

Avances en técnicas de resonancia magnética no convencional en la esclerosis múltiple

SARA LLUFRIU DURAN^{1,2}, YOLANDA BLANCO MORGADO^{1,2}, IÑIGO GABILONDO CUÉLLAR²,
ELOY MARTÍNEZ DE LAS HERAS², FRANCESC GRAUS RIBAS^{1,2}, ALBERT SAIZ HINAREJOS^{1,2}

¹Unidad de Neuroinmunología-Esclerosis múltiple. Servicio de Neurología. Hospital Clínic. Barcelona.

²Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Barcelona.

RESUMEN. Las técnicas de resonancia magnética (RM) no convencional han revolucionado la investigación en la esclerosis múltiple, debido al gran interés por encontrar parámetros objetivos con especificidad anatomopatológica, buen correlato clínico y valor pronóstico. Estas técnicas ofrecen una mayor información acerca de la fisiopatología de la enfermedad y se asocian de forma más robusta con datos de discapacidad clínica y cognitiva que las secuencias convencionales. Sin embargo, su adquisición y post-procesado no están exentos de dificultades técnicas. En este trabajo se revisan las aplicaciones de las principales técnicas de RM no convencional y los estudios más destacados publicados hasta la fecha.

Palabras clave: resonancia magnética, esclerosis múltiple, atrofia, transferencia de magnetización, tensor de difusión, espectroscopia, resonancia magnética funcional, relaxometría, resonancia magnética de alto campo.

ABSTRACT. Advanced magnetic resonance imaging (MRI) has been a revolution in multiple sclerosis (MS) research, due to the great interest in finding objective biomarkers with pathology specificity, strong clinical correlation and prognostic value. These techniques offer more information about MS physiopathology and have a better association with clinical and cognitive disability compared to conventional MRI. However, the acquisition and post-processing steps can have technical difficulties. In this paper, the applications and recent research in non conventional MRI techniques are described.

Key words: magnetic resonance imaging, multiple sclerosis, atrophy, magnetization transfer, diffusion tensor imaging, magnetic resonance spectroscopy, functional magnetic resonance imaging, relaxometry, high-field magnetic resonance imaging.

La resonancia magnética (RM) ha supuesto un gran avance en el diagnóstico y monitorización de los pacientes con esclerosis múltiple (EM) en las dos últimas décadas. La presencia de lesiones cerebrales en áreas características, el aumento en su número en secuencias potenciadas en T2 y la aparición de lesiones captantes de gadolinio se consideran los principales criterios para el diagnóstico de la EM en RM^{1,2}. Asimismo, estos parámetros de RM convencional han sido utilizados para evaluar el pronóstico de la enfermedad y la respuesta a los tratamientos³. Sin embargo, estas medidas se asocian sólo parcialmente a la discapacidad clínica del paciente (paradoja clínico-radiológica) y son débiles predictores a largo plazo⁴⁻⁷. La principal limitación de estas técnicas es que traducen de forma incompleta los procesos fisiopatológicos de la enfermedad y que la apariencia de las lesiones no es específica de la patología subyacente. Además, tienen una baja sensibilidad para la detección de la patología de sustancia gris y del daño difuso de la sustancia blanca de apariencia normal^{8,9}.

Dado que existe la necesidad de encontrar buenos biomarcadores en RM con especificidad patológica y que ofrezcan una evaluación global, tanto para el diagnóstico, fenotipo y progresión de la enferme-

dad, las técnicas de RM no convencional o cuantitativa han surgido con fuerza¹⁰. Los biomarcadores ideales de la enfermedad serían aquellas técnicas capaces de evaluar la extensión y naturaleza de las anomalías de la sustancia blanca, los componentes celulares de la inflamación, la patología de la sustancia gris, así como la eficacia de la reparación y de la reorganización funcional después del daño tisular¹¹.

Las estrategias propuestas para superar las limitaciones de la RM convencional son tres. Primero, desarrollar secuencias avanzadas que sean capaces de detectar la patología invisible a las secuencias estándares. Segundo, implementar mejoras en la maquinaria o "hardware" como el uso de altos campos magnéticos. Tercero, estandarizar técnicas de post-procesado que de forma totalmente automática puedan ser aplicadas en tiempo real para visualizar o cuantificar el daño subyacente en el sistema nervioso central (SNC)⁸.

Algunas de las limitaciones actuales de las técnicas de RM no convencional son el escaso conocimiento de la patología subyacente a los cambios en sus valores, que puede ser variada y concomitante. Además, las mejores estrategias para la adquisición y post-procesado son tema de debate aún en la actua-

lidad. Es por ello que su aplicabilidad está limitada a la investigación.

A continuación describiremos las principales técnicas de resonancia magnética cuantitativa y sus aplicaciones.

