Nicht beeinflusst oder nicht beachtet? Neue Blickwinkel auf die kontraläsionale Hemisphäre bei Rasmussen-Enzephalitis

Eine morphometrische MRT-Studie

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

Bonn

Conrad Christoffer Prillwitz

aus Donaueschingen

2020

Angefertigt mit der Genehmigung

der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

- 1. Gutachter: Prof. Dr. med. Christian E. Elger, FRCP
- 2. Gutachter: Prof. Dr. med. Henning Boecker

Tag der Mündlichen Prüfung: 07.09.2020

Aus der Klinik und Poliklinik für Epileptologie Direktor: Prof. Dr. med. Rainer Surges

In Dankbarkeit meinen Eltern gewidmet.

Inhaltsverzeichnis

	Abkürzungsverzeichnis	6
1.	Deutsche Zusammenfassung	7
1.1	Einleitung	7
1.2	Material und Methoden	8
1.3	Ergebnisse	12
1.4	Diskussion	13
1.5	Zusammenfassung	16
1.6	Literaturverzeichnis der deutschen Zusammenfassung	17
2.	Veröffentlichung	20
	Abstract	20
	Introduction	20
	Materials and Methods	21
	Results	21
	Discussion	23
	References	25
	Supplementary material	27
3.	Danksagung	33

Abkürzungsverzeichnis

FWE	Family-wise Error
GLM	General Linear Model
MPRAGE	Magnetization-prepared Rapid Acquisition Gradient Echo
MRT	Magnet Resonanz Tomographie
RE	Rasmussen-Enzephalitis
т	Tesla
TE	Echo Time
TFCE	Threshold-free Cluster Enhancement
TR	Repetition Time
VBM	Voxel-based Morphometry
Voxel	Volumen-Pixel

1. Deutsche Zusammenfassung

1.1 Einleitung

Die Rasmussen-Enzephalitis (RE) ist eine chronische, immunvermittelte Erkrankung des Gehirns, welche durch therapierefraktäre fokale epileptische Anfälle, eine progressive unihemisphärische Atrophie und damit einhergehende neurologische Defizite gekennzeichnet ist (Bien et al. 2005). Betroffen von dieser seltenen Erkrankung sind, neben einzelnen im Erwachsenenalter auftretenden Fällen, insbesondere Kinder mit zuvor unauffälliger motorischer und kognitiver Entwicklung. Das durchschnittliche Erkrankungsalter liegt in dieser Gruppe bei sechs Jahren (Bien 2002). Es wird angenommen, dass die Veränderungen in den Gehirnen betroffener Patienten, welche mittels Histopathologie und Magnet Resonanz Tomographie (MRT) ermittelt werden können, strikt auf eine Hemisphäre begrenzt sind. Eine massive ipsiläsionale Atrophie konnte in mehreren MRT-Studien gefunden werden, wobei die Graue Substanz im zeitlichen Verlauf einen stärkeren Volumenrückgang als die Weiße Substanz aufwies. Atrophie der kontraläsionalen Hemisphäre wurde in früheren Studien nur am Rande erwähnt und erst kürzlich systematisch in einer Bildgebungsstudie untersucht (Rudebeck et al. 2018). Rudebeck und Kollegen verwendeten Voxel-based morphometry (VBM) um die auf Basis von MR-Daten gemessenen Volumenänderungen der Gehirne von RE-Patienten im zeitlichen Verlauf abzubilden. Dabei fanden sie einen bilateralen progressiven Volumenrückgang der kortikalen Grauen Substanz, welcher in einem frühen chronischen Stadium der Erkrankung auf der kontraläsionalen Hemisphäre sogar stärker ausgeprägt war als auf der ipsiläsionalen. Dies ist sehr überraschend, da die kontraläsionale Hemisphäre allgemein als von dem zugrundeliegenden pathologischen Prozess unbeeinträchtigt gilt. In diesem Modell, mit einer betroffenen und einer nicht betroffenen Hemisphäre, könnten tatsächlich eher kompensatorische Prozesse in der kontraläsionalen Hemisphäre vermutet werden, welche für gewöhnlich mit einer Volumenzunahme der Grauen Substanz einher gehen. Eine solche Volumenzunahme konnte bisher nicht beobachtet werden, was jedoch auf die geringen Fallzahlen sowie die noch geringere Anzahl an Bildgebungsstudien zurückzuführen sein könnte. Die wenigen vorhandenen Bildgebungsstudien haben an RE erkrankte Kinder in akuten Stadien der

Erkrankung (≤ 2 Jahre nach Erkrankungsbeginn, in Bezug auf vorherige Studien) sowie in frühen chronischen Stadien (> 2 Jahre nach Erkrankungsbeginn) untersucht (Bien et al. 2005). Die späteren chronischen Stadien der RE wurden bisher bildgebungstechnisch nicht untersucht, und dementsprechend wenig ist über den langfristigen Verlauf der Erkrankung bekannt.

In der vorliegenden Arbeit haben wir ein optimiertes VBM Protokoll in sowohl einem Längs- als auch Querschnittsdesign verwendet, um Veränderungen und Unterschiede der Volumina der Grauen Substanz in den Gehirnen junger erwachsener RE Patienten zu finden. Zur Validierung der VBM Ergebnisse wurden sämtliche Analysen mittels einer oberflächenbasierten Methodik wiederholt. Im Gegensatz zu vorherigen Studien lag der Fokus unserer Untersuchung nicht auf der als betroffen (ipsiläsional), sondern der als unbetroffen (kontraläsional) geltenden Hemisphäre. In diesem Zusammenhang haben wir zwei Hypothesen formuliert: In der ipsiläsionalen Hemisphäre, und in Übereinstimmung mit früheren Bildgebungsstudien, erwarteten wir ein reduziertes Volumen der Grauen Substanz als Zeichen der strukturellen Degeneration. In der kontraläsionalen Hemisphäre jedoch, und im Gegensatz zu vorherigen Bildgebungsstudien, erwarteten wir eine Erhöhung der Volumina der Grauen Substanz als Anzeichen struktureller Kompensation. Da sowohl für die Diagnose als auch die Verlaufsbeschreibung der RE präzise MR-Messungen notwendig sind, ist ein besseres Verständnis der pathognomonischen Hirnveränderungen und ihre Darstellung in MRT Aufnahmen von sowohl klinischer als auch wissenschaftlicher Bedeutung.

1.2 Material und Methoden

Einundzwanzig RE Patienten (15 Frauen, mittleres Alter \pm Standardabweichung: 20,0 \pm 8,8 Jahre) und eine auf diese abgestimmte Kontrollgruppe von 89 Probanden (61 Frauen, mittleres Alter \pm Standardabweichung: 23,2 \pm 5,5 Jahre) ohne vorbekannte neurologische oder psychiatrische Erkrankungen wurden in diese Studie eingeschlossen. Alle Patienten wurden in der Klinik für Epileptologie des Universitätsklinikums Bonn behandelt. Um in diese retrospektive Bildgebungsstudie eingeschlossen zu werden, mussten folgende Bedingungen erfüllt sein: (1) RE Diagnose nach den von Bien et al. (2005)

