

Aus dem
Lehrstuhl für Psychiatrie und Psychotherapie
Prof. Dr. med. Rainer Rupprecht
der Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

**Early remission in multiple sclerosis
is linked to altered coherence of the Cerebellar Network**

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Dr. phil. Marlene Tahedl

2023

Aus dem
Lehrstuhl für Psychiatrie und Psychotherapie
Prof. Dr. med. Rainer Rupprecht
der Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

**Early remission in multiple sclerosis
is linked to altered coherence of the Cerebellar Network**

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Dr. phil. Marlene Tahedl

2023

Dekan: Prof. Dr. Dirk Hellwig

1. Berichtstatter: Prof. Dr. Jens V. Schwarzbach

2. Berichtstatter: Prof. Dr. Ralf Linker

Tag der mündlichen Prüfung: 29.02.2024

1 Inhaltsverzeichnis

1	Inhaltsverzeichnis	3
2	Abstract.....	5
3	Abkürzungsverzeichnis	7
4	Erläuternde Zusammenfassung.....	8
4.1	Forschungsthema und Motivation	8
4.2	Warum Multiple Sklerose?	10
4.3	Warum funktionelle Konnektivität?	12
4.3.1	Die Gründe für die Untersuchung der Konnektivität in der Neurowissenschaft	12
4.3.2	Die Berechnung der FC	13
4.4	Funktionelle Konnektivität als Biomarker für Multiple Sklerose?.....	17
4.5	Studiendesign und Methoden	19
4.5.1	Studiendesign	19
4.5.2	Patientenrekrutierung.....	20
4.5.3	Stichprobengröße.....	20
4.5.4	Kontrollgruppe	21
4.5.5	Studienprotokoll	22
4.5.6	Datenakquise	22
4.5.7	Vorverarbeitung der Daten.....	22
4.5.8	Berechnung der funktionellen Konnektivität und Statistik	22
4.6	Ergebnisse und Diskussion	23
4.6.1	Rekapitulation	23
4.6.2	Limitationen	24
4.6.3	Ausblick: Funktionelle Konnektivitätsdynamik.....	29
5	Publikation “Early remission in multiple sclerosis is linked to altered coherence of the Cerebellar Network”	30
6	Anhang	45
6.1	Supplementäre Abbildung	45
6.2	Supplementäre Analyse	46
7	Nachwort	47

8	Erklärung.....	49
9	Danksagung.....	50
10	Referenzen	52

2 Abstract

In dieser Arbeit haben wir die Veränderungen der funktionellen Konnektivität (FC) bei Patienten mit Multipler Sklerose (MS) nach dem ersten klinischen Schub untersucht. Die Entwicklung permanenter neurologischer Symptomatik bei MS ist von Patient zu Patient stark variabel, wobei die zugrundeliegenden Mechanismen noch nicht vollständig geklärt sind. Strukturelle Marker, wie z. B. die Läsionslast, spiegeln das Fortschreiten der Krankheit nicht akkurat wider. Daher untersuchten wir Veränderungen der funktionellen Netzwerkkohärenz bei MS-Patienten zwischen der ersten klinischen Episode und der anschließenden Remission, um mögliche Zusammenhänge zwischen der Reorganisation der Netzwerkstruktur und der Symptomatik zu ermitteln. Bei 18 neu diagnostizierten MS-Patienten wurde eine funktionelle Magnetresonanztomographie im Ruhezustand (rs-fMRI) durchgeführt, einmal während der ersten klinischen Episode (mit messbarer klinischer Symptomatik, definiert als Expanded Disability Status Scale, EDSS, ≥ 1.0) und einmal während der Remission ca. vier Wochen später (EDSS < Zeitpunkt 1). Wir analysierten Veränderungen der Netzwerkkohärenz von zehn prädefinierten funktionellen Netzwerken, die durch unabhängige Komponentenanalyse (ICA) identifiziert wurden. Dabei verglichen wir jeden Patienten mit einer gesunden Kontrollgruppe aus dem Human Connectome Project Test-Retest-Datensatz ($N = 44$). Für jedes Netzwerk und jeden Patienten identifizierten wir Regionen, deren Netzwerkbeitrag sich zwischen den beiden Scans veränderten. Bei verschiedenen Patienten beobachteten wir, dass sich die Topographie von verschiedenen Netzwerken änderte, wobei sich Regionen zeigten, die ihre Kohärenz mit einem betroffenen Netzwerk erhöhten oder verringerten. Zusätzlich beobachteten wir auch einige wenige Netzwerke, die bei allen Patienten gleichermaßen betroffen waren. Am interessantesten war jedoch, dass die Regionen, die ihre Kohärenz zu den betroffenen Netzwerken änderten, in der Regel ursprünglich nicht zu diesem Netzwerk gehörten (gemessen an den ICA-Beitragswerten der zehn prädefinierten Netzwerke). Durch die Kombination einer Ranking-Analyse der zehn Netzwerke mittels Monte-Carlo-Verfahren konnten wir feststellen, dass die Regionen, die Veränderungen aufwiesen, in erster Linie zum zerebellären Netzwerk gehörten, insbesondere bei Kohärenzerhöhungen. Diese unerwartete Gemeinsamkeit zwischen dem klinisch heterogenen Patientenkollektiv deutet darauf hin, dass das zerebelläre Netzwerk funktionell an der MS-Remission beteiligt ist (unabhängig davon, welche

Netzwerke betroffen sind). Diese Ergebnisse erweitern die Erkenntnisse aus früheren Querschnittsuntersuchungen, die bereits eine protektive Rolle des Kleinhirns bei MS-Patienten postulierten. Zukünftige Arbeiten können die Verbindung zwischen potenzieller synaptischer Plastizität (z. B. Langzeitpotenzierung und Langzeitdepression) des Kleinhirns und funktionellen Kohärenzveränderungen weiter untersuchen, um das Potential solche Konnektivitätsmessungen als Biomarker für die MS-Diagnostik und -Prognostik weiter zu untersuchen.

Wir haben unsere Ergebnisse am 27. Oktober 2022 in der Open-Access-Zeitschrift „BMC Translational Medicine“ veröffentlicht. Dieses Manuskript ist weiter hinten in dieser Dissertation abgedruckt. Weitere Hintergrundinformationen zum Grundgedanken dieser Studie, zu den angewandten Konzepten und Methoden, sowie der Rekapitulation und Diskussion der Ergebnisse werden in einem erläuternden Zusammenfassung zu Beginn angeführt.

3 Abkürzungsverzeichnis

In der vorliegenden Arbeit wurden gängige Abkürzungen verwendet, die sich oft von englischsprachigen Ausdrücken ableiten. Wo auch deutsche Entsprechungen gebräuchlich sind, werden diese kursiv in Klammern angegeben.

ANOVA	analysis of variance (<i>Varianzanalyse</i>)
BOLD	blood-oxygen-level dependent
CIFTI	Connectivity Informatics Technology Initiative
CSF	cerebrospinal fluid (<i>Liquor cerebrospinalis</i>)
EDSS	Expanded Disability Status Scale
FC	functional connectivity (<i>funktionelle Konnektivität</i>)
FCD	functional connectivity dynamics (<i>funktionelle Konnektivitätsdynamik</i>)
FLAIR	fluid-attenuated inversion recovery
fMRI	functional MRI (<i>funktionelle MRI</i>)
GD	Gadolinium
HCP	Human Connectome Project
ICA	independent component analysis (<i>Unabhängigkeitsanalyse</i>)
MNI	Montreal Neurological Space
MPRAGE	magnetization-prepared rapid acquisition gradient echo
MRI	magnetic resonance imaging (<i>Magnetresonanztomographie</i>)
MS	Multiple Sklerose
MSFC	Multiple Sclerosis Functional Composite Composite
PPMS	primary-progressive multiple sclerosis (<i>primär progrediente MS</i>)
ROI	region of interest
RRMS	relapsing remitting multiple sclerosis (<i>schubförmig remittierende MS</i>)
rs-fMRI	resting-state fMRI (<i>fMRI im Ruhezustand</i>)
SC	structural connectivity (<i>strukturelle Konnektivität</i>)
SPMS	secondary-progressive multiple sclerosis (<i>sekundär progrediente MS</i>)
TE	echo time (<i>Echozeit</i>)
TR	time to repeat (<i>Repetitionszeit</i>)
VR	voxel resolution (<i>Voxelauflösung</i>)
ZNS	Zentrales Nervensystem

4 Erläuternde Zusammenfassung

4.1 Forschungsthema und Motivation

Die Multiple Sklerose (MS) ist eine Erkrankung des zentralen Nervensystems (ZNS), die bis heute als unheilbar gilt. Die Entwicklung neuer Therapien leidet darunter, dass es kein Diagnosemaß gibt, mit dem die langfristige Wirkung dieser Therapien für den einzelnen Patienten beurteilt werden kann. Die derzeit verwendeten Diagnostikinstrumente wie klinische Scores oder die Läsionslast geben keinen Aufschluss über den Verlauf der Behinderung. Außerdem stellt die Ungewissheit über diese Entwicklung eine hohe psychische Belastung für die Patienten dar. Ein Grund für den mangelnden prognostischen Wert der derzeit verwendeten Instrumente könnte darin liegen, dass sie auf anatomischen Informationen beruhen (z. B. Atrophie der grauen Hirnsubstanz oder Läsionslast der weißen Hirnsubstanz, Abbildung 1), das ZNS jedoch ein funktionelles Netzwerk ist, das durch rein anatomische Diagnostikinstrumente, wie z. B. die strukturelle radiologische Überwachung, nicht vollständig erfasst werden kann. Stattdessen ist es mit Hilfe der funktionellen Magnetresonanztomographie (fMRI) heute möglich, das ZNS – insbesondere das Gehirn – mit einem solchen netzwerkbasierten Maß zu untersuchen: Die funktionelle Konnektivität (FC) beschreibt die statistische Assoziation zwischen Zeitreihen physiologischer Signale, in der Regel des sogenannten „blood oxygen level dependent“ (BOLD) Signals, welches vom Sauerstoffgehalt des Blutes abhängt¹. Das Konzept der FC basiert auf der Annahme, dass Hirnregionen, die eine ähnliche Aktivität über die Zeit aufweisen, Informationen austauschen und dadurch funktionell miteinander verbunden sind. In der Vergangenheit wurde die FC bei MS eingehend untersucht, und es hat sich gezeigt, dass sich die FC-Architektur zwischen MS-Patienten und Kontrollpersonen stark unterscheidet, wie die Antragstellerin und ihre Kollegen in einem Review herausgearbeitet haben². Diese Unterschiede weisen auf das Potenzial dieses Maßes als diagnostisches / prognostisches Instrument hin, doch die Entwicklung eines FC-basierten Biomarkers für die MS-Prognose ist bisher noch nicht gelungen.

Ein Grund für den bis dato mangelnden prognostischen Wert von FC-basierten Biomarkern bei MS könnte in der Art der Designs früherer Studien liegen: Die meisten Untersuchungen wurden als Querschnittsstudien durchgeführt, bei denen die FC einer

Gruppe von MS-Patienten in bestimmten Regionen / Netzwerken mit der klinischen Symptomatik in Verbindung gebracht wurden. Während solche Studiendesigns es ermöglichen, Korrelationen zwischen der FC und dem klinischen Zustand abzuleiten, können dadurch nur wenige Informationen über die biologischen Mechanismen gewonnen werden, die den Änderungen der FC bei MS im Zuge der Veränderung der Behinderung zugrunde liegen. Um solche Schlussfolgerungen ziehen zu können, muss die FC untersucht werden, wenn sich die Behinderung bei MS im Laufe der Zeit verändert. Da die häufigste MS-Variante – die schubförmig remittierende MS (RRMS) – in Form von abwechselnden Zuständen zunehmender klinischer Symptomatik („Schübe“) und anschließender Linderung der Symptome („Remission“) verläuft, kann man sich diese natürliche Pathogenese zunutze machen, um Veränderungen der FC zu untersuchen, die in direktem Zusammenhang mit klinischen Veränderungen stehen, was das Thema der vorliegenden Arbeit ist. Da die Remission nach der ersten klinischen Episode bei MS oft innerhalb weniger Wochen abgeschlossen ist, bietet diese frühe Phase der Krankheit gute Chancen, klinisch relevante Symptomveränderungen zu untersuchen, da sie mit Veränderungen der FC einhergehen, was das Thema der vorliegenden Arbeit ist.

Wir schlagen vor, dass wir durch die longitudinale Untersuchung der FC-Veränderungen bei MS-Patienten nach ihrer ersten klinischen Episode einige wichtige Informationen über das Verhalten der FC im frühen Krankheitsverlauf gewinnen können. Darüber hinaus können wir durch die Korrelation von FC-Veränderungen mit Veränderungen der klinischen Symptomatik der Patienten (unter Verwendung von EDSS-Scores) bewerten, ob und wie FC-Veränderungen zu Beginn der Erkrankung mit Veränderungen der klinischen Symptomatik zusammenhängen.

In dieser Studie haben wir ein Längsschnittdesign angewandt, indem wir die FC zunächst ganz zu Beginn der klinischen Episode gemessen haben und ergo bei akuter Symptomatik, und ein zweites Mal vier Wochen später und ergo in klinischer Remission. Wir rekrutierten MS-Patienten, die ihre erste klinische Episode zu einem Zeitpunkt mit ausgeprägter Demyelinisierung erlebten, und berechneten die FC. Vier Wochen später – zum Zeitpunkt der beginnenden Remyelinisierung und der abklingenden Demyelinisierung³ – luden wir die Patienten wieder ein und führten das gleiche Bildgebungsprotokoll erneut durch. Zu jedem Zeitpunkt wurden die EDSS-Scores bewertet, so dass wir die klinischen und radiologischen Veränderungen direkt vergleichen konnten, was für die Entwicklung eines Biomarkers entscheidend ist.

4.2 Warum Multiple Sklerose?

Die MS ist die häufigste nichttraumatische neurologische Erkrankung bei jungen Erwachsenen ⁴. Traditionell wird sie als Autoimmunerkrankung betrachtet, da ein entscheidender pathologischer Mechanismus eine Fehlanpassung des Immunsystems an Zielproteine im ZNS ist, die meist aus der Fettschicht („Myelin“) bestehen, die die Axone im Gehirn umgibt ⁵. Autoreaktive Lymphozyten wandern durch die Blut-Hirn-Schranke und verursachen in der Folge Läsionen, die die neuronale Signalübertragung behindern und schließlich je nach Ort der Läsion neurologische Symptome hervorrufen. Solche Läsionen sind durch einen entzündlichen Prozess und ein unterschiedliches Ausmaß an Demyelinisierung und neuronaler oder axonaler Schädigung gekennzeichnet ^{6,7}, je nach Stadium und Schwere des Immunangriffs und der Anfälligkeit des Gewebes. Mit dem Kontrastmittel Gadolinium (GD), das die Blut-Hirn-Schranke überwinden kann, lässt sich eine akute Entzündung mit der Magnetresonanztomographie (MRI) für durchschnittlich drei Wochen sichtbar machen ⁸. In jüngster Zeit rückt jedoch die Rolle neurodegenerativer Prozesse in der MS-Pathologie immer mehr in den Fokus ⁷, so dass die Atrophie der grauen Substanz als ein von der Läsionslast unabhängiger ⁹ Marker für körperliche und kognitive Defizite bei der MS vorgeschlagen wurde. ^{10,11}

Die Diagnose von MS kann auf der Grundlage von zwei radiologischen Kriterien gestellt werden, die beide mit einem einzigen MRI-Zeitpunkt bewertet werden können ¹²: (a) *räumliche Ausbreitung* (englisch „dissemination in space“), die eine Ausbreitung der Läsionen über mindestens zwei der vier Prädilektionsstellen der MS (periventrikulär, juxtakortikal, infratentoriell und spinal ⁹) erfordert, und (b) *zeitliche Ausbreitung* (englisch „dissemination in time“). Diese beschreibt das Auftreten von Läsionen zu mindestens zwei verschiedenen Zeitpunkten, die durch mindestens eine GD-anreichernde Läsion und eine nicht GD-anreichernde Läsion beurteilt werden können (aufgrund der Art der Läsionspathologie ist die GD-anreichernde Läsion noch „aktiv“ und daher später aufgetreten). Die Art der MS-Symptome ist je nach Lokalisation der Läsion neurologisch variabel (von internukleärer Ophthalmoplegie über (Gesichts-)Paresen bis hin zu (senso-)motorischen Problemen, etc.), aber es ist auch bekannt, dass sich viele Läsionen klinisch stumm entwickeln ¹³.

Bei klinischen Schüben (Phasen akuter neurologischer Beeinträchtigungen, die mindestens 24 Stunden andauern) ist die Wahrscheinlichkeit hoch, dass GD-

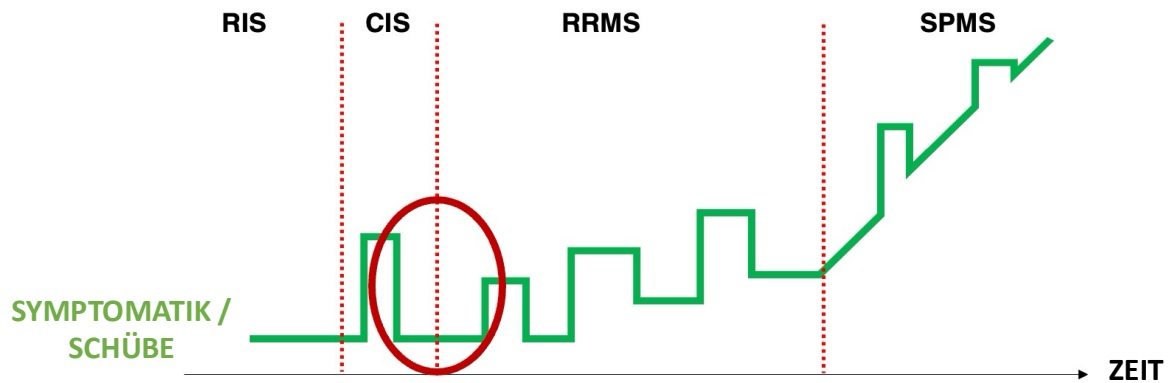


Abbildung 2. Krankheitsverlauf der schubförmig remittierenden Multiplen Sklerose (idealisiert). Die klinische Krankheitslast bei MS folgt über die Zeit (x-Achse) häufig einem Muster aus neurologischen Symptomen (y-Achse) und Remission. Die Remission der Symptome in den frühen Phasen ist oft vollständig (CIS, RRMS), aber im weiteren Verlauf der Krankheit bleibt zunehmende Symptomatik bestehen, die schließlich progressiv zunimmt (SPMS). Ferner können radiologisch MS-ähnliche Läsionsmuster ohne klinische Behinderung beobachtet werden (RIS). Der rote Kreis zeigt den Zeitpunkt an, zu dem wir die Patienten für die vorliegende Studie rekrutiert haben. Abkürzungen: CIS = klinisch isoliertes Syndrom; RIS = radiologisch isoliertes Syndrom; RRMS = schubförmig-remittierende Multiple Sklerose; SPMS = sekundär progrediente Multiple Sklerose

verstärkte Läsionen entdeckt werden. Auf solche Schübe folgen häufig Phasen der Symptomlinderung, die als „Remission“ bezeichnet werden und vor allem im frühen Krankheitsverlauf häufig vollständig sein können. Im weiteren Verlauf der Krankheit ist die Remission in der Regel weniger vollständig (Abbildung 2). Diese Variante der MS wird als schubförmig-remittierende MS (RRMS) bezeichnet und ist der häufigste Krankheitsverlauf der MS. Nach einem Zeitraum von etwa 10 bis 15 Jahren geht die RRMS häufig in einen Zustand mit kontinuierlich zunehmender Behinderung über, mit oder ohne überlagernde Schübe (sekundär progrediente MS, SPMS). Weniger häufig wird eine solche zunehmende Behinderung von der Diagnose an beobachtet (primär progrediente MS, PPMS).

Das wichtigste klinische Diagnostikinstrument zur Bewertung der Symptomatik bei MS ist die Expanded Disability Status Scale (EDSS¹⁴). Dieses Inventar untersucht die klinische Krankheitslast in acht verschiedenen Funktionssystemen, z. B. motorisch oder sensorisch, und kann von neurologisch geschultem Personal innerhalb weniger Minuten bewertet werden. Sie wird in der Regel nicht öfter als einmal pro Jahr erfasst, so dass z. B. der genaue Zeitpunkt des Übergangs zu SPMS oft nicht bekannt ist und erst retrospektiv diagnostiziert wird. Eine weitere Einschränkung des EDSS-Scores besteht darin, dass er eher grob und einseitig auf das motorische System ausgerichtet ist, während die Häufung von Symptomatik selbst innerhalb der Subtypen sehr

heterogen ist (z. B. Referenz ¹⁵). Außerdem ist der EDSS-Score subjektiv und von der Interpretation des Bewerter abhängig. MS-Diagnostik, -Prognostik und -Monitoring umfassen in der Regel auch die Betrachtung anderer Biomarker, die entweder aus Körperflüssigkeiten (z. B. Neurofilament und oligoklonale Banden ¹⁶) oder aus der MRI gewonnen werden (z. B. T2-Läsion der weißen Substanz, Anzahl von GD-anreichernden Läsionen, Atrophie der grauen Substanz oder das Vorhandensein niedriger Signalintensitäten auf T1-gewichteten Bildern, die auf eine Gewebeschädigung hindeuten ¹⁷). Diese Biomarker spiegeln jedoch die klinische MS-Symptomatik nicht vollständig wider (siehe ¹⁸ über das klinisch-radiologische Paradoxon), insbesondere auf individueller Ebene ^{16,17,19,20}.

Wir argumentieren, dass einer der Gründe für die mangelnde Korrelation zwischen bildgebenden Messgrößen und klinischer Symptomatik von zuvor vorgeschlagenen Biomarkern bei MS darin liegt, dass sie im Allgemeinen strukturelle Informationen aus umschriebenen Hirnregionen wiedergeben, die Netzwerkstruktur des Gehirns aber nicht berücksichtigen. Daher bietet die FC – ein Maß für die neuronale Signalübertragung des ZNS und seine Netzwerkaktivität – eine einzigartige Möglichkeit, solche funktionellen Veränderungen bei MS vollständig nicht-invasiv und in vivo zu untersuchen. Im Folgenden wird das Konzept und die Berechnung der FC kurz dargelegt.