□ Mapa de lesiones

Un nuevo enfoque al análisis de las lesiones visibles en RM convencional es a través de su post-procesado para obtener un mapa probabilístico de lesiones (MPL) y con ello información acerca de su distribución regional¹². El análisis del MPL mostró una distribución de lesiones en T2 alrededor del sistema ventricular similar en pacientes con un síndrome clínico aislado (SCA), EM recurrente-remitente (EMRR) y EM secundariamente progresiva (EMSP)¹³. Además, se objetivó que los pacientes con EMSP presentaban lesiones localizadas predominantemente alrededor de los ventrículos y en la fosa posterior, a diferencia de los pacientes con EM primariamente progresiva (EMPP) en los cuales existe una afectación más difusa de regiones corticales y subcorticales¹³. En un estudio en el que se comparaba el MPL en secuencias T1 y T2 entre pacientes con EMRR y EMPP se demostró que la probabilidad máxima de encontrar lesiones en zonas concretas era mayor en EMPP, principalmente en la corona radiata¹⁴.

Otra posibilidad es el análisis seriado para estudiar los cambios de señal relacionados con la evolución de la lesión. Cambios en el patrón de progresión dentro de lesiones individuales pueden indicar un cambio global de la patología del paciente pasando de formas inflamatorias a procesos patológicos más degenerativos¹⁵.

□ Atrofia

Estudios longitudinales han demostrado que la pérdida de volumen cerebral en pacientes con EM (0,5% - 1% al año) es mayor que en sujetos sanos (0,1% - 0,3%)¹⁶. Dicha atrofia se cree que no está únicamente relacionada con las lesiones visibles en T2, sino que también se deriva de cambios en la sustancia blanca y gris de apariencia normal^{17, 18} (Figura 1). La pérdida tisular afecta más a la sustancia gris que blanca en pacientes con EM, y dentro de ésta, las estructuras más afectadas son los ganglios basales y el tálamo¹⁶. Los mejores métodos para la segmentación y la caracterización de la atrofia de la sustancia gris están por establecer, y algunas de sus limitaciones son la clasificación de lesiones como sustancia gris, lo cual requiere corrección manual.

Tanto la pérdida de volumen cerebral global como de sustancia gris se han asociado de forma

importante con la discapacidad¹⁹⁻²². En estudios longitudinales, el volumen cerebral en fases tempranas es un buen predictor de discapacidad tanto para pacientes con formas en brotes como progresivas^{23, 24}. El volumen de la corteza cerebral se asocia de forma significativa con la alteración cognitiva y es el mejor predictor de la alteración de la memoria verbal y de los síntomas neuropsiquiátricos²⁵⁻²⁷. Finalmente, la medida del volumen cerebral puede ser utilizada para evaluar el efecto neuroprotector de las terapias en EM, aunque debe tenerse en cuenta que puede existir una aceleración de la atrofia (pseudoatrofia) en los meses siguientes al inicio de la terapia probablemente por resolución de la inflamación y el edema acompañante²⁸.

□ Transferencia de magnetización

El ratio de transferencia de magnetización (RTM) refleja la capacidad de las macromoléculas de un tejido de intercambiar magnetización con las moléculas de agua circundante²⁹, de forma que una disminución en el RTM indicaría una pérdida de estructura macromolecular, rica en mielina. Anatomopatológicamente, el RTM se asocia con el porcentaje de axones residuales y el grado de desmielinización^{30, 31}. En EM el RTM está disminuido tanto en lesiones como en sustancia blanca de apariencia normal^{32, 33}. Las medidas de RTM se correlacionan de forma moderada a alta con la discapacidad clínica y cognitiva^{34, 35}, y parecen empeorar a lo largo del tiempo en todos los fenotipos de EM^{36, 37}. Su valor pronóstico ha sido evaluado encontrando que la altura del histograma del RTM de la sustancia gris y el porcentaje de cambio del RTM lesional durante el primer año eran predictores independientes del empeoramiento de la discapacidad 8 años después³⁸. Asimismo, es posible seguir la evolución del RTM en las lesiones, monitorizando de esta forma la desmielinización y remielinización *in vivo*³⁹.

□ Tensor de difusión

El movimiento Browniano de traslación de las moléculas en un fluido está influenciado por estructuras celulares como las membranas celulares y los citoesqueletos axonales. El tensor de difusión es una descripción matemática de la magnitud y direccionalidad (anisotropía) del movimiento de las moléculas de agua en un espacio tridimensional⁴⁰. Del tensor de difusión es posible obtener la difusión media (DM), independiente de la orientación espacial de las estructuras tisulares, y otros índices de la difusión anisotrópica de las moléculas como la anisotropía fraccional (AF), la cual refleja la prevalencia de