vorgeschlagenen Kriterien, (2) Erkrankungsbeginn, im Sinne von Erstauftreten RE typischer Symptome, vor dem Beginn des 19. Lebensjahres sowie (3) die Verfügbarkeit mindestens einer T1-gewichteten MRT Aufnahme des hiesigen 3 Tesla (T) Scanners. MRT Aufnahmen, welche nach neurochirurgischen Eingriffen wie etwa einer Hemisphärektomie als einzige kurative Behandlungsoption der RE aufgenommen wurden, sind dabei nicht berücksichtigt worden. Daten von 21 diese Kriterien erfüllenden Patienten waren verfügbar, wobei für elf dieser Patienten zu zwei oder mehr Zeitpunkten T1-gewichtete MRT Aufnahmen gemessen wurden. Diese elf Patienten wurden neben der Querschnittsuntersuchung auch in den longitudinalen Studienarm aufgenommen. Für weitere Informationen über die Patientengruppe siehe Tabelle 1 der Originalpublikation. Das Design dieser Studie stellt sich somit insgesamt wie folgt dar: In einer ersten Analyse wurde das Volumen der Grauen Substanz der 21 Patienten mit dem der 89 Kontrollprobanden verglichen. Falls mehr als eine T1-gewichtete Aufnahme für einen Patienten vorhanden war, so wurde die zum spätesten Zeitpunkt gemessene Aufnahme in die Querschnittsuntersuchung eingeschlossen, um insbesondere die späten Stadien der Erkrankung analysieren zu können. Zusätzlich wurde eine longitudinale Analyse durchgeführt, in welcher das Volumen der Grauen Substanz innerhalb der Patientengruppe im zeitlichen Verlauf untersucht wurde. Hierfür wurden für alle Patienten mit mehr als einem Messzeitpunkt die frühesten mit den spätesten verfügbaren MRT Aufnahmen verglichen. Um die Ergebnisse dieser Analyse weiter zu validieren, wurden die elf frühen sowie die elf späten MRT Aufnahmen zusätzlich mit einer jeweils passend zusammengestellten Kontrollgruppe gesunder Probanden verglichen. Alle Untersuchungen der Probanden wurden auf Grundlage der revidierten Deklaration von Helsinki des Weltärztebundes (1983) und den entsprechenden gesetzlichen Grundlagen durchgeführt.

Sämtliche Bildgebungsdaten wurden mit einem 3T Siemens MAGNETOM Trio (Siemens Healthineers, *Erlangen, Germany*) Tomographen unter Verwendung einer acht-kanal Kopfspule erhoben. Dabei wurde zu jedem Messzeitpunkt eine T1-gewichtete *magnetization-prepared rapid acquisition gradient echo* (MPRAGE) Sequenz mit den folgenden Parametern gemessen: Größe der Volumen-Pixel (Voxel) = $1,0 \times 1,0 \times 1,0 \text{ mm}^3$, *Repetition Time* (TR) = 1570 ms, *Echo Time* (TE) = 3,42 ms, *flip angle* = 15° , Matrix = 256×256 Pixel. Anfang 2014 wurde ein Update des verwendeten Tomographen

durchgeführt, weshalb sämtliche T1-gewichteten Aufnahmen nach diesem Zeitpunkt mit einer 32-kanal Kopfspule und den folgenden Parametern gemessen wurden: Voxelgröße = $0.8 \times 0.8 \times 0.8 \text{ mm}^3$, TR = 1660 ms, TE = 2.54 ms, flip angle = 9° , Matrix = 320×320 Pixel. Um für die Effekte der veränderten Datenaufnahme zu korrigieren wurde die Variable *Scanner Update* in alle durchgeführten Analysen eingeschlossen.

Die Vorverarbeitung der Bildgebungsdaten wurde an die Protokolle des Human Connectome Projects (Glasser et al. 2013) angelehnt und beinhaltete unter anderem Intensitätskorrekturen und die Erstellung von Hirnmasken, um Hirn- von Knochengewebe unterscheiden zu können. Um sowohl Patienten mit rechts- als auch linksseitigem Erkrankungsfokus miteinander vergleichen zu können, wurden die Hirne aller linksseitig betroffenen Patienten an der x-Achse gespiegelt. Derselbe Anteil an Datensätzen der Kontrollgruppe wurde ebenfalls an der x-Achse gespiegelt, um einer Verzerrung der Analyse vorzubeugen (Takao et al. 2011). Es folgte die Segmentierung der Hirne in Graue Substanz, Weiße Substanz und Liquor cerebrospinalis mittels des Softwarepakets Fast (Zhang et al. 2001) und die Erstellung einer individuellen Karte für jede Gewebeklasse eines jeden Probanden. Diese Karten zeigen für jeden Voxel die Wahrscheinlichkeit, mit gegebenen Gewebeklasse welcher gehört. Mittels non-linearer er zu der Transformationen wurde aus den Karten der Grauen Substanz ein für diese Studie spezifisches Template erstellt, welches das Koordinatensystem für die weiteren Analysen definiert. Die nativen Karten der Grauen Substanz wurden mittels non-linearer Transformationen in dieses Koordinatensystem übertragen und jeder Voxel mit der Jacobi-Determinante des entsprechenden Warpfeldpunktes multipliziert. Dieser Schritt ist einer der Hauptunterschiede zwischen dem klassischen und dem optimierten VBM Protokoll und korrigiert für die Verformungen durch die Transformation (Douaud et al. 2007). Insbesondere bei Vorliegen strukturell veränderter Hirne, so wie es bei einer RE der Fall ist, ist dieser Schritt wichtig, um das normalisierungsbedingte Auftreten von Gruppenunterschieden zu vermeiden und auf den Wahrscheinlichkeitskarten basierende präzise Volumina der Grauen Substanz zu erhalten.

Für die statistische Analyse wurde ein voxel-weises General Linear Model (GLM) mittels nicht-parametrischer Permutationstestung und 10.000 Wiederholungen verwendet. Der ungepaarte t-Test für den Gruppenunterschied zwischen der Patienten- und der

Kontrollgruppe wurde für die Variablen Alter bei Scan, Geschlecht und Scanner Update korrigiert. Der gepaarte t-Test für den Vergleich früher und später Patientenscans wurde entsprechend für das Zeitintervall zwischen den Scans und Scanner Update korrigiert. Der Family-wise Error (FWE) wurde für alle durchgeführten Tests mittels Threshold-free Cluster Enhancement (TFCE) kontrolliert (Smith und Nichols 2009). Zur Validierung der Ergebnisse wurden die frühen und späten Patientenscans zusätzlich in einem Querschnittsdesign mit jeweils abgestimmten Kontrollgruppen verglichen.

Zusätzlich zu der volumenbasierten VBM Analyse wurde eine oberflächenbasierte Messung der kortikalen Dicke als weiteres Verfahren zur Detektion topographischer Unterschiede der Grauen Substanz durchgeführt. Da dieses Verfahren äußerst anfällig für anatomische Defekte ist, wurde die Messung der kortikalen Dicke auf die kontraläsionale Hemisphäre begrenzt. Die Rekonstruktion der kortikalen Oberflächen wurde mittels der Freesurfer Software Tools (Dale et al. 1999) nach den Protokollen des Human Connectome Project (Glasser et al. 2013) erstellt. Die Prozessierung der Daten beinhaltete unter anderem die Entfernung von Knochen und Weichteilstrukturen des Schädels, die Korrektur von Intensitätsinhomogenitäten, automatisierte Transformationen in den Talairach Koordinatenraum, eine Segmentation der subkortikalen Strukturen der Weißen Substanz sowie der tiefen Strukturen der Grauen Substanz. Intensitätsnormalisierungen, Rekonstruktion der Oberfläche zwischen Grauer und Weißer Substanz und automatisierte Korrektur topologischer Fehler in dieser Oberfläche. Die Faltung der Oberfläche folgte dabei den Intensitätsgradienten an den Übergängen zwischen Grauer und Weißer Substanz sowie Grauer Substanz und Liquor cerebrospinalis, da die größte Veränderung der Intensitäten je Voxel den Übergang zwischen zwei Gewebeklassen definiert. Alle erstellten Oberflächenmodelle wurden visuell überprüft und, wo nötig, manuell korrigiert. Um sowohl rechts- als auch linksseitig betroffene Patienten miteinander vergleichen zu können, wurden sämtliche Daten für die oberflächenbasierten Analysen auf das symmetrische fsaverage_sym Template registriert (Greve et al. 2013).

