	n/a	n/a	n/a
Nuisance variables	GM	WM	CSF	Brain	Sex	Size	TIV	Height	TIV	Sex	

Scale	Cohort 1										
	P values										
	Correlation coefficients										
					0.10	0.05					
			0.10	0.12	0.14	0.17	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60
Cohort 2											
P values											
			0.10	0.05							

Fig. 2 Correlation analyses of the upper cervical cord area with the parameters under investigation. The correlation matrices of the simple and partial correlation analyses of the upper cervical cord area with the parameters under investigation are shown for both cohorts separately. To gain mainly positive values, age values were multiplied by minus one beforehand (“-Age”). The parameters under investigation are indicated in the head line. The *first line* shows the Pearson's correlation coefficients derived from the simple correlation analyses of the upper cervical cord area with each of the variables. The *second line* shows the partial correlation analyses of upper cervical cord area with each of the

variables but corrected for age (one nuisance variable). The *third line* shows the partial correlation analyses of the upper cervical cord area with each of the variables but corrected for age and one counterpart (two nuisance variables), which is indicated in the *bottom line*. As indicated at the bottom, only significant correlations (P value < 0.05) are marked in *gray*. For better comparability of effect sizes, both correlation matrices were scaled equally from *light to dark gray* according to the correlation coefficients. Abbreviations: CSF, cerebrospinal fluid; GM, gray matter; n/a, not applicable; TIV, total intracranial volume; WM, white matter

exert a substantial influence on cerebral GM and WM [15, 16]. In addition, we included the global volumes (GM or WM, respectively) to ensure that these analyses did not randomly reveal brain areas through voxel-wise correlation with the global volume. In other words, this approach implies that the results of our voxel-wise analyses are corrected for the effects demonstrated by our simple and partial correlation analyses of brain-related parameters with UCCA.

We chose a height threshold (voxel level) of 0.05 family-wise error corrected but no extent threshold (cluster level) [20]. To compare the explaining power of the results of the voxel-wise analyses with those of the correlations with demographic, body-related, and brain-related parameters, we also calculated maps indicating the correlation coefficients in a voxel-wise manner (Fig. 3).

Results

Simple and partial correlation analyses of the upper cervical cord area with demographic, body-related, and brain-related parameters

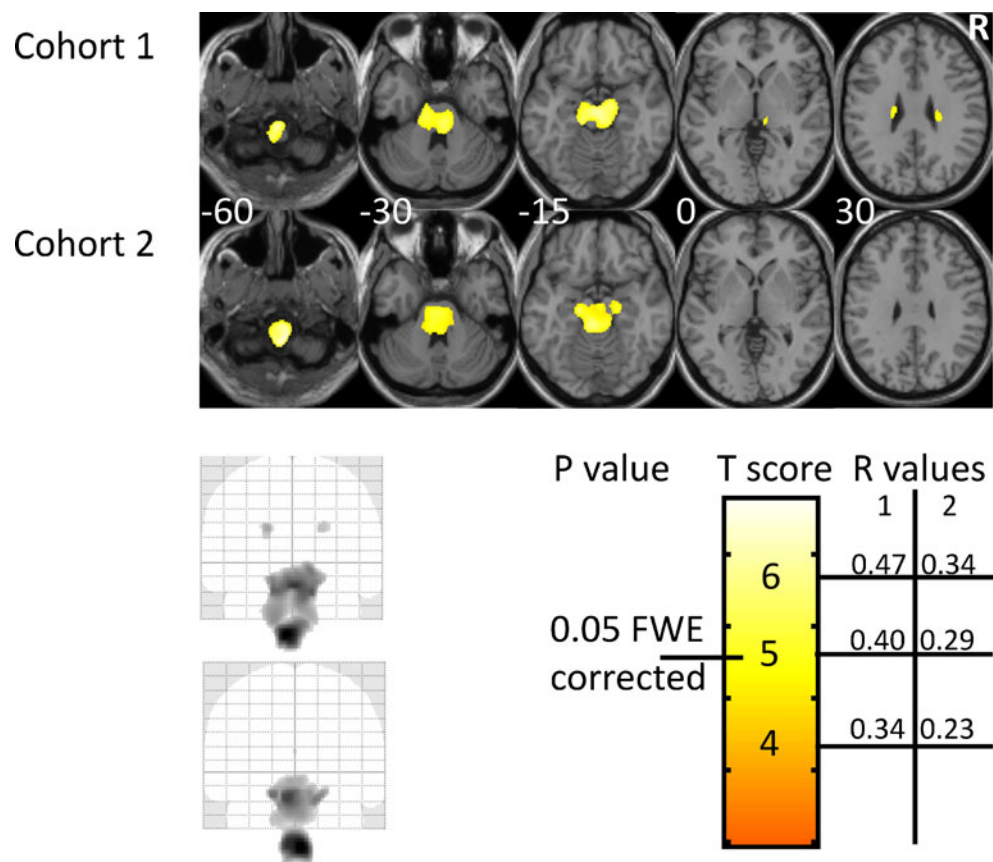
As shown in Fig. 2, we observed age-related decline of UCCA in the older cohort (cohort 1). Simple linear regression indicated a decrease of 2 mm² per decade. Beyond this

