



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA**  
**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**  
**INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES**  
**PARA LOS TRABAJADORES DEL ESTADO**  
**“CENTRO MÉDICO NACIONAL 20 DE NOVIEMBRE”**

“CORRELACION DEL GRADO DE DISCAPACIDAD FUNCIONAL CON LA  
FRACCION DE ANISOTROPIA Y COEFICIENTE APARENTE DE DIFUSION  
MEDIANTE RESONANCIA MAGNETICA EN PACIENTES CON ESCLEROSIS  
MULTIPLE”

**TESIS**

PARA OBTENER EL TÍTULO EN LA ESPECIALIDAD DE:

NEUROLOGIA

PRESENTA:

**DR. SALVADOR GARCIA RAMIREZ**

DIRECTOR DE TESIS:

**DRA. LILIA NÚÑEZ OROZCO**



**ISSSTE**

MÉXICO, D.F.

2014



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

---

Dra. Aura A. Erazo Valle Solís  
Subdirectora de Enseñanza e Investigación del "CMN 20 de Noviembre"

---

Dra. Lilia Núñez Orozco  
Profesora Titular. Jefa de servicio de Neurología del "CMN 20 de Noviembre"

---

Dra. Lilia Núñez Orozco  
Asesor de tesis

---

Dr. Salvador García Ramírez  
Autor de tesis

**NUMERO DE REGISTRO**

**204-2014**

“Yo soy yo y mis circunstancia, y si no la salvo a ella

No me salvo yo”.

- José Ortega y Gasset  
Meditaciones del quijote

## AGRADECIMIENTOS

Esta tesis de especialidad la dedico a cada una de todas las personas que a lo largo de su vida han dado algo de para poder culminar mi carrera. El camino no ha sido fácil y siempre tuve como todas las personas muchos obstáculos para llegar cumplir a mis metas y objetivos. Sin duda, el agradecimiento más grande y me faltarían palabras para ello es para mis padres Antonio y Agustina, a ambos les debo todo, son mi mayor motivación; ellos me dieron la vida y me guiaron por este camino y siempre están ahí, no dejan de apoyarme y darme bendiciones desde la primaria hasta ahora, les dedico a ellos este logro con todo mi corazón esperando llenarlos de orgullo como cada uno de todos sus hijos. A todos mis hermanos también les dedico este logro; Enedina, Antonio, Gonzalo, Isabel, Pepe, Susana y Gabriela; quienes siempre han confiado en mí; me han brindado palabras de ánimo, darme aliento. A mi hermano gemelo Rafael a quien le debo tantas alegrías compartidas y además mi mejor amigo. A cada uno de todos ustedes hermanos les digo que está en mi corazón y nunca dudaré en extenderles la mano cuando lo necesiten, eso es lo más bello de nuestra familia el de brindarnos siempre apoyo. No duden en saber que cada esfuerzo tiene su recompensa y siempre el esfuerzo colectivo y trabajo en conjunto lleva a tener las mejores satisfacciones. A ustedes papas y hermanos les digo que verán siempre en mí una persona con deseo de superación y orgulloso siempre de tenerlos a ustedes como familia.

A mis maestra Beatriz que desde la secundaria creyó en mí y me dio las bases para adquirir el conocimiento inicial; a mi maestro Dimas Urbina que nunca dudo en regalarme un libro para poder aprender en la preparatoria, al Dr. Luis Arturo Juárez Islas maestro de neuroanatomía quien sin quererlo me llevo a aprender lo maravilloso que es el cerebro y su función en la carrera de Medicina.

Al Dr. Manuel Hernández Salazar neurocirujano a quien le agradezco que nunca dejó de creer en mí y estuvo ahí en los momentos más difíciles de la obscuridad, pero siempre con afán de hacerme revindicar el camino. Una mención especial para mí Maestra la Dra. Lilia Núñez Orozco a quien admiro por tantas virtudes, a ella le debo el culminar este camino, jamás me alcanzará el tiempo para agradecer todo su interés para que yo pudiera escribir estas palabras en este espacio; gracias maestra por ayudarme en el momento más difícil y extenderme la mano cuando más lo necesitaba.