4.3 Warum funktionelle Konnektivität?

4.3.1 Die Gründe für die Untersuchung der Konnektivität in der Neurowissenschaft

Die kognitiven Neurowissenschaften zielen darauf ab, Zusammenhänge zwischen der Gehirnaktivität und Verhalten zu explorieren. In frühen Studien wurde traditionell untersucht, wie die Schädigung verschiedener Hirnareale mit klinischen Defiziten korrespondiert, was darauf schließen lässt, dass das Verhalten in umschriebenen Regionen repräsentiert ist ²¹. Ein neuerer neurowissenschaftlicher Ansatz geht jedoch davon aus, dass das Verhalten besser durch die Aktivität von Netzwerken erklärt werden kann. In den letzten Jahren ist immer deutlicher geworden, dass die große Mehrheit der Hirnfunktionen ein komplexes Zusammenspiel verteilter Hirnareale erfordert. So ist beispielsweise die Regulierung von Emotionen ²² oder Stimmungen ²³ mit der Aktivierung eines integrierten Netzwerks und nicht einer einzelnen Hirnregion verbunden. Daher sind Läsionsstudien für eine genaue Kartierung von Hirnfunktionen

nur begrenzt nützlich, was noch dadurch verschärft wird, dass verschiedene Arten von Läsionen unterschiedliche Auswirkungen auf eine Funktion haben können, aber auch dadurch, dass mehrere Läsionen mehrere funktionelle Netzwerke sowie deren Interaktionen beeinträchtigen können. Wenn das ZNS auf eine allgemeinere Art und Weise geschädigt ist – beispielsweise durch verteilte Läsionen der weißen Substanz oder eine allgemeine Atrophie der grauen Substanz, die beide häufig bei MS beobachtet werden ²⁴ – können die Auswirkungen solcher Schädigungen auf die kognitiven Funktionen sehr komplex und durch ortsbezogene Modelle der kognitiven Gehirnfunktionen unvorhersehbar werden ²⁵. Die zugrundeliegende Hypothese der aktuellen Studie ist, dass die MS-Pathologie die Kommunikation des geschädigten neuronalen Gewebes mit anderen Hirnregionen beeinträchtigt und dadurch deren FC beeinflusst. Die vorgeschlagene Netzwerkstruktur des ZNS lässt es vielversprechender erscheinen, Zusammenhänge zwischen biologischen Läsionen und klinischen Defiziten auf Netzwerkebene zu analysieren, z. B. mit Hilfe der FC. FC beschreibt eine statistische Beziehung zwischen den Zeitreihen physiologischer Signale verschiedener Hirnregionen, die mit der neuronalen Aktivität im MRT zusammenhängen, nämlich den Fluktuationen des vom Sauerstoffgehalt des Blutes abhängigen (BOLD-)Signals. Die zugrunde liegende Annahme ist, dass Hirnregionen, die ähnliche Fluktuationen aufweisen, Informationen austauschen und somit funktionell miteinander verbunden sind ^{26,27}. Es wurden auch andere Maße vorgeschlagen, die die Netzwerkstruktur des Gehirns widerspiegeln, wie z. B. die strukturelle Konnektivität (SC). Die SC basiert jedoch auf einer anderen MRI-Modalität, nämlich der diffusionsgewichteten Bildgebung, und wird daher hier nicht weiter erörtert. Interessierte Leser werden auf die Referenzen ^{28–30} verwiesen. Im nächsten Abschnitt werden wir die FC weiter erörtern.

4.3.2 Die Berechnung der FC

Es gibt verschiedene Strategien zur Berechnung von FC. Hier werden wir kurz die am häufigsten verwendeten vorstellen, nämlich die Seed-basierten und die Dekompositions-basierten Methoden. FC kann sowohl aus der task-basierten fMRI als auch aus der resting-state-fMRI (rs-fMRI) berechnet werden; hier konzentrieren wir uns jedoch auf die rs-fMRI FC, da sie nicht auf eine bestimmte Aufgabe ausgerichtet ist und somit allgemeinere Rückschlüsse auf die Funktionsweise des ZNS zulässt. Außerdem wird rs-fMRI FC im Vergleich zu task-fMRI FC häufiger untersucht und war

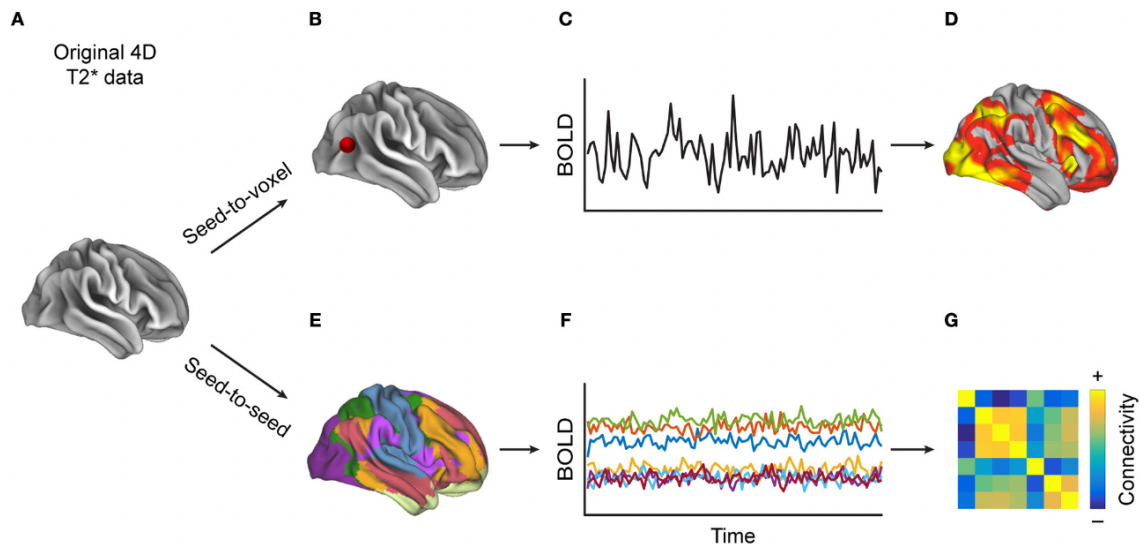


Abbildung 3. Berechnung der funktionellen Konnektivität (FC) mit korrelationsbasierten Methoden. Beim Seed-to-Voxel-Ansatz wird zunächst eine ROI definiert (gekennzeichnet durch den roten Punkt in B), für die der durchschnittliche BOLD-Zeitverlauf des ursprünglichen 4D-fMRI-Datensatzes (A) für alle Voxel berechnet wird (C). Aus diesem Zeitverlauf können dann lineare Korrelationen zu allen anderen Hirnvoxeln berechnet werden, was zu einer statistischen Hirnkarte führt, die die Verbindungsstärke zwischen der ROI und diesem Voxel anzeigt. Im Gegensatz dazu werden bei dem auf Seed-to-Seed basierenden Ansatz mehrere ROIs definiert (E), und der mittlere BOLD-Zeitverlauf jeder dieser ROIs wird extrahiert (F). Dann wird die Korrelation zwischen jedem ROI-Paar berechnet, was in einer FC-Matrix resultiert, wie sie in (G) dargestellt ist. Nachgedruckt aus Tahedl et al., 2018, *Frontiers in Neurology*. Abkürzungen: BOLD = Blut-Sauerstoff-Level-abhängig; FC = funktionelle Konnektivität; fMRI = funktionelle Magnetresonanztomographie; ROI = region of Interest.

auch Gegenstand der vorliegenden Studie. Die Strategien zur Berechnung der FC aus beiden Datentypen ist jedoch analog.

4.3.2.1 Korrelationsbasierte FC

Korrelationsbasierte Untersuchungen der FC (Abbildung 3) analysieren die statistische Beziehung zwischen entweder (a) einer umschriebenen region of interest (ROI), oder "Seed", zum Rest des Gehirns (auch als "Seed-to-Voxel"-basierter Ansatz bezeichnet, Abbildung 3B-D) oder (b) mehreren ROIs zueinander (auch als "Seed-to-Seed" bezeichnet, Abbildung 3E-G) 3. Die Seed-to-Voxel-FC wird zunächst durch Extraktion des mittleren Zeitverlaufs der ROI (Mittelung der Daten über alle Voxel der ROI) und anschließende Berechnung linearer Pearson-Korrelationen zwischen diesem gemittelten Seed-Zeitverlauf und den Zeitverläufen aller anderen Hirnvoxel berechnet. Das Ergebnis ist eine statistische Hirnkarte, die für jedes Voxel den Korrelationskoeffizienten zwischen dem Seed und diesem Voxel angibt. Alternativ kann man partielle Korrelationen verwenden, um störende Effekte wie physiologisches

Rauschen oder Bewegungsartefakte zu korrigieren ³¹. Schließlich wird die resultierende Gehirnkarte üblicherweise nach Fisher-z transformiert, um sich einer Normalverteilung anzunähern und so Signifikanztests zu erleichtern, wenn die Pearson-Korrelationskoeffizienten nahe bei -1 oder +1 liegen. Dies kann erreicht werden, indem man den inversen hyperbolischen Tangens der Pearson-Karte berechnet ³².

Bei der Seed-to-Seed-basierten FC hingegen werden mehrere ROIs definiert und zunächst die mittleren Zeitverläufe jeder ROI extrahiert, die in der Regel einem vordefinierten Atlas wie dem Automated Anatomical Labeling ³³ oder dem Desikan-Killiany-Atlas ³⁴ entnommen werden. Dann wird der Pearson-Korrelationskoeffizient zwischen jedem ROI-Paar berechnet, was zu einer FC-Matrix führt, wie sie in Abbildung 3G illustriert ist. Solche Matrizen verringern den Umfang der Daten und erleichtern dadurch die Interpretation ^{35,36}, obwohl die Mittelung der Daten über die ROIs die räumliche Auflösung verringert und daher dazu führen kann, dass Befunde von potenziellem Interesse übersehen werden. Allerdings ist das Signal-Rausch-Verhältnis beim Seed-to-Seed-Ansatz höher, was ein Grund dafür sein könnte, dass dies die am häufigsten berichtete Technik der FC-Berechnung in MS ist ². Je nach gewähltem Atlas kann man die ROIs in der FC-Matrix auch weiter gruppieren, um allgemein beschriebene FC-Netzwerke zu bestimmen ^{37,38}.

4.3.2.2 Dekompositionsbasierte FC

Eine gängige Alternative zum korrelationsbasierten Ansatz ist die Anwendung von Dekompositionsmethoden zur Berechnung der FC (Abbildung 4): Bei der unabhängigen Komponentenanalyse (ICA) werden die Zeitverläufe aller Voxel in Sätze von X räumlich unabhängigen Karten und zugehörigen Zeitverläufen aufgeteilt ³⁹. Die sich daraus ergebenden X -Komponenten-Karten weisen somit ähnliche Zeitverläufe auf und können als funktionell zusammenhängend betrachtet werden. Der Skalarwert jedes Voxels stellt dann die Stärke des Beitrags dieses Voxels zum Komponenten X dar. Häufig werden diese Komponentenkarten als z-Werte normalisiert, um die Interpretation zu erleichtern: Bei der Analyse von Längsschnittdaten zeigt beispielsweise eine positive Veränderung des z-Wertes eines Voxels eine relative Zunahme des Beitrags dieses Voxels zum Komponenten an, während ein negativer z-Wert eine relative Abnahme bedeutet.

Auf Dekomposition basierende Methoden wurden eingesetzt, um allgemein beobachtete funktionelle Netzwerke auf der Grundlage großer Bevölkerungsstudien

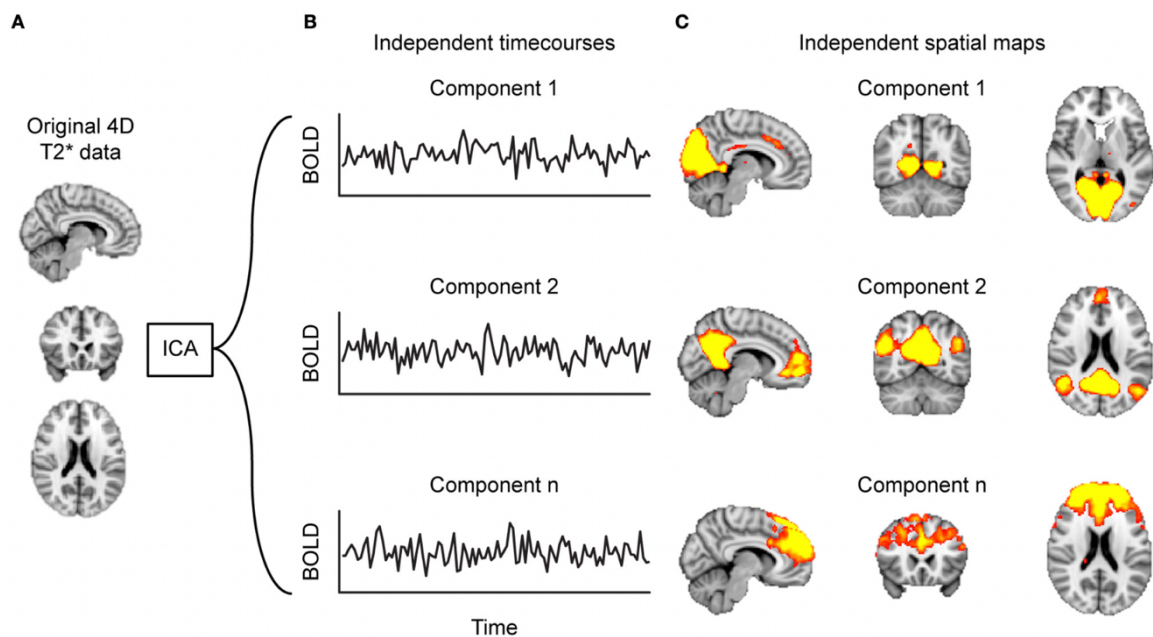


Abbildung 4. Berechnung der funktionellen Konnektivität (FC) mittels Dekomposition. Die ICA zerlegt 4D-fMRI-Daten (A) in räumlich unabhängige Zeitverläufe. Diese Zeitverläufe (oder „Komponenten“, B) können als statistische Gehirnkarten dargestellt werden, die für jedes Voxel die relative Stärke des Beitrags dieses Voxels zum jeweiligen Komponenten angibt. Nachgedruckt aus Tahedi et al. (2018), *Frontiers in Neurology*. Abkürzungen: FC = funktionelle Konnektivität; ICA = unabhängige Komponentenanalyse

zu extrahieren, die für die Allgemeinheit öffentlich zugänglich sind und die Untersuchung standardisierter Netzwerke ermöglichen^{38,40}. Mit Hilfe der dualen Regression⁴¹ kann man solche atlasbasierten Netzwerke nutzen, um subjektsspezifische Komponentenkarten im eigenen Datensatz wie folgt zu erstellen: Zunächst wird jeder der X Komponenten (d.h. seine zugehörigen Zeitverläufe) räumlich auf den 4D-fMRI-Datensatz jedes Probanden regressiert, was zu einem Satz von X subjektsspezifischen Zeitverläufen führt. Diese Zeitverläufe werden dann als zeitliche Prädiktoren in einer multiplen Regression des 4D-fMRI-Datensatzes jedes Probanden verwendet, was zu X subjektsspezifischen räumlichen Karten führt, die Parameterschätzungen der Beitragsstärke jedes Voxels für jeden der X-Komponenten angeben⁴². Wir verwendeten diesen dualen Regressionsansatz zur Berechnung der FC-Netzwerke in der vorliegenden Studie.

Nach dieser kurzen Einführung in die MS und die FC wird im nächsten Abschnitt eine Zusammenfassung der bisherigen Arbeiten zur Untersuchung der FC bei MS gegeben, sowie dargestellt, welche Schlussfolgerungen auf der Grundlage dieser Studien bisher gezogen werden konnten.

4.4 Funktionelle Konnektivität als Biomarker für Multiple Sklerose?

Bei der Vorbereitung dieser Arbeit hat die Kandidatin zusammen mit ihrem Labor die Forschungsarbeiten überprüft, bei denen die Analyse der FC zur Untersuchung der Multiplen Sklerose eingesetzt wurden ². Es gibt zunehmend Hinweise darauf, dass sich die FC zwischen MS-Patienten und gesunden Kontrollpersonen unterscheidet. Wir haben ein Klassifizierungssystem für gemeinsame Beobachtungen bei MS erstellt, und zwar: (a) Regionen der tiefen grauen Substanz weisen mit höherer Wahrscheinlichkeit eine veränderte FC auf (was möglicherweise darauf zurückzuführen ist, dass diese Regionen bereits die am stärksten miteinander verbundenen Regionen sind; (b) die FC innerhalb von Netzwerken nimmt ab, was zur Bildung größerer Netzwerke zu führen scheint, aber auch durch eine statistische Konsequenz erklärt werden kann, die aus einer Abnahme der Modularität resultiert; (c) die FC nimmt tendenziell in der linken Hemisphäre ab, während sie in der rechten Hemisphäre tendenziell zunimmt; (d) Patienten mit spezifischen Verhaltensdefiziten zeigen eine verringerte FC innerhalb aufgabenbezogener Netzwerke, aber eine erhöhte FC innerhalb aufgabenunabhängiger Netzwerke.

Obwohl der volle Umfang der FC bei MS noch nicht bekannt ist, glauben wir, dass sie die Differentialdiagnostik und Prognostik einzelner Patienten verbessern kann. Der derzeitige Goldstandard für die MS-Diagnose sind die 2017 überarbeiteten McDonald-Kriterien ¹², die fünf verschiedene Arten der Kombination von drei Kriterien (d. h. die Anzahl der klinischen Schübe, das Auftreten und die Lage von Läsionen und Liquor-spezifische oligoklonale Banden) vorsehen, um eine definitive MS-Diagnose zu stellen ¹². Oft reicht eine T2-gewichtete fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR) zusammen mit einer Kontrastmittel-T1-gewichteten MRI aus, um die Diagnose zu stellen; diese Biomarker scheinen jedoch keine feinere Differenzialdiagnostik (in Bezug auf die Symptomschwere) und Prognostik zu ermöglichen ²⁰. In dieser Hinsicht scheint die FC ein vielversprechender Biomarker zu sein, da sie zusätzliche und individuellere Informationen liefern kann. Verschiedene FC-Messungen haben bereits erfolgreich die Entwicklung von klinisch definitiver MS in einer CIS-Patientengruppe vorhergesagt ⁴³, zwischen verschiedenen Subtypen des MS-Krankheitsspektrums unterschieden ⁴⁴ und Patienten mit und ohne motorische Beeinträchtigungen unterschieden ⁴⁵.

Besonders auffällig ist der Zusammenhang zwischen der FC und der Schwere der Symptome. Häufig geht eine verringerte FC mit erhöhter klinischer Beeinträchtigung einher, und die betroffene Hirnregion steht in der Regel in Verbindung mit der Art des Symptoms, unter dem der Patient leidet. Rs-fMRI-Netzwerke sind aufgabenbezogen, und daher ist es für künftige Forschungen wichtig, sowohl das betroffene Netzwerk als auch die Art des klinischen Symptoms zu spezifizieren, das mit den Veränderungen der FC einhergeht. Derzeit haben die meisten Forschungsarbeiten Korrelationen zwischen FC und klinischen Daten mit zusammengesetzten Scores wie EDSS und Multiple Sclerosis Functional Composite Composite-Index (MSFC) geliefert, die Funktionen aus vielen verschiedenen Bereichen umfassen (z. B. sensomotorisch, kognitiv und visuell). Um jedoch FC auf biologische Weise mit Symptomen in Verbindung zu bringen, müssen solche funktionellen Bereiche, die von MS betroffen sind, klarer unterschieden werden.

Neben der Verbesserung von Differentialdiagnostik ist die FC auch vielversprechend, das Ergebnis therapeutischer Interventionen vorherzusagen. In einem Bericht aus dem Jahr 2009 wurde die aufgabenbasierte FC zur Überwachung von MS-Patienten eingesetzt, die Rivastigmin und Domperidon einnahmen ⁴⁶. Die Autoren konnten zeigen, dass Patienten, die eine Kombination aus beiden Medikamenten einnahmen, im Vergleich zu denen, die nur Rivastigmin einnahmen, eine bessere Leistung bei einer Stroop-Aufgabe zeigten; diese Verbesserung war mit einer erhöhten FC während der Aufgabenausführung zwischen homologer und anderen präfrontalen und parietalen Regionen verbunden. Darüber hinaus zeigte diese Patientengruppe Berichten zufolge während der Aufgabenausführung eine verringerte präfrontal-parietale FC innerhalb der dominanten Hemisphäre.

Während in dieser Studie die aufgabenbezogene FC verwendet wurde, hat bisher keine Studie im Zusammenhang mit MS die Wirkung verschiedener pharmakologischer Wirkstoffe auf die FC im Ruhezustand untersucht. Um die genaue Beziehung zwischen der Konnektivität, dem Krankheitsverlauf der MS und dem Schweregrad der Symptomatik zu verstehen, sind Längsschnittuntersuchungen der FC bei MS erforderlich, von denen bislang nur wenige durchgeführt wurden. Dogonowski und Kollegen untersuchten zum Beispiel, wie sich die FC bei MS in den Wochen nach einem Schub verändert ⁴⁷. Die Autoren berichteten, dass MS-Patienten, deren sensomotorische Netzwerkkoherenz nach dem Schub auf ein ähnliches Niveau wie bei gesunden Kontrollen zurückkehrte, auch die höchste klinische Remission

aufwiesen, gemessen an reduzierten EDSS-Scores. Dies deutet darauf hin, dass die FC bei MS nicht statisch ist und dass die longitudinale Entwicklung der FC im Gegensatz zu einer "Momentaufnahme" der FC besser mit dem Verlauf der klinischen MS-Symptomatik übereinstimmen könnte. Dieser Gedanke steht im Einklang mit einer Studie von Faivre und Kollegen ⁴⁸, die zeigten, dass MS-Patienten mit niedriger Symptomatik bei einer zweijährigen Nachuntersuchung eine erhöhte Netzwerkeffizienz im Vergleich zu Patienten mit initial starker Symptomatik aufwiesen.

Um jedoch die genaue Beziehung zwischen Konnektivität, dem Krankheitsverlauf der MS und dem Schweregrad der Behinderung zu verstehen, sind weitere Längsschnittuntersuchungen der FC bei MS erforderlich, die den sehr individuellen Krankheitsverlauf jedes MS-Patienten berücksichtigen. Ein solcher personalisierter Ansatz kann dazu beitragen, spezifische Muster der FC zu identifizieren, die mit bestimmten Arten des Krankheitsverlaufs in Verbindung stehen, was letztlich zur Verbesserung der individuellen Behandlungsentscheidungen beitragen kann. Ähnliche Ansätze wurden bereits erfolgreich bei anderen neurologischen Erkrankungen wie der Alzheimer-Krankheit ⁴⁹ und der Parkinson-Krankheit ⁵⁰ angewandt. Wir argumentieren, dass die wiederholte Beobachtung der FC bei einem einzelnen Patienten während des klinischen Verlaufs wertvolle Informationen für das Verständnis adaptiver und maladaptiver Veränderungen im MS-Gehirn sowohl auf individueller Ebene als auch zur Erkennung potenzieller gemeinsamer Muster liefern kann. In dieser Arbeit wollten wir diese Idee testen und haben MS-Patienten zunächst während ihrer ersten klinischen Episode und ein zweites Mal in Remission untersucht und wiederholt die FC bestimmt, was im Folgenden näher erläutert wird.