Für die vertex-weise statistische Analyse wurden dieselben GLMs wie für die VBM Analysen verwendet. Zur FWE Korrektur wurde *cluster mass inference* mittels *random*

11

field theory verwendet (Winkler et al. 2016). Ein FWE korrigierter p-Wert von 0,001 wurde für alle Querschnittsuntersuchungen als Signifikanzgrenze festgelegt

1.3 Ergebnisse

Zwischen an RE erkrankten Patienten und gesunden Kontrollen zeigten sich ausgeprägte Unterschiede im Volumen der Grauen Substanz (siehe Abbildung 1 A der Originalpublikation). Die ipsiläsionale Hemisphäre der Patienten zeigte signifikant geringere Volumina der kortikalen und subkortikalen Grauen Substanz. Der gegensätzliche Kontrast, welcher auf größere Volumina in der ipsiläsionalen Hemisphäre im Vergleich zur Kontrollgruppe testete, lieferte kein signifikantes Ergebnis. In der kontraläsionalen Hemisphäre zeigten sich Erhöhungen der Volumina der Grauen Substanz in weiten Teilen des Kortex, der Amygdala und im Bereich des Hippocampus im Vergleich zur Kontrollgruppe. Der gegensätzliche Kontrast, welcher Areale identifizierte, in denen das Volumen der Grauen Substanz in Patienten kleiner war als im Vergleich zur Kontrollgruppe, ergab Cluster im Hirnstamm und im Thalamus. Zusätzlich fand sich in der Patientengruppe in beiden Kleinhirnhemisphären ein signifikant kleineres Volumen der Grauen Substanz.

Der Vergleich zwischen den frühen und späten Patientenscans ergab einen signifikanten bilateralen Volumenrückgang der Grauen Substanz des Thalamus und des Putamens (siehe Abbildung 1 B der Originalpublikation). Weitere signifikante Voxel fanden sich im Nucleus caudatus und Globus pallidum der kontraläsionalen Hemisphäre. Der gegensätzliche Kontrast, welcher für eine Volumenzunahme über die Zeit testete, lieferte keine signifikanten Ergebnisse. Ein FWE korrigierter p-Wert von 0,05 wurde als Signifikanzgrenze für alle Längsschnittanalysen verwendet. Im Querschnittsvergleich der frühen und späten Patientenscans mit ihren jeweiligen Kontrollgruppen zeigten sich ähnliche Ergebnisse wie in der Analyse der gesamten Patienten- und Kontrollgruppe (siehe Abbildung S2 der Originalpublikation).

Die oberflächenbasierte Analyse zeigte ausgedehnte Areale erhöhter kortikaler Dicke der kontraläsionalen Hemisphäre der Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die Cluster lagen, wie bei der volumenbasierten Analyse, im Bereich des Frontal-, Patietal- und Temporallappens, im Gegensatz zur VBM Analyse jedoch nicht im Bereich des insulären und unterem temporalen Kortex (siehe Abbildung S1 der Originalpublikation). In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der volumenbasierten Längsschnittuntersuchung konnten keine signifikanten kortikalen Unterschiede zwischen den frühen und späten Patientenscans gefunden werden.

1.4 Diskussion

Die vorliegende Studie zeigt ein neues Muster von Volumenveränderungen der Grauen Substanz, welches im Verlauf der Erkrankung an RE im Vergleich zwischen Patienten und gesunden Kontrollprobanden beobachtet werden kann. Dabei zeigen Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden ein niedrigeres Volumen der Grauen Substanz des ipsiläsionalen Kortex und der bilateralen subkortikalen Strukturen, jedoch ein höheres Volumen im Bereich des kontraläsionalen Kortex. Bei den Patienten, für welche longitudinale Daten vorhanden waren, zeigte sich ein bilateraler Rückgang der Grauen Substanz subkortikaler Strukturen.

Die in der ipsiläsionalen Hemisphäre gefundenen Ergebnisse stimmen mit den Resultaten vorheriger Studien überein (Wagner et al. 2012; Rudebeck et al. 2018), und sind als Bildgebungskorrelate der voranschreitenden Atrophie zu interpretieren. Dieser atrophische Prozess kann grundsätzlich jede Hirnregion betreffen, allerdings berichten aktuelle Studien übereinstimmend, dass dieser besonders in Bereichen des frontalen und insulären Kortex auftritt (Rudebeck et al. 2018; Wagner et al. 2012; Wang et al. 2016). Dieser Befund deckt sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie, in welcher die in der Querschnittsuntersuchung gefundenen Gruppenunterschiede in eben diesen Regionen besonders stark ausgeprägt sind. Die Befunde der kontraläsionalen Hemisphäre sind jedoch in ihrer Form neu und lassen die späte chronische Phase der RE in einem neuen Licht erscheinen. Diese soll im Folgenden näher diskutiert werden.

Bisher haben drei Studien über *atrophische* Prozesse der kontraläsionalen Hemisphäre bei RE Patienten berichtet: (Wagner et al. 2012) und (Wang et al. 2016) berichteten über einen gering ausgeprägten Volumenrückgang der kontraläsionalen Hemisphäre, und

Rudebeck et al. (2018) berichteten, dass dieser in einem Zeitraum von drei bis sechs Jahren nach Erkrankungsbeginn im insulären und mesiofrontalen Kortex sogar den auf der ipsiläsionalen Hemisphäre beobachteten überstieg. Larionov et al. (2005) liefern in ihrer Arbeit vier mögliche Erklärungsansätze für die beobachtete Atrophie der kontraläsionalen Hemisphäre bei RE: 1) Sekundäre Wallersche Degeneration aufgrund von in der ipsiläsionalen Hemisphäre entspringenden Kommissuralfasern, 2) Einwirkungen der epileptischen Anfälle und/oder der Behandlung dieser, 3) Einwirkung durch die Immuntherapie der RE, und 4) schädigende Einflüsse durch den selben pathologischen Prozess welcher die ipsiläsionale Hemisphäre betrifft. Dabei rücken die Erklärungsansätze 2) und 3) für diese Studie in den Hintergrund, da sie als global auf das Hirn einwirkende Noxen schwer mit den Befunden eines höheren Volumens des kontraläsionellen Kortex zu vereinbaren sind. Ein bilateraler pathologischer Prozess, wie unter 4) genannt, erscheint ebenfalls wenig wahrscheinlich, wenn man zusätzlich die klinisch einseitige Manifestation neurologischer Symptome, den therapeutischen Effekt der Hemisphärotomie sowie die histopathologisch unilateral beobachtete Neurodegeneration mit einbezieht. Diese neurodegenerativen Effekte, welche sich histologisch bei RE Patienten als multifokale kortikale Entzündungsreaktion mit Involvierung neuroglialer Zellen und Lymphozyten sowie einem ausgeprägten Absterben neuronaler Zellen manifestiert, ist jedoch nach bisherigen Erkenntnissen strikt auf eine Hemisphäre begrenzt (Pardo et al. 2004). Die in dieser Studie beobachtete bilaterale Atrophie der subkortikalen Strukturen, welche als "tiefster Fokus der RE" bezeichnet wurden (Chiapparini et al. 2003), ist daher am ehesten auf sekundäre degenerative Prozesse zurückzuführen.

Die höheren Volumina der kontraläsionalen Grauen Substanz interpretieren wir als Bildgebungskorrelate der fortlaufenden kompensatorischen Remodellierung in Reaktion auf die ipsiläsionale Degeneration. Dass homologe Areale einer Hemisphäre Läsionen der anderen Hemisphäre kompensieren können, ist eine weit verbreitete Annahme, und lässt sich am eindrücklichsten am Beispiel der Sprachreorganisation nach Schäden der linken Hemisphäre beobachten (Staudt et al. 2002). Die neuronalen Prozesse, welchen die kompensatorische Remodellierung zugrunde liegt, beinhalten unter anderem Veränderungen der Morphologie der Neurone, die Entstehung neuer Synapsen zwischen den Neuronen sowie ausgeprägte Reaktionen der Gliazellen. Das Zusammenspiel dieser Vorgänge schlägt sich in der MR-Bildgebung nach allgemeiner Einschätzung als Erhöhung der Volumina der kortikalen Grauen Substanz nieder, wie sie mittels VBM oder oberflächenbasierter Messung der kortikalen Dicke bestimmt werden kann (Zatorre et al. 2012).