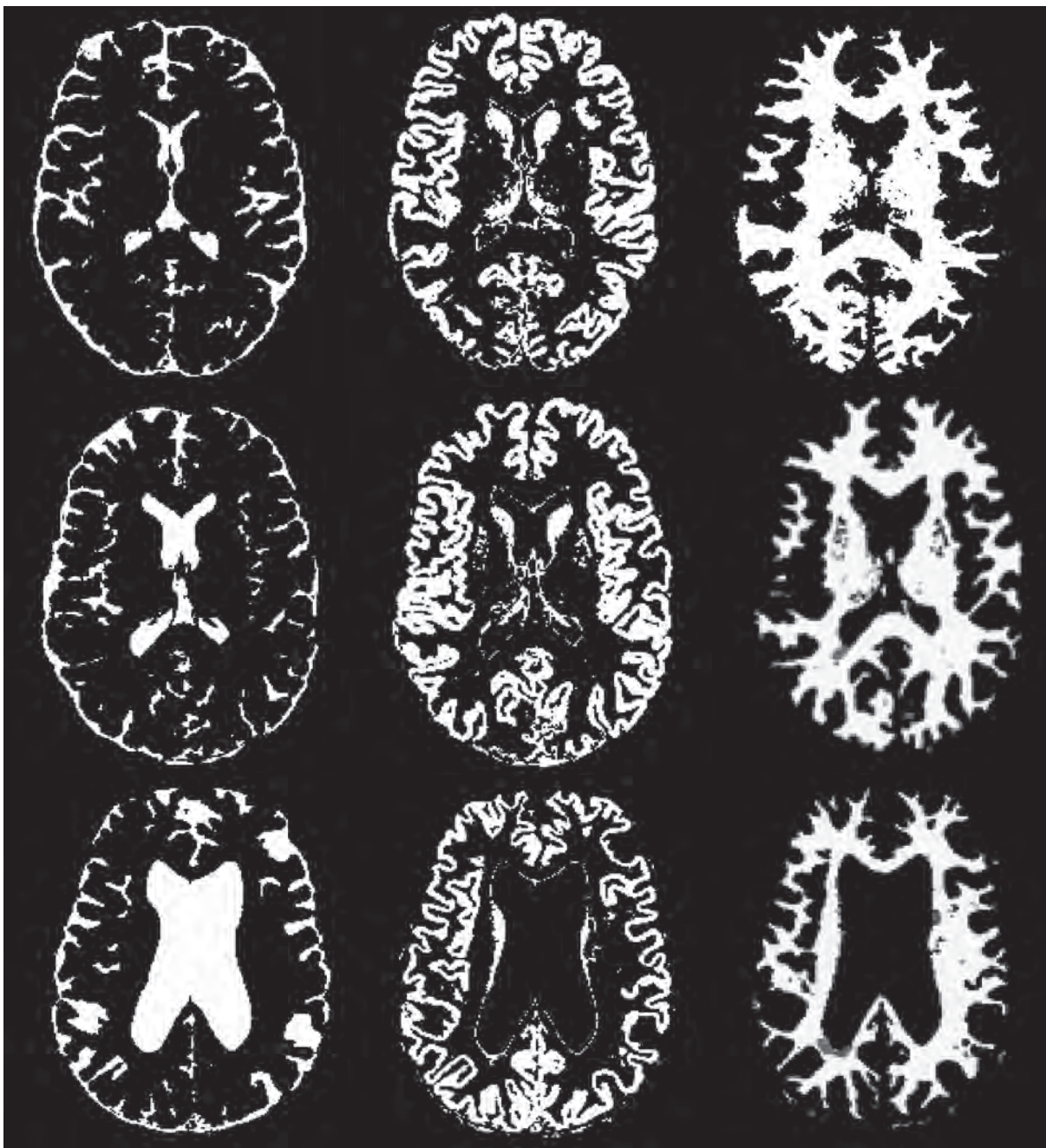


Figura 1 Líquido cefalorraquídeo, sustancia gris y sustancia blanca (junto con mapa de lesiones en color gris) en un control sano (línea superior), en un paciente con EMRR (línea media) y en un paciente con EMSP (línea inferior). Segmentación realizada mediante el programa Sienax (www.fmrib.ox.ac.uk/fs1). Es destacable la atrofia del parénquima cerebral en los pacientes con EM respecto al control sano.

la difusión a lo largo de una dirección del espacio⁴¹ (Figura 2). Los cambios en estos parámetros se corresponden con desmielinización y daño axonal en estudios *post mortem*⁴². En pacientes con EM se han demostrado alteraciones en los patrones de difusión tanto en lesiones focales como en la sustancia blanca y gris de apariencia normal. En el estudio de las lesiones, aquellas consideradas agujeros negros en T1

son las que presentan una mayor alteración de la difusión, mientras que se han obtenido resultados discordantes cuando se comparan lesiones captantes de gadolinio con aquellas no captantes^{43, 44}. También en el parénquima cerebral de apariencia normal es posible detectar anomalías en la difusión⁴⁵, incluso antes del desarrollo de lesiones visibles⁴⁶. Parece ser que el estudio del tensor de difusión es más sensible