4.5 Studiendesign und Methoden

4.5.1 Studiendesign

In dieser Arbeit gehen wir der Frage nach, wie sich die FC bei MS-Patienten in den Wochen nach dem ersten klinischen Schub verändert. Die Idee dieses Studiendesigns ist es, zu beschreiben, wie Veränderungen der FC mit (a) klinischer Remission und (b) neuronaler Reparatur korrelieren: Was die klinische Remission (a) betrifft, so ist zu beachten, dass der Krankheitsverlauf der MS typischerweise Phasen klinischer Schübe und anschließender Remission aufweist, die insbesondere in den frühen Phasen der Krankheit oft vollständig sind; daher haben wir uns entschieden, die Patienten nur während und nach ihrer ersten klinischen Episode zu analysieren, um

die maximale klinische Verbesserung zu erfassen ²⁴. Hinsichtlich der neuronalen Reparatur (b) ist zu beachten, dass der erste klinische Schub bei MS in der Regel mit aktiver Demyelinisierung einhergeht, die in einer T1-gewichteten MRI mit dem Kontrastmittel Gadolinium als Hyperintensität erkennbar ist, insbesondere auf Gradienten-Echo-MR-Bildern ⁵¹. Der Demyelinisierungsprozess dauert in der Regel nur einige Wochen ⁸, gefolgt von einer Phase der Remyelinisierung. Unser Studienprotokoll orientiert sich an diesem Zeitpunkt: Wir messen die FC zu zwei Zeitpunkten – zunächst während der ersten klinischen Episode, d. h. während der aktiven Demyelinisierung, und erneut einige Wochen später in klinischer Remission, d. h. während der Remyelinisierung. Mit diesem Studiendesign wollen wir Veränderungen der FC beschreiben, die sowohl klinisch als auch biologisch relevant sind.

4.5.2 Patientenrekrutierung

Wir rekrutierten Patienten mit einer akuten klinischen Episode bei CIS oder früher MS, die mit aktiven Läsionen einherging, wie folgt: Nach stationärer Aufnahme im Klinikum (Bezirksklinikum Regensburg) wurden Patienten mit Verdacht auf CIS oder frühe MS im Rahmen der Standarddiagnostik einer zerebralen MRI unterzogen. Die Patienten, bei denen sich der Anfangsverdacht bestätigte, wurden gebeten, an der Studie teilzunehmen. Nach Erhalt der schriftlichen Einwilligung wurde eine MRI-Bildgebung durchgeführt (in Tabelle 1 werden die Details des Protokolls gelistet). Die Patienten wurden vier Wochen später zu einer Nachuntersuchung eingeladen, bei der das MRI-Protokoll wiederholt wurde. Zusätzlich wurden bei jedem Besuch EDSS-Scores von geschulten Neurologen erhoben, um den klinischen Verlauf zu überwachen.

4.5.3 Stichprobengröße

Unser Ziel war es, Daten von mindestens 15 MS-Patienten zu erfassen. Diese Stichprobengröße wurde von einer Studie von Leonardi und Kollegen ⁵² abgeleitet, die zuvor die FC bei MS-Patienten analysiert hatten. Die Autoren haben gezeigt, dass selbst mit dieser relativ kleinen Stichprobengröße ausgeprägte Veränderungen der FC bei MS festgestellt werden können. Da wir ein longitudinales Studiendesign verfolgten, benötigten wir außerdem noch weniger Probanden, um die gleiche Aussagekraft wie bei einem Querschnittsdesign zu erreichen ⁵³. Simulationsanalysen, wie sie von

Reuter et al. (2012) durchgeführt wurden, haben gezeigt, dass unter den Bedingungen einer geringen Varianz innerhalb der Probanden bereits zwei Messungen in einer Längsschnittsstudie im Gegensatz zu einer Querschnittsstudie die erforderliche Stichprobengröße um mehr als die Hälfte reduzieren können (unter der Annahme der gleichen Power, des gleichen p-Wertes, der gleichen Effektgrößen und Varianzen) ⁵⁴. Da die Zuverlässigkeit der FC jedoch suboptimal ist ⁵⁵, sammelten wir Daten von drei zusätzlichen Patienten, so dass wir in der endgültigen Studie 18 Patienten einschlossen.

Tabelle 1. Studienprotokoll der vorliegenden MR-Bildgebungsstudie

PROZEDUR	SEQUENZPARAMETER	DAUER	ZWECK
PATIENTEN-VORBEREITUNG UND SCREENING	–	10 Minuten	Prüfung auf MR-Eignung
AUTOALIGN LOCALIZER	–	20 Sekunden	Schicht-Positionierung
FUNKTIONELLER BOLD AUFNAHMEN	T2*-gewichtete rs-fMRT (Multiband-Beschleunigungsfaktor = 4, TR = 1s; VR = 3mm ³)	15 Minuten	Berechnung der funktionellen Konnektivität
ANATOMISCHE AUFNAHMEN	- T1-gewichtete 3D MPRAGE (VR = 1mm ³ ; 160 sagittale Schichten) - T2-gewichtete FLAIR (VR = 0.7x0.7x5mm; 27 axiale Schichten)	10 Minuten	Co-Registrierung; Alignment der funktionellen Daten

4.5.4 Kontrollgruppe

Um der sehr individuellen Pathologie Rechnung zu tragen, haben wir jeden MS-Patienten einzeln mit einer Kontrollgruppe verglichen und die Ergebnisse dieser Analyse auf erster Ebene für eine übergeordnete Analyse verwendet, um Gruppeneffekte abzuleiten. Standardisierte und qualitativ hochwertige rs-fMRI-Daten mit Messwiederholung sind kostspielig in der Beschaffung und kaum frei verfügbar; es gibt jedoch eine Datenquelle aus dem Human Connectome Project (HCP, <http://www.humanconnectomeproject.org/>), die solche Daten für 44 Probanden öffentlich zugänglich macht, die ein ähnliches Studienprotokoll wie unsere Patienten durchliefen (vgl. auch Originalarbeit für Details des HCP-Studienprotokolls).

4.5.5 Studienprotokoll

In jeder MR-Sitzung wurden Daten nach einem standardisierten Protokoll erhoben (siehe Tabelle 1).

4.5.6 Datenakquise

Wir haben anatomische Scans für die Co-Registrierung der Probanden und das Alignment der funktionellen Daten erfasst. Funktionelle Bilder wurden in Ruhe (T2*-gewichtet, Augen geschlossen) mit einer TE von 30 ms (unter Verwendung echoplanarer Bildgebung) aufgenommen, um BOLD⁵⁶ zu erfassen. Mit diesem Datensatz berechneten wir FC-Netzwerke mittels dualer Regression, wie oben beschrieben. Als Scan-Parameter wählten wir einen Multiband-Faktor von 4. Für die Datenakquise stand eine 64-Kanal-Kopfspule zur Verfügung. In unserem Labor führten wir eine Studie durch, die zeigte, dass die Verwendung einer 64-Kanal-Kopfspule (im Gegensatz zu einer 20-Kanal-Kopfspule) zusammen mit einem Multibandfaktor von 4 (im Gegensatz zu den Multibandfaktoren 2, 6, 8 und / oder paralleler Bildakquise, „GRAPPA“) das Nutzen-Kosten-Verhältnis von zeitlichem Signal-Rausch-Verhältnis und Bildgebungsgeschwindigkeit maximiert⁵⁷.

4.5.7 Vorverarbeitung der Daten

Wir verarbeiteten jeden Datensatz unmittelbar nach der Datenerfassung mit Hilfe etablierter Softwarepakete wie FreeSurfer⁵⁸ (<https://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>), FSL⁵⁹ (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki>) und CIFTIFY⁶⁰ (<https://github.com/edickie/ciftify>) sowie interner Skripte, die in Matlab (The Mathworks, Natick, USA, <https://de.mathworks.com/products/matlab.html>) geschrieben wurden. Die Vorverarbeitung der Daten umfasste Bewegungsregression, Scrubbing, komponentenbasierte Korrektur und zeitliche Filterung. Da neuere Untersuchungen gezeigt haben, dass die sequentielle Anwendung dieser Algorithmen erneut Artefakte hervorrufen kann, haben wir alle Schritte zu einem einzigen linearen Filter zusammengefasst, wie von⁶¹ empfohlen.

4.5.8 Berechnung der funktionellen Konnektivität und Statistik

Wir konzentrierten unsere Analyse auf die FC-Veränderungen von zehn zuvor veröffentlichten funktionellen Netzwerken⁴⁰. Zu diesem Zweck begannen wir mit der

Reproduktion der subjektspezifischen Karten jedes der zehn Netzwerke für jeden unserer Probanden (unter Verwendung der dualen Regression, wie oben beschrieben). Wir wiederholten diesen Prozess sowohl für die Baseline- als auch für die Follow-up-Scans. Anschließend analysierten wir die FC-Veränderungen für jeden Probanden in einem zweistufigen Verfahren: (1) Wir testeten für jeden Probanden, ob sich der Beitrag jedes Voxels zu dieser Komponente verändert hatte, und (2) wenn wir Veränderungen in einem Netzwerk ("betroffenes Netzwerk") beobachteten, analysierten wir die Topographie der signifikanten Voxel und untersuchten, zu welchem der zehn ursprünglichen Netzwerke diese Voxel gehörten. Die Idee war, die „Quelle“ der beobachteten Netzwerkveränderungen zu identifizieren und möglicherweise ein gemeinsames Netzwerk von FC-Veränderungen im Zusammenhang mit der Remission zu ermitteln, auch wenn die „betroffenen Netzwerke“ bei den einzelnen Patienten unterschiedlich waren. Wir setzten Permutationstests ein, eine Variante nicht-parametrischer statistischer Tests, um die Inflation des Alpha-Niveaus zu korrigieren. Für weitere Einzelheiten verweisen wir den Leser auf den Abschnitt „Methoden“ der assoziierten Publikation, die in der Open-Access-Zeitschrift BMC Translational Medicine am 27. Oktober 2022 ⁶² publiziert wurde, und die weiter unten in dieser Arbeit mitabgedruckt ist. Nachfolgend wird kurze Rekapitulation der Studie (einschließlich der Ergebnisse) gegeben, woraufhin die wichtigste Kritik der Gutachter während des Einreichungsprozesses aufgegriffen und verteidigt wird. Ein kurzer Ausblick auf die Rolle der FC-Dynamik für die Entwicklung von Biomarkern bei MS und einige abschließende Bemerkungen schließen diese Arbeit ab.

4.6 Ergebnisse und Diskussion

4.6.1 Rekapitulation

In dieser Arbeit wollten wir den typischen Krankheitsverlauf bei MS mit Hilfe funktioneller MRI beschreiben: Ein bemerkenswerter Aspekt der MS-Pathogenese ist die rasche Linderung der Symptome („Remission“), die häufig nach klinischen Schüben beobachtet wird ⁶³. Vor allem in den frühen Stadien der Krankheit ist die Remission oft vollständig ⁶⁴, aber die Mechanismen, die einer solchen Genesung zugrunde liegen, sind zum Teil noch immer nicht klar. Ausgehend von der Vorstellung, dass die Fähigkeit des Gehirns, Verhalten zu erzeugen, aus der Kommunikation auf Netzwerkebene resultiert ^{38,65}, entschieden wir uns, die Kohärenz (eine Form der FC

⁴⁰⁾ verschiedener funktioneller Netzwerke zu messen. Insbesondere untersuchten wir, ob es bei MS-Patienten zwischen der ersten klinischen Episode und der anschließenden Remission trotz der klinischen Unterschiede zwischen den Patienten gemeinsame Muster veränderter Kohärenz gibt. Wir argumentieren, dass bestimmte Muster veränderter Kohärenz den Veränderungen zwischen klinischen Schüben und Remission zugrunde liegen könnten: nämlich, dass ein Netzwerk seine Kohärenz zu sich selbst („one-to-self“), zu einem anderen Netzwerk („one-to-other“) oder zu einer Reihe anderer Netzwerke („one-to-many“) verändern könnte, oder dass unabhängig davon, welches Netzwerk betroffen ist, die Kohärenz in Bezug auf ein gemeinsames Netzwerk („many-to-one“) verändert werden könnte. Wir erfassten Daten von 18 MS-Patienten und analysierten ihre FC während ihrer ersten klinischen Episode und ein weiteres Mal während der Remission, als die Symptome klinisch zurückgingen, und bewerteten die FC-Veränderungen im Vergleich zu gesunden Kontrollen. Permutationstests unterstützten zwei dieser Hypothesen: (a) wir fanden eine Abnahme der Kohärenz zwischen dem Executive Control Netzwerk und anderen Netzwerken, was die Hypothese „one-to-many“ unterstützt, und (b) die Netzwerke veränderten ihre Kohärenz mit dem zerebellären Netzwerk, was die Hypothese „many-to-one“ unterstützt. Wir diskutierten unsere Ergebnisse als Beweis dafür, dass die Genesung von MS einem Lernprozess ähnelt, da das Kleinhirn regelmäßig mit Lernen und der Automatisierung von Prozessen in Verbindung gebracht wird.

4.6.2 Limitationen

Es könnte argumentiert werden, dass die Studie unter einer geringen Stichprobengröße leidet und dass die Studie aufgrund der geringen Stichprobengröße und der Heterogenität der Patienten nicht aussagekräftig genug ist. Beiden Argumenten möchte ich im Folgenden entgegentreten.

Bezüglich des Stichprobenumfangs: In einer separaten Analyse (siehe supplementäre Analyse im Anhang und Abbildung S1) haben wir selbst dann signifikante Ergebnisse gefunden, wenn wir unsere endgültige Studienstichprobe in zwei Hälften geteilt haben (d. h. zwei Studienpopulationen mit jeweils $N = 9$), was wahrscheinlich mit der erhöhten Aussagekraft von Längsschnittstudien zusammenhängt, wie oben beschrieben. In der Tat konnten wir für beiden Stichproben zeigen, dass während der Remission nach der ersten klinischen Episode das zerebelläre Netzwerk immer noch das wahrscheinlichste Netzwerk war, zu dem mehrere andere Netzwerke ihre Konnektivität veränderten (sowohl in Bezug auf

Konnektivitätszunahmen als auch -abnahmen). In Anbetracht der Tatsache, dass wir sowohl klinisch als auch radiologisch heterogene Patienten in beiden „Split-Half“-Analysen untersucht haben und dennoch konsistente Ergebnisse gefunden haben, argumentieren wir, dass die Heterogenität der klinischen Symptome sogar die potenzielle Bedeutung unseres Postulats stärkt, dass das zerebelläre Netzwerk eine zentrale Rolle bei der Remission von MS spielen kann, unabhängig von den jeweiligen klinischen Symptomen (eine Behauptung, die man bei einer homogenen Gruppe nicht aufstellen kann).

Um noch mehr zu unterstreichen, dass unsere Ergebnisse wirklich über einzelne Patienten hinweg verallgemeinerbar sind, haben wir eine weitere ergänzende Analyse durchgeführt (die nicht in der Originalpublikation veröffentlicht wurde), die wir im Folgenden wiedergeben: In dieser Analyse testeten wir für jeden Patienten einzeln die Wahrscheinlichkeiten für jedes der zehn Netzwerke, ein ursprüngliches Netzwerk zu sein, d.h. mindestens eine ROI mit erhöhter (Abbildung 5) oder verringerter (Abbildung 6) funktioneller Kohärenz zu diesem Netzwerk in Remission vs. klinischer Episode zu zeigen. Wie in Abbildung 5 ersichtlich, stellten wir fest, dass das zerebelläre Netzwerk in 13/18 Fällen eine erhöhte Kohärenz zu einem anderen Netzwerk aufwies und in 14/18 Fällen eine verminderte Kohärenz zu einem anderen Netzwerk (Abbildung 6). Wie wir in der Publikation dargelegt haben, entspricht dies einer statistischen Aussagekraft von 99,9985 %. Analog wurde eine statistische Aussagekraft von 99,9991% erreicht, um den Effekt der Kohärenzverringering des zerebellären Netzwerk betreffend bei 14 von 18 Patienten zu finden.

Wir wiederholten diese individuelle Analyse auch für die veränderten Netzwerke, d. h. die Wahrscheinlichkeit, dass jedes Netzwerk mindestens eine ROI mit funktionellen Zunahmen oder Abnahmen aufweist (Abbildungen 7–8). Hier war der in der Analyse auf Gruppenebene gefundene Haupteffekt, d. h. die Abnahme der FC des Executive Control Netzwerk, auf individueller Ebene weniger leicht zu beobachten. Trotzdem war dieses Netzwerk immer noch das am wahrscheinlichsten veränderte Netzwerk in Bezug auf die Abnahme in 6/18 und unter den am wahrscheinlichsten in 12/18 Fällen. Eine ANOVA ergab Unterschiede zwischen den Netzwerken ($F_{9,153} = 3,13$, $p = 0,0017$) und zwischen den Kohärenzrichtungen ($F_{1,17} = 5,04$, $p = 0,038$), aber keine Interaktion zwischen den beiden Faktoren ($F_{9,153} = 0.84$, $p = 0,58$).

Zusammenfassend können wir den Effekt veränderter Kohärenz des zerebellären Netzwerks mit anderen Netzwerken zwischen MS-Schub und Remission

auf drei Ebenen zeigen: (1) auf der Gruppenebene der gesamten Patientenstichprobe ($N = 18$), (2) in einer Split-Half-Analyse ($2 \times N = 9$) und auch auf individueller Ebene ($18 \times N = 1$). Die beschriebenen Effekte haben eine statistische Aussagekraft von $> 99,999\%$ ergeben, sind wir zuversichtlich zu behaupten, dass dieses Ergebnis über für MS-Patienten verallgemeinert werden kann.

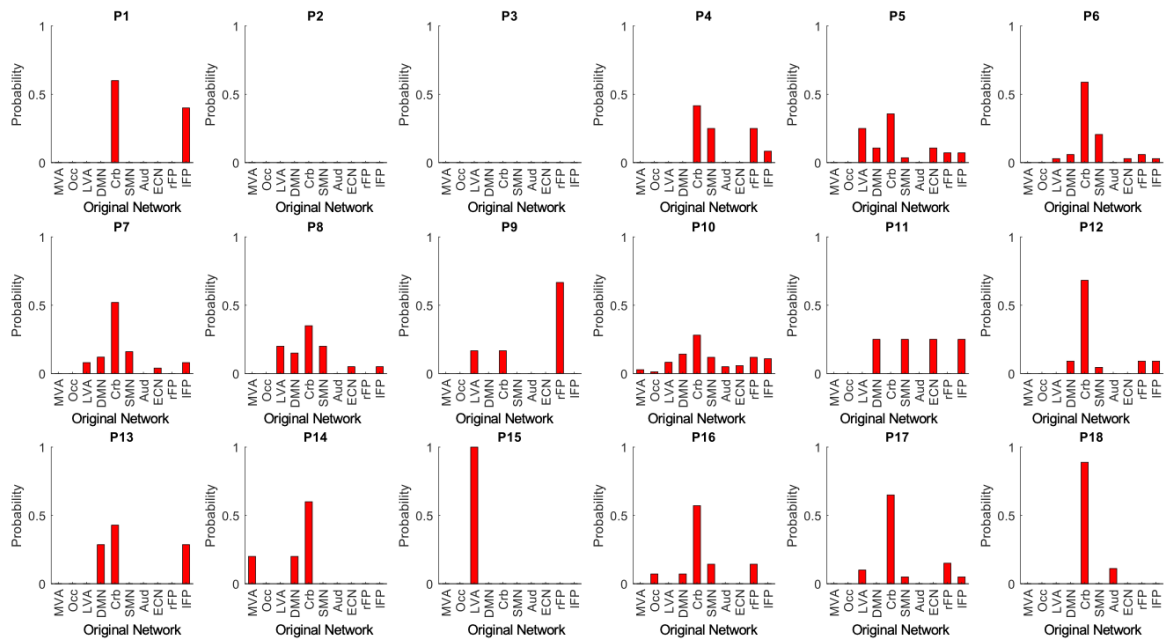


Abbildung 5. Individuelle Wahrscheinlichkeiten: Zunahmen in ursprünglichen Netzwerken. Die Wahrscheinlichkeit, dass jedes der 18 Patientennetzwerke (bezeichnet als P) ein ursprüngliches Netzwerk war, das mindestens eine ROI mit erhöhter funktioneller Kohärenz aufwies.

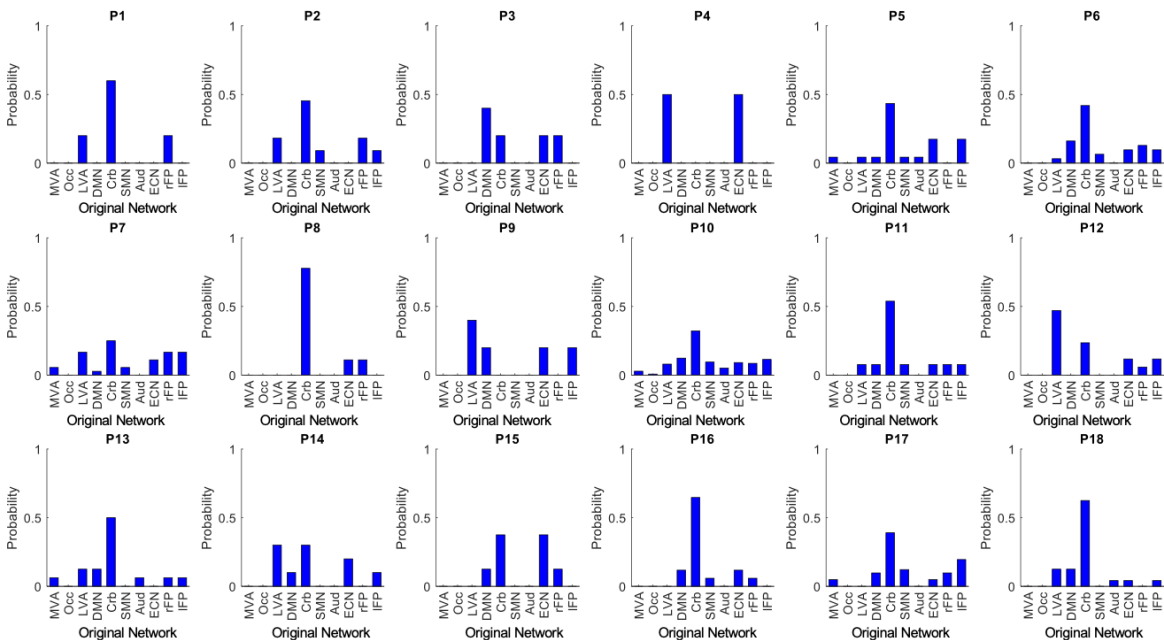


Abbildung 6. Individuelle Wahrscheinlichkeiten: Verminderungen in ursprünglichen Netzwerken. Die Wahrscheinlichkeit, dass jedes der 18 Patientennetzwerke (bezeichnet als P) ein ursprüngliches Netzwerk war, das mindestens eine ROI mit verminderter funktioneller Kohärenz aufwies.