Finalmente, a mi amigo Nacho quien ha sido ese compañero desde la preparatoria y que me dado lo mejor como persona, siempre un ejemplo para mí en el aspecto profesional, un excelente hijo y ahora excelente padre de familia, a mi amiga Alicia que aunque lejos, sé que siempre tiene los mejores deseos y conservo un lazo de amistad, a mi amiga Viridiana que ha logrado compartir conmigo momentos de tristezas y ahora momentos de alegría; gracias amigos por todo su apoyo incondicional.

Gracias a todos.

Salvador García Ramírez

## INDICE

	Pág.
<b>1. INTRODUCCION.</b>	7
1.1 Cuadro clínico y diagnóstico	8
1.2 Escalas de discapacidad funcional en esclerosis múltiple	9
1.3 Bases teóricas la resonancia magnética con tensor de difusión	10
1.4 Bases físicas de la resonancia magnética con tensor de difusión	13
1.5 Utilidad clínica del tensor de difusión en patologías del SNC	
1.6 Aplicación de la resonancia magnética en la esclerosis múltiple	14
1.6.1 Resonancia magnética convencional	14
1.6.2 Resonancia magnética no convencional	17
1.6.3 Resonancia magnética con medición de fracción de anisotropía	18
<b>2.- DEFINICION DEL PROBLEMA</b>	20
<b>3.- JUSTIFICACION</b>	21
<b>3.- HIPOTESIS</b>	21
<b>4.- OBJETIVO GENERAL</b>	21
<b>5.- OBJETIVOS ESPECIFICOS</b>	21
<b>6.- DISEÑO DE ESTUDIO</b>	21
6.1 Tipo de estudio	
6.2 Tamaño de la muestra	22
6.3 Criterios de inclusión	22
6.4 Criterios de exclusión	22
6.5 Criterios de eliminación	22
6.6 Definición de variables y unidades de medidas	23
<b>7.- MATERIAL Y METODOS</b>	24
<b>8.- RESULTADOS</b>	25
<b>9.- DISCUSION</b>	28
<b>10.- CONCLUSION</b>	29
<b>11.- ANEXO</b>	30
<b>12.- BIBLIOGRAFIA</b>	33

## 1. INTRODUCCION

La esclerosis múltiple (EM) es la enfermedad desmielinizante del sistema nervioso central más común en los adultos jóvenes y que conduce, en muchos casos a una discapacidad severa e irreversible. El origen y la evolución de esta patología no han sido bien comprendidas y numerosos estudios se han llevado a cabo para evaluar la evolución y los efectos deletéreos que tiene sobre las estructuras cerebrales.<sup>1</sup> En la actualidad se sabe que el principal mecanismo de daño es autoinmune, siendo la mielina del sistema nervioso central el blanco principal de esta respuesta con una compleja interacción entre ambiente con factores genéticos. Asimismo, se ha asociado al complejo mayor de histocompatibilidad (HLA-2) dentro del proceso de lesión de la mielina, lo que favorece la teoría autoinmunitaria. En las lesiones desmielinizantes de la sustancia blanca cerebral se observan una diversidad de infiltrados celulares, primordialmente de macrófagos inmunoreactivos dirigidos contra las proteínas de la mielina y por linfocitos Th1. Otras alteraciones observadas incluyen: depósito de inmunoglobulinas, antígeno del complemento *C9neo* y apoptosis de oligodendrocitos.<sup>2</sup> La edad de aparición de la EM es en promedio a los 30 años, afecta a ambos sexos pero es más común en mujeres con una relación de 2:1. Aunque el síndrome clínico se caracteriza por un curso de remisiones-recaídas que afecta múltiples tractos nerviosos dentro del SNC con un comienzo usual en adultos jóvenes, la enfermedad llega a mostrar una clara heterogeneidad en las que influyen la edad de comienzo, manifestación clínica inicial, frecuencia de los ataques o recaídas y extensión de la progresión sobre el curso del tiempo.