discrepancy, the results derived from both cohorts did not differ in a meaningful way. Body height, sex, and TIV correlated significantly with UCCA or showed a trend towards correlation ($p < 0.1$). However, only the correlation of TIV with UCCA retained significance after correction for the other variables (Fig. 2). Analyses of the two components of TIV, brain and CSF, yielded a significant contribution of only brain volume to UCCA. Both brain tissue compartments (GM and WM) significantly correlated with UCCA also after correction for age. WM significantly explained variance of UCCA after correction for GM, whilst the opposite was not observed (Fig. 2).

Voxel-wise correlation of the upper cervical cord area with cerebral gray and white matter

In both cohorts, we did not identify any brain region, whose GM content correlated with UCCA even after relaxing the height threshold (voxel level) to 0.001 uncorrected. However in both cohorts, we found widespread correlation of UCCA with WM content with a clear accentuation of the cerebrospinal tracts. This effect increased along a craniocaudal gradient and reached to the lowest level of the brainstem included in our analysis. From the midbrain level, the explaining power (R values) was in the range of brain volume (Figs. 2 and 3).

Fig. 3 Correlation of the upper cervical cord area with regional white-matter content. Regions of increasing white matter with increasing upper cervical cord area are shown for both cohorts. Axial slices are projected onto the SPM template and MNI coordinates are indicated on the left of each cell (*upper and middle row*). Maximum intensity projections are shown on the left (*lower row*). Correlation coefficients (R values separately for each cohort as indicated by the number 1 and 2) and T values, including the height threshold (voxel level) of 0.05 family-wise error corrected, are indicated by the *right colored bar* (*lower row*)



Discussion

Motivated by the aim to establish UCCA, as determined from brain MRI, for quantification of spinal cord pathology in neurological disorders such as MS, we investigated the influence of demographic, body-related, and brain-related parameters on UCCA in two cohorts of HCs. We will discuss the results of the correlation analyses and voxel-wise analyses in their context, propose a model on the determinants of UCCA, acknowledge limitations of our study, and consider implications for studies on the spinal cord in health and disease.

It is intuitive to assume that the spinal cord atrophies with age in analogy to the brain. Yet, respective data are conflicting. Such an association was reported by some [6, 7] but not by all authors [2, 5]. We found a negative correlation of age with UCCA only in the older cohort, suggesting that age-related decrease of UCCA comes into play later in life. Although significant, this effect was still small. Assuming the estimated decline of 2 mm² per decade and the average UCCA of 85 mm² at the average age of 54 years, UCCA would decrease from 89 to 81 mm² from age 34 to 74. Further assuming a circular shape of UCCA, this would result in a decrease of the diameter from 18.9 to 18.0 mm, which is in the range of our voxel size and, hence, near the detection limit. Insofar, the larger voxel size of the MRI sequence applied in cohort 2 may also have impeded demonstration of age-related effects on UCCA. Taken together, we believe that the effect of age on the spinal cord is minor compared to that on the brain, that this effect can primarily be detected when analyzing large older cohorts with broad age ranges and that its detection may still be technically problematic.