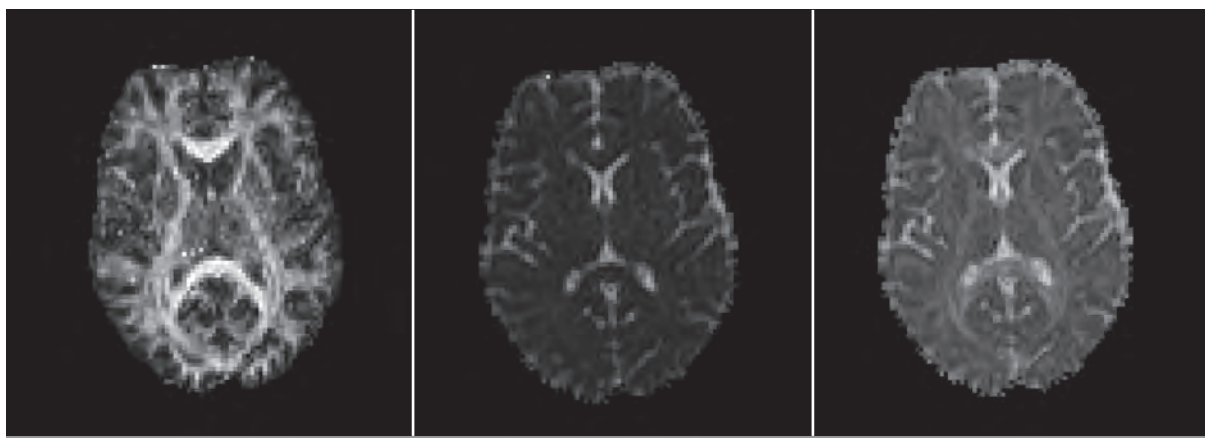


Figura 2 Tensor de difusión. Representación del mapa de anisotropía fraccional, mapa de difusividad axial y mapa de difusividad media.

al acúmulo del daño de sustancia gris que de sustancia blanca de apariencia normal⁴⁷. Existe una buena correlación con los datos clínicos, principalmente la difusión en lesiones visibles en T2⁴⁸ y en sustancia gris⁴⁹⁻⁵¹, lo que ha permitido generar algunas escalas de puntuación en RM que expliquen la varianza de la discapacidad asociada a la EM⁵². Finalmente, ha demostrado un valor predictivo de la discapacidad en una serie de pacientes con EMPP⁵³.

La tractografía es una técnica basada en el movimiento direccional del agua y permite generar una representación virtual, en tres dimensiones, de los tractos de fibras de sustancia blanca⁵⁴. Gracias a ello se abre la posibilidad de estudiar la organización de la sustancia blanca y la conectividad en humanos⁵⁵. Los pacientes con EM que presentan síntomas motores tienen unos índices de difusión anormales en el tracto corticoespinal en comparación con sujetos sanos o con pacientes sin síntomas motores⁵⁶; además, las medidas de difusión de este tracto se correlacionan mejor con datos clínicos que la carga lesional en T2 o los valores de difusión globales del cerebro⁵⁷. Un estudio que combinaba medidas de tractografía

con medidas de conectividad funcional demostró una correlación entre ellas, lo que sugiere que el daño de las fibras de la sustancia blanca puede inducir cambios funcionales adaptativos que limitan sus manifestaciones clínicas⁵⁸.

Espectroscopia

La espectroscopia permite medir la señal generada por los protones presentes en moléculas orgánicas de tejidos vivos, a diferencia de otros tipos de técnicas en que la señal proviene de los protones del agua. Entre los principales metabolitos que es posible cuantificar se encuentra el N-acetil-aspartato (NAA) marcador de disfunción o pérdida axonal/neuronal. La colina (Cho) está incrementada cuando existe una destrucción de la mielina, remielinización e inflamación. El aumento de creatina (Cr) está asociado con la densidad celular. El mioinositol (mI) es un marcador de proliferación glial y astrogliosis⁵⁹ (Tabla I). Las lesiones de EM captantes de gadolinio muestran un aumento de la Cr, Cho, mI y glutamato, mientras que el NAA puede ser bajo o levemente disminuido. En

Tabla I Metabolitos obtenidos mediante espectroscopia		
Metabolitos		Correlato patológico
N acetil aspartato (NAA)	Derivado de la síntesis de aminoácidos. Se sintetiza casi exclusivamente en neuronas.	Disminuido en caso de pérdida o disfunción neuronal o axonal.
Colina (Cho)	Forma parte de los fosfolípidos constituyentes de las membranas celulares.	Elevado en la inflamación, la desmielinización y remielinización.
Creatina (Cr)	Reserva energética de las neuronas y la glía.	Su aumento está relacionado con el aumento de la densidad celular.
Mioinositol (mI)	Molécula similar al azúcar que interviene en la regulación osmótica del tejido cerebral.	Niveles elevados de mI se correlacionan con proliferación glial.
Glutamato (GI)	Neurotransmisor excitatorio.	Su aumento se asocia con neurotoxicidad.

la sustancia blanca de apariencia normal el patrón es similar, mientras que en las lesiones crónicas el NAA está marcadamente reducido, el mI está incrementado y la concentración de glutamato es normal⁶⁰⁻⁶².

Actualmente se están desarrollando métodos para determinar otros metabolitos relevantes para la EM, como el glutatión⁶³, el ácido gamma amino butírico (GABA), el ácido ascórbico, así como la señal macromolecular de fondo (valina, alanina, leucina, isoleucina, treonina) que contiene elementos que forman parte de la mielina.