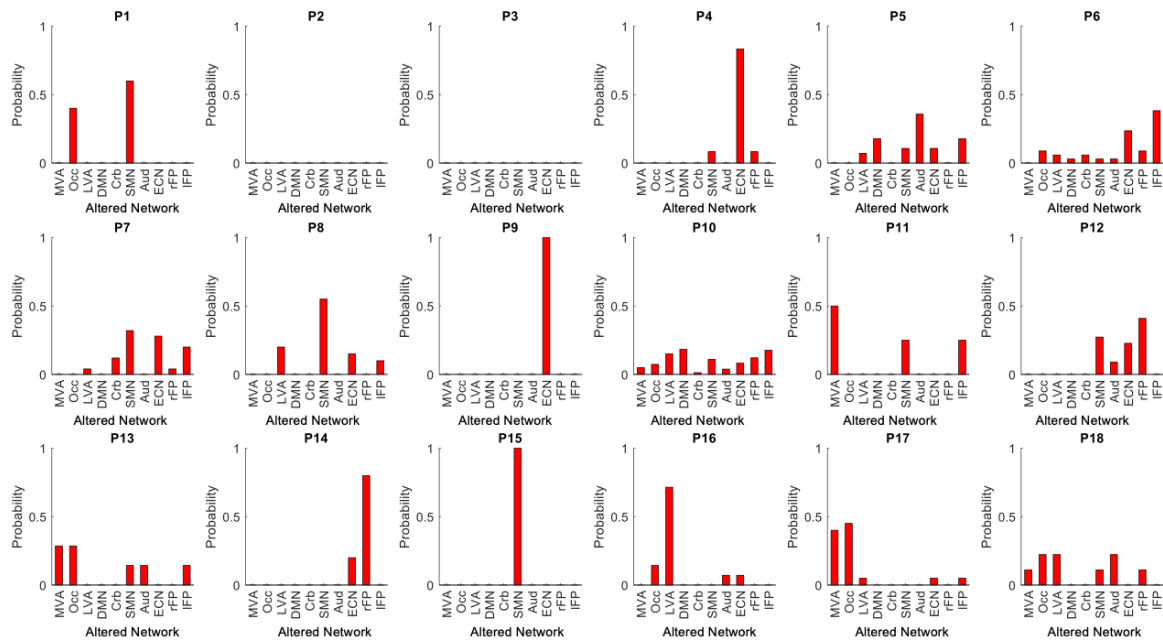


Abbildung 7. Individuelle Wahrscheinlichkeiten: Zunahme der veränderten Netzwerke. Die Wahrscheinlichkeit, dass es sich bei jedem der 18 Patientennetzwerke (bezeichnet als P) um ein verändertes Netzwerk handelt, das mindestens eine ROI mit erhöhter funktioneller Kohärenz aufweist.

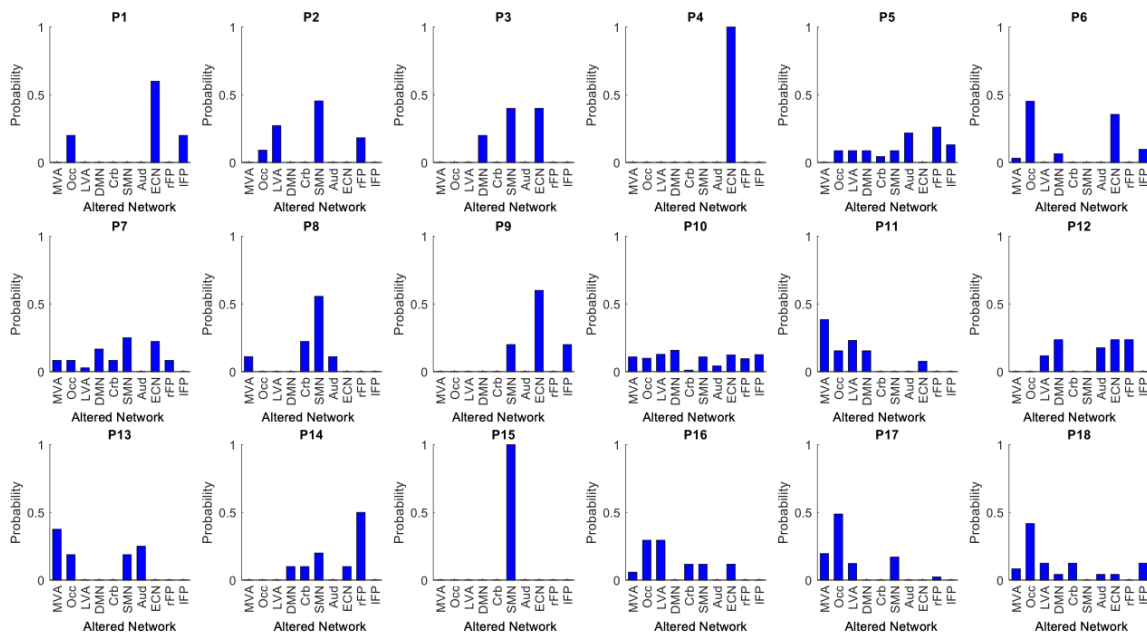


Abbildung 8. Individuelle Wahrscheinlichkeiten: Verminderungen in veränderten Netzwerken. Die Wahrscheinlichkeit, dass es sich bei jedem der 18 Patientennetzwerke (bezeichnet als P) um ein verändertes Netzwerk handelt, das mindestens eine ROI mit verminderter funktioneller Kohärenz aufweist.

4.6.3 Ausblick: Funktionelle Konnektivitätsdynamik

In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass die FC die klinisch relevante MS-Pathologie widerspiegelt. In dieser Arbeit haben wir die FC jedoch als ein rein stationäres Maß behandelt und angenommen, dass Hirnregionen mit ähnlicher zeitlicher physiologischer Aktivität Informationen austauschen und somit „funktionell verbunden“ sind ^{1,26}. Jüngere Arbeiten haben jedoch gezeigt, dass die FC möglicherweise nicht stationär ist ⁶⁶, und daher könnte die Untersuchung der FC-Fluktuationen ^{67,68} – oder der „funktionellen Konnektivitätsdynamik“ (FCD) – zusätzliche Informationen über die Entwicklung des Krankheitsverlaufs von MS liefern ⁵². MS stellt einen besonders herausfordernden Fall für ein solches Unterfangen dar. Ein Problem besteht darin, dass Läsionen und Atrophie der grauen Substanz nicht auf bestimmte Orte beschränkt sind (trotz einer höheren Wahrscheinlichkeit von Läsionen in periventrikulären Regionen ⁶⁹), was es schwierig macht, kritische Regionen zu identifizieren, die typische Muster einer veränderten (stationären) Konnektivität erzeugen. Ein zweites Problem besteht darin, dass MS-Läsionen definitionsgemäß an mehreren Stellen auftreten, was die Schätzung bestimmter Klassen generativer Modelle (z. B. die dynamische Kausalmodellierung ⁷⁰) rechnerisch erschwert. Daher könnten zumindest in naher Zukunft systemische Messungen wie der Zusammenbruch der Kohärenz oder die Reorganisation von Netzwerkhierarchien ⁷¹ die zugänglichsten Mittel zur Untersuchung von Konnektivitätsänderungen bei MS sein. Zwei Hauptkriterien bestärken die Überzeugung, dass die FCD im Vergleich zur (stationären) FC ein vielversprechenderer Kandidat für einen Biomarker des Krankheitsverlaufs bei MS ist: Zum einen kann die FCD durch die Analyse von kontinuierlich und flexibel reorganisierenden Konnektivitätsmustern komplexes Verhalten erklären ⁷². Zweitens weist sie im Gegensatz zur (stationären) FC eine grundlegende Eigenschaft eines Biomarkers auf: Sie ist bei gesunden Kontrollpersonen über die Zeit reproduzierbar ⁷¹, während die Reliabilität stationärer FC kontrovers diskutiert wird ⁵⁵. Nur ein Maß, das sich bei Abwesenheit einer Krankheit nicht verändert, kann dazu dienen, das Vorhandensein einer Krankheit und ihr Fortschreiten zu beschreiben. Künftige Arbeiten müssen sich mit dynamischen Modellen der FC bei MS befassen und prüfen, wie die Pathologie mit Interaktionsänderungen in einem gekoppelten System zusammenhängt ^{70,73}.

5 Publikation “Early remission in multiple sclerosis is linked to altered coherence of the Cerebellar Network”

Auf den nachfolgenden Seiten ist die mit dieser Dissertation assoziierte Publikation abgedruckt. Die vollständige Referenz lautet:


Tahedi, M., Levine, S. M., Weissert, R., Kohl, Z., Lee, D. H., Linker, R. A., & Schwarzbach, J. V. (2022). Early remission in multiple sclerosis is linked to altered coherence of the Cerebellar Network. *Journal of Translational Medicine*, 20(1), 1-14.

RESEARCH

Open Access



Early remission in multiple sclerosis is linked to altered coherence of the Cerebellar Network

Marlene Tahedi^{1,2}, Seth M. Levine^{3,4}, Robert Weissert⁵, Zacharias Kohl⁵, De-Hyung Lee⁵, Ralf A. Linker⁵ and Jens V. Schwarzbach^{1*} 

Abstract

Background The development of permanent disability in multiple sclerosis (MS) is highly variable among patients, and the exact mechanisms that contribute to this disability remain unknown.

Methods Following the idea that the brain has intrinsic network organization, we investigated changes of functional networks in MS patients to identify possible links between network reorganization and remission from clinical episodes in MS. Eighteen relapsing–remitting MS patients (RRMS) in their first clinical manifestation underwent resting-state functional MRI and again during remission. We used ten template networks, identified from independent component analysis, to compare changes in network coherence for each patient compared to those of 44 healthy controls from the Human Connectome Project test–retest dataset (two-sample t-test of pre–post differences). Combining a binomial test with Monte Carlo procedures, we tested four models of how functional coherence might change between the first clinical episode and remission: a network can change its coherence (a) with itself (“one-with-self”), (b) with another network (“one-with-other”), or (c) with a set of other networks (“one-with-many”), or (d) multiple networks can change their coherence with respect to one common network (“many-with-one”).

Results We found evidence supporting two of these hypotheses: coherence decreased between the Executive Control Network and several other networks (“one-with-many” hypothesis), and a set of networks altered their coherence with the Cerebellar Network (“many-with-one” hypothesis).

Conclusion Given the unexpected commonality of the Cerebellar Network’s altered coherence with other networks (a finding present in more than 70% of the patients, despite their clinical heterogeneity), we conclude that remission in MS may result from learning processes mediated by the Cerebellar Network.

Keywords Cerebellar Network, Functional connectivity, Independent component analysis, Multiple sclerosis, Remission

*Correspondence:

Jens V. Schwarzbach
jens.schwarzbach@ukr.de

¹ Department of Psychiatry and Psychotherapy, University of Regensburg, 93053 Regensburg, Germany

² Institute for Psychology, University of Regensburg, 93053 Regensburg, Germany

³ Department of Psychology, LMU Munich, 80802 Munich, Germany

⁴ Neuroimaging Core Unit Munich (NICUM), University Hospital LMU, 80336 Munich, Germany

⁵ Department of Neurology, University of Regensburg, 93053 Regensburg, Germany

Introduction

In multiple sclerosis (MS), the most commonly observed disease course is characterized by an alternating pattern of new or enhanced neurological symptoms (“relapses”) and phases of partial or complete recovery (“remission”). These clinical episodes often co-occur with an acute inflammatory insult, causing demyelination and neurodegeneration to the central nervous system (CNS). Such sudden injury is believed to be the source of the symptoms, as demyelination hampers signal transmission [1]. Consequently, given the network nature of the brain,



© The Author(s) 2022, corrected publication 2023. **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article’s Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article’s Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

which relies on complex systemwide communication to carry out tasks [2], it is reasonable to assume that any interruption of signal transmission results in suboptimal task performance, which can present as neurological symptoms [3]. Although during remission the inflammation has subsided, sclerotic, demyelinated plaques remain [4]; nevertheless, patients are often completely symptom-free, especially following early relapses [5]. Therefore, it would appear as though the brain employs mechanisms beyond lesion repair in order to regain and maintain function following lesion occurrence.

Classic work has shown that the brain is able to flexibly reorganize (generally referred to as “neuroplasticity” [6, 7]), even in elderly people [8]. Studies using functional magnetic resonance imaging (fMRI) have demonstrated that the neural correlates underlying specific tasks differ between MS patients and healthy controls (HCs), thereby suggesting neuroplastic reorganization. For example, Pantano and colleagues [9] investigated the neural correlates of hand movements in MS patients with an ipsi- as well as a contralateral hemiparesis. This study showed that, even in the absence of any clinical manifestation, the same task implicates different cortical areas in MS patients compared to HCs. Additionally, functional reorganization in MS patients has been observed at clinical recovery after pseudotumoral lesions [10]. Related observations have been reported by other similar studies [11–13].

One drawback of such task-based fMRI is that its findings can generally only be interpreted within the context of specific tasks that probe specific functions. However, specific tasks that uncover large-scale changes in network organization between a heterogeneous group of MS-patients and a group of HCs are not known or may not exist. Therefore, examining network properties speaks in favor of employing resting-state fMRI (rs-fMRI), which allows the analysis of network-level activity in the brain in an unconstrained manner [14]. Many investigations have looked into the reorganization of resting-state networks in MS patients, indeed demonstrating some general, fundamental differences in this organization compared to HCs (e.g. [15, 16], for a review see [17]). However, such studies do not address the mechanisms that underlie successful or failed remission.

In this study, we recruited MS patients suffering from their first clinical manifestation. Our approach sought to investigate the changes in functional coherence (a type of functional connectivity, [14]) of brain networks between the first episode, during which patients exhibited neurological symptoms, and remission (when they were symptom-free, on average four weeks after the first scan). With this experimental design, we investigated the following questions: although MS is a highly heterogeneous

disease, is there nevertheless a common brain network that changes in all MS patients between a clinical episode and remission? If so, does this network change with respect to itself (1) a one-with-self change), with respect to a specific other network (2) a one-with-other change), or with respect to a variety of other networks (3) a one-with-many change)? Furthermore, is there a particular region of the brain (or set of regions) to which patients’ networks systematically change their coherence (4) a many-with-one change)? These hypotheses (Fig. 1) follow the idea of a putative general mechanism driving the recovery toward remission [18] but implicate different physiological levels with respect to the function of remission in MS.

Methods

Participants

Patients

For this study, we recruited 18 relapsing–remitting MS patients (14 females, 4 males, age (mean \pm standard deviation) = 28.33 \pm 9.36 years) in their initial clinical episode (diagnosed according to the 2017 revisions of the McDonald criteria [19]: dissemination in space was demonstrated by MRI, dissemination in time by presence of oligoclonal bands). Each patient was scanned twice: once during the first episode [i.e., with ongoing presentation of symptoms (EDSS \geq 1 in all cases)] and the second time during remission (when we expected a decrease in EDSS scores, on average four weeks after the first scan). The patients showed different clinical symptoms (Table 1). For six patients, no structured EDSS assessment was available in remission. We calculated the median EDSS scores during the first clinical episode and remission and used a Wilcoxon signed-rank test to test the null hypothesis that median ranks from both time points are equal. We calculated T2 lesion load for all but one patient (for whom no T2 FLAIR image was available from the first session due to excessive motion) in both sessions using the Lesion Prediction Algorithm of the Lesion Segmentation Toolbox [20] and assessed changes of lesion load between the two scans with a paired t-test. All patients provided written informed consent to participate in this study. All study procedures followed safety guidelines for MRI research at the University of Regensburg, complied with the 1964 Helsinki Declaration and its later amendments, and were approved by the ethics committee of the University of Regensburg.

Healthy control participants

We used data from the Human Connectome Project 1200 Subjects Data Release (www.humanconnectome.org) as a control dataset [21, 22]. Specifically, we made use of the minimally-preprocessed rs-fMRI data, which

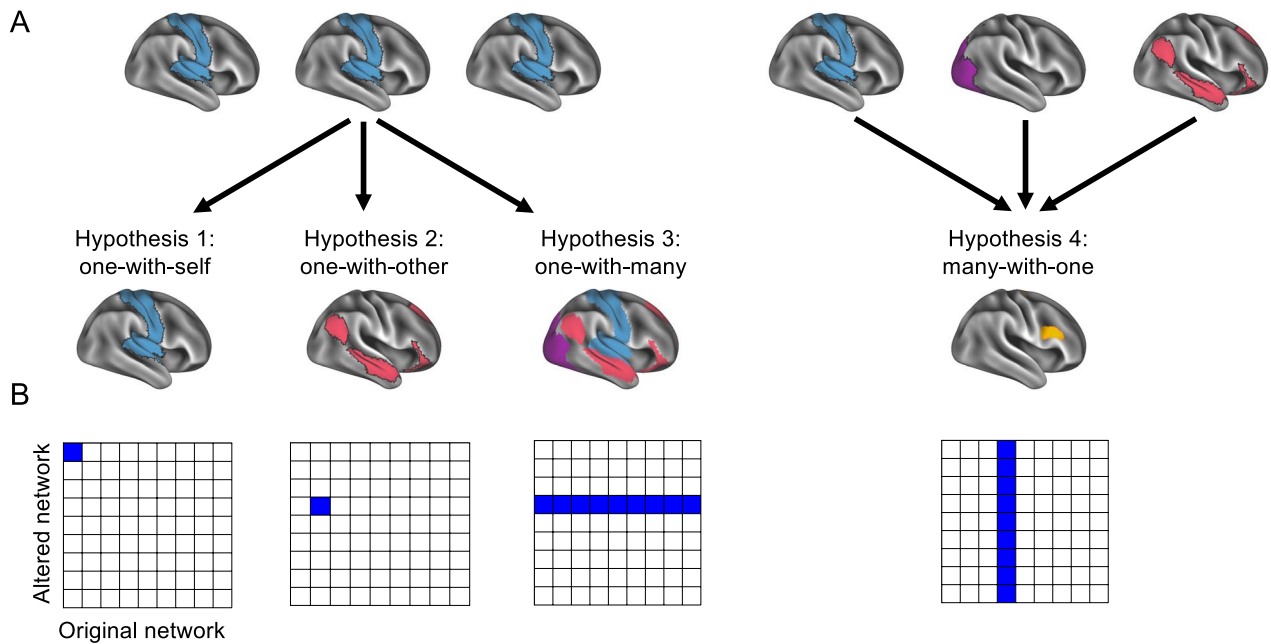


Fig. 1 Hypotheses. Conceptual representation of the hypotheses depicted as **A** brain maps and **B** adjacency matrices. We hypothesize that functional network coherence changes between relapse and remission can occur as changes from an original network to itself (one-with-self), to another network (one-with-other), or to a set of networks (one-with-many), or that regardless of the original network, these networks change with respect to a common network (many-with-one)

Table 1 Demographic and clinical data of the patients

Patient ID	Age / Sex	T2 LL (relapse)	T2 LL (remission)	EDSS score (relapse)	EDSS score (remission)	Neurological symptoms
MS01	28 / f	1.72 ml	1.30 ml	3.0	1.0	Internuclear ophthalmoplegia
MS02	23 / f	3.93 ml	6.06 ml	2.0	n.a. **	Facial nerve paralysis
MS03	54 / f	19.13 ml	21.61 ml	3.0	1.5	Paresis left leg, restricted walking range, limb ataxia
MS04	21 / f	0.36 ml	0.36 ml	2.0	1.5	Optic neuritis
MS05	23 / f	14.41 ml	13.42 ml	2.0	1.0	Optic neuritis, facial nerve paralysis, mild fatigue, sensory disturbances
MS06	27 / f	n.a.*	1.53 ml	3.0	n.a. **	Optic neuritis, sensory disturbances
MS07	29 / m	0.85 ml	0.69 ml	2.5	1.0	Gait ataxia, sensory disturbances
MS08	22 / f	0.02 ml	0.14 ml	1.0	1.0	Optic neuritis
MS09	22 / f	1.41 ml	0.41 ml	2.0	0.0	Optic neuritis
MS10	21 / f	1.93 ml	1.62 ml	3.0	2.0	Optic neuritis
MS11	24 / f	8.97 ml	3.30 ml	3.0	n.a. **	Tetraparesis, gait ataxia
MS12	35 / m	0.44 ml	0.46 ml	2.5	n.a. **	Cerebellar ataxia
MS13	33 / f	4.58 ml	4.81 ml	2.0	n.a. **	Slight ataxia, paresis of the left leg
MS14	18 / m	1.28 ml	0.94 ml	1.0	1.0	Vertigo, gait ataxia
MS15	23 / f	0.03 ml	0.02 ml	2.0	1.0	Optic neuritis
MS16	35 / m	0.45 ml	1.41 ml	2.5	3.0	Sensory disturbances, fatigue
MS17	26 / f	1.67 ml	1.62 ml	2.0	n.a. **	Optic neuritis
MS18	46 / f	0.19 ml	0.16 ml	4.0	1.0	Optic neuritis

* No T2 FLAIR image was available at relapse due to excessive motion of the patient during that sequence

** No structured EDSS assessment was available in remission

EDSS expanded disability status scale, LL lesion load, n.a. not available

includes complete test–retest data from 44 participants (30 females, age range = 22–35 years). Participants were scanned on two separate days, separated by an interscan interval between 3 and 11 months. All study procedures of the HCP protocol were approved by the Institutional Review Board at Washington University in St. Louis.

Neuroimaging data acquisition

Data acquisition of the 18 MS patients was carried out on a 3 Tesla Prisma scanner (Siemens, Erlangen, Germany). Resting-state functional images were acquired with a T2*-weighted EPI sequence (instruction to participants: eyes closed, repetition time (TR) = 2000 ms, echo time (TE) = 30.0 ms, flip angle (FA) = 70°, field of view (FOV) = 192 × 192 mm², matrix size = 64 × 64, voxel resolution (VR) = 3 × 3 × 3.6 mm³, 33 axial slices (acquired ascending-interleaved), phase encoding direction = anterior–posterior, echo spacing = 0.58 ms, pixel bandwidth (BW) = 2605 Hz/Px, scan duration = 22 min 6 s, 660 volumes per run; three dummy volumes were acquired at the beginning of the scan to account for T1-saturation). For co-registration of the functional data to high-resolution native anatomical space, we acquired a T1-weighted scan using a 3D Turboflash MPRAGE sequence (TR = 1910 ms, TE = 3.67 ms, inversion time (TI) = 1040 ms, 180 sagittal slices, FA = 9°, FOV = 250 × 250 mm², matrix size = 256 × 256, VR = 0.98 × 0.98 × 1 mm³, BW = 180 Hz/Px, scan duration = 4 min 25 s). Additionally, to quantify lesion load, we acquired a T2-weighted 2D Fluid Attenuated Inversion Recovery (FLAIR) image (TR = 9000 ms, TE = 108 ms, TI = 2500 ms, 27 axial slices, FA = 150°, FOV = 186 × 230 mm², matrix size = 260 × 320, VR = 0.72 × 0.72 × 5.5 mm³, BW = 290 Hz/Px, scan duration = 2 min 14 s) and calculated the lesion load using an automatic lesion-segmentation method [20].