With regard to sex, body height, and TIV, we found a trend towards correlation or significant correlation of all three variables with UCCA. We could not disentangle the effects of body height and sex but found both variables to influence UCCA only indirectly via TIV as suggested by others [8]. Further, analysis of differential contributions of both compartments of TIV, brain and CSF, yielded a significant effect only of brain volume but not CSF volume.

Differentiating further between the influence of cerebral GM volume and WM volume, we found that global WM volume significantly explained variance of UCCA after correction for global GM volume, whilst we did not observe the opposite. Likewise, our VBM analyses across the whole brain revealed additional explaining power for UCCA only when analyzing WM. Of note, these VBM analyses corrected for the global volume of the tissue compartment under investigation so that results constitute information additional to the simple and partial correlation analyses of UCCA with global brain volumes. Before data analysis, we considered it possible that UCCA correlates with the GM contents of areas connecting to the spinal cord, such as the pericentral regions, which is also supported by the fact that motor cortex neuronal cell body size significantly correlates with body height [21]. However, not a single brain region displayed a correlation of its GM content with UCCA, indicating that the latter is determined by brain size rather than by the GM content of certain brain regions. In contrast, we could clearly demonstrate an accentuation for the correlation of UCCA with regional cerebral WM. This effect appeared in cerebrospinal tracts and increased along a craniocaudal gradient reaching to the lowest level of the brainstem included in our analysis, namely the level of the

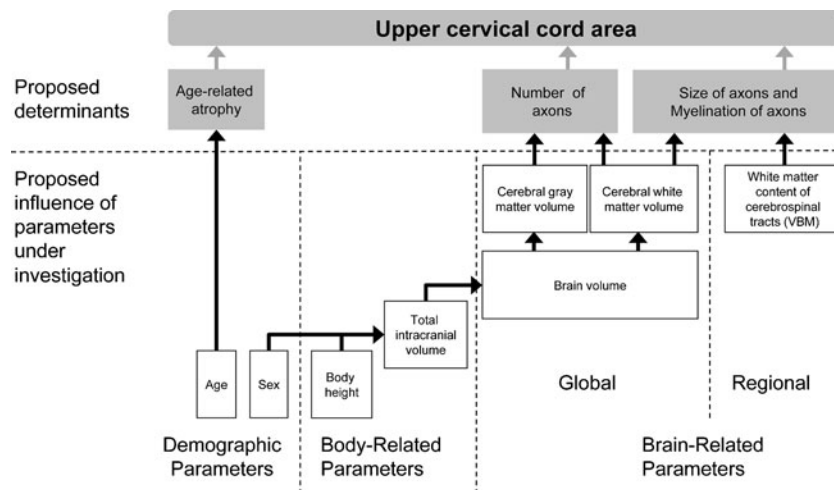


Fig. 4 Proposed model on the determinants of the upper cervical cord area. The chart illustrates the proposed model on the determinants of the upper cervical cord area. The upper cervical cord area is mainly determined by age-related atrophy, number and size of cerebrospinal axons as well as their degree of myelination (gray boxes) as indicated

by the gray arrows. The parameters under investigation in this study (white boxes) influence the upper cervical cord area via these three determinants to different degrees directly or indirectly as indicated by the black arrows. For details see text

foramen magnum, which is located about 5 cm above the spinal cord level of C2–3. Of note, from the level of the midbrain, this additional regional effect was in the range of that of brain volume.

These surprising findings let us to speculate about their histological substrate and to propose a model thereof. Taking a simplistic view on the brain by neglecting glial cells and accounting only for neurons, global GM volume should reflect the number of neurons and size of neuronal somata, whereas global WM volume should reflect the number of neurons as well as the size of axons and their degree of myelination. In particular, the latter assumption is reasonable as studies on the human developing brain demonstrated that the degree of myelination determines the hyperintense signal of T1-weighted MRI sequences within cerebral WM [22]. Assuming further, that larger brains are connected to the periphery via more or larger cerebrospinal axons, our results become plausible and suggest that UCCA is determined by the number of axons passing through, as reflected by the correlation with global GM and WM volume, and, in addition, by the size of cerebrospinal axons and their degree of myelination, as reflected by the additional explaining power of cerebral WM volume (after correction for cerebral GM volume) on the one hand and by our VBM analyses on the other hand. Based on our interpretation, we propose a model on the determinants of UCCA. This model is illustrated by the chart in Fig. 4. Accordingly, UCCA is determined by age-related atrophy, number, and size of cerebrospinal axons as well as their degree of myelination. Sex and body height indirectly correlate with UCCA via TIV, which, in turn, correlates with UCCA indirectly via brain volume.