Los tratamientos terapéuticos actuales tienen un impacto sustancial en el número de recaídas así como en la progresión de la enfermedad por lo que se requiere de monitoreo clínico intermitente mediante la utilización de escalas de discapacidad como la escala expandida de discapacidad (EDSS). En forma reciente, la determinación del coeficiente aparente de difusión (CAD) y la fracción de anisotropía (FA) mediante Resonancia Magnética (RM) han permitido identificar el grado de desmielinización de la sustancia blanca y correlacionarse en forma estrecha al grado de discapacidad funcional por lo que estas últimas mediciones puede ser implementadas junto al EDSS para el seguimiento y monitoreo de los tratamientos médicos modificadores de enfermedad.



## 1.1 CUADRO CLINICO Y DIAGNOSTICO

El curso clínico más característico de la EM es la presencia de recaídas con un promedio de recaídas entre 0.4 a 1.2 anual, siendo más frecuentes las recaídas durante el primer año y tendencia a declinar con el transcurso de la enfermedad.<sup>1</sup> En un estudio clínico poblacional de 1100 pacientes se encontró que 66 % tenían curso remitente-recurrente, 19 % primaria progresiva y 15 % forma secundaria progresiva. La probabilidad de alcanzar un valor de 6 en la escala EDSS se aproxima a 50 % después de 16 años de inicio de la enfermedad. La presentación clínica con un curso benigno representan aproximadamente del 10 al 20 % de los pacientes con EM en variedad remitente recurrente y hasta un 15 % la representan las formas primarias progresivas.<sup>3</sup> Los signos y síntomas son consecuencia de los cambios neuropatológicos subyacentes en el SNC, se reconoce que el mecanismo primario de daño es la desmielinización y en grado variable daño axonal que puede ocurrir en fases tempranas en el curso de la enfermedad o durante el proceso inflamatorio agudo. El papel del daño axonal provoca disrupción completa de la conducción nerviosa; adicionalmente, la desmielinización puede resultar tanto en enlentecimiento de la conducción como una falla completa en la transmisión nerviosa.<sup>4</sup> Debido a que el daño patológico puede ocurrir en cualquier región del SNC, la localización de la lesión juega un papel crítico en la producción de síntomas. A pesar de la evidencia creciente de afectación de la sustancia gris, las características clínicas reflejan en su mayoría, la afectación de tractos nerviosos de la sustancia blanca.<sup>5</sup> Los hallazgos más comunes son: neuritis óptica, debilidad, alteraciones sensoriales, ataxia, nistagmus y deterioro cognitivo. El diagnóstico de la EM se basa en la evidencia clínica de lesiones que afectan al SNC las cuales se diseminan en tiempo y espacio. La diseminación en tiempo sugiere que existe más de un episodio de disfunción del SNC, por otro lado la diseminación en espacio sugiere involucro de más de una región del SNC.

Los criterios diagnósticos en la EM han sido refinados por Rose y posteriormente por Poser en 1982.<sup>6</sup> Debido a que la RM era relativamente nueva cuando se establecieron estos criterios, sirvió en un principio como un criterio paraclínico. En la actualidad, una gran diversidad de estudios ha integrado a la RM en el esquema diagnóstico para la EM y consideran su importancia en la visión in vivo de la neuropatología de la EM y de la probabilidad de evolución.<sup>7</sup> A pesar de los avances en el conocimiento en la fisiopatología, métodos diagnósticos y tratamiento, no existe en la actualidad un tratamiento curativo.<sup>8</sup> Con el advenimiento de agentes terapéuticos modificadores de enfermedad, se ha dado mayor importancia la necesidad de un diagnóstico temprano y certero, esto debido a la acumulación creciente de datos que indican que una vez que se