The HCP data was acquired on a 3 Tesla Connectome Skyras Scanner (instruction to participants: eyes closed, TR = 720 ms, TE = 33.1 ms, FA = 52°, FOV = 208 × 180 mm², matrix size = 104 × 90, voxel resolution = 2 × 2 × 2 mm³, 72 slices, phase encoding direction = right–left, multiband factor = 8, echo spacing = 0.58 ms, BW = 2290 Hz/Px, scan duration = 14 min 33 s, 1200 volumes per run). The full imaging protocols can be found online at <http://protocols.humanconnectome.org/HCP/3T/imaging-protocols.html>.

Although the scanning parameters used to acquire the patient dataset differed from those used to acquire the HCP dataset, the concern of a methodological bias is mitigated by the fact that we did not compare groups directly; rather, we compared within-group longitudinal changes between the two groups [i.e., differences (groups) of differences (time points)]. As such, given that data at both time points for a given member of each group were acquired

with the same parameters, one would only expect the presence of biases if one set of scanning parameters was inherently more sensitive towards detecting connectivity-based differences over time. In this case, our method, comprising fewer acquired volumes, was less sensitive, whereas the HCP method, comprising more acquired volumes, was more sensitive [23]. Thus, the scanning parameters applied to the patient sample were more statistically conservative and therefore less likely to yield false positives.

Neuroimaging data analysis

Analysis of the acquired neuroimaging data was carried out with the FMRIB Software Library (FSL, version 6.0) [24, 25], the Connectome Workbench (version 1.4.2) [26, 27] and the CoSMoMOPA toolbox [28] for MATLAB R2018b (The Mathworks, Natick, USA). Additionally, the HCP data had already been pre-processed using tools from FreeSurfer, FSL and the Connectome Workbench at the time we used it; see [22] for details on this procedure.

Pre-processing

Pre-processing steps included brain extraction [29], slice-time correction, and motion correction with respect to the middle volume of each run (using trilinear interpolation with 6 degrees of freedom (DOFs) [30]). We did not apply spatial smoothing, as its implementation has recently been shown to artificially increase the similarity of networks between subjects in functional connectivity analyses [31]. Additionally, we did not apply temporal filtering, which would have interfered with subsequent automatic removal of motion artifacts (see below).

Each patient's functional scan was then linearly co-registered to the native high-resolution anatomical scan using a rigid body (6 DOFs) transformation. For statistical comparisons, we also performed a second, non-linear, co-registration of each functional scan to MNI152 2 mm standard space. Because non-linear registrations are only reasonable within the same modalities (e.g., structural, functional, etc.), we first implemented a 12 DOF affine transformation of the high-resolution anatomical scan to MNI152 2 mm space, which we then used as a starting point for the non-linear registration of the functional data to the standard space [32].

In the final pre-processing step, we corrected for head motion-induced artifacts using FSL's Automated Removal of Motion Artifacts (AROMA) tool, using its non-aggressive strategy [33]. This algorithm consists of three steps: first, independent component analysis (ICA) is applied to decompose the functional data into a set of spatially independent components. Second, those components that most likely relate to head motion are automatically identified based on four criteria (high-frequency content, maximum correlation with realignment parameters, edge

fractions, and CSF fractions). Finally, the functional data is denoised by removing the variance explained by only the motion-related components. We performed this analysis on the functional data in native space, which we later transformed into MNI standard space using the previously generated transformation matrices.

The maps resulting from this procedure were in volumetric space, but a 2D representation of cortical data has several advantages over a 3D-representation, including enhanced alignment to the geometry of the cortex as well as increased statistical power [34]. Therefore, we transformed the preprocessed data into CIFTI files (Connectivity Informatics Technology Initiative, <https://www.nitrc.org/projects/cifti/>) using the Ciftify toolbox [35], a file format which renders cortical data on the surface while maintaining volumetric information of subcortical and cerebellar data. For simplicity, we will refer to the smallest units of our data as “voxels”, comprising both surface-based and cerebellar/subcortical representations.

As a control data set, we used minimally preprocessed data (both functional and structural scans) from the HCP-retest dataset, which are also provided in CIFTI format. This data has been preprocessed following the HCP functional preprocessing pipeline [22]. The main preprocessing steps were identical between our pipeline and the HCP pipeline, encompassing removal of spatial/distortion artifacts, surface generation, registration and alignment to standard space.

Assessing changes in brain network organization between relapse and remission

The central goal of our analysis (illustrated in Figs. 2 and 3) was to investigate whether the organization of patients' brain networks changed between relapse and remission, compared to that of a sample of HC. Using dual regression [36] we generated subject-specific component maps based on ten previously published spatial components (from ICA, Table 2) and associated time courses [14] for both patients and HCs (Fig. 2A). Here, we used a version of this template in CIFTI file format [37]. Then, each of the ten component templates was regressed (as spatial regressors in a multiple regression) into each participant's (i.e., each patient and each of the HCs) 4D space–time dataset. This procedure resulted in a set of ten subject-specific time series, one per spatial component. The resulting time series were used as temporal predictors in a multiple regression of each participant's 4D dataset, resulting in ten subject-specific spatial maps of parameter estimates (PE). We then smoothed the PE maps with a Gaussian kernel of 5 mm FWHM (in order to improve the spatial correspondence between the data from patients and HCs). We applied this procedure to the scan during the first clinical episode (or baseline in HC) and the scan at remission (or

follow-up in HCs). As we were interested in *changes* in brain networks, we computed the difference between the PE maps (for each of the ten templates separately) for each patient/HC from the two scans (i.e., we calculated remission minus first clinical episode for the patients and follow-up minus baseline for the HC, Fig. 2B, upper row). We then converted the patients' difference maps, voxelwise, to *z*-score maps (Fig. 2B, lower row), using the mean and standard deviation from the difference maps (follow-up—baseline) of the 44 HCs. We computed these maps for each of the ten ICA-networks separately.

In order to carry out statistical inference on the difference maps, we used a permutation testing scheme [38] based on the null hypothesis of no difference between patients and controls. The procedure was as follows (Fig. 3A): for each network, of all 62 analyzed subjects (combining 18 patients and 44 controls), we randomly selected the difference maps from 18 subjects (reflecting the number of patients in our sample) and calculated 18 *z*-scored difference maps, as described in the previous paragraph, from the distribution of the remaining 44 subjects (which could contain patients). From each of the resulting *z*-scored difference maps, we stored both the maximum and the minimum *z*-scores [to control for the inflated family-wise error rate (FWER)] in order to generate two separate null distributions for testing both increases and decreases of coherence. We repeated this process 10,000 times and subsequently compared the *z*-scored difference maps of the 18 patients (i.e. ten maps for each patient, reflecting the ten analyzed networks) to the permutation-based null distributions by counting how many values of the null distributions were more extreme than the observed *z*-scores in each voxel of the patients' maps. Dividing this count by the number of permutations yielded FWER-corrected *p*-values (p_{FWER}) (Fig. 3B). We considered voxels with a p_{FWER} lower than 0.025 (i.e., 0.05, two-tailed) to indicate changes in network organization that would not be predicted by chance. Hereinafter, we refer to networks in which we observed changes between the two time points as “altered networks”. For each altered network, if we identified one or more clusters of voxels with $p_{\text{FWER}} < 0.025$, we extracted those clusters using Workbench's *cifti-find-clusters* algorithm. In the following sections, we refer to such clusters of voxels as regions of interest (ROIs).

Constructing adjacency matrices between altered networks and original networks

For all of the ROIs of a given altered network of a single patient, we identified to which of the ten *original* networks the ROIs belong, according to the ICA *z*-scores from the ten spatial components. This procedure yielded a 10×10 adjacency matrix of altered networks (rows)

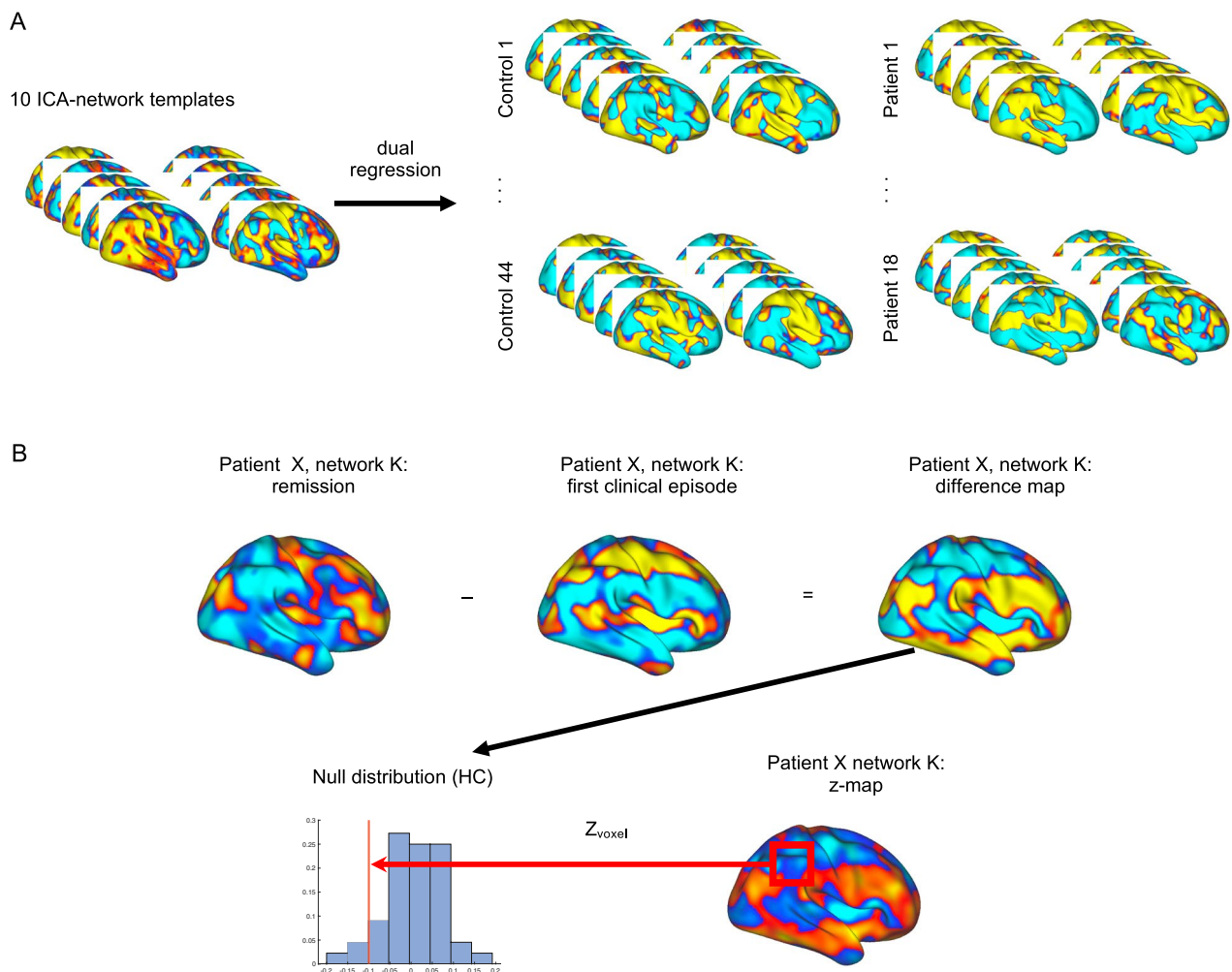


Fig. 2 Calculating statistical maps of network changes. **A** First, we applied dual regression for a set of ten ICA-network templates to each control's and each patient's data sets, both for first clinical episode (baseline) and remission (follow-up). Next, **(B, upper row)** we computed the difference map for each patient between the two time points. Finally, **(B, lower row)** we converted the patients' difference maps to z-maps, by calculating, for each voxel, the z-score with respect to the control group

and original networks (columns). Thus, we counted the number of ROIs present for a given altered network and placed this count data in the corresponding column of the matrix. As we were interested in the number of patients that showed similar coherence changes, these data were binarized, so that, even if a patient had multiple ROIs reflecting coherence changes between the same two networks, this information appeared in the matrix as a one. This 10×10 binary adjacency matrix was populated for each patient and then summed across patients, yielding a group-level frequency matrix, which allowed us to perform group-level statistics to test our hypotheses. Such matrices were not necessarily symmetric because a pre-post change in an altered network that changed its connectivity with an original network does not imply that the original network also showed a pre- post change.

Assessing the one-with-one, one-with-many, and many-with-one hypotheses

Our hypotheses asked whether specific patterns appeared in the adjacency matrices, which would indicate systematicity between original networks and altered networks. Namely, we were interested in a one-with-one hypothesis (denoted by a single square in the adjacency matrix, Fig. 1B), a one-with-many hypothesis (denoted by a row in the adjacency matrix), and a many-with-one hypothesis (denoted by a column in the adjacency matrix). Thus, we needed to determine whether the frequencies for a single square or the pattern of frequencies for a given column or row were unlikely to occur by chance, which we carried out using a binomial test and Monte Carlo procedures.

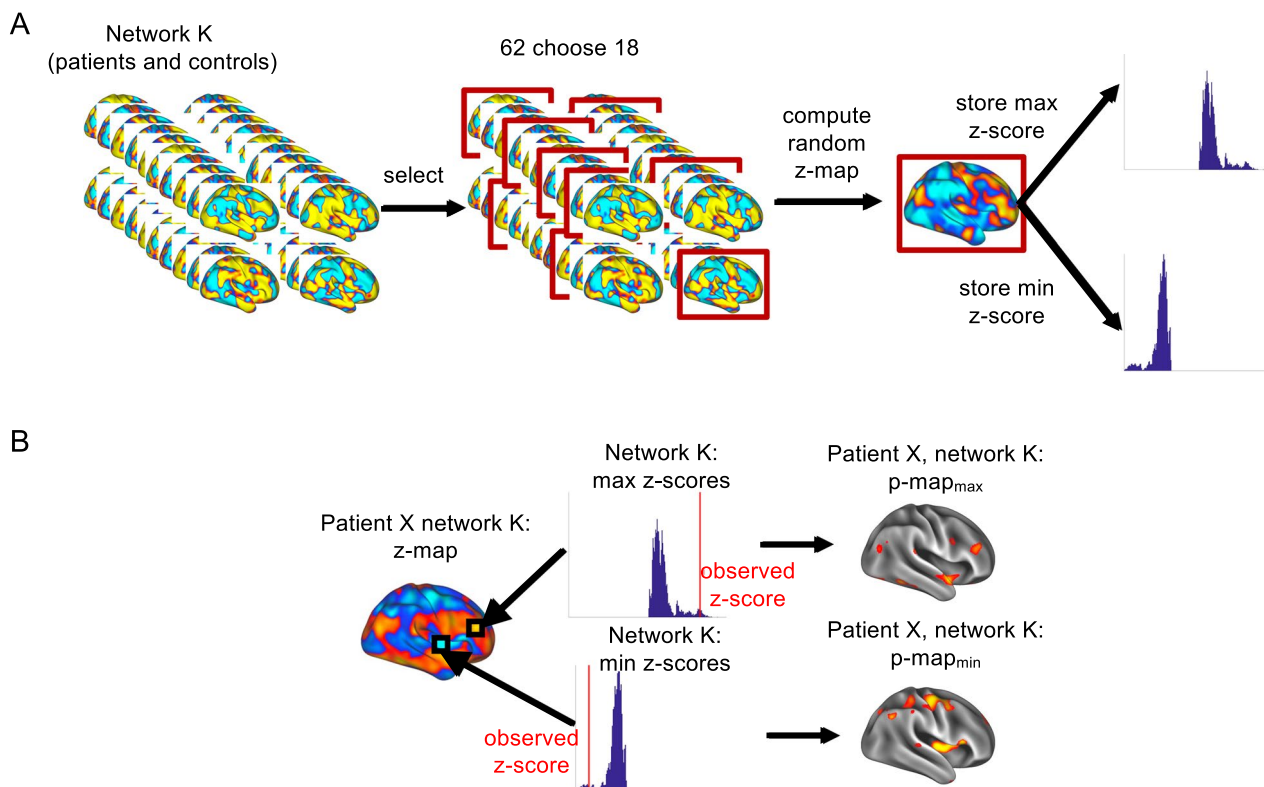


Fig. 3 Statistical assessment. **A** Using a Monte-Carlo procedure, we generated null distributions to determine the expected degree of change in network organization between follow-up and baseline. **B** From these null distributions, we calculated empirical *p*-values for each voxel of the patients' z-maps, which yielded regions reflecting a change in network organization

Table 2 Overview of the analyzed networks, according to Smith et al. [14]

Network name (abbreviation)	Network name (abbreviation), continued	Network name (abbreviation), continued
Medial visual areas (MVA)	Cerebellar Network (Crb)	Frontoparietal Network, right (rFP)
Occipital Pole (Occ)	Sensorimotor Network (SMN)	Frontoparietal Network, left (lFP)
Lateral Visual Areas (LVA)	Auditory Network (Aud)	
Default Mode Network (DMN)	Executive Control Network (ECN)	

In brackets we provide the abbreviations used throughout this text

To this end, we first calculated the expected number of patients that would contribute to a given cell of the matrix, which we obtained by summing all 100 frequencies of the group-level matrix (separately for coherence increases and decreases) and then dividing this sum by the number of elements of the matrix. This procedure yielded 1.99 patients for the increases and 2.58 patients for the decreases. Using these expected counts, we then ran a binomial test for each cell of the matrices to determine the probability of the observed number of patients, given the total number of patients that participated in the experiment. These *p*-values were then converted to

z-scores (using a mean of 0 and standard deviation of 1) for ease of visually presenting heatmaps. The *z*-scores were ultimately thresholded at a value of 1.96 (i.e., $p < 0.025$) to be able to determine whether any column-, row, or cell-effects were present by counting how many elements in each column and row survived the threshold. Assessing potential one-with-one effects was carried out by seeking lone cells with a *p*-value lower than the Bonferroni-corrected threshold (to account for the inflated family-wise error rate [FWER] from performing 100 tests in two matrices) of $p < 0.025/200$ (i.e., $z > 3.6623$). Assessing potential one-with-many or

many-with-one effects (i.e., row- and column-effects, respectively) was carried out by first counting how many elements of a given row or column survived a threshold of $p < 0.025$ (i.e., $z > 1.96$) and then running a Monte Carlo procedure to determine how many elements of a row or column would be predicted by chance. This randomization procedure consisted of shuffling each patient's binary matrix, recomputing the group-level frequency matrix, recomputing the binomial test, thresholding the resulting random p -values at $p < 0.025$, summing the number of elements per row and column, and storing the maximum row and column sums (also to control for the inflated FWER from ultimately testing for multiple column and row effects). We repeated this procedure 100,000 times yielding two distributions of maximum expected elements per column (once for coherence increases, once for coherence decreases) and two distributions of maximum expected elements per row (again, for coherence increases and decreases separately). We used these maximum sums to determine whether the observed number of elements comprising a column- or row-effect in the original data (following thresholding) were not likely to be predicted by chance.

Follow-up individual-level analysis

Given that our results pointed to unexpected commonalities across patients involving the Cerebellar Network and Executive Control Network, we opted to carry out a follow-up analysis to determine whether such effects were robustly present in all patients rather than merely being driven by a minority of the sample. To this end, as each ROI could belong to a different network (see above), for each patient we counted how often each "original network" appeared in the set of ROIs, ultimately yielding an individual-level probability distribution of the ten networks. These probabilities were gathered separately for coherence increases and decreases and then arcsine transformed before being submitted to a two-factor repeated-measures analysis of variance (ANOVA) with factors Coherence and Network. This procedure was repeated but instead counting how often each "altered network" appeared in order to also obtain individual-level probability distributions for the altered networks.

Results

Our primary goal was to investigate whether there were regions in the brain that changed their coherence to functional brain networks (obtained via dual-regression ICA) between the first clinical episode (pre) and remission (post) in MS patients. We addressed this question by investigating ten networks (Table 2) for each patient, analyzing increases and decreases of functional coherence separately. To determine when pre-post changes in

coherence differed from the expected degree of change present in a group of healthy controls, we employed Monte Carlo procedures, which revealed networks that differed between the first clinical episode and remission. We used these patterns of network alterations to test hypotheses regarding whether there exists systematicity across patients with respect to the networks that change and the networks to which they change.

Clinical scores, but not lesion load, change between first clinical episode and remission

The median EDSS score of our patient sample was 2.25 (interquartile range=1.0) at first clinical episode and 1.0 (interquartile range=0.50) at remission. The Wilcoxon signed-rank test confirmed the decrease in EDSS scores over time ($z = 53.50$, $p = 0.0059$). On the other hand, we were unable to find differences in T2 lesion load ($t_{16} = 0.4364$, $p = 0.6684$) between the two time points.

Many-with-one and one-with-many: coherence changes for the cerebellar and executive control networks

The Monte Carlo procedures we used to test the one-with-many (row-effects) and many-with-one (column-effects) hypotheses revealed evidence for both hypotheses. Evidence for the many-with-one hypothesis manifested with respect to the Cerebellar Network (Crb) in terms of both increased (six of ten networks present, $p_{\text{FWER}} = 9.9 \times 10^{-6}$) and decreased coherence (seven of ten networks present, $p_{\text{FWER}} = 9.9 \times 10^{-6}$) (Fig. 4). For the coherence increases, the networks contributing to the column-effect were the Occipital Pole (Occ, $z = 2.8597$, $p = 0.002$), Lateral Visual Areas (LVA, $z = 3.906$, $p = 4.69 \times 10^{-5}$), Sensorimotor Network (SMN, $z = 3.906$, $p = 4.69 \times 10^{-5}$), Auditory Network (Aud, $z = 2.3105$, $p = 0.01$), Executive Control Network (ECN, $z = 4.4116$, $p = 5.13 \times 10^{-6}$), and right Frontoparietal Network (rFP, $z = 2.3105$, $p = 0.01$). For the coherence decreases, the networks contributing to the column-effect were Medial Visual Areas (MVA, $z = 2.356$, $p = 0.009$), Occ ($z = 3.3809$, $p = 3.6 \times 10^{-4}$), LVA ($z = 2.8749$, $p = 0.002$), Default Mode Network (DMN, $z = 2.356$, $p = 0.009$), Crb ($z = 2.356$, $p = 0.009$) (SMN, $z = 3.8778$, $p = 5.3 \times 10^{-5}$), and ECN ($z = 3.3809$, $p = 3.6 \times 10^{-4}$) (Fig. 4).