We acknowledge limitations of our study. Our conclusion on UCCA may not apply to the whole spinal cord [23]. Further, we could not consider the length of the spinal cord, both cohorts differed with regard to age, and body height was only available in one cohort.

As a methodological consequence of our findings for studies on the spinal cord, we suggest correcting for age particularly in older populations of a broad age range and to correct for only one further global parameter in the following order of priority: cerebral WM volume, brain volume, TIV, and sex. Besides availability however, potential interference of the disorder under investigation with these parameters must be carefully considered. For example, MS pathology affects both the brain and spinal cord so that the correction strategy must depend on the specific question under examination. In addition, neurological diseases may not only go along with brain atrophy but even with a decrease in TIV [24, 25]. Finally, the high degree of intra-individual correlation across different spinal cord levels [1, 2] may be diminished by neurological diseases necessitating cautious interpretation of findings based on measurements of the UCCA at the level of C2/3.

Conclusions

We demonstrated that brain volume and WM content of cerebrospinal tracts correlate with UCCA. We speculate that, beyond the number of axons passing through the spinal cord, the size of axons and their degree of myelination considerably contributes to the size of UCCA. We believe that our findings are valuable for the interpretation of study results on the spinal cord in health and disease as well as for the evaluation of spinal cord pathology in individual patients.

Acknowledgments MM and VB received support from Merck Serono (Project: The Upper Cervical Cord Area Determined From Cranial MRI as a Marker of Disease Severity in Multiple Sclerosis). Further, MM received support from the German Ministry for Education and Research (BMBF) (German Competence Network Multiple Sclerosis, KKNMS; 01GI1307B).

Conflict of interest We declare that we have no conflict of interest.

References

1. Healy BC, Arora A, Hayden DL, Ceccarelli A, Tauhid SS, Neema M, Bakshi R (2012) Approaches to normalization of spinal cord volume: application to multiple sclerosis. *J Neuroimaging* 22:e12–19
2. Kameyama T, Hashizume Y, Sobue G (1996) Morphologic features of the normal human cadaveric spinal cord. *Spine (Phila Pa 1976)* 21:1285–1290
3. Losseff NA, Webb SL, O'Riordan JI, Page R, Wang L, Barker GJ, Tofts PS, McDonald WI, Miller DH, Thompson AJ (1996) Spinal cord atrophy and disability in multiple sclerosis. A new reproducible and sensitive MRI method with potential to monitor disease progression. *Brain* 119:701–708
4. Anderson VM, Fernando KT, Davies GR, Rashid W, Frost C, Fox NC, Miller DH (2007) Cerebral atrophy measurement in clinically isolated syndromes and relapsing remitting multiple sclerosis: a comparison of registration-based methods. *J Neuroimaging* 17:61–68
5. Agosta F, Lagana M, Valsasina P, Sala S, Dall'Occhio L, Sormani MP, Judica E, Filippi M (2007) Evidence for cervical cord tissue disorganisation with aging by diffusion tensor MRI. *NeuroImage* 36:728–735
6. Ishikawa M, Matsumoto M, Fujimura Y, Chiba K, Toyama Y (2003) Changes of cervical spinal cord and cervical spinal canal with age in asymptomatic subjects. *Spinal Cord* 41:159–163
7. Yanase M, Matsuyama Y, Hirose K, Takagi H, Yamada M, Iwata H, Ishiguro N (2006) Measurement of the cervical spinal cord volume on MRI. *J Spinal Disord Tech* 19:125–129
8. Rashid W, Davies GR, Chard DT, Griffin CM, Altmann DR, Gordon R, Kapoor R, Thompson AJ, Miller DH (2006) Upper cervical cord area in early relapsing-remitting multiple sclerosis: cross-sectional study of factors influencing cord size. *J Magn Reson Imaging* 23:473–476
9. Freund PA, Dalton C, Wheeler-Kingshott CA, Glensman J, Bradbury D, Thompson AJ, Weiskopf N (2010) Method for simultaneous voxel-based morphometry of the brain and cervical spinal cord area measurements using 3D-MDEFT. *J Magn Reson Imaging* 32:1242–1247
10. Nunneman S, Wohlschläger AM, Gaser C, Ilg R, Conrad B, Zimmer C, Mühlau M (2009) Accelerated aging of the putamen in men but not in women. *Neurobiol Aging* 30:147–151