inicia un tratamiento temprano, disminuye el riesgo de acumulación de daño o discapacidad, como se mencionó previamente, los hallazgos en RM pueden contribuir a la determinación de diseminación en tiempo y espacio, otras herramientas utilizadas para este fin son los potenciales evocados y la medición de bandas oligoclonales en LCR; sin embargo; el papel de la RM en el diagnóstico de la EM se ha expandido en forma considerable en las guías diagnósticas más recientes. La RM también ha demostrado ser útil como pronóstico y por tanto tiene un papel preponderante durante el tratamiento médico. La presencia de lesiones cerebrales en la RM en el tiempo del primer ataque de desmielinización (neuritis óptica, mielopatía aguda o alteración en el tallo cerebral) incrementa en forma considerable la posibilidad de desarrollar EM clínicamente definitiva en los siguientes 2 a 5 años.<sup>7</sup>

## **1.2 ESCALAS DE DISCAPACIDAD FUNCIONAL**

La comprensión de las escalas y mediciones más utilizadas en la EM es un aspecto importante en la epidemiología así como de un diagnóstico correcto; una vez establecido el diagnóstico, las escalas establecidas de la enfermedad y de los procedimientos de estadificación son importantes en los esfuerzos para evaluar la discapacidad y sobre todo de la discapacidad relacionada a costos. Estas escalas permiten evaluar tanto el impacto de la enfermedad así como del efecto de la terapia en el curso de la enfermedad y de la calidad de vida. La escala más ampliamente utilizada es la escala expandida de discapacidad de Kurtzke, fue utilizada en forma inicial en 1955 como una status de discapacidad y posteriormente expandida en 1983.<sup>9</sup> La escala EDSS incluye un total de 20 estadios que abarcan desde una puntuación correspondiente a ausencia de discapacidad provocada por la EM (0 puntos) hasta la muerte ocasionada por la enfermedad (10 puntos). La EDSS tiene un comportamiento no lineal con gran énfasis en la deambulación con puntuaciones por arriba de 4 puntos. Asimismo, la EDSS se ha constituido como un instrumento útil para demostrar los efectos terapéuticos en los ensayos clínicos centrados principalmente en las formas recidivantes de la EM.<sup>10</sup> Las diversas limitaciones de la EDSS han permitido explicar la modesta correlación entre los parámetros de RM convencional y discapacidad funcional, para ello se han desarrollado escalas funcionales compuestas que permiten tener una mejor correlación con los hallazgos por RM ya que incluyen una mayor cantidad de variables que incluyen otros aspectos en la evaluación y que influyen de manera más directa en la suma de discapacidad funcional. Las calificaciones derivadas de la escala funcional compuesta (MSFC) una escala que toma en cuenta la función de las extremidades superiores y cognición han demostrado que se correlacionan mejor en comparación con el EDSS y la carga lesional obtenidas en secuencias de RM T1 y T2. El estudio BENEFIT demostró que la inyección de interferón Beta 1 b en días alternos en pacientes con síndrome clínicamente aislado se correlacionan mejor con la MSFC (pero no con EDSS) a los 5 años. A pesar de lo expuesto previamente, la EDSS se sigue utilizando en la actualidad como medida de discapacidad funcional en pacientes afectados de EM quizá debido a su uso amplio y fácil realización en los centros de atención neurológica primaria.