Es stellt sich die Frage, weshalb dieser Befund nicht in den bisher zwar wenigen, aber vorhandenen Bildgebungsstudien zur RE erhoben werden konnte. Dies liegt vermutlich in einer Kombination mehrerer Faktoren begründet, von denen zwei besondere Aufmerksamkeit verdienen: Das Alter der untersuchten Patienten und die verwendete Messmethode. Alle bisherigen Bildgebungsstudien zur RE haben sich auf die akute und frühe chronische Phase (bis zu sechs Jahre nach Symptombeginn) der Erkrankung konzentriert. Für lediglich vier der 18 von Larionov et al. (2005) betrachteten Patienten und lediglich zwei der zwölf von Wagner et al. (2012) inkludierten Patienten lagen MR Daten vor, welche außerhalb einer Sechsjahresfrist seit Symptombeginn aufgenommen wurden. Die Patientengruppe welche von Rudebeck et al. (2018) untersucht wurde, ist im Schnitt 3,8 und 6,6 Jahre nach Erstauftreten der RE Symptome gemessen worden. Um den Einfluss vorhergehender Kompensationsprozesse im Querschnittsteil dieser Studie möglichst gut messen zu können, wurde bewusst der in Bezug auf den Erkrankungsbeginn späteste verfügbare Patientenscan inkludiert. Dies resultiert in einem durchschnittlichen Zeitintervall von 10,2 Jahren zwischen Erkrankungsbeginn und Messung der T1-gewichteten Sequenz der hier untersuchten Patientengruppe. Es wird angenommen, dass RE nach sechs Jahren in eine statische Phase übergeht (Bien et al. 2005), kompensatorische Prozesse jedoch auch danach weiter stattfinden. Es gibt zwei Gründe, eine spät stattfindende plastische Reaktion der kontraläsionalen Hemisphäre anzunehmen: Zum einen könnten kompensatorische durch degenerative Effekte überdeckt werden, solange letztere noch stattfinden. Zum anderen wäre es denkbar, dass kompensatorische Effekte der kontraläsionalen Hemisphäre erst dann eintreten können, sobald diese nicht mehr durch inhibitorische interhemisphärische Einflüsse der ipsiläsionalen Hemisphäre beeinflusst werden (Manganotti et al. 2008). Unter diesen Annahmen wäre es möglich, dass die in vorherigen Bildgebungsstudien untersuchten Patienten noch nicht lange genug an RE erkrankt waren, um die kompensatorischen

Veränderungen der kontraläsionalen Hemisphäre messen zu können. Darüber hinaus spielt die zur Detektion der Veränderungen verwendete Methodik eine Rolle. Die in früheren Studien verwendeten planimetrischen (Bien 2002) und volumetrischen (Wagner et al. 2012) Verfahren sind ungeeignet, um Veränderungen innerhalb einer einzelnen Hirnregion auflösen zu können, und das von Rudebeck et al. (2018) verwendete unmodulierte VBM Verfahren unterscheidet sich in wesentlichen Punkten von dem hier genutzten.

1.5 Zusammenfassung

Die vorliegende Studie zeigt ein bisher nicht beobachtetes Muster von Veränderungen der Grauen Substanz in den Gehirnen von RE Patienten in einem späten chronischen Stadium der Erkrankung. Die kontraläsionale Hemisphäre der Patienten zeigt im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden ein höheres Volumen der kortikalen grauen Substanz. Dies interpretieren wir als Bildgebungskorrelat eines stattfindenden kompensatorischen Prozesses. Um die funktionelle Relevanz dieses Befundes zu klären sind weiterführende Studien mit größeren Längsschnitt-Datensätzen von Nöten. 1.6 Literaturverzeichnis

Bien CG. The Natural History of Rasmussen's Encephalitis. Brain 2002; 125: 1751–1759

Bien CG, Granata T, Antozzi C, Cross JH, Dulac O, Kurthen M, Lassman H, Mantegazza R, Villemure JG, Spreafico J, Elger CE. Pathogenesis, Diagnosis and Treatment of Rasmussen Encephalitis: A European Consensus Statement. Brain 2005; 128: 454–471

Chiapparini L, Granata T, Farina L, Ciceri E, Erbetta A, Ragona F, Freri E, Fusco L, Gobbi G, Capovilla G, Tassi L, Giordano L, Viri M, Dalla-Bernardina B, Spreafico R, Savoiardo M. Diagnostic Imaging in 13 Cases of Rasmussen's Encephalitis: Can Early MRI Suggest the Diagnosis?. Neuroradiology 2003; 45: 171–183

Dale AM, Fischl B, Sereno MI. Cortical Surface-Based Analysis: I. Segmentation and Surface Reconstruction. Neuroimage 1999; 9: 179–194

Douaud G, Smith SM, Jenkinson M, Behrens T, Johansen-Berg H, Vickers J, James S, Voets N, Watkins K, Matthews PM, James A. Anatomically Related Grey and White Matter Abnormalities in Adolescent-Onset Schizophrenia. Brain 2007; 130: 2375–2386

Glasser MF, Sotiropoulos SN, Wilson JA, Coalson TS, Fischl B, Andersson JL, Xu J, Jbabdi S, Webster M, Polimeni JR, Van Essen DC, Jenkinson M. The Minimal Preprocessing Pipelines for the Human Connectome Project and for the WU-Minn HCP Consortium. Neuroimage 2013; 80: 105–124

Greve DN, Van der Haegen L, Cai Q, Stufflebeam S, Sabuncu MR, Fischl B, Brysbaert M. A Surface-Based Analysis of Language Lateralization and Cortical Asymmetry. J Cogn Neurosci 2013; 25: 1477–1492

Larionov S, König R, Urbach H, Sassen R, Elger CE, Bien CG. MRI Brain Volumetry in Rasmussen Encephalitis: The Fate of Affected and 'Unaffected' Hemispheres. Neurology 2005; 64: 885–887

Manganotti P, Acler M, Zanette GP, Smania N, Fiaschi A. Motor Cortical Disinhibition during Early and Late Recovery after Stroke. Neurorehabil Neural Repair 2008; 22: 396–403

Pardo CA, Vining EPG, Guo L, Skolasky RL, Carson BS, Freeman JM. The Pathology of Rasmussen Syndrome: Stages of Cortical Involvement and Neuropathological Studies in 45 Hemispherectomies. Epilepsia 2004; 45: 516–526

Rudebeck SR, Cross JH, Shavel-Jessop S, Varadkar S, Owen T, Baldeweg T. Pre- and Postsurgical Cognitive Trajectories and Quantitative MRI Changes in Rasmussen Syndrome. Epilepsia 2018; 00: 1–10

Smith SM, Nichols TE. Threshold-Free Cluster Enhancement: Addressing Problems of Smoothing, Threshold Dependence and Localisation in Cluster Inference. Neuroimage 2009; 44: 83–98

Staudt M, Lidzba K, Grodd W, Wildgruber D, Erb M, Krägeloh-Mann I. Right-Hemispheric Organization of Language Following Early Left-Sided Brain Lesions: Functional MRI Topography. Neuroimage 2002; 16: 954–967

Takao H, Abe O, Yamasue H, Aoki S, Sasaki H, Kasai K, Yoshioka N, Ohtomo K. Gray and White Matter Asymmetries in Healthy Individuals Aged 21-29 Years: A Voxel-Based Morphometry and Diffusion Tensor Imaging Study. Hum Brain Mapp 2011; 32: 1762–1773