Evidence for the one-with-many hypothesis consisted of the ECN increasing its coherence with four of ten networks ($p_{\text{FWER}} = 2.9 \times 10^{-4}$): the LVA ($z = 2.31$, $p = 0.01$), Crb ($z = 4.4116$, $p = 5.13 \times 10^{-6}$), SMN ($z = 2.31$, $p = 0.01$), and IFP ($z = 2.8597$, $p = 0.002$) (Fig. 4). The z -scores and p -values presented in this section for the individual networks came from the binomial test.

Moreover, the binomial test did not reveal evidence for the "one-with-other" hypothesis between any networks

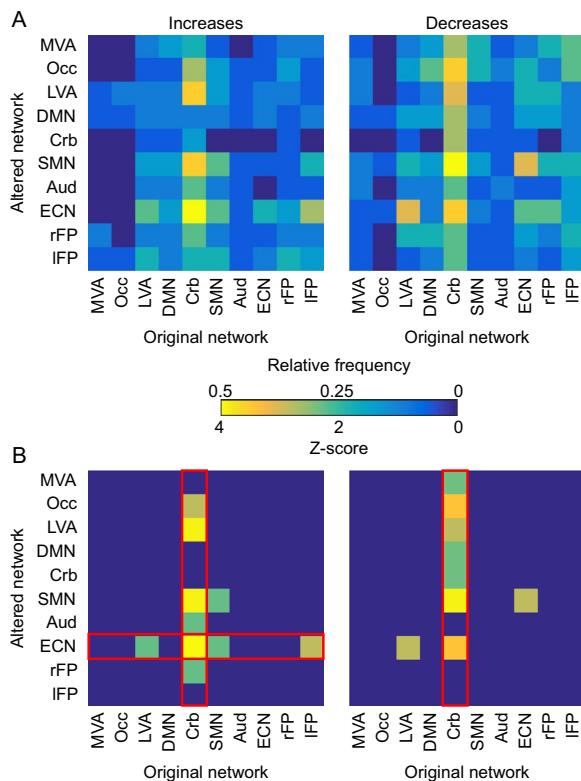


Fig. 4 Main results. **A** Relative frequencies depicting how many patients had a particular altered network that changed its coherence with a particular original network. **B** Thresholded z-scores (at $z > 1.96$) from inverting p -values obtained via a binomial test. Following all statistical procedures, the results provide support for the many-with-one hypothesis, as several altered networks across patients appeared to both increase and decrease their coherence with the Cerebellar Network. There was additional evidence for the one-with-many hypothesis, in that coherence increased between the ECN and a set of other networks. Column and row effects that surpassed the respective FWER-corrected threshold of $p < 0.05$ (two-tailed) are highlighted by the red contours

that were not already contributing to a “one-with-many” or “many-with-one” effect.

Robust coherence changes of the cerebellar network in vast majority of patients

Our individual-level analysis revealed that the unexpected commonality of the Cerebellar Network altering its functional coherence with other networks was not driven by only a few patients. Rather, the Cerebellar Network was the most-likely (or equally-most-likely) “original network” [mean probability = $\sim 39 \pm 6\%$ (SEM)] for coherence increases (Fig. 5, left), occurring in 13 patients (i.e., $\sim 72\%$ of the sample; $p = 4.31 \times 10^{-11}$, from a binomial test $B(18, 0.1056)$; Additional file 1: Figure S1). A fourteenth patient also showed coherence increases involving the Cerebellar Network, though it was not the most likely original network. With respect

to the coherence decreases (Fig. 5, right), the Cerebellar Network was the most-likely original network (mean probability = $\sim 39 \pm 5\%$ [SEM]), occurring in 14 patients (i.e., $\sim 78\%$ of the sample; $p = 5.82 \times 10^{-12}$, from a binomial test $B(18, 0.1167)$; Additional file 1: Figure S2). Two additional patients showed coherence decreases involving the Cerebellar Network, though it was not the most likely original network. The degree of coherence changes in the cerebellar network did not correlate with the changes in the EDSS scores (see Additional file 1). These observations were supported by the results from the ANOVA, which revealed differences between networks ($F_{9,153} = 27.1$, $p = 1.49 \times 10^{-27}$) and coherence directions ($F_{1,17} = 6.15$, $p = 0.0239$), but not an interaction between the two factors ($F_{9,153} = 1.28$, $p = 0.2528$). Moreover, post-hoc achieved power analyses using G*Power [39] revealed statistical power of 99.9985% for having found the effect of coherence increases involving the Cerebellar Network in 13 of 18 patients (needing only to be present in four patients, given an expected probability of 0.1056). Similarly, achieved statistical power was 99.9991% for having found the effect of coherence decreases involving the Cerebellar Network in 14 of 18 patients (needing only to be present in five patients, with an expected probability of 0.1167).

With respect to the individual-level probabilities of the original networks, the ANOVA revealed differences between networks ($F_{9,153} = 3.13$, $p = 0.0017$) and between coherence directions ($F_{1,17} = 5.04$, $p = 0.038$) but not an interaction between the two factors ($F_{9,153} = 0.84$, $p = 0.58$) (Fig. 6, Additional file 1: Figures 3, 4).

Discussion

“One-with-many effect”: executive control network

Our analysis revealed evidence for the “one-with-many” hypothesis, in that the functional coherence of the ECN increased with respect to the LVA, Crb, SMN, and IFP. This finding stands in partial contrast to previous work, which has shown, for example, that decreases in functional connectivity between the ECN and the DMN at one time point (as compared to controls) predict increased clinical disability (i.e., higher EDSS scores) [40]. Our findings suggest instead that a relative increase of the ECN with other networks is compatible with remission (i.e., lower EDSS scores). One important distinction, however, is that our sample consisted of patients suffering from their initial clinical episode who were scanned during that first episode and again in remission, thereby allowing us to measure changes *over time* within patients. In contrast, such prior work investigated relapsing–remitting (RRMS) patients that were scanned only once; as such, the authors were only able to describe differences with respect to healthy controls but not which changes

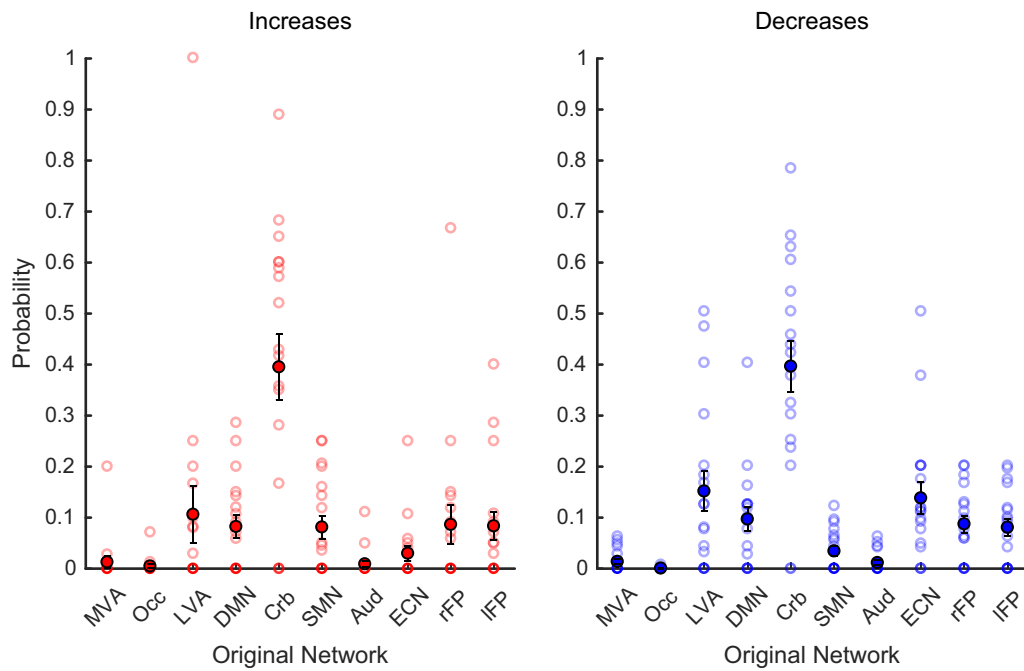


Fig. 5 Group-averaged probabilities: original networks. The probability that each of the 18 patients' ROIs, which showed coherence increases (red) and decreases (blue) with the altered network(s), belonged to a given one of the ten component networks. The Cerebellar Network was the most probable original network, appearing with a probability of ~39% for coherence increases (present in 14/18 patients) and ~39% for coherence decreases (present in 16/18 patients). For both panels, translucent circles reflect individual results, while opaque circles reflect the group -average. Error bars depict standard error of the mean

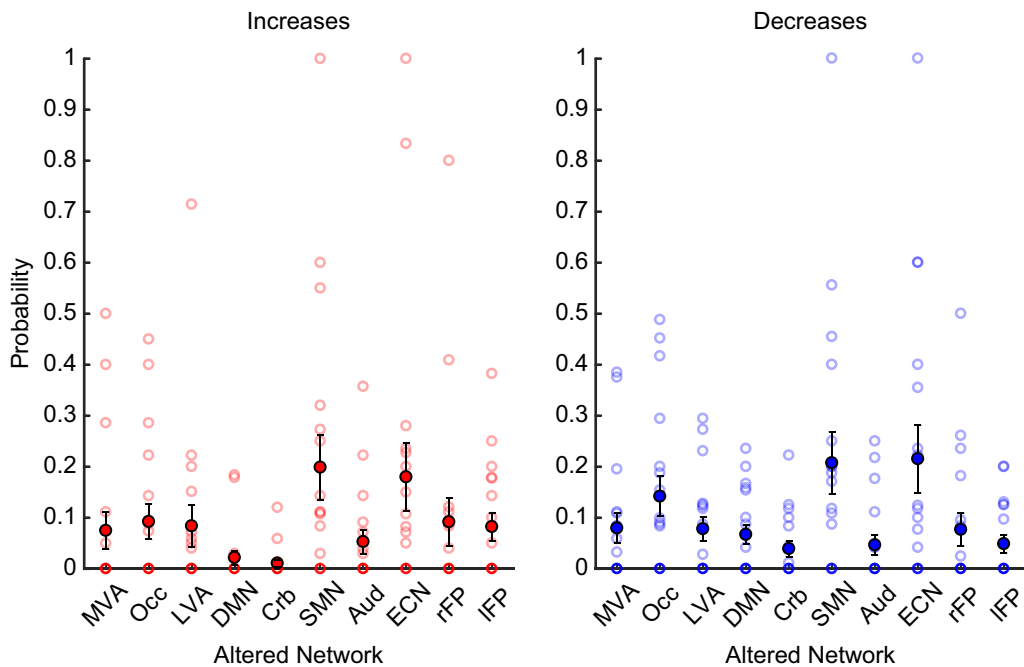


Fig. 6 Group-averaged probabilities: altered networks. The probability that each of the 18 patients' networks showed coherence increases (red) or decreases (blue), with respect to the sample of healthy controls. For both the coherence increases and decreases, the Sensorimotor and Executive Control Networks were most likely to be altered, appearing with a probability of ~20%. For both panels, translucent circles reflect individual results, while opaque circles reflect the group -average. Error bars depict standard error of the mean

may have occurred within a given patient. It is therefore possible that the connectivity behavior of the ECN differs at different stages of MS.

“Many-with-one-effect”: cerebellar network

Most critically, we found evidence for the “many-with-one” hypothesis, in that functional coherence changed (both increasing and decreasing) between a set of networks and the Cerebellar Network (Fig. 4), and that this result is rather robust at the individual level (i.e., present in more than 70% of patients), despite the clinical heterogeneity of the sample. To demonstrate the robustness of this effect, we carried out a split-half analysis in which we compared the results from the first nine patients with the results from the second nine patients (see Additional file 1: Fig. S1).

Such a finding raises the question of whether there is some capacity of the Cerebellar Network that allows RRMS patients to overcome their symptoms; this idea is supported by converging evidence that has tied functional and structural aspects of the cerebellum to the severity of MS disease progression. For example, MS patients with early cerebellar dysfunction tend to develop disability more quickly [41]. Similarly, Kutzelnigg and colleagues showed that the extent of cerebellar cortical demyelination is associated with overall MS pathology [42]. Recent cross-sectional studies investigating functional connectivity of MS patients demonstrated a relationship between symptom severity and alterations of the cerebellum’s functional connectivity [43–45]. Our findings extend such studies by providing additional evidence of functional changes with respect to the Cerebellar Network when measured at relapse and remission, and, more importantly, yield a new perspective that functional connectivity is altered between the Cerebellar Network and a variety of other networks, irrespective of clinical symptoms. These findings give rise to the idea that the Cerebellar Network may play a guiding role in recovery from diverse MS symptoms in the early disease course and may protect against permanent disability.

Despite these findings, the question of how the Cerebellar Network may alleviate MS symptoms remains open. One mechanism by which the Cerebellar Network might be involved in remission is that of learning. Building off of the original theory of cerebellar learning [46], the current Albus-Marr-Ito theory of cerebellar learning posits that information from sensory consequences of actions is directly conveyed to the cerebellum via the inferior olive [47, 48]. Additionally, copies of any efferent motor program are propagated to the cerebellum via collaterals from cortical neurons [49, 50]. Thus, as the cerebellum can access both efferent plans and afferent consequences, it has the potential to register when there

is a deviation between the two and correct if necessary [51]. Though Marr originally thought that the cerebellum was involved only in learning motor programs, recent work has shown that the cerebellum receives input from distributed cortical areas and is involved in a broad range of cognitive functions beyond movement [52].

With respect to MS and the idea of a protective role of the cerebellum, earlier work provides evidence that such motor and/or cognitive learning may underlie the improvement of symptoms in MS patients. For example, using fMRI Saini and colleagues observed activation patterns in clinically stable MS patients that are reportedly found in healthy controls during motor learning [53]. Similarly, MS patients, whose performance on cognitive tasks successfully improved following cognitive training programs (as compared to MS patients that did not receive cognitive training), showed increased activation within the cerebellum [54] and altered functional connectivity of the cerebellum [55]. Thus, a link between learning, altered cerebellar recruitment, and MS symptom decline may explain the effectiveness of cognitive/motor training programs in MS rehabilitation [56, 57].

Limitations and future outlook

One limitation of our study concerns the interpretation of the “many-with-one” effect that we observed implicating the Cerebellar Network in processes underlying remission in MS. By definition, a “many-with-one” effect is composed of multiple “one-with-one” effects that surpassed a particular threshold and, together, form the pattern of a column. Because these columnar patterns were statistically unlikely to occur by chance, we interpreted them as evidence for the “many-with-one” hypothesis, rather than a set of isolated effects, each favoring the “one-with-one” hypothesis. Regardless, we cannot rule out the possibility that treating these effects in isolation would be the correct interpretation. For example, consider a scenario in which different patient subtypes have different altered networks that change their coherence to the Cerebellar Network. By analyzing these patients as a single group, one would observe what looks like a “many-with-one” effect, which is merely the result of the heterogeneous sample. However, our sample size is too small to differentiate subtypes. As such, this idea should be scrutinized in larger studies that can test the effectiveness of methods such as ours in identifying patient subtypes, thereby potentially improving personalized treatment strategies [58].

Despite this interpretational shortcoming of the “many-with-one” effect, there remain the facts (1) that functional coherence was commonly altered between a variety of networks and the Cerebellar Network and (2) that the Cerebellar Network was either the most likely

original network or tied for most likely original network (in at least 70% of the patients for both the coherence increases and decreases). Therefore, this unexpected commonality across patients still speaks in favor of our general interpretation, providing evidence that the Cerebellar Network's specific role in MS should be further investigated, for example, as a possible target for symptom-alleviating therapies.

Additionally, the open question regarding the *meaning* of increases and decreases of functional coherence of the Cerebellar Network remains unknown. Such differences in functional connectivity are believed to reflect different underlying mechanisms [59]; with respect to our findings, it is possible that the coherence increases and decreases reflect different types of plasticity at the synaptic level, specifically long-term potentiation (LTP) and long-term depression (LTD). Both of these learning mechanisms have been observed for cerebellar neurons [60–63], and LTP has been associated with symptom decline in MS patients [64, 65]. Moreover, prior work has shown that LTP increases functional connectivity in the rat cortex [66, 67]; it is thus conceivable that LTD analogously decreases functional connectivity, but this relationship has yet to be experimentally demonstrated. Consequently, alterations of cerebellar functional connectivity in MS patients may underlie neuroplastic changes that could theoretically predict symptom severity.

Conclusion

In summary, we investigated changes of functional connectivity in MS patients between their first clinical episode and remission using ICA-based rs-fMRI. Our analyses revealed that, the Cerebellar Network and a heterogeneous set of other networks across different MS patient tended to alter their functional coherence to one another, and that there is approximately a 39% chance of observing functional coherence changes in the Cerebellar Network for a given patient following the initial clinical episode. This finding suggests that the Cerebellar Network may be functionally compensating for structural damage to distributed brain regions, which could help explain the oft-observed mismatch between structural damage and clinical disability [68]. Furthermore, these alterations in functional coherence manifested as both increases and decreases, which may reflect neuroplastic mechanisms of learning. Within this framework, subsequent studies could investigate the cerebellum's capacity for such learning mechanisms as a potential biomarker that predicts an individual's clinical progression; more generally, future work could seek to understand the specific role of the cerebellum in the presence of distributed damage to the structural and functional architecture of the brain, especially at different stages of MS.

Abbreviations

Aud	Auditory Network
ANOVA	Analysis of variance
AROMA	Automated Removal of Motion Artifacts
BW	Bandwidth
CIFTI	Connectivity Informatics Technology Initiative
CSF	Cerebrospinal fluid
Crb	Cerebellar Network
DMN	Default Mode Network
DOF	Degree of freedom
ECN	Executive Control Network
EDSS	Expanded Disability Status Scale
EPI	Echo-planar imaging
FA	Flip angle
FC	Functional connectivity
FLAIR	Fluid-attenuated inversion recovery
FOV	Field of view
FWER	Family-wise error rate
HC	Healthy control(s)
HCP	Human Connectome Project
ICA	Independent component analysis
IFP	Frontoparietal Network, left
LVA	Lateral Visual Areas
LTD	Long-term depression
LTP	Long-term potentiation
MVA	Medial Visual Areas
MNI	Montreal Neurological Space
MPRAGE	Magnetization-prepared rapid acquisition gradient echo
MS	Multiple sclerosis
Occ	Occipital Pole
PE	Parameter estimates
rFP	Frontoparietal Network, right
ROI	Region of interest
rs-fMRI	Resting-state functional MRI
SEM	Standard error of the mean
SMN	Sensorimotor Network
TE	Echo time
TR	Time to repeat
VR	Voxel resolution

Supplementary Information

The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1186/s12967-022-03576-4>.

Additional file 1: Figure S1. Probability that a given network is the "original network", whose functional coherence is changed in MS patients following their entrance into remission. Open circles are data from individual patients; closed circles depict the mean, and error bars are SEM. **(A)** Results from the first set of 9 patients. **(B)** Results from the second set of 9 patients. Note that in both cases the cerebellar network is, by far, the most likely network to change its functional coherence.

Acknowledgements

The authors would like to thank Philipp Seidel and Regina Rockinger for assistance with data acquisition.

Author contributions

MT, RW, SML and JVS conceived of and designed the experiment. MT, RW, ZK, DHL, and RAL recruited patients and performed clinical ratings. MT, SML, and JVS acquired data. MT analyzed the neuroimaging data. MT and SML performed statistical analyses, and created the figures, and drafted the manuscript. MT, SML, and JVS extended the conceptual framework. All authors contributed to manuscript revision and approved the final version.

Funding

Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL. MT and JVS were funded by the Deutsche Multiple Sklerose Gesellschaft (DMSG), grant number 2018_DMSG_08.

Availability of data and materials

Statistical data generated during the analyses presented in this study will be made available to readers upon reasonable request to the corresponding author, but raw/preprocessed data acquired from patients in this study cannot be shared due to the European Union's General Data Protection Regulation.

Declarations**Ethics approval and consent to participate**

All patients provided written informed consent to participate in this study. All study procedures followed safety guidelines for MRI research at the University of Regensburg, complied with the 1964 Helsinki Declaration and its later amendments, and were approved by the ethics committee of the University of Regensburg.

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

MT, SML, RW, ZK, and JVS declare no conflicts of interest. RAL and DHL received compensation for activities with Bayer, Biogen, Celgene, Genzyme, Merck, Novartis, Roche and TEVA as well as research support from Merck and Novartis.