### **1.3 BASES TEORICAS DE LA RESONANCIA MAGNETICA CON TENSOR DE DIFUSION**

En los últimos 20 años, la aplicación de las técnicas de RM ha demostrado un incremento sustancial en el estudio del desplazamiento molecular (difusión) en los tejidos biológicos.<sup>11</sup> El amplio espectro de mecanismos de contraste hacen a la RM una de las más flexibles y poderosas herramientas diagnósticas del SNC. El descubrimiento de una serie de secuencias de pulso por RM para imágenes específicas de nervios y tractos nerviosos en 1991 abrió una nueva herramienta diagnóstica en donde podrían ser visualizadas en forma directa una amplia variedad de patologías en donde se incluían los tractos nerviosos. Estas nuevas técnicas, se agruparon bajo el término “*neurografía*” por RM para los nervios periféricos e imagen de tensor de difusión (ITD) para el sistema nervioso central.<sup>12</sup> Los primeros trabajos que impulsaron al desarrollo de la RM mediante técnicas de tensor de difusión se basaron en los estudios anatómicos del lenguaje desarrollado en macacos.<sup>13</sup> Desde los primeros reportes del uso de las ITD para visualizar la patología nerviosa, ha sido demostrado que esta técnica tiene un gran potencial para detectar alteraciones en la sustancia blanca como por ejemplo: infarto cerebral, demencia, daño axonal difuso y trauma craneal.<sup>14</sup> Las ITD por RM es el único método no invasivo para el mapeo de la trayectoria de los tractos de fibras de sustancia blanca en el cerebro humano. En particular, las ITD pueden ser utilizadas para caracterizar la difusión tridimensional del agua como una función de localización espacial.

### **1.4 BASES FISICAS DE LA RESONANCIA MAGNETICA CON TENSOR DE DIFUSION**

La RM utiliza estímulos de radiofrecuencia o señal para impulsar la energía dentro de un grupo de núcleos y mediante una antena receptora detecta el decaimiento de la señal estimulada. Para un cierto tipo de núcleo atómico como por ejemplo; el átomo de hidrogeno, existe una frecuencia que está relacionada a cualquier campo magnético aplicado al núcleo de acuerdo a la relación física llamada índice giromagnético.<sup>15</sup> El movimiento aleatorio de las moléculas de agua en la presencia de un fuerte gradiente magnético resulta en una pérdida de señal como resultado del desfaseamiento de la coherencia de un spin. La aplicación de un par de gradientes para obtener la diferencia de la difusión de las moléculas de agua se conoce como sensibilización a la difusión o potenciación en difusión.<sup>16</sup> En las imágenes potenciadas en difusión se aplica un pulso de gradiente de manera que las moléculas de agua difunden a diferentes localizaciones dentro de los tejidos. En la sustancia blanca cerebral, la difusión del agua libre no es la misma en todas las direcciones del espacio tridimensional (anisotropía).<sup>17</sup> Por otro lado, la anisotropía es predominantemente causada por la orientación de los tractos de fibras en la sustancia blanca y está influenciada por las características de la microestructura y macroestructura. Entre las características de la microestructura se tiene conocimiento

que la orientación axonal tiene una gran influencia en la anisotropía, otras características incluyen arreglo neuroglial, grado de mielinización, diámetro y densidad de las fibras nerviosas. Macroscópicamente, la variabilidad en la orientación de las fibras nerviosas en un voxel determina el grado de anisotropía asignada a un voxel en particular.<sup>18</sup> Mediante la evaluación de los valores de relajación (decaimiento de señal) en las fibras nerviosas o tractos nerviosos, la difusión del agua se comporta anisotrópicamente (en una dirección) a través del eje largo del tracto nervioso como se observa en la sustancia blanca, más que isotrópicamente (en todas direcciones) observada en la sustancia gris y el LCR. El proceso de obtención de las imágenes potenciadas en difusión resulta complejo, esta obtención de información se explica mediante un modelo matemático. En esencia, si se puede determinar el grado de anisotropía de cada voxel en relación a los tres ejes principales del plano cartesiano, se puede obtener adicionalmente la dirección dominante o dirección verdadera dentro del espacio tridimensional de cada voxel. La dirección en dos o tres dimensiones resulta en un vector. Estos datos elaborados en forma estructurada para obtener los valores de anisotropía se denomina "tensor", este último es un constructo matemático que describe las propiedades de un elipsoide en un espacio tridimensional (Fig. 1). El tensor de difusión D es por tanto un tensor real de segundo orden representado como una matriz de 3 x 3, derivado de las mediciones de la difusión en diferentes direcciones, donde se puede estimar la difusión en una dirección arbitraria o determinar la dirección de máxima difusión. Para describir un tensor de difusión en forma tridimensional se requiere al menos seis mediciones potenciadas en difusión en direcciones no colineales.<sup>12</sup> (Fig. 1)