11. Mühlau M, Winkelmann J, Rujescu D, Giegling I, Koutsouleris N, Gaser C, Arsic M, Weindl A, Reiser M, Meisenzahl EM (2012) Variation within the Huntington's disease gene influences normal brain structure. *PLoS One* 7:e29809
12. Liptak Z, Berger AM, Sampat MP, Charil A, Felsovalyi O, Healy BC, Hildenbrand P, Khoury SJ, Weiner HL, Bakshi R, Guttmann CR (2008) Medulla oblongata volume: a biomarker of spinal cord damage and disability in multiple sclerosis. *AJNR Am J Neuroradiol* 29:1465–1470
13. Bezzola L, Merillat S, Gaser C, Jancke L (2011) Training-induced neural plasticity in golf novices. *J Neurosci* 31:12444–12448
14. Ashburner J (2007) A fast diffeomorphic image registration algorithm. *NeuroImage* 38:95–113
15. Good CD, Johnsrude I, Ashburner J, Henson RN, Friston KJ, Frackowiak RS (2001) Cerebral asymmetry and the effects of sex and handedness on brain structure: a voxel-based morphometric analysis of 465 normal adult human brains. *NeuroImage* 14:685–700
16. Good CD, Johnsrude IS, Ashburner J, Henson RN, Friston KJ, Frackowiak RS (2001) A voxel-based morphometric study of ageing in 465 normal adult human brains. *NeuroImage* 14:21–36
17. Hartley SW, Scher AI, Korf ES, White LR, Launer LJ (2006) Analysis and validation of automated skull stripping tools: a validation study based on 296 MR images from the Honolulu Asia aging study. *NeuroImage* 30:1179–1186
18. Miller AK, Corsellis JA (1977) Evidence for a secular increase in human brain weight during the past century. *Ann Hum Biol* 4:253–257
19. Peters M (1991) Sex differences in human brain size and the general meaning of differences in brain size. *Can J Psychol* 45:507–522
20. Friston KJ, Holmes A, Poline JB, Price CJ, Frith CD (1996) Detecting activations in PET and fMRI: levels of inference and power. *NeuroImage* 4:223–235
21. Ho KC, Gwozdz JT, Hause LL, Antuono PG (1992) Correlation of neuronal cell body size in motor cortex and hippocampus with body height, body weight, and axonal length. *Int J Neurosci* 65:147–153
22. Barkovich AJ (2000) Concepts of myelin and myelination in neuroradiology. *AJNR Am J Neuroradiol* 21:1099–1109
23. Sherman JL, Nassaux PY, Citrin CM (1990) Measurements of the normal cervical spinal cord on MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol* 11:369–372
24. Kerbrat A, Aubert-Broche B, Fonov V, Narayanan S, Sled JG, Arnold DA, Banwell B, Collins DL (2012) Reduced head and brain size for age and disproportionately smaller thalami in child-onset MS. *Neurology* 78:194–201
25. Nopoulos PC, Aylward EH, Ross CA, Mills JA, Langbehn DR, Johnson HJ, Magnotta VA, Pierson RK, Beglinger LJ, Nance MA, Barker RA, Paulsen JS (2011) Smaller intracranial volume in prodromal Huntington's disease: evidence for abnormal neurodevelopment. *Brain* 134:137–142

Danksagung

Mein aufrichtiger Dank gilt Herrn Prof. Dr. Mark Mühlau für die Themastellung und seine bereitwillige Unterstützung sowohl bei der Entwicklung der Methode als auch bei der Auswertung der Ergebnisse. Durch sein Engagement für das gesamte Projekt konnte ich stets effektiv arbeiten. Danken möchte ich auch Frau Dr. Christine Boucard für ihre Hilfsbereitschaft in technischen Fragestellungen.

Insbesondere danke ich meinen Eltern, die mir stets zur Seite stehen.