Received: 8 April 2022 Accepted: 6 August 2022

Published: 27 October 2022

References

- Lassmann H. Multiple sclerosis pathology. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2018;8:a028936. <https://doi.org/10.1016/j.cpm.2015.02.011>.
- Sporns O. Structure and function of complex brain networks. *Dialogues Clin Neurosci.* 2013;15:247–62.
- Stam CJ. Modern network science of neurological disorders. *Nat Rev Neurosci.* 2014;15:683–95. <https://doi.org/10.1038/nrn3801>.
- Traboulsee A. MRI relapses have significant pathologic and clinical implications in multiple sclerosis. *J Neurol Sci.* 2007;256:19–22.
- Mowry EM, Pesic M, Grimes B, Deen S, Bacchetti P, Waubant E. Demyelinating events in early multiple sclerosis have inherent severity and recovery. *Neurology.* 2009;72:602–8.
- Maguire EA, Gadian DG, Johnsrude IS, Good CD, Ashburner J, Frackowiak RS, Frith CD. Navigation-related structural change in the hippocampi of taxi drivers. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000;97:4398–403.
- Robertson IH, Murre JMJ. Rehabilitation of brain damage: brain plasticity and principles of guided recovery. *Psychol Bull.* 1999;125:544–75.
- Heuninckx S, Wenderoth N, Swinnen SP. Systems neuroplasticity in the aging brain: recruiting additional neural resources for successful motor performance in elderly persons. *J Neurosci.* 2008;28:91–9.
- Pantano P, Iannetti GD, Caramia F, Mainero C, Di Legge S, Bozzao L, Pozzilli C, Lenzi GL. Cortical motor reorganization after a single clinical attack of multiple sclerosis. *Brain.* 2002;125:1607–15.
- Mezzapesa DM, Rocca MA, Rodegher M, Comi G, Filippi M. Functional cortical changes of the sensorimotor network are associated with clinical recovery in multiple sclerosis. *Hum Brain Mapp.* 2008;29:562–73.
- Braun C, Schweizer R, Elbert T, Birbaumer N, Taub E. Differential activation in somatosensory cortex for different discrimination tasks. *J Neurosci.* 2000;20:446–50.
- Reddy H, Narayanan S, Matthews PM, Hoge RD, Pike GB, Duquette P, Antel J, Arnold DL. Relating axonal injury to functional recovery in MS. *Neurology.* 2000;54:236–236.
- Reddy H, Narayanan S, Woolrich M, Mitsumori T, Lapierre Y, Arnold DL, Matthews PM. Functional brain reorganization for hand movement in patients with multiple sclerosis: defining distinct effects of injury and disability. *Brain.* 2002;125:2646–57.
- Smith SM, Fox PT, Miller KL, Glahn DC, Fox PM, Mackay CE, Filippini N, Watkins KE, Toro R, Laird AR, Beckmann CF. Correspondence of the brain's functional architecture during activation and rest. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009;106:13040–5.
- Rocca MA, Valsasina P, Leavitt VM, Rodegher M, Radaelli M, Riccitelli GC, Martinelli V, Martinelli-Boneschi F, Falini A, Comi G, Filippi M. Functional network connectivity abnormalities in multiple sclerosis: Correlations with disability and cognitive impairment. *Mult Scler J.* 2018;24:459–71.
- Sbardella E, Tona F, Petsas N, Upadhyay N, Piattella M, Filippini N, Prosperini L, Pozzilli C, Pantano P. Functional connectivity changes and their relationship with clinical disability and white matter integrity in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler J.* 2015;21:1681–93. <https://doi.org/10.1177/1352458514568826>.
- Tahedi M, Levine SM, Greenlee MW, Weissert R, Schwarzbach JV. Functional connectivity in multiple sclerosis: recent findings and future directions. *Front Neurol.* 2018;9:1–18. <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00828/full>.
- Franzmeier N, Duering M, Weiner M, Dichgans M, Ewers M. Left frontal cortex connectivity underlies cognitive reserve in prodromal Alzheimer disease. *Neurology.* 2017;88:1054–61.
- Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, Carroll WM, Coetzee T, Comi G, Correale J, Fazekas F, Filippi M, Freedman MS, Fujihara K, Galetta SL, Hartung HP, Kappos L, Lublin FD, Marrie RA, Miller AE, Miller DH, Montalban X, Mowry EM, Sorensen PS, Tintoré M, Traboulsee AL, Trojano M, Uitdehaag BMJ, Vukusic S, Waubant E, Weinschenker BG, Reingold SC, Cohen JA. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol.* 2018;17:162–73.
- Schmidt P, Gaser C, Arsic M, Buck D, Förschler A, Berthele A, Hoshi M, Ilg R, Schmid VJ, Zimmer C, Hemmer B, Mühlaus M. An automated tool for detection of FLAIR-hyperintense white-matter lesions in multiple sclerosis. *Neuroimage.* 2012;59:3774–83. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.11.032>.
- Van Essen DC, Smith SM, Barch DM, Behrens TEJ, Yacoub E, Ugurbil K, WU-Minn HCP Consortium. The WU-Minn Human Connectome Project: an overview. *Neuroimage.* 2013;80:62–79.
- Glasser MF, Sotiropoulos SN, Wilson JA, Coalson TS, Fischl B, Andersson JL, Xu J, Jbabdi S, Webster M, Polimeni JR, Van EDC, Jenkinson M, Hcp W. The minimal preprocessing pipelines for the Human Connectome Project. *Neuroimage.* 2013;80:105–24. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2013.04.127>.
- Airani RD, Vogelstein JT, Pillai JJ, Caffo B, Pekar JJ, Sair HI. Factors affecting characterization and localization of interindividual differences in functional connectivity using MRI. *Hum Brain Mapp.* 2016;37:1986–97.
- Jenkinson M, Beckmann CF, Behrens TEJ, Woolrich MW, Smith SM. FSL. *Neuroimage.* 2012;62:782–90.
- Smith SM, Jenkinson M, Woolrich MW, Beckmann CF, Behrens TEJ, Johansen-Berg H, Bannister PR, De Luca M, Drobnjak I, Flitney DE, Niazy RK, Saunders J, Vickers J, Zhang Y, De Stefano N, Brady JM, Matthews PM. Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. *Neuroimage.* 2004;23(Suppl 1):S208-19.
- Marcus DS, Harms MP, Snyder AZ, Jenkinson M, Wilson JA, Glasser MF, Barch DM, Archie KA, Burgess GC, Ramaratnam M, Hodge M, Horton W, Herrick R, Olsen T, McKay M, House M, Hileman M, Reid E, Harwell J, Coalson T, Schindler J, Elam JS, Curtiss SW, Van Essen DC. Human connectome project informatics: quality control, database services, and data visualization. *Neuroimage.* 2013;80:202–19. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2013.05.077>.
- Marcus DS, Harwell J, Olsen T, Hodge M, Glasser MF, Prior F, Jenkinson M, Laumann T, Curtiss SW, Van Essen DC. Informatics and data mining tools and strategies for the human connectome project. *Front Neuroinform.* 2011;5:1–12. <https://doi.org/10.3389/fninf.2011.00004/abstract>.
- Oosterhof NN, Connolly AC, Haxby JV, Rosa MJ. CoSMoMVA: multi-modal multivariate pattern analysis of neuroimaging data in Matlab / GNU octave. *Front Neuroinform.* 2016;10:1–27.
- Smith SM. Fast robust automated brain extraction. *Hum Brain Mapp.* 2002;17:143–55.
- Jenkinson M, Bannister P, Brady M, Smith S. Improved optimization for the robust and accurate linear registration and motion correction of brain images. *Neuroimage.* 2002;17:825–41.
- Alakörkkö T, Saarimäki H, Glerean E, Saramäki J, Korhonen O. Effects of spatial smoothing on functional brain networks. *Eur J Neurosci.* 2017;46:2471–80.
- Andersson J, Jenkinson M, Smith S (2010): Non-linear registration, aka spatial normalisation. *FMRIB Tech Rep TR07JA2*.

33. Pruim RHR, Mennes M, van Rooij D, Llera A, Buitelaar JK, Beckmann CF. ICA-AROMA: a robust ICA-based strategy for removing motion artifacts from fMRI data. *Neuroimage*. 2015;112:267–77. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2015.02.064>.
34. Tucholka A, Fritsch V, Poline J-B, Thirion B. An empirical comparison of surface-based and volume-based group studies in neuroimaging. *Neuroimage*. 2012;63:1443–53.
35. Dickie EW, Anticevic A, Smith DE, Coalson TS, Manogaran M, Calarco N, Viviano JD, Glasser MF, Van Essen DC, Voineskos AN. Ciftify: a framework for surface-based analysis of legacy MR acquisitions. *Neuroimage*. 2019;197:818.
36. Beckmann CF, Mackay CE, Filippini N, Smith SM. Group comparison of resting-state fMRI data using multi-subject ICA and dual regression. *NeuroImage*. 2009. [https://doi.org/10.1016/S1053-8119\(09\)71511-3](https://doi.org/10.1016/S1053-8119(09)71511-3).
37. Tahedi M, Schwarzbach JV. An updated and extended atlas for corresponding brain activation during task and rest. Prepr bioRxiv. 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.04.01.020644>.
38. Nichols TE, Holmes AP. Nonparametric permutation tests for functional neuroimaging: a primer with examples. *Hum Brain Mapp*. 2001;25:1–25.
39. Faul F, Erdfelder E, Lang A-G, Buchner A. G*Power 3: a flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods*. 2007;39:175–91.
40. Rocca MA, Valsasina P, Martinelli V, Misci P, Falini A, Comi G, Filippi M. Large-scale neuronal network dysfunction in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Neurology*. 2012;79:1449–57. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31826d5f10>.
41. Amato MP, Ponziani G. A prospective study on the prognosis of multiple sclerosis. *Neurol Sci*. 2000;21:S831–8.
42. Kutzelnigg A, Faber-Rod JC, Bauer J, Lucchinetti CF, Sorensen PS, Laursen H, Stadelmann C, Brück W, Rauschka H, Schmidbauer M, Lassmann H. Widespread demyelination in the cerebellar cortex in multiple sclerosis. *Brain Pathol*. 2007;17:38–44.
43. Cocozza S, Pontillo G, Russo C, Russo CV, Costabile T, Pepe A, Tedeschi E, Lanzillo R, Brescia Morra V, Brunetti A, Inglese M, Petracca M. Cerebellum and cognition in progressive MS patients: functional changes beyond atrophy? *J Neurol*. 2018;265:2260–6.
44. Dogonowski A-M, Andersen KW, Madsen KH, Sørensen PS, Paulson OB, Blinkenberg M, Siebner HR. Multiple sclerosis impairs regional functional connectivity in the cerebellum. *NeuroImage Clin*. 2014;4:130–8. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2013.11.005>.
45. Sbardella E, Upadhyay N, Tona F, Prosperini L, De Giglio L, Petsas N, Pozzilli C, Pantano P. Dentate nucleus connectivity in adult patients with multiple sclerosis: functional changes at rest and correlation with clinical features. *Mult Scler J*. 2016;23:546–55. <https://doi.org/10.1177/1352458516657438>.
46. Marr D. A theory of cerebellar cortex. *J Physiol*. 1969;202:437–70.
47. Albus S. A theory of cerebellar function. *Math Biosci*. 1971;10:25–61.
48. Ito M. Error detection and representation in the olivo-cerebellar system. *Front Neural Circuits*. 2013;7:1–8.
49. Brodal P. The corticopontine projection in the rhesus monkey origin and principles of organization. *Brain*. 1978;101:251–83. <https://doi.org/10.1093/brain/101.2.251>.
50. Glickstein M, May JG, Mercier BE. Corticopontine projection in the macaque: the distribution of labelled cortical cells after large injections of horseradish peroxidase in the pontine nuclei. *J Comp Neurol*. 1985;235:343–59.
51. Ramnani N. Automatic and controlled processing in the corticocerebellar system. *Prog Brain Res*. 2014. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63356-9.00010-8>.
52. King M, Hernandez-Castillo CR, Poldrack RA, Ivry RB, Dierichsen J. Functional boundaries in the human cerebellum revealed by a multi-domain task battery. *Nat Neurosci*. 2019;22:1371–8.
53. Saini S, DeStefano N, Smith S, Guidi L, Amato MP, Federico A, Matthews PM. Altered cerebellar functional connectivity mediates potential adaptive plasticity in patients with multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2004;75:840–6.
54. Cerasa A, Gioia MC, Valentino P, Nisticò R, Chiriaco C, Pirritano D, Tomaiuolo F, Mangone G, Trotta M, Talarico T, Bilotti G, Quattrone A. Computer-assisted cognitive rehabilitation of attention deficits for multiple sclerosis: a randomized trial with fMRI correlates. *Neurorehabil Neural Repair*. 2013;27:284–95.
55. Leavitt VM, Wylie GR, Girgis PA, DeLuca J, Chiaravalloti ND. Increased functional connectivity within memory networks following memory rehabilitation in multiple sclerosis. *Brain Imaging Behav*. 2014;8:394–402.
56. Khan F, Amatya B. Rehabilitation in multiple sclerosis: a systematic review of systematic reviews. *Arch Phys Med Rehabil*. 2017;98:353–67.
57. Prosperini L, Piattella MC, Gianni C, Pantano P. Functional and structural brain plasticity enhanced by motor and cognitive rehabilitation in multiple sclerosis. *Neural Plast*. 2015;2015:481574.
58. Drysdale AT, Grosenick L, Downar J, Dunlop K, Mansouri F, Meng Y, Fetcho RN, Zebley B, Oathes DJ, Etkin A, Schatzberg AF, Sudheimer K, Keller J, Mayberg HS, Gunning FM, Alexopoulos GS, Fox MD, Pascual-Leone A, Voss HU, Casey BJ, Dubin MJ, Liston C. Resting-state connectivity biomarkers define neurophysiological subtypes of depression. *Nat Med*. 2017;23:28–38. <https://doi.org/10.1038/nm.4246>.
59. Fox MD, Snyder AZ, Vincent JL, Corbetta M, Van Essen DC, Raichle ME. The human brain is intrinsically organized into dynamic, anticorrelated functional networks. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102:9673–8.
60. Daniel H, Levenes C, Crépel F. Cellular mechanisms of cerebellar LTD. *Trends Neurosci*. 1998;21:401–7.
61. Hirano T. Depression and potentiation of the synaptic transmission between a granule cell and a Purkinje cell in rat cerebellar culture. *Neurosci Lett*. 1990;119:141–4.
62. Sakurai M. Synaptic modification of parallel fibre-Purkinje cell transmission in in vitro guinea-pig cerebellar slices. *J Physiol*. 1987;394:463–80.
63. Wang DJ, Da Sul, Wang YN, Yang D, Sun CL, Zhou L, Wang XX, Shen Y. Long-term potentiation at cerebellar parallel fiber-Purkinje cell synapses requires presynaptic and postsynaptic signaling cascades. *J Neurosci*. 2014;34:2355–64.
64. Mori F, Kusayanagi H, Nicoletti CG, Weiss S, Marciari MG, Centonze D. Cortical plasticity predicts recovery from relapse in multiple sclerosis. *Mult Scler J*. 2014;20:451–7.
65. Weiss S, Mori F, Rossi S, Centonze D. Disability in multiple sclerosis: when synaptic long-term potentiation fails. *Neurosci Biobehav Rev*. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.03.023>.
66. Álvarez-Salvado E, Pallarés V, Moreno A, Canals S. Functional MRI of long-term potentiation: imaging network plasticity. *Philos Trans R Soc B Biol Sci*. 2014;369:20130152.
67. Canals S, Beyerlein M, Merkle H, Logothetis NK. Functional MRI evidence for LTP-induced neural network reorganization. *Curr Biol*. 2009;19:398–403.
68. Barkhof F. The clinico-radiological paradox in multiple sclerosis revisited. *Curr Opin Neurol*. 2002;15:239–45.
69. Liu Y, Wang H, Duan Y, Huang J, Ren Z, Ye J, Dong H, Shi F, Li K, Wang J. Functional brain network alterations in clinically isolated syndrome and multiple sclerosis: a graph-based connectome study. *Radiology*. 2017;282:534–41.
70. McIntosh AR. Towards a network theory of cognition. *Neural Netw*. 2000;13:861–70.
71. Steinman L. Immunology of relapse and remission in multiple sclerosis. *Annu Rev Immunol*. 2014;32:257–81. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120227>.
72. Yeo BTT, Krienen FM, Sepulcre J, Sabuncu MR, et al. The organization of the human cerebral cortex estimated by intrinsic functional connectivity. *J Neurophysiol*. 2011;106:1125–65.

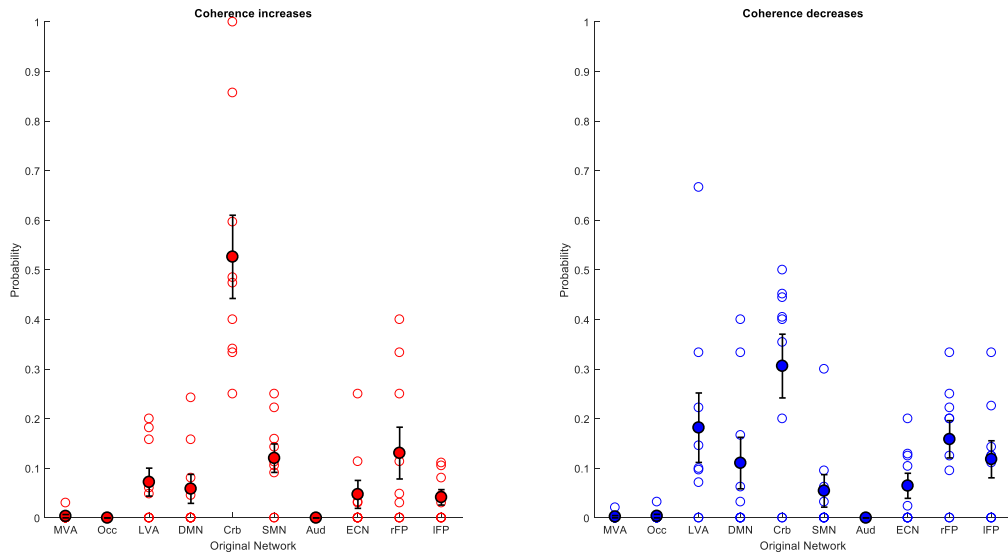
Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

6 Anhang

6.1 Supplementäre Abbildung

A) Kohärenzänderungen zwischen erster klinischer Episode und Kohärenz bei Patienten 1–9



B) Kohärenzänderungen zwischen erster klinischer Episode und Kohärenz bei Patienten 10–18

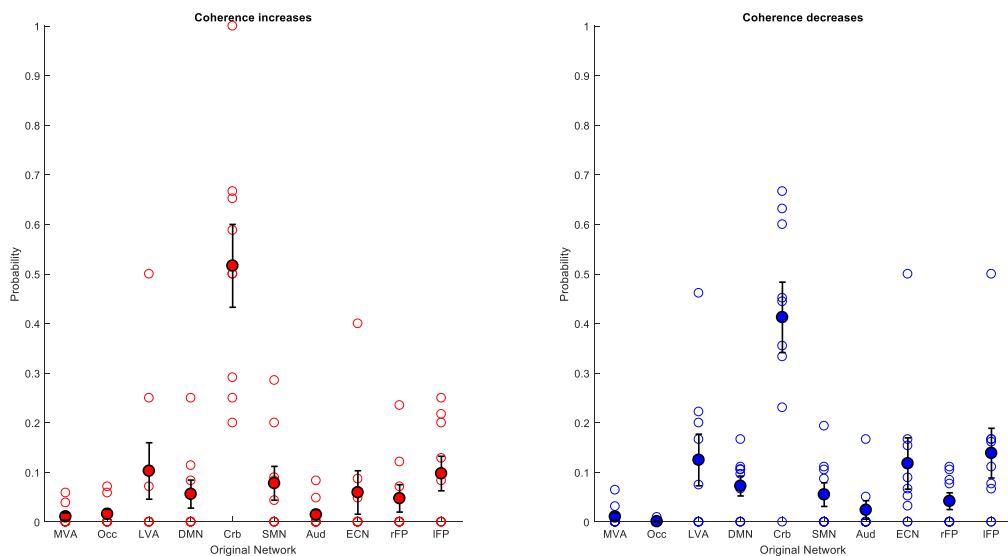


Abbildung S1. Wahrscheinlichkeit, dass ein bestimmtes Netzwerk das „ursprüngliche Netzwerk“ ist, dessen funktionelle Kohärenz bei MS-Patienten zwischen klinischer Episode und Remission verändert ist. Offene Kreise sind Daten von einzelnen Patienten; geschlossene Kreise stellen den Mittelwert dar, und die Fehlerbalken sind Standardfehler des arithmetischen Mittels. (A) Ergebnisse aus der ersten Gruppe von 9 Patienten. (B) Ergebnisse aus der zweiten Gruppe von 9 Patienten. Man beachte, dass in beiden Fällen das zerebelläre Netzwerk („Crb“) jenes ist, welches seine funktionelle Kohärenz am stärksten verändert.

6.2 Supplementäre Analyse

Um einen Zusammenhang zwischen den Veränderungen des EDSS und dem Ausmaß der Veränderungen im Kleinhirnnetzwerk zu testen, führten wir die folgende Analyse durch: Für einen bestimmten Patienten haben wir alle Delta-FC-Werte von ROIs gemittelt, die dem zerebellären Netzwerk als „ursprünglichem Netzwerk“ entsprachen. Dies ergab einen Vektor von Delta-FC-Werten für die Kohärenzzunahmen und die Kohärenzabnahmen (pro Patient), die wir mit den Delta-EDSS-Scores korrelierten. Die Ergebnisse sind wie folgt:

$r = -0,17$, $p = 0,59$ für die Kohärenzzunahmen

$r = 0,159$, $p = 0,62$ für die Verringerung der Kohärenz

Wir haben keine Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen den EDSS-Scores und den tatsächlichen Kohärenzveränderungen im zerebellären Netzwerk gefunden. Dieses Nullergebnis ist aufgrund der wenigen Patienten mit EDSS-Scores aus beiden Sitzungen nicht überraschend. Die Beziehung zwischen EDSS-Scores und Kohärenzveränderungen muss in größeren Studien weiter untersucht werden.

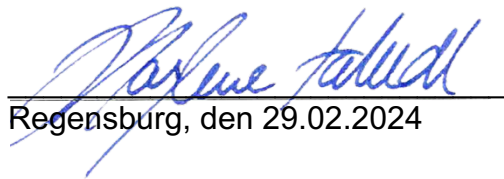
7 Nachwort

Die hier behandelte Forschungsfrage war die Identifizierung möglicher Veränderungen der FC zwischen klinischer Episode und Erholung bei MS. Diese Untersuchung wurde durch mehrere Beobachtungen veranlasst, die zeigen, dass sich die neuronale Aktivität selbst bei klinisch asymptomatischen MS-Patienten von der gesunder Kontrollpersonen unterscheidet: Pantano et al. (2002) beschrieben beispielsweise, dass bei MS-Patienten ohne klinisch sichtbare Beeinträchtigung der Handmotorik die mittels fMRT gemessene funktionelle Hirnaktivität im Vergleich zu Patienten ohne MS⁷⁴ stark ipsilateral verschoben ist. Solche Befunde deuten auf adaptive Veränderungen der Gehirnorganisation im Sinne einer Neuroplastizität bei MS hin. Die meisten Untersuchungen, die neuroplastische Veränderungen bei MS beschreiben, sind jedoch Querschnittsstudien, so dass nur auf Abweichungen von der Norm eines Studienkollektivs geschlossen werden konnte, ohne jedoch weder die zeitliche noch die individuelle Entwicklung im Detail zu betrachten. An dieser Stelle setzte unsere Studie an: Die behandelte Hypothese war, dass eine funktionelle Reorganisation in Folge einer klinischen Episode stattfindet und sich während der Remission manifestiert. Darüber hinaus stellten wir die Hypothese auf, dass es ein allgemeines Muster bei allen Patienten gibt, das unabhängig von der Lage der Läsion und / oder der klinischen Symptomatik während des Rückfalls beobachtet werden kann. Um diese Hypothesen zu testen, untersuchten wir RRMS-Patienten in einer Längsschnittstudie und bewerteten die FC zu zwei Zeitpunkten: einmal während der jeweiligen ersten klinischen Episode des Patienten und ein zweites Mal etwa vier Wochen später in Remission. Für uns war es wichtig, dass zwischen den beiden Messzeitpunkten eine klinisch nachweisbare Erholung eintrat (operationalisiert als EDSS-Reduktion; wir schlossen nur Patienten ein, die ihre erste klinische Episode erlebten, um die Wahrscheinlichkeit zu maximieren, eine solche EDSS-Reduktion zu messen). Der Marker, den wir zwischen den Messzeitpunkten verglichen, war die Topografie und Gewichtung verschiedener so genannter „funktioneller Netzwerke“ (Bereiche im Gehirn, die in Ruhe ähnliche Aktivitätsmuster aufweisen und funktionell ähnliche Aufgaben erfüllen), die in der Literatur vielfach beschrieben werden. Wir wollten prüfen, ob es Regionen im Gehirn gibt, die sich infolge einer Läsion mit anderen Netzwerke „verknüpfen“, um möglicherweise funktionelle Defizite zu kompensieren. Unsere Analyse der Daten ergab tatsächlich solche Regionen, das als

zerebelläres Netzwerk beschrieben wurde. Mit anderen Worten: Unabhängig von dem Netzwerk, das sich nach der Läsion veränderte, war das zerebelläre Netzwerk stets stärker mit dem betroffenen Netzwerk verbunden. Im gleichen Zeitraum war eine klinisch messbare Erholung nachweisbar, während sich die Läsionslast nicht veränderte. Angesichts der Assoziation des Kleinhirns mit dem Lernen und der Automatisierung von Prozessen interpretieren wir diese Beobachtung als Hinweis auf ein solches Lernen, das als Folge der Läsion stattfindet, um für die Symptomatik zu kompensieren: Ein und dieselbe kognitive oder motorische Funktion mag von außen betrachten vor und nach dem Schub zwar identisch erscheinen – wird möglicherweise angesichts unserer Ergebnisse auf neuronaler Ebene aber anders gesteuert: sie ist „umgelernt“ worden. Dies ist natürlich noch eine Hypothese, aber sie leitet sich direkt aus unseren Studienergebnissen ab und muss in zukünftigen Studien weiter untersucht werden.