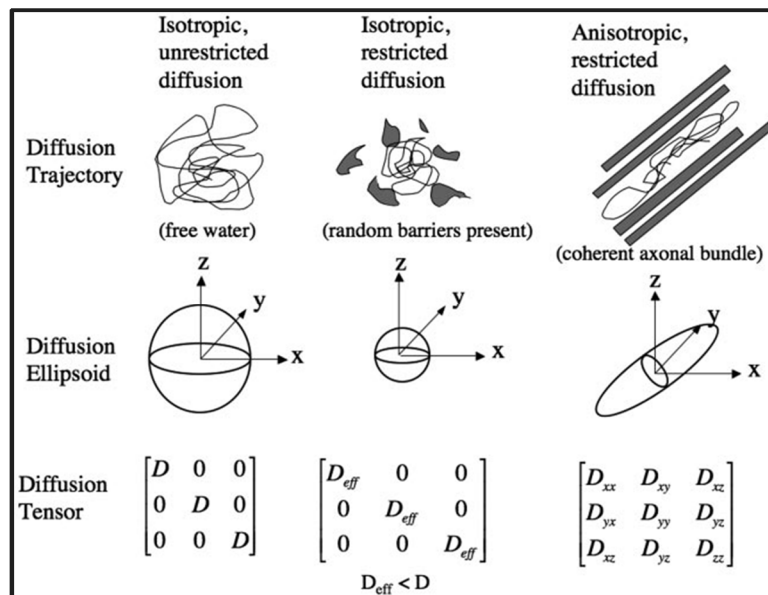


Figura 1.-Representación del elipsoide de difusión y tensor para: 1.- Difusión isotrópica no restringida. 2.- Difusión isotrópica restringida. 3. difusión anisotrópica restringida.

La obtención de las ITD implica un proceso en donde cada voxel no solo ofrece datos en relación a la intensidad de la imagen, sino también datos en relación a la dirección mostrando el tensor en forma tridimensional. Esta es la base de las imágenes potenciadas en difusión, cuya aplicación inicial más importante fue el detectar infartos cerebrales subagudos que no era posible ver por medio de otras secuencias de RM. <sup>19</sup> Con la obtención de imágenes potenciadas en difusión se puede conocer la cantidad total de anisotropía vs isotropía dentro de un voxel determinado visto desde una dirección particular, así como conocer la verdadera magnitud y la verdadera dirección de la anisotropía en cada voxel independientemente del ángulo en el cual se observa. Esta información se puede usar para obtener 2 valores principales:

1.- La cantidad relativa de anisotropía o FA que más o menos determina que tan brillante puede ser un voxel por medio del uso de un juego de colores y que además permite visualizar la dirección de los tractos nerviosos.

2.- la realización de tractografías en la que varios algoritmos matemáticos son aplicados para generar tractos lineales en tres dimensiones que representan el curso de los fascículos de axones en la sustancia blanca cerebral y las fibras nerviosas en los nervios periféricos. <sup>21</sup> (fig 2)