Wagner J, Schoene-Bake JC, Bien CG, Urbach H, Elger CE, Weber B. Automated 3D MRI Volumetry Reveals Regional Atrophy Differences in Rasmussen Encephalitis. Epilepsia 2012; 53: 613–621

Wang ZI, Krishnan B, Shattuck DW, Leahy RM, Moosa ANV, Wyllie E, Burgess RC, Al-Sharif NB, Joshi AA, Alexopoulos AV, Mosher JC, Udayasankar U, Jones SE. 2016. Automated MRI Volumetric Analysis in Patients with Rasmussen Syndrome. Am J Neuroradiol 2016; 37: 2348–2355

Winkler AM, Ridgway GR, Douaud G, Nichols TE, Smith SM. Faster Permutation Inference in Brain Imaging. Neuroimage 2016; 141: 502–516

Zatorre RJ, Fields RD, Johansen-Berg H. Plasticity in Gray and White: Neuroimaging Changes in Brain Structure during Learning. Nat Neurosci 2012; 15: 528–536

Zhang Y, Brady M, Smith SM. Segmentation of Brain MR Images through a Hidden

Markov Random Field Model and the Expectation-Maximization Algorithm. IEEE Trans. Med. Imag. 2001; 20: 45–57

2. Veröffentlichung

Received: 5 June 2018 Revised: 5 March 2019 Accepted: 7 March 2019 DOI: 10.1111/epi.14702

BRIEF COMMUNICATION

Epilepsia

Morphometric MRI findings challenge the concept of the "unaffected" hemisphere in Rasmussen encephalitis

Bastian David¹ | Conrad C. Prillwitz¹ | Christian Hoppe¹ | Robert Sassen¹ | Sophia Hörsch¹ | Bernd Weber¹ | Elke Hattingen^{2,3} | Christian E. Elger¹ | Theodor Rüber¹

¹Department of Epileptology, University of Bonn Medical Center, Bonn, Germany ²Department of Radiology, University of Bonn Medical Center, Bonn, Germany ²Department of Neuroradiology, Goethe University Frankfurt, Frankfurt, Germany

Correspondence

Theodor Rüber, Department of Epileptology, University of Bonn Medical Center, Bonn, Germany. Email: theodor.rueber@ukbonn.de

Funding information

BONFOR research commission of the medical faculty of the University of Bonn, Grant/Award Number: 2016-8-07 and 2017-6-02

Summary

Rasmussen encephalitis (RE) is an immune-mediated brain disease with progressive unihemispheric atrophy. Although it is regarded as a strictly one-sided pathology, volumetric magnetic resonance imaging (MRI) studies have revealed atrophy in the so-called unaffected hemisphere. In contrast to previous studies, we hypothesized that the contralesional hemisphere would show increased gray matter volume in response to the ipsilesional atrophy. We assessed the gray matter volume differences among 21 patients with chronic, late-stage RE and 89 age- and gender-matched healthy controls using voxel-based morphometry. In addition, 11 patients with more than one scan were tested longitudinally. Compared to controls, the contralesional hemisphere of the patients revealed a higher cortical volume but a lower subcortical gray matter volume (all P < 0.001, unpaired t test). Progressive gray matter volume losses in bilateral subcortical gray matter structures were observed (P < 0.05, paired t test). The comparatively higher cortical volume in the contralesional hemisphere can be interpreted as a result of compensatory structural remodeling in response to atrophy of the ipsilesional hemisphere. Contralesional subcortical gray matter volume loss may be due to the pathology or its treatment. Because MRI provides the best marker for determining the progression of RE, an accurate description of its MRI features is clinically relevant.

KEYWORDS

autoimmune disease, epilepsy, MRI, neuroplasticity, neuroradiology, pediatric neurology

1 | INTRODUCTION

Rasmussen encephalitis (RE) is a chronic, immune-mediated brain disease that is characterized by therapy-refractory focal epilepsy and progressive unilateral atrophy with concurrent neurologic dysfunction.^{1,2} Accordingly, volumetric magnetic resonance imaging (MRI) studies have confirmed

David and Prillwitz contributed equally.

massive atrophy of the ipsilesional hemisphere.^{3–5} Atrophy of the contralesional hemisphere has been described anecdotically^{3,4} and was confirmed by the first study using voxelbased morphometry (VBM) in RE patients.⁶ Rudebeck and colleagues recently discovered a progressive cortical gray matter (GM) decline in the unaffected hemisphere that was even *more* pronounced than in the affected hemisphere of patients with chronic, early stage RE.⁶ This is surprising as the contralesional hemisphere is thought to be *unaffected* by

e40 Wiley Periodicals, Inc. © 2019 International League Against Epilepsy

the pathologic process and might compensate for losses of the ipsilesional hemisphere.⁷ However, the scant number of imaging studies with RE patients has investigated either the acute-stage (≤ 2 years after disease onset, according to previous studies^{8,9}) or the chronic, early stage (>2 years after disease onset) of RE in childhood, and therefore, little is known about the later trajectory of the disease. It was our objective to assess the GM volume differences and changes in patients with chronic, late-stage RE, using an optimized VBM protocol in both cross-sectional and longitudinal study designs. We hypothesized that the ipsilesional hemisphere would show GM volume loss and, thus, indicate atrophy (which is in line with previous studies), whereas the contralesional hemisphere would show an increase in GM volume (which is in contrast to previous findings), and, thus, reflect structural compensation.

2 | METHODS

2.1 | Study group and design

In this study, we retrospectively analyzed 21 RE patients (15 women, mean age \pm standard deviation [SD]: 20.00 ± 8.78 years) and 89 matched healthy controls (61 women, mean age \pm SD: 23.20 \pm 5.50 years). Patients underwent treatment at the University of Bonn Medical Center Department of Epileptology and met the following inclusion criteria: (a) a RE diagnosis that was determined according to the criteria set forth by Bien and colleagues²; (b) disease onset before 19 years of age, whereby disease onset was defined as the time at which the RE symptoms first appeared; and (c) the availability of at least one T1-weighted volume acquired on our 3T scanner. The postoperative scans of patients who had undergone neurosurgery (eg, hemispherotomy) were excluded from the analysis. From the remaining 21 patients, 11 were scanned at least twice. Sixteen of the 21 had received immunotherapy, and all patients except one received antiepileptic medication. Results of intelligence quotient (IO), motor, and language tests (if conducted) as well as clinical and demographic details of the groups are provided in Table 1. In the first cross-sectional analvsis, we compared the GM volume of all 21 patients and the control group. If the patients were scanned more than once, the latest scan was included in the cross-sectional design. To prove the reliability of our results, we independently compared rightlesional (n = 10) and left-lesional (n = 11) RE patients against the control group (n = 89). To further validate the test results of the cross-sectional comparison, all of the early and late scans were compared to two matched control groups. Second, a longitudinal design was set up that compared the GM volumes of the earliest scans (n = 11) against the latest scans (n = 11); please see Figure S3 for an overview of tests conducted). The study was approved by the local institutional review board and all participants provided written informed consent.

2.2 | Image acquisition

Imaging data were acquired with a 3T Siemens MAGNETOM Trio (Siemens Healthineers). The factor *scanner update* was included as a covariate in all of the analyses performed (see subsequent text), because the data were acquired with two different head coils. Please see Data S1 for details.