□ Resonancia magnética funcional

La RM funcional utiliza un mecanismo de contraste dependiente de la señal BOLD (“blood-oxygenation-level-dependent”), secundaria a las diferencias en la concentración de desoxihemoglobina sanguínea en áreas activadas como consecuencia de variaciones en la actividad neuronal⁶⁴. En los estudios realizados a pacientes con EM evaluando las redes visuales, cognitivas y motoras, se han encontrado alteraciones en el reclutamiento de zonas normalmente implicadas en el desarrollo de una tarea o en la activación de áreas adicionales en comparación con sujetos sanos⁶⁵. Los cambios corticales funcionales varían entre pacientes en diferentes estadios de la enfermedad, después de un brote y en pacientes clínicamente estables^{65, 66}. Parece que al inicio de la enfermedad hay un incremento de la activación de las áreas que están dedicadas normalmente al desempeño de una tarea determinada; en siguientes estadios, se objetiva una activación bilateral de estas regiones concretas, y en fases todavía más avanzadas existe una activación más difusa y que incluye áreas adicionales (aquellas que en sujetos sanos se activan al realizar tareas complejas o nuevas)⁶⁷.

□ Relaxometría. Estudio de la mielina

La fracción de agua de la mielina (“Myelin Water Fraction”, MWF) se obtiene a través de la medición del tiempo de relajación transversal, el cual consta de un componente corto derivado del agua atrapada entre las capas de la mielina⁶⁸ (Figura 3). Dicha medida es específica del contenido de mielina y su integridad⁶⁹. En lesiones de EM existe un 30-50% de disminución de la MWF, mientras que en la sustancia blanca de apariencia normal la disminución es de alrededor del 7-15% en comparación con sujetos sanos^{70, 71}.

Esta técnica, en la actualidad, presenta importantes limitaciones técnicas, como un tiempo largo de adquisición y el estudio únicamente de una pequeña parte del parénquima cerebral. Sin embargo, se están

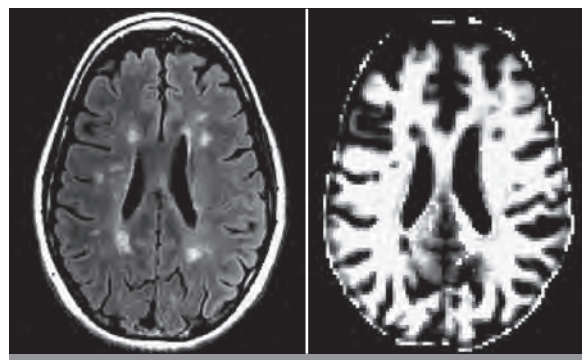


Figura 3 Secuencia FLAIR y secuencia DESPOT (myelin water fraction map). En la secuencia DESPOT es posible observar la disminución o ausencia de mielina en zonas que corresponden a lesiones hiperintensas en FLAIR. Imagen cedida por Roland G. Henry, Center for Functional and Molecular Imaging, Department of Radiology and Biomedical Imaging, UCSF (University of San Francisco, California).

realizando esfuerzos para obtener adquisiciones en tres dimensiones y con una mejor señal/ruido^{72, 73}.

□ Resonancia magnética de alto campo

El uso de altos campos magnéticos (3 Tesla) o muy altos campos (7 Tesla) ofrece la ventaja de mejorar la detección de lesiones tanto en sustancia blanca como en sustancia gris⁷⁴ y una mejor aplicación de técnicas de RM no convencional (espectroscopia, transferencia de magnetización, etc.). La imagen de susceptibilidad de fase que puede obtenerse con RM 7 Tesla permite estudiar la heterogeneidad de las lesiones, dado que el contraste que se obtiene está relacionado con la oxigenación de la sangre, la vasculatura y la actividad macrofágica⁷⁵. Asimismo, la RM de alto campo es más sensible y específica a la detección del hierro, por lo que es una herramienta útil para el estudio de los depósitos de hierro en la sustancia gris y su contribución a la neurodegeneración^{76, 77}.

□ Conclusiones

Aunque la RM convencional ha permitido de forma indudable mejorar nuestra capacidad diagnóstica y de seguimiento de pacientes con EM, está limitada por una baja correlación clínica y poco poder predictivo.