8 Erklärung

Ich, Marlene Tahedl, geboren am 15.03.1994 in Eggenfelden, erkläre hiermit, die vorliegende Arbeit „**Early remission in multiple sclerosis is linked to altered coherence of the Cerebellar Network**“ ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt zu haben. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quellen gekennzeichnet. Insbesondere habe ich nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- bzw. Beratungsdiensten (Promotionsberater oder andere Personen) in Anspruch genommen. Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.



Regensburg, den 29.02.2024

9 Danksagung

Ich möchte diese Arbeit nun abschließen, aber nicht, ohne all den Menschen und Institutionen meinen Dank auszusprechen, die diese Arbeit möglich gemacht haben (zumindest die meisten von ihnen – all die Unterstützung zu würdigen, die ich im Laufe der Jahre erhalten habe, würde den Rahmen dieser Arbeit sprengen; aber an alle nicht Genannten: Ich hoffe, ihr wisst, dass ich weiß, was ich an Euch habe).

Die psychologische Unterstützung durch meine Familie und Freunde hat mich über all die Jahre „am Leben“ gehalten und mir etwas gegeben, an das ich glauben konnte: Mama, Papa, Gix, Jojo & Marco & Nicki & Emmi, Markus, Babs, Verena & Dustin, Diana, Ellie, Laura, Feli, Anis, Philipp, Peter, Elmar & Simone, sowie Tante Micha & „Supertruppe“. Danke, dass ihr da wart, als ich euch am meisten gebraucht habe – ich kann gar nicht sagen, wie viel ich euch verdanke. Ich weiß, dass ich nicht immer leicht zu ertragen bin, danke fürs Durchhalten, wirklich! Ebenso wäre diese Arbeit ohne Prof. Uli Bogdahn, einen Mentor, den ich heute mit Stolz als engen Freund bezeichnen darf, nicht zustande gekommen – danke für all die Diskussionen, Fahrradtips, fabelhaften Kaffee und die Motivation, weiterzumachen (und tatsächlich etwas zu produzieren!) – ohne Dich wäre ich nicht da, wo ich jetzt bin. Danke auch dafür, dass Du mich mit Prof. Peter Bede vom Trinity College Dublin zusammengebracht hast, was zu einer fruchtbaren Zusammenarbeit geführt hat, und der für mich ein weiterer Mentor geworden ist, der hier gewürdigt werden muss.

Ohne die großzügige finanzielle Unterstützung durch die Deutsche Multiple Sklerose Gesellschaft (DMSG), die dieses Projekt für zwei Jahre gefördert hat (Förderzeitraum: 01.08.2019-31.07.2021, Förderkennzeichen 2018_DMSG_08), hätte ich nicht die Flexibilität gehabt, diese Forschung durchzuführen. Ich möchte auch der Universität Regensburg, insbesondere der Arbeitsgruppe Biomedizinische Bildgebung unter der Leitung von Prof. Jens Schwarzbach, meinen Dank aussprechen, dass sie mich als Mitglied ihres Labors aufgenommen haben und mich über die Jahre hinweg mit ihrem technischen und methodischen Rat unterstützt haben. Insbesondere die unterstützende Rolle von Prof. Schwarzbach als Hauptbetreuer dieser Arbeit muss hervorgehoben werden: Ich bin Dir, Jens, sehr dankbar, dass du mich betreut hast; die Jahre in deinem Labor haben meine persönliche und akademische Entwicklung auf ein Niveau gehoben, von dem ich ohne Dich nicht zu träumen gewagt hätte. Ein besonderer Dank geht auch an Dr. Seth Levine, von dessen statistischem Fachwissen

ich unendlich viel lernen konnte. Du hast diese Arbeit mehr als einmal gerettet – danke, Seth! Außerdem verdanke ich einen großen Teil meiner methodischen Ausbildung dem Labor von Prof. Mark Greenlee und ehemaligem Lehrstuhlinhaber der Experimentellen Psychologie an der Universität Regensburg. Schließlich möchte ich mich beim Bezirksklinikum Regensburg bedanken, insbesondere bei der Abteilung für Neurologie unter der Leitung von Prof. Ralf Linker, der mir stets mit klinischem Rat und Einblicken zur Seite stand und wesentlich zur Patientenrekrutierung beitrug. Natürlich sind es nicht zuletzt die Patienten selbst, denen höchster Dank gebührt: Eine Stunde lang in einem MRI-Scanner zu liegen ist nicht gerade angenehm, und dennoch gab es kaum Beschwerden, und die meisten von Ihnen kamen freiwillig zur Nachuntersuchung wieder, obwohl die Kostenerstattung kaum für Ihre Mühen entschädigte. Dies ist für Sie, und ich hoffe, dass sich diese Arbeit als Teil von etwas erweisen kann, das eines Tages tatsächlich dazu beitragen kann, Ihr Leben zu erleichtern. Oder vielleicht das Ihrer Kinder.

Eure,

Marlene.

10 Referenzen

1. Biswal B, Zerrin Yetkin F, Haughton VM, Hyde JS. Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar mri. *Magn Reson Med*. 1995;34(4):537-541. doi:10.1002/mrm.1910340409
2. Tahedi M, Levine SM, Greenlee MW, Weissert R, Schwarzbach J V. Functional Connectivity in Multiple Sclerosis: Recent Findings and Future Directions. *Front Neurol*. 2018;9(October):1-18. doi:10.3389/fneur.2018.00828
3. Prineas JW, Barnard RO, Kwon EE, Sharer LR, Cho E -S. Multiple sclerosis: Remyelination of nascent lesions. *Ann Neurol*. 1993;33(2):137-151. doi:10.1002/ana.410330203
4. Browne P, Tremlett H, Baker C, Taylor B v. Atlas of Multiple Sclerosis 2013: A growing global problem with widespread inequity. *Neurology*. 2014;83(11):1022-1024. doi:10.1212/WNL.0000000000000768
5. Rodríguez Murúa S, Farez MF, Quintana FJ. The Immune Response in Multiple Sclerosis. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. 2022;17(1):121-139. doi:10.1146/annurev-pathol-052920-040318
6. Calabrese M, Magliozzi R, Ciccarelli O, Geurts JJG, Reynolds R, Martin R. Exploring the origins of grey matter damage in multiple sclerosis. *Nat Rev Neurosci*. 2015;16(3):147-158. doi:10.1038/nrn3900
7. Weissert R. The immune pathogenesis of multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2013;8(4):857-866. doi:10.1007/s11481-013-9467-3
8. Cotton F, Weiner HL, Jolesz FA, Guttmann CRG. MRI contrast uptake in new lesions in relapsing-remitting MS followed at weekly intervals. *Neurology*. 2003;60(4):640-646. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12601106>
9. Pérez-Cerdá F, Sánchez-Gómez MV, Matute C. The link of inflammation and neurodegeneration in progressive multiple sclerosis. *Mult Scler Demyelinating Disord*. 2016;1(1):9. doi:10.1186/s40893-016-0012-0
10. Schirmer L, Antel JP, Brück W, Stadelmann C. Axonal loss and neurofilament phosphorylation changes accompany lesion development and clinical progression in multiple sclerosis. *Brain Pathology*. 2011;21(4):428-440. doi:10.1111/j.1750-3639.2010.00466.x

11. Kawachi I, Lassmann H. Neurodegeneration in multiple sclerosis and neuromyelitis optica. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2017;88(2):137-145. doi:10.1136/jnnp-2016-313300
12. Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol*. 2018;17(2):162–173. doi:10.1016/S1474-4422(17)30470-2
13. Hauser SL, Oksenberg JR. The Neurobiology of Multiple Sclerosis: Genes, Inflammation, and Neurodegeneration. *Neuron*. 2006;52(1):61-76. doi:10.1016/j.neuron.2006.09.011
14. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: An expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*. 1983;33(11):1444-1444. doi:10.1212/WNL.33.11.1444
15. Dendrou CA, Fugger L, Friese MA. Immunopathology of multiple sclerosis. *Nat Rev Immunol*. 2015;15(9):545-558. doi:10.1038/nri3871
16. Comabella M, Montalban X. Body fluid biomarkers in multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 2014;13(1):113-126. doi:10.1016/S1474-4422(13)70233-3
17. Filippi M, Rocca MA, Barkhof F, et al. Association between pathological and MRI findings in multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 2012;11(4):349-360. doi:10.1016/S1474-4422(12)70003-0
18. Barkhof F. The clinico-radiological paradox in multiple sclerosis revisited. *Curr Opin Neurol*. 2002;15(3):239-245. doi:10.1097/00019052-200206000-00003
19. Housley WJ, Pitt D, Hafler DA. Biomarkers in multiple sclerosis. *Clin Immunol*. 2015;161(1):51-58. doi:10.1016/j.clim.2015.06.015
20. Munster CEP Van, Uitdehaag BMJ. Outcome Measures in Clinical Trials for Multiple Sclerosis. *CNS Drugs*. 2017;31(3):217-236. doi:10.1007/s40263-017-0412-5
21. Barton JJS, Press DZ, Keenan JP, O'Connor M. Lesions of the fusiform face area impair perception of facial configuration in prosopagnosia. *Neurology*. 2002;58(1):71-78. doi:10.1212/WNL.58.1.71
22. Underwood R, Tolmeijer E, Wibroe J, Peters E, Mason L. Networks underpinning emotion: A systematic review and synthesis of functional and effective connectivity. *Neuroimage*. 2021;243:118486. doi:10.1016/j.neuroimage.2021.118486

23. Mirchi N, Betzel RF, Bernhardt BC, Dagher A, Mišić B. Tracking mood fluctuations with functional network patterns. *Soc Cogn Affect Neurosci*. 2019;14(1):47-57. doi:10.1093/scan/nsy107
24. Lassmann H. Multiple Sclerosis Pathology. *Cold Spring Harb Perspect Med*. Published online January 22, 2018:a028936. doi:10.1101/cshperspect.a028936
25. Rimkus CM, Schoonheim MM, Steenwijk MD, et al. Gray matter networks and cognitive impairment in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal*. Published online 2018. doi:10.1177/1352458517751650
26. Fox MD, Snyder AZ, Vincent JL, Corbetta M, Van Essen DC, Raichle ME. The human brain is intrinsically organized into dynamic, anticorrelated functional networks. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(27):9673-9678. doi:10.1073/pnas.0504136102
27. Biswal B, Yetkin FZ, Haughton VM, Hyde JS. Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar MRI. *Magn Reson Med*. 1995;34(4):537-541. doi:10.1002/mrm.1910340409
28. Yeh CH, Jones DK, Liang X, Descoteaux M, Connelly A. Mapping Structural Connectivity Using Diffusion MRI: Challenges and Opportunities. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. Published online 2020:1-17. doi:10.1002/jmri.27188
29. Zhang F, Daducci A, He Y, et al. Quantitative mapping of the brain's structural connectivity using diffusion MRI tractography: A review. *Neuroimage*. 2022;249(December 2021). doi:10.1016/j.neuroimage.2021.118870
30. Parker GJM, Haroon HA, Wheeler-Kingshott CAM. A framework for a streamline-based probabilistic index of connectivity (PICO) using a structural interpretation of MRI diffusion measurements. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2003;18(2):242-254. doi:10.1002/jmri.10350
31. Glover GH, Li TQ, Ress D. Image-based method for retrospective correction of physiological motion effects in fMRI: RETROICOR. *Magn Reson Med*. 2000;44(1):162-167. doi:https://doi.org/10.1002/1522-2594(200007)44:1<162::AID-MRM23>3.0.CO;2-E
32. Silver NC, Dunlap WP. Averaging correlation coefficients: Should Fisher's z transformation be used? *Journal of Applied Psychology*. 1987;72(1):146-148. doi:10.1037/0021-9010.72.1.146

33. Tzourio-Mazoyer N, Landeau B, Papathanassiou D, et al. Automated anatomical labeling of activations in SPM using a macroscopic anatomical parcellation of the MNI MRI single-subject brain. *Neuroimage*. 2002;15(1):273-289. doi:10.1006/nimg.2001.0978
34. Desikan RS, Ségonne F, Fischl B, et al. An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. *Neuroimage*. 2006;31(3):968-980. doi:10.1016/j.neuroimage.2006.01.021
35. Richiardi J, Gschwind M, Simioni S, et al. Classifying minimally disabled multiple sclerosis patients from resting state functional connectivity. *Neuroimage*. 2012;62(3):2021-2033. doi:10.1016/j.neuroimage.2012.05.078
36. Romascano D, Meskaldji DE, Bonnier G, et al. Multicontrast connectometry: A new tool to assess cerebellum alterations in early relapsing-remitting multiple sclerosis. *Hum Brain Mapp*. 2015;36(4):1609-1619. doi:10.1002/hbm.22698
37. Schaefer A, Kong R, Gordon EM, et al. Local-Global Parcellation of the Human Cerebral Cortex from Intrinsic Functional Connectivity MRI. *Cerebral Cortex*. 2018;28(9):3095-3114. doi:10.1093/cercor/bhx179
38. Yeo BTT, Krienen FM, Sepulcre J, Sabuncu MR, others. The organization of the human cerebral cortex estimated by intrinsic functional connectivity. *J Neurophysio*. 2011;106:1125-1165. doi:jn.00338.2011 [pii]r10.1152/jn.00338.2011
39. McKeown MJ, Makeig S, Brown GG, et al. Analysis of fMRI data by blind separation into independent spatial components. *Hum Brain Mapp*. 1998;6(3):160-188. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9673671>
40. Smith SM, Fox PT, Miller KL, et al. Correspondence of the brain's functional architecture during activation and rest. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(31):13040-13045. doi:10.1073/pnas.0905267106
41. Nickerson LD, Smith SM, Öngür D, Beckmann CF. Using dual regression to investigate network shape and amplitude in functional connectivity analyses. *Front Neurosci*. 2017;11(MAR):1-18. doi:10.3389/fnins.2017.00115
42. Beckmann CF, Mackay CE, Filippini N, Smith SM. Group comparison of resting-state fMRI data using multi-subject ICA and dual regression. In: *OHBM*. ; 2009.

43. Liu Y, Dai Z, Duan Y, et al. Whole brain functional connectivity in clinically isolated syndrome without conventional brain MRI lesions. *Eur Radiol.* 2016;26(9):2982–2991. doi:10.1007/s00330-015-4147-8
44. Eshaghi A, Riyahi-Alam S, Saeedi R, et al. Classification algorithms with multi-modal data fusion could accurately distinguish neuromyelitis optica from multiple sclerosis. *Neuroimage Clin.* 2015;7:306-314. doi:10.1016/j.nicl.2015.01.001
45. Zhong J, Nantes JC, Holmes SA, Gallant S, Narayanan S, Koski L. Abnormal functional connectivity and cortical integrity influence dominant hand motor disability in multiple sclerosis: a multimodal analysis. *Hum Brain Mapp.* 2016;37(2):4262–4275. doi:10.1002/hbm.23307
46. Cader S, Palace J, Matthews PM. Cholinergic agonism alters cognitive processing and enhances brain functional connectivity in patients with multiple sclerosis. *J Psychopharmacol.* 2009;23(6):686-696. doi:10.1177/0269881108093271
47. Dogonowski AM, Blinkenberg M, Paulson OB, et al. Recovery from an acute relapse is associated with changes in motor resting-state connectivity in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2016;87(8):912-914. doi:10.1136/jnnp-2015-311375
48. Faivre A, Robinet E, Guye M, et al. Depletion of brain functional connectivity enhancement leads to disability progression in multiple sclerosis: A longitudinal resting-state fMRI study. *Multiple Sclerosis Journal.* 2016;22(13):1695–1708. doi:10.1177/1352458516628657
49. Hafkemeijer A, Möller C, Dopper EGP, et al. A Longitudinal Study on Resting State Functional Connectivity in Behavioral Variant Frontotemporal Dementia and Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis.* 2017;55(2):521-537. doi:10.3233/JAD-150695
50. Olde Dubbelink KTE, Stoffers D, Deijen JB, et al. Resting-state functional connectivity as a marker of disease progression in Parkinson's disease: A longitudinal MEG study. *Neuroimage Clin.* 2013;2:612-619. doi:10.1016/j.nicl.2013.04.003
51. Aymerich FX, Auger C, Alcaide-Leon P, et al. Comparison between gadolinium-enhanced 2D T1-weighted gradient-echo and spin-echo sequences in the detection of active multiple sclerosis lesions on 3.0T MRI. *Eur Radiol.* 2017;27(4):1361-1368. doi:10.1007/s00330-016-4503-3

52. Leonardi N, Richiardi J, Gschwind M, et al. Principal components of functional connectivity: A new approach to study dynamic brain connectivity during rest. *Neuroimage*. 2013;83:937-950. doi:10.1016/j.neuroimage.2013.07.019
53. Diggle PJ, Haegerty PJ, Liang KY, Zeger SL. *Analysis of Longitudinal Data*. 2nd Editio. Oxford University Press; 2002.
54. Reuter M, Schmansky NJ, Rosas HD, Fischl B. Within-Subject Template Estimation for Unbiased Longitudinal Image Analysis. *Neuroimage*. 2012;61(4):1402-1418.
55. Noble S, Scheinost D, Constable RT. A decade of test-retest reliability of functional connectivity: A systematic review and meta-analysis. *Neuroimage*. 2019;203:116157. doi:10.1016/j.neuroimage.2019.116157
56. Huettel SA, Song AW, McCarthy G. *Functional Magnetic Resonance Imaging*. 3rd editio. Sinauer Associates; 2014.
57. Seidel P, Levine SM, Tahedl M, Schwarzbach JV. Temporal Signal-to-Noise Changes in Combined Multislice- and In-Plane-Accelerated Echo-Planar Imaging with a 20- and 64-Channel Coil. *Sci Rep*. 2020;10(1):5536. doi:10.1038/s41598-020-62590-y
58. Fischl B. FreeSurfer. *Neuroimage*. 2012;62(2):774-781. doi:10.1016/j.neuroimage.2012.01.021
59. Jenkinson M, Beckmann CF, Behrens TEJ, Woolrich MW, Smith SM. FSL. *Neuroimage*. 2012;62(2):782-790. doi:10.1016/j.neuroimage.2011.09.015
60. Dickie EW, Anticevic A, Smith DE, et al. Ciftify: A framework for surface-based analysis of legacy MR acquisitions. *Neuroimage*. 2019;197:818-826. doi:10.1016/j.neuroimage.2019.04.078
61. Lindquist MA, Geuter S, Wager TD, Caffo BS. Modular preprocessing pipelines can reintroduce artifacts into fMRI data. *Hum Brain Mapp*. 2019;40(8):2358-2376. doi:10.1002/hbm.24528
62. Tahedl M, Levine SM, Weissert R, et al. Early remission in multiple sclerosis is linked to altered coherence of the Cerebellar Network. *J Transl Med*. 2022;20(1):488. doi:10.1186/s12967-022-03576-4
63. Steinman L. Immunology of Relapse and Remission in Multiple Sclerosis. *Annu Rev Immunol*. 2014;32(1):257-281. doi:doi:10.1146/annurev-immunol-032713-120227

64. Mowry EM, Pesic M, Grimes B, Deen S, Bacchetti P, Waubant E. Demyelinating events in early multiple sclerosis have inherent severity and recovery. *Neurology*. 2009;72(7):602-608. doi:10.1212/01.wnl.0000342458.39625.91
65. McIntosh AR. Towards a network theory of cognition. *Neural Networks*. 2000;13(8-9):861-870. doi:10.1016/S0893-6080(00)00059-9
66. Hansen ECA, Battaglia D, Spiegler A, Deco G, Jirsa VK. Functional connectivity dynamics: Modeling the switching behavior of the resting state. *Neuroimage*. 2015;105:525-535. doi:10.1016/j.neuroimage.2014.11.001
67. Deco G, Kringelbach ML. Metastability and Coherence: Extending the Communication through Coherence Hypothesis Using A Whole-Brain Computational Perspective. *Trends Neurosci*. 2016;39(3):125-135. doi:10.1016/j.tins.2016.01.001
68. Kehoe PD, Saenger VM, Lisofsky N, et al. Consistent local dynamics in the brain across sessions are revealed by whole brain modeling of resting state activity. *bioRxiv*. Published online 2017. doi:10.1101/104232
69. Giorgio A, Battaglini M, Rocca MA, et al. Location of brain lesions predicts conversion of clinically isolated syndromes to multiple sclerosis. *Neurology*. 2013;80(3):234-241. doi:10.1212/WNL.0b013e31827debeb
70. Friston KJ. Functional and effective connectivity: a review. *Brain Connect*. 2011;1(1):13-36. doi:10.1089/brain.2011.0008
71. Donnelly-Kehoe P, Saenger VM, Lisofsky N, et al. Reliable local dynamics in the brain across sessions are revealed by whole-brain modeling of resting state activity. *Hum Brain Mapp*. 2019;(August 2018):2967-2980. doi:10.1002/hbm.24572
72. Calhoun VD, Miller R, Pearlson G, Adali T. The Chronnectome: Time-Varying Connectivity Networks as the Next Frontier in fMRI Data Discovery. *Neuron*. 2014;84(2):262-274. doi:10.1016/j.neuron.2014.10.015
73. Deco G, Kringelbach ML. Great expectations: Using whole-brain computational connectomics for understanding neuropsychiatric disorders. *Neuron*. 2014;84(5):892-905. doi:10.1016/j.neuron.2014.08.034
74. Pantano P, Iannetti GD, Caramia F, et al. Cortical motor reorganization after a single clinical attack of multiple sclerosis. *Brain*. 2002;125(Pt 7):1607-1615. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12077009>