2.3 | Image preprocessing and analysis

Preprocessing was conducted according to the structural preprocessing pipeline outlined in the *Human Connectome Project*.¹¹ For the cross-sectional comparison of the respective contralesional and ipsilesional hemispheres, the GM partial volume estimates of those RE patients exhibiting a left hemispheric disease focus were flipped along the *x*-axis as were an equal proportion of controls. The resulting partial-volume estimates were then passed on to the optimized voxel-based morphometry protocol of the FMRIB Software Library.¹²

For the statistical analysis, a voxel-wise general linear model was applied using nonparametric permutation inference with 10 000 repetitions. The two-sample unpaired *t* test between patients and controls was adjusted for *age at scan, gender*, and *scanner update*. Similarly, the paired *t* test of early and late scans was adjusted for the *time interval* between the two scan time points compared. All results were familywise error (FWE) corrected for multiple comparisons using threshold-free cluster enhancement. As voxel-based methods were shown to be less reliable than surface-based methods in longitudinal study designs,¹³ we re-ran both the cross-sectional as well as the longitudinal VBM analyses on the contralesional hemisphere using a standard surface-based approach provided by FreeSurfer v6.0.0 (Data S1).¹⁴

3 | RESULTS

3.1 Cross-sectional volume differences

RE patients and healthy controls displayed widespread differences in GM volume (see Figure 1A for details). Compared to the control group, the RE patients displayed significantly lower cortical and subcortical GM volume in the ipsilesional hemisphere. The opposite contrast did not yield any significant clusters in the ipsilesional hemisphere. In the contralesional hemisphere, RE patients displayed significantly higher GM volume in widespread cortical areas, in the hippocampus, and in the amygdala as compared to controls. A surface-based analysis measuring cortical thickness confirmed greater cortical thickness in the contralesional hemisphere of RE patients (see Figure S1). The opposite contrast yielded clusters indicating significantly lower GM volume

ID ^{EEG}	Sex	Ipsilesional hemisphere	Age at onset (y)	Age at early scan ^a (y)	Age at late scan (y)	Early/late-scan interval ^a (mo)	Number of AEDs ^c	Immunotherapy ^b	IQ ^c	Motor ^c	Language ^c
Overview: Pat	tients and healt	hy controls									
1	F	Right	4	-	21	-	4	cort	-	Impaired	Impaired
2	М	Right	4	15	16	12	2	ivg	98	Normal	Impaired
3	F	Left	6	17	18	6	2	none	84	Impaired	-
4^d	F	Right	6	-	12	-	2	none	77	Borderline	Impaired
5	F	Left	7	-	20	-	0	ivg	100	Impaired	Impaired
6	F	Right	7	-	46	-	3	none	91	Paresis	Normal
7 ^e	М	Left	7	8	9	8	2	ivg	78	Normal	Strongly impaired
8	М	Right	7	12	14	20	2	ivg	81	Impaired	Impaired
9	F	Left	8	-	8	-	2	ivg	-	-	-
10	F	Left	8	-	18	-	3	none	-	Normal	Impaired
11	F	Left	8	9	16	79	1	ivg	110	-	-
12	F	Left	9	-	15	-	2	tac	77	Normal	Strongly impaired
13	М	Left	9	14	15	5	2	myc	101	Normal	Strongly impaired
14	М	Left	11	12	16	52	2	tac	98	-	-
15	F	Left	12	-	30	-	3	tac	98	Normal	Normal
16	F	Right	13	19	24	63	4	тус	84	Borderline	Impaired
17	F	Right	14	20	20	1	4	тус	93	-	-
18	М	Left	14	-	19	-	4	ivg	52	-	Strongly impaired
19	F	Right	17	-	20	67	2	none	100	Impaired	Impaired
20	F	Right	17	29	34		3	cort	100	-	Borderline
21	F	Right	18	24	29	67	4	ivg	-	-	-
Summary Me	$ean \pm SD$										
Complete group (n = 21)	15 females	11 left	9.81 ± 4.25	-	20.00 ± 8.78	-	2.52 ± 1.07	See legend	89.53 ± 13.92	See legend	See legend
											(Continues)

TABLE 1 Demographic and clinical details of patients and healthy controls

(Continued) TABLE 1

EEG	Sex	Ipsilesional hemisphere	Age at onset (y)	Age at early scan ^a (y)	Age at late scan (y)	Early/late-scan interval ^a (mo)	Number of AEDs ^c	Immunotherapy ^b	IQ ^c	Motor ^c	Language ^c
Control group $(n = 89)$	61 females	1	1	·	23.20 ± 5.50	1		1	1		
Longitudinal group $(n = 11)$	6 females	5 left	10.36 ± 4.61	16.27 ± 6.39	19.18 ± 7.21	34.54 ± 30.72		1	ı	T	
ssing values ind D, antiepileptic	icate that the te drug; F, female	est has not been conducted. e; M, male; cort, high-dose	steroids (2/21); tac	, oral tacrolimus (3/21); myc, mycoj	phenolate mofetil (3.	/21); none (5/21)	; ivg, intravenous immu	moglobulins (8/21)). In most cases,	ivg, tac, and myc

Mis

Books; 1980); normal, 6/21; impaired, 5/21; paresis, 1/21; borderline, 2/21; not tested, 7/21. Language tests include common language fluency tests; normal, 2/21; impaired, 8/21; strongly impaired 4/21; borderline 1/21; not tested 5/21. vere Å

Epileptiform or slow EEG over the contralesional hemisphere at early scan time point Epileptiform or slow EEG over the contralesional hemisphere at late scan time point. In case, more than one scan is available. ^bBefore first scan. At first scan.

Epilepsia^{____}

within the brainstem and the thalamus of the contralesional hemisphere of RE patients. Suprathreshold voxels, which indicate a lower GM volume in patients as compared to controls, were also found in both cerebellar hemispheres. The widespread patterns of GM volume differences were confirmed in separate tests of patients with right and left disease focus against the control group, respectively (see Figure S2). An FWE-corrected, P value threshold of 0.001 was applied in all cross-sectional tests.

3.2 | Longitudinal volume differences

Comparisons between early and late scans revealed a significant volume decrease in bilateral subcortical GM in the thalamus and the putamen (see Figure 1B for details). In the contralesional hemisphere, suprathreshold voxels indicating significant volume decrease also covered parts of the globus pallidus and the caudate nucleus. No cortical GM changes could be detected. The opposite contrast testing for an increase in GM volume did not yield any significant clusters. An FWE-corrected, P value threshold of 0.05 was applied in all longitudinal tests. The surface-based analysis is restricted to cortical GM and no changes were detected, thus confirming the results of the VBM analysis (see Data S1 for details). Cross-sectional tests among early patient scans, late patient scans, and two matched control groups yielded results similar to those of the full cross-sectional design.

4 DISCUSSION

The current study demonstrates a novel pattern of GM volume alterations of the ipsilateral and contralesional hemispheres in RE patients: compared to controls, RE patients display a lower volume of cortical and subcortical GM in the ipsilesional hemisphere. The contralesional hemisphere of the patients revealed a higher cortical volume but a lower subcortical GM volume. Progressive GM volume losses in bilateral subcortical GM structures were observed.

The finding of lower cortical GM volume in the ipsilesional hemisphere most likely constitutes the result of its preceding atrophy. Whereas any ipsilesional brain region can be affected, recent studies confirm that the frontal and the insular lobes are predilection sites.^{4–6} In the current study, group differences also appear to be particularly pronounced in these regions. Two previous studies also reported mild volume loss of the contralesional hemisphere.^{3,4} It seems implausible that this volume loss could be explained by bihemispheric pathologic activity when taking into account the one-sided neurologic symptoms, the therapeutic success of hemispherotomy, and the unihemispheric signs of neurodegeneration observed. Neurodegeneration describes the gradual loss of structure or function of neuronal systems. In RE patients, histologic