Los nuevos avances en RM magnética no convencional abren un camino para solventar la paradoja clínico-radiológica de las técnicas convencionales. Éstas permiten un estudio más específico de los fenómenos fisiopatológicos subyacentes en la EM de forma cuantitativa y, con ello, más objetiva. Sin embargo, existe un largo camino para que las técnicas de RM no convencional sean perfectas, y es primordial su estandarización y optimización.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Polman CH, Reingold SC, Edan G, *et al.* Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the “McDonald Criteria”. *Ann Neurol* 2005; 58: 840-846.
- 2.- McDonald WI, Compston A, Edan G, *et al.* Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2001; 50: 121-127.
- 3.- Lovblad KO, Anzalone N, Dorfler A, *et al.* MR imaging in multiple sclerosis: review and recommendations for current practice. *AJNR Am J Neuroradiol* 2010; 31: 983-989.
- 4.- Barkhof F. The clinico-radiological paradox in multiple sclerosis revisited. *Curr Opin Neurol* 2002; 15: 239-245.
- 5.- Filippi M, Grossman RI. MRI techniques to monitor MS evolution: the present and the future. *Neurology* 2002; 58: 1147-1153.
- 6.- Goodin DS. Magnetic resonance imaging as a surrogate outcome measure of disability in multiple sclerosis: have we been overly harsh in our assessment? *Ann Neurol* 2006; 59: 597-605.
- 7.- Bar-Zohar D, Agosta F, Goldstaub D, Filippi M. Magnetic resonance imaging metrics and their correlation with clinical outcomes in multiple sclerosis: a review of the literature and future perspectives. *Mult Scler* 2008; 14: 719-727.
- 8.- Zivadinov R, Stosic M, Cox JL, *et al.* The place of conventional MRI and newly emerging MRI techniques in monitoring different aspects of treatment outcome. *J Neurol* 2008; 255 Suppl 1: 61-74.
- 9.- Chard D, Miller D. Is multiple sclerosis a generalized disease of the central nervous system? An MRI perspective. *Curr Opin Neurol* 2009; 22: 214-218.
- 10.- Bakshi R, Thompson AJ, Rocca MA, *et al.* MRI in multiple sclerosis: current status and future prospects. *Lancet Neurol* 2008; 7: 615-625.
- 11.- Filippi M, Agosta F. Imaging biomarkers in multiple sclerosis. *J Magn Reson Imaging* 2010; 31: 770-788.
- 12.- Filippi M, Rocca MA. Novel MRI approaches to assess patients with multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol* 2010; 23: 212-217.
- 13.- Ceccarelli A, Rocca MA, Pagani E, *et al.* A voxel-based morphometry study of grey matter loss in MS patients with different clinical phenotypes. *Neuroimage* 2008; 42: 315-322.
- 14.- Di Perri C, Battaglini M, Stromillo ML, *et al.* Voxel-based assessment of differences in damage and distribution of white matter lesions between patients with primary progressive and relapsing-remitting multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2008; 65: 236-243.
- 15.- Meier DS, Weiner HL, Guttmann CR. MR imaging intensity modeling of damage and repair in multiple sclerosis: relationship of short-term lesion recovery to progression and disability. *AJNR Am J Neuroradiol* 2007; 28: 1956-1963.
- 16.- Bermel RA, Bakshi R. The measurement and clinical relevance of brain atrophy in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2006; 5: 158-170.
- 17.- Jasperse B, Minneboo A, de Groot V, *et al.* Determinants of cerebral atrophy rate at the time of diagnosis of multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2007; 64: 190-194.
- 18.- Kalkers NF, Vrenken H, Uitdehaag BM, *et al.* Brain atrophy in multiple sclerosis: impact of lesions and of damage of whole brain tissue. *Mult Scler* 2002; 8: 410-414.
- 19.- Giorgio A, Battaglini M, Smith SM, De Stefano N. Brain atrophy assessment in multiple sclerosis: importance and limitations. *Neuroimaging Clin N Am* 2008; 18: 675-686, xi.
- 20.- Molyneux PD, Kappos L, Polman C, *et al.* The effect of interferon beta-1b treatment on MRI measures of cerebral atrophy in secondary progressive multiple sclerosis. European Study Group on Interferon beta-1b in secondary progressive multiple sclerosis. *Brain* 2000; 123 (Pt 11): 2256-2263.
- 21.- Ingle GT, Stevenson VL, Miller DH, *et al.* Two-year follow-up study of primary and transitional progressive multiple sclerosis. *Mult Scler* 2002; 8: 108-114.
- 22.- Chen JT, Narayanan S, Collins DL, *et al.* Relating neocortical pathology to disability progression in multiple sclerosis using MRI. *Neuroimage* 2004; 23: 1168-1175.
- 23.- Sastre-Garriga J, Ingle GT, Chard DT, *et al.* Grey and white matter volume changes in early primary progressive multiple sclerosis: a longitudinal study. *Brain* 2005; 128: 1454-1460.
- 24.- Fisher E, Rudick RA, Simon JH, *et al.* Eight-year follow-up study of brain atrophy in patients with MS. *Neurology* 2002; 59: 1412-1420.
- 25.- Fisher E, Lee JC, Nakamura K, Rudick RA. Gray matter atrophy in multiple sclerosis: a longitudinal study. *Ann Neurol* 2008; 64: 255-265.
- 26.- Amato MP, Bartolozzi ML, Zipoli V, *et al.* Neocortical volume decrease in relapsing-remitting MS patients with mild cognitive impairment. *Neurology* 2004; 63: 89-93.
- 27.- Sanfilippo MP, Benedict RH, Weinstock-Guttman B, Bakshi R. Gray and white matter brain atrophy and neuropsychological impairment in multiple sclerosis. *Neurology* 2006; 66: 685-692.