FIGURE 1 Volume differences (A) and changes (B). A, The cross-sectional comparison among 21 patients with Rasmussen encephalitis (RE) and 89 healthy controls yields widespread suprathreshold voxels indicating lower cortical volume in the ipsilesional hemisphere (blue-light blue) and higher cortical volume in the contralesional hemisphere of the patient group (red-yellow). Subcortical gray matter (GM) structures and the cerebellum show bilaterally lower GM volume in patients as compared to controls. For visualization purposes of cortical GM differences, the volumetric statistical map was additionally registered and resampled to the fsaverage surface model from FreeSurfer (see right side of the figure). B, The longitudinal comparison of early and late scans demonstrates a bilateral subcortical GM volume loss in 11 RE patients (green-light green). A threshold of familywise error (FWE)corrected P– < 0.05 was applied for visualization purposes of both test results. Cross-sectional tests among early patient scans, late patient scans, and a matched control group, respectively, yield results similar to the full cross-sectional design (not shown in this figure)

studies have found multifocal cortical inflammation with neuroglial and lymphocytic responses, as well as extensive neuronal death restricted to one cerebral hemisphere.¹⁵ The subcortical GM atrophy observed in this study might more likely be attributed to secondary neurodegeneration than to a contralesional pathologic process. In contrast, the higher contralesional cortical GM volume most likely reflects the result of preceding compensatory remodeling in response to the neurodegeneration of the ipsilesional hemisphere. The idea that one hemisphere can compensate for losses has been substantiated by several studies. Most convincingly, language organization is induced in the right hemisphere when a lesion has occurred on the left side.¹⁶ Compensation is enabled by neuroplastic reorganization involving several processes

DAVID ET AL

such as changes in neuronal morphology, synaptogenesis, and gliogenesis, and is generally believed to cause higher cortical GM volume.¹⁷ The fact that this observation has not been made in previous imaging studies in RE patients is most likely due to a combination of factors, including the age of the study group and differences in methodology. It is important to note that previous RE imaging studies investigated patients mostly in the acute stage or the chronic, early phase of the disease (up to 6 years after disease onset). In previous studies, patients had undergone MRI on average 2.3 and 3.7 years after disease onset,3 0.8 and 3.8 years after disease onset.³ or 3.8 and 6.6 years after disease onset.⁶ For this current study, the interval between onset of disease and the MRI scan was on average 10.19 years. RE is considered to be at the static stage up to 6 years after disease onset,9 and compensatory remodeling may well be expected to occur in this static stage. Potential explanations for late structural remodeling are twofold. First, the contralesional remodeling may be unmasked after neurodegeneration has halted, or it may be enabled only after disinhibition of the contralesional hemisphere, which had been hampered by inhibitory influences from the ipsilesional hemisphere before its full neurodegeneration.¹⁸ A second factor contributing to controversial results are the different methods used: planimetric⁸ and volumetric3-5 approaches utilized in previous studies are incapable of within-region localization, and the unmodulated VBM approach applied by Rudebeck and colleagues differs from the one used in this study.6

Furthermore, our EEG findings are not in line with the re-sults found in previous studies^{19,20}: Granata and colleagues¹⁹ found interictal EEG abnormalities in 8 of 12 patients and Longaretti and colleagues²⁰ reported 5 of 8 RE patients to show contralesional epileptiform activity. In the current study, epileptiform or slow EEG activity over the contralesional hemisphere is observed in only 2 of the 21 patients. This controversy may be due to the small number of EEG assessments at the scan time points included in the study, and the fact that the EEG assessments at the late scan time point fall deep within the chronic phase of the pathology. Because the number of EEG assessments of RE patients analyzed in previous studies was rather small as well, the incidence of contralesional EEG abnormalities in RE patients has to remain unclear. It should be noted that despite the manifestation of EEG abnormalities over the contralesional hemisphere, seizures from this hemisphere were never recorded and it appears unlikely that the contralesional EEG abnormalities are indicative of a bilateral pathologic process.¹

On clinical grounds, our MRI results suggest that the volumetry-based computation of the *hemispheric ratio*⁴ in routine use for progression monitoring of patients with RE is outdated, as it fails to draw a complete picture of the complex GM alterations found. We believe our results to be robust because the analyses have been carefully conducted and

Epilepsia^{____}

our results are corroborated by complementary approaches. However, our experimental group is limited in number and even more so is the longitudinal group. Furthermore, motor or cognitive tests have not been performed systematically and it remains unclear whether the alterations found are functionally relevant. It is hoped that longitudinal RE datasets will be analyzed with novel methods and related to clinical outcome measures.

ACKNOWLEDGEMENT

C.C. Prillwitz and T. Rüber have received funding from the BONFOR research commission of the medical faculty of the University of Bonn (2017-6-02 and 2016-8-07). B. David and C.C. Prillwitz are recipients of fellowships from *Bischöfliche Studienförderung Cusanuswerk*. The authors thank all patients with Rasmussen encephalitis and control subjects who participated in this study. They thank Laura Schinabeck (University of Bonn, Bonn, Germany) for technical assistance in data acquisition. Finally, the authors are grateful for the kind support provided by the *Verein zur Förderung der Epilepsieforschung e.V.*

DISCLOSURE

None of the authors has any conflict of interest to disclose. We confirm that we have read the Journal's position on issues involved in ethical publication and affirm that this report is consistent with those guidelines.

REFERENCES

- Varadkar S, Bien CG, Kruse CA, Jensen FE, Bauer J, Pardo CA, et al. Rasmussen's encephalitis: clinical features, pathobiology, and treatment advances. Lancet Neurol. 2014;13:195–205.
- Bien CG, Granata T, Antozzi C, Cross JH, Dulac O, Kurthen M, et al. Pathogenesis, diagnosis and treatment of Rasmussen encephalitis: a European consensus statement. Brain. 2005;128:454–71.
- Larionov S, König R, Urbach H, Sassen R, Elger CE, Bien CG. MRI brain volumetry in Rasmussen encephalitis: The fate of affected and "unaffected" hemispheres. Neurology. 2005;64:885–7.
- Wagner J, Schoene-Bake JC, Bien CG, Urbach H, Elger CE, Weber B. Automated 3D MRI volumetry reveals regional atrophy differences in Rasmussen encephalitis. Epilepsia. 2012;53:613–21.
- Wang ZI, Krishnan B, Shattuck DW, Leahy RM, Moosa AN, Wyllie E, et al. Automated MRI volumetric analysis in patients with rasmussen syndrome. AJNR Am J Neuroradiol. 2016;37(12):2348–55.
- Rudebeck SR, Cross JH, Shavel-Jessop S, Owen T, Cross JH, Vargha-Khadem F, et al. Pre- and postsurgical cognitive trajectories and quantitative MRI changes in Rasmussen syndrome. Epilepsia. 2018;59:1210–9.
- Dodd KC, Nair VA, Prabhakaran V. Role of the contralesional vs. ipsilesional hemisphere in stroke recovery. Front Hum Neurosci. 2017;11:469.
- Bien CG. The natural history of Rasmussen's encephalitis. Brain. 2002;125:1751–9.

Epilepsia

- Chiapparini L, Granata T, Farina L, Ciceri E, Erbetta A, Ragona F, et al. Diagnostic imaging in 13 cases of Rasmussen's encephalitis: can early MRI suggest the diagnosis? Neuroradiology. 2003;45:171–83.
- Luria AR, Higher Cortical Functions in Man. New York: Basic Books; 1980.
- Glasser MF, Sotiropoulos SN, Wilson JA, Coalson TS, Fischl B, Andersson JL, et al. The minimal preprocessing pipelines for the Human Connectome project and for the WU-Minn HCP consortium. NeuroImage. 2013;80:105–24.
- Douaud G, Smith S, Jenkinson M, Behrens T, Johansen-Berg H, Vickers J, et al. Anatomically related grey and white matter abnormalities in adolescent-onset schizophrenia. Brain. 2007;130:2375–86.
- Clarkson MJ, Cardoso MJ, Ridgway GR, Modat M, Leung KK, Rohrer JD, et al. A comparison of voxel and surface based cortical thickness estimation methods. NeuroImage. 2011;57:856–65.
- Fischl B, Dale AM. Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. Proc Natl Acad Sci. 2000;97:11050–5.
- Pardo CA, Vining EPG, Guo L, Skolasky RL, Carson BS, Freeman JM. The pathology of rasmussen syndrome: stages of cortical involvement and neuropathological studies in 45 hemispherectomies. Epilepsia. 2004;45:516–26.
- Staudt M, Lidzba K, Grodd W, Wildgruber D, Erb M, Krägeloh-Mann I. Right-hemispheric organization of language following early left-sided brain lesions: functional MRI topography. NeuroImage. 2002;16:954–67.