- 28.- Giacomini PS, Arnold DL. Non-conventional MRI techniques for measuring neuroprotection, repair and plasticity in multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol* 2008; 21: 272-277.
- 29.- Wolff SD, Balaban RS. Magnetization transfer imaging: practical aspects and clinical applications. *Radiology* 1994; 192: 593-599.
- 30.- van Waesberghe JH, Kamphorst W, De Groot CJ, et al. Axonal loss in multiple sclerosis lesions: magnetic resonance imaging insights into substrates of disability. *Ann Neurol* 1999; 46: 747-754.
- 31.- Schmierer K, Scaravilli F, Altmann DR, et al. Magnetization transfer ratio and myelin in postmortem multiple sclerosis brain. *Ann Neurol* 2004; 56: 407-415.
- 32.- Ge Y, Grossman RI, Babb JS, et al. Dirty-appearing white matter in multiple sclerosis: volumetric MR imaging and magnetization transfer ratio histogram analysis. *AJNR Am J Neuroradiol* 2003; 24: 1935-1940.
- 33.- Phillips MD, Grossman RI, Miki Y, et al. Comparison of T2 lesion volume and magnetization transfer ratio histogram analysis and of atrophy and measures of lesion burden in patients with multiple sclerosis. *AJNR Am J Neuroradiol* 1998; 19: 1055-1060.
- 34.- van Buchem MA, Grossman RI, Armstrong C, et al. Correlation of volumetric magnetization transfer imaging with clinical data in MS. *Neurology* 1998; 50: 1609-1617.
- 35.- Rovaris M, Filippi M, Falautano M, et al. Relation between MR abnormalities and patterns of cognitive impairment in multiple sclerosis. *Neurology* 1998; 50: 1601-1608.
- 36.- Filippi M, Inglese M, Rovaris M, et al. Magnetization transfer imaging to monitor the evolution of MS: a 1-year follow-up study. *Neurology* 2000; 55: 940-946.
- 37.- Filippi M, Iannucci G, Tortorella C, et al. Comparison of MS clinical phenotypes using conventional and magnetization transfer MRI. *Neurology* 1999; 52: 588-594.
- 38.- Agosta F, Rovaris M, Pagani E, et al. Magnetization transfer MRI metrics predict the accumulation of disability 8 years later in patients with multiple sclerosis. *Brain* 2006; 129: 2620-2627.
- 39.- Chen JT, Kuhlmann T, Jansen GH, et al. Voxel-based analysis of the evolution of magnetization transfer ratio to quantify remyelination and demyelination with histopathological validation in a multiple sclerosis lesion. *Neuroimage* 2007; 36: 1152-1158.
- 40.- Basser PJ. Inferring microstructural features and the physiological state of tissues from diffusion-weighted images. *NMR Biomed* 1995; 8: 333-344.
- 41.- Rovaris M, Filippi M. Diffusion tensor MRI in multiple sclerosis. *J Neuroimaging* 2007; 17 Suppl 1: 27S-30S.
- 42.- Mottershead JP, Schmierer K, Clemence M, et al. High field MRI correlates of myelin content and axonal density in multiple sclerosis--a post-mortem study of the spinal cord. *J Neurol* 2003; 250: 1293-1301.
- 43.- Filippi M, Iannucci G, Cercignani M, et al. A quantitative study of water diffusion in multiple sclerosis lesions and normal-appearing white matter using echo-planar imaging. *Arch Neurol* 2000; 57: 1017-1021.
- 44.- Filippi M, Cercignani M, Inglese M, et al. Diffusion tensor magnetic resonance imaging in multiple sclerosis. *Neurology* 2001; 56: 304-311.
- 45.- Rovaris M, Gass A, Bammer R, et al. Diffusion MRI in multiple sclerosis. *Neurology* 2005; 65: 1526-1532.
- 46.- Rocca MA, Cercignani M, Iannucci G, et al. Weekly diffusion-weighted imaging of normal-appearing white matter in MS. *Neurology* 2000; 55: 882-884.
- 47.- Oreja-Guevara C, Rovaris M, Iannucci G, et al. Progressive gray matter damage in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: a longitudinal diffusion tensor magnetic resonance imaging study. *Arch Neurol* 2005; 62: 578-584.
- 48.- Bammer R, Augustin M, Strasser-Fuchs S, et al. Magnetic resonance diffusion tensor imaging for characterizing diffuse and focal white matter abnormalities in multiple sclerosis. *Magn Reson Med* 2000; 44: 583-591.
- 49.- Bozzali M, Cercignani M, Sormani MP, et al. Quantification of brain gray matter damage in different MS phenotypes by use of diffusion tensor MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol* 2002; 23: 985-988.
- 50.- Rovaris M, Iannucci G, Falautano M, et al. Cognitive dysfunction in patients with mildly disabling relapsing-remitting multiple sclerosis: an exploratory study with diffusion tensor MR imaging. *J Neurol Sci* 2002; 195: 103-109.
- 51.- Vrenken H, Pouwels PJ, Geurts JJ, et al. Altered diffusion tensor in multiple sclerosis normal-appearing brain tissue: cortical diffusion changes seem related to clinical deterioration. *J Magn Reson Imaging* 2006; 23: 628-636.
- 52.- Pulizzi A, Rovaris M, Judica E, et al. Determinants of disability in multiple sclerosis at various disease stages: a multiparametric magnetic resonance study. *Arch Neurol* 2007; 64: 1163-1168.
- 53.- Rovaris M, Judica E, Gallo A, et al. Grey matter damage predicts the evolution of primary progressive multiple sclerosis at 5 years. *Brain* 2006; 129: 2628-2634.
- 54.- Ciccarelli O, Catani M, Johansen-Berg H, et al. Diffusion-based tractography in neurological disorders: concepts, applications, and future developments. *Lancet Neurol* 2008; 7: 715-727.