- Zatorre RJ, Fields RD, Johansen-Berg H. Plasticity in gray and white: neuroimaging changes in brain structure during learning. Nat Neurosci. 2012;15:528–36.
- Manganotti P, Acler M, Zanette GP, Smania N, Fiaschi A. Motor cortical disinhibition during early and late recovery after stroke. Neurorehabil Neural Repair. 2008;22:396–403.
- Granata T, Gobbi G, Spreafico R, Vigevano F, Capovilla G, Ragona F, et al. Rasmussen's encephalitis: early characteristics allow diagnosis. Neurology. 2003;60:422–5.
- Longaretti F, Dunkley C, Varadkar S, Vargha-Khadem F, Boyd SG, Cross JH. Evolution of the EEG in children with Rasmussen's syndrome. Epilepsia. 2012;53:1539–45.

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section at the end of the article.

How to cite this article: David B, Prillwitz CC, Hoppe C, et al. Morphometric MRI findings challenge the concept of the "unaffected" hemisphere in Rasmussen encephalitis. *Epilepsia*. 2019;60:e40–e46. <u>https://doi.org/10.1111/epi.14702</u>

2.2 Supplementary material

2.2.1 Supplementary methods

Image acquisition

Imaging data were acquired with a 3T Siemens MAGNETOM Trio® (Siemens Healthineers, *Erlangen, Germany*) using an 8-channel receive head coil. For each scan timepoint, we acquired a T1-weighted magnetization-prepared rapid acquisition gradient echo (MPRAGE) sequence with the following parameters: voxel size = $1.0 \times 1.0 \times 1.0 \times 1.0 \times 1.0 \times 1.0 \times 1.7 \times 1.0 \times 1.7 \times$

Surface-based cortical thickness analysis

Cortical thickness¹ was measured to confirm the results of the VBM analysis with an additional marker for topological gray matter differences. As surface-based analyses are susceptible to anatomical abnormalities, investigation of cortical thickness was restricted to the contralesional hemisphere. Cortical reconstruction was performed using the Freesurfer image analysis suite^{2,3} (which is documented and freely available for download online; http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/) according to the structural preprocessing pipeline of the *Human Connectome Project.*⁴ Briefly, this processing includes removal of non-brain tissue, correction of intensity inhomogeneity, automated Talairach transformation, segmentation of the subcortical white matter and deep gray matter volumetric structures, intensity normalization, tessellation of the gray matter white matter

boundary, automated topology correction, and surface deformation following intensity gradients to optimally place the gray/white and gray/cerebrospinal fluid borders at the location where the greatest shift in intensity defines the transition to the other tissue class. Delineation of pial and white matter surfaces was visually controlled for accuracy. As left-and right-lesional patients were analyzed together (see figure S3), resulting surface representations were registered to a symmetric template to achieve comparability between the respective right and left contralesional hemispheres.⁵

In concordance with the volume-based analysis, a vertex-wise general linear model was applied for statistical inference using non-parametric permutation testing with 10,000 repetitions.⁶ For family-wise error (FWE) correction, cluster mass inference via random field theory was applied to all results.⁷

2.2.2 Supplementary results

Comparison of surface-based cortical thickness

In contrast to the healthy controls, the contralesional hemispheres of RE patients showed higher cortical thickness. Similar to the VBM results, the supra-threshold-vertices covered most parts of the frontal, parietal, and temporal lobes (see Supplementary figure S1). In contrast to the volumetric approach, the surface-based approach did not yield significant differences in the insular and inferior temporal cortices. In concordance with the VBM results, no clusters indicating cortical thickness changes were found in the longitudinal comparison between early and late patient scans.

28

2.2.3 Supplementary references

- Fischl B, Dale AM. Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. Proceedings of the National Academy of Sciences 2000; 97: 11050-11055.
- 2. Fischl B, Sereno MI, Dale AM. Cortical surface-based analysis: II. Inflation, flattening, and a surface-based coordinate system. NeuroImage 1999; 9:195–207.
- Dale AM, Fischl B, Sereno MI. Cortical surface-based analysis: I. Segmentation and surface reconstruction. Neuroimage 1999; 9:179–194.
- Glasser MF, Sotiropoulos SN, Wilson JA, et al. The minimal preprocessing pipelines for the Human Connectome Project. Neuroimage 2013; 80: 105–124.
- 5. Greve DN, Van der Haegen L, Cai Q, et al. A Surface-based Analysis of Language Lateralization and Cortical Asymmetry. J Cogn Neurosci 2013; 25: 1477–1492.
- Winkler AM, Ridgway GR, Webster MA, et al. Permutation inference for the general linear model. Neuroimage 2014; 92: 381–397.
- Zhang H, Nichols TE, Johnson TD. Cluster mass inference via random field theory. Neuroimage 2009; 44: 51–61.

2.3.1 Supplementary figure S1



indicate a significantly higher cortical thickness in RE patients (as compared to healthy controls) covering large parts of the frontal, temporal and parietal lobe. The cluster-pattern shows a high similarity to the results of the respective volumetric analysis discussed in the main text (cf. figure 1.A).

2.3.2 Supplementary figure S2



Supplementary figure S2. Full sample and split-group tests. Cross-sectional VBM comparisons of the full-sample, right-lesional and left-lesional Rasmussen's encephalitis patients with healthy controls, respectively, yield the same result: Lower gray matter volume (blue-lightblue) in the ipsilesional hemisphere and higher gray matter volume (red-yellow) in the contralesional hemisphere. Only subcortical gray matter differences do not show in the split-group comparsions possibly due to insufficient statistical power.

2.3.3 Supplementary figure S3



Supplementary figure S3. Statistical tests and where to find them. Blue arrows indicate cross-sectional analyses (unpaired *t*-test) and the yellow arrow indicates a longitudinal analysis (paired *t*-test). Green circular arrows indicate that the respective tests were additionally repeated using a suface-based analysis. All analyses were adjusted for *age at scan, gender, scanner update* and, if applicable, *time interval* between scan timepoints. Lateralization, gender and age distributions for tested subgroups are additionally mentioned in parantheses.

3. Danksagung

Die Erstellung dieser Arbeit wäre ohne die vielfältige Unterstützung welche mir in den letzten Jahren zuteil gekommen ist nicht möglich gewesen. Herrn Professor Dr. Christian E. Elger, meinem Doktorvater, gilt dabei mein besonderer Dank für seine Schirmherrschaft und Anleitung.

Herrn Dr. Theodor Rüber, meinem Betreuer während der Anfertigung dieser Arbeit, danke ich für die freundschaftliche Begleitung auf unserem gemeinsamen Weg und für alles was er mir über die akademische Welt beigebracht hat.

Für die stetige Unterstützung meiner wissenschaftlichen Arbeit und die Vermittlung umfassender Teile meines klinischen Wissens danke ich Herrn Professor Dr. Rainer Surges und Frau Dr. Randi von Wrede.

Meinem Freund und Kollegen Bastian David danke ich für die inspirierende Zusammenarbeit die mein Bild des wissenschaftlichen Arbeitens nachhaltig geprägt hat.

Den Referentinnen und Referenten der Bischöflichen Studienförderung Cusanuswerk, insbesondere Herrn Dr. Siegfried Kleymann, danke ich für die Vermittlung von Bildung wie sie eine Universität nicht leisten kann.

Insbesondere jedoch möchte ich meinen Eltern danken, die meinen akademischen Werdegang unermüdlich unterstützt haben. Ihnen ist diese Arbeit gewidmet.