- 55.- Inglese M, Bester M. Diffusion imaging in multiple sclerosis: research and clinical implications. *NMR Biomed* 2010; 23: 865-872.
- 56.- Lin F, Yu C, Jiang T, *et al.* Diffusion tensor tractography-based group mapping of the pyramidal tract in relapsing-remitting multiple sclerosis patients. *AJNR Am J Neuroradiol* 2007; 28: 278-282.
- 57.- Wilson M, Tench CR, Morgan PS, Blumhardt LD. Pyramidal tract mapping by diffusion tensor magnetic resonance imaging in multiple sclerosis: improving correlations with disability. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003; 74: 203-207.
- 58.- Rocca MA, Pagani E, Absinta M, *et al.* Altered functional and structural connectivities in patients with MS: a 3-T study. *Neurology* 2007; 69: 2136-2145.
- 59.- Narayana PA. Magnetic resonance spectroscopy in the monitoring of multiple sclerosis. *J Neuroimaging* 2005; 15: 46S-57S.
- 60.- Sarchielli P, Presciutti O, Pelliccioli GP, *et al.* Absolute quantification of brain metabolites by proton magnetic resonance spectroscopy in normal-appearing white matter of multiple sclerosis patients. *Brain* 1999; 122 (Pt 3): 513-521.
- 61.- Srinivasan R, Sailasuta N, Hurd R, *et al.* Evidence of elevated glutamate in multiple sclerosis using magnetic resonance spectroscopy at 3 T. *Brain* 2005; 128: 1016-1025.
- 62.- Chard DT, Griffin CM, McLean MA, *et al.* Brain metabolite changes in cortical grey and normal-appearing white matter in clinically early relapsing-remitting multiple sclerosis. *Brain* 2002; 125: 2342-2352.
- 63.- Srinivasan R, Ratiney H, Hammond-Rosenbluth KE, *et al.* MR spectroscopic imaging of glutathione in the white and gray matter at 7 T with an application to multiple sclerosis. *Magn Reson Imaging* 2010; 28: 163-170.
- 64.- Ogawa S, Lee TM, Kay AR, Tank DW. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87: 9868-9872.
- 65.- Rocca MA, Filippi M. Functional MRI in multiple sclerosis. *J Neuroimaging* 2007; 17 Suppl 1: 36S-41S.
- 66.- Rocca MA, Colombo B, Falini A, *et al.* Cortical adaptation in patients with MS: a cross-sectional functional MRI study of disease phenotypes. *Lancet Neurol* 2005; 4: 618-626.
- 67.- Filippi M, Rocca MA. Functional MR imaging in multiple sclerosis. *Neuroimaging Clin N Am* 2009; 19: 59-70.
- 68.- Beaulieu C, Fenrich FR, Allen PS. Multicomponent water proton transverse relaxation and T2-discriminated water diffusion in myelinated and nonmyelinated nerve. *Magn Reson Imaging* 1998; 16: 1201-1210.
- 69.- Moore GR, Leung E, MacKay AL, *et al.* A pathology-MRI study of the short-T2 component in formalin-fixed multiple sclerosis brain. *Neurology* 2000; 55: 1506-1510.
- 70.- Oh J, Han ET, Lee MC, *et al.* Multislice brain myelin water fractions at 3T in multiple sclerosis. *J Neuroimaging* 2007; 17: 156-163.
- 71.- Laule C, Vavasour IM, Moore GR, *et al.* Water content and myelin water fraction in multiple sclerosis. A T2 relaxation study. *J Neurol* 2004; 251: 284-293.
- 72.- Deoni SC, Peters TM, Rutt BK. High-resolution T1 and T2 mapping of the brain in a clinically acceptable time with DESPOT1 and DESPOT2. *Magn Reson Med* 2005; 53: 237-241.
- 73.- Deoni SC. Transverse relaxation time (T2) mapping in the brain with off-resonance correction using phase-cycled steady-state free precession imaging. *J Magn Reson Imaging* 2009; 30: 411-417.
- 74.- Kangarlu A, Bourekas EC, Ray-Chaudhury A, Ram-mohan KW. Cerebral cortical lesions in multiple sclerosis detected by MR imaging at 8 Tesla. *AJNR Am J Neuroradiol* 2007; 28: 262-266.
- 75.- Hammond KE, Lupo JM, Xu D, *et al.* Development of a robust method for generating 7.0 T multichannel phase images of the brain with application to normal volunteers and patients with neurological diseases. *Neuroimage* 2008; 39: 1682-1692.
- 76.- Stankiewicz J, Panter SS, Neema M, *et al.* Iron in chronic brain disorders: imaging and neurotherapeutic implications. *Neurotherapeutics* 2007; 4: 371-386.
- 77.- Ge Y, Jensen JH, Lu H, *et al.* Quantitative assessment of iron accumulation in the deep gray matter of multiple sclerosis by magnetic field correlation imaging. *AJNR Am J Neuroradiol* 2007; 28: 1639-1644.