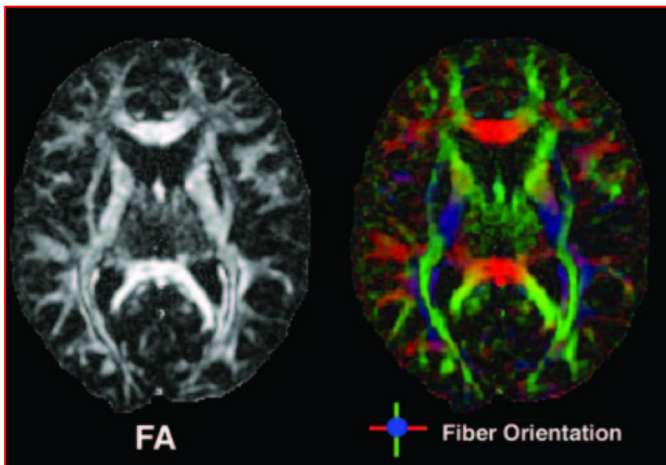


Fig. 2.- La FA indica la coherencia de los fascículos de sustancia blanca. Imagen derecha: el mapa de FA puede ser coloreado para mostrar la orientación de los eigenectores con la orientación de fibras de izquierda-derecha en rojo, fibras AP en verde y fibras inferior a superior en color azul.

Con el uso de las ITD tanto el grado de anisotropía así como la dirección local de fibras puede ser mapeado voxel por voxel, con lo cual se proporciona una herramienta para el estudio de la sustancia blanca cerebral en vivo. En la sustancia blanca de pacientes sanos la FA se encuentra entre rangos de 0.001 y 1.0. En conclusión, las ITD describen la magnitud, el grado de anisotropía y la orientación de la difusión anisotrópica.

## 1.5 UTILIDAD CLINICA DEL TENSOR DE DIFUSION EN ENFERMEDADES DEL SNC

Las mediciones por tensor de difusión se consideran como un marcador sensible de patología cerebral; esto se debe a que estas mediciones son altamente sensibles a las diferencias en la arquitectura microestructural de las membranas celulares, lo que lo convierte en una potente herramienta para detectar diferencias microscópicas en las propiedades de los tejidos con importantes implicaciones diagnósticas y terapéuticas. En la sustancia blanca normal donde existe homogeneidad de los tractos nerviosos se obtienen valores normales de FA; Sin embargo, múltiples estudios han demostrado disminución en la FA en un amplio espectro de patologías cerebrales donde hay alteración en la distribución de los tractos nerviosos. Por ejemplo, la desmielinización puede causar un incremento de la difusión radial con mínimo efecto en la difusión axial lo que ocasiona una disminución en la anisotropía como sucede en la esclerosis múltiple, lo que indica que la mielina parece modular la cantidad de anisotropía; también la proliferación celular (Ej. tumores) y los procesos irritativos puede causar disminución en los valores de FA. El beneficio de los datos resultantes de la FA por ITD ha sido demostrado por Yoshioka y cols<sup>22</sup> quienes tras estudiar a 17 pacientes con hemorragia cerebral observaron que la FA predecía el resultado en forma estadísticamente significativa en relación a la medición del coeficiente aparente de difusión (CAD). Estudios recientes han mostrado que la FA se incrementa en las fases tempranas del infarto cerebral y decrece por debajo de valores normales en las fases crónicas.<sup>23</sup> En otro estudio longitudinal de análisis de FA en 23 pacientes con TCE se demostró que incrementos en los valores de FA se correlacionaron en forma estrecha a mejor resultado de la escala de Glasgow al egreso durante la recuperación clínica. Entre otras aplicaciones, se mencionan la optimización de la resección quirúrgica de gliomas en procedimientos neuroquirúrgicos,<sup>24</sup> evaluaciones de la progresión de demencia en pacientes con enfermedad de Alzheimer y en la identificación de lesiones sutiles en pacientes con epilepsia.<sup>25</sup> Por otro lado, los indicadores pronósticos basados en ITD sobre el curso y respuesta a la terapia podrían ser de gran utilidad. Las mediciones predictivas por ITD permitirían tener intervenciones tempranas y asimismo podrían servir para evaluar que pacientes tendrían mayor probabilidad a mostrar una respuesta a terapéuticas específicas. Recientemente, diversos estudios se han enfocado a revisar los resultados de la medición del tensor de difusión para el riesgo de adquirir enfermedades así como estudiar factores de respuesta. Por ejemplo, las mediciones derivadas de ITD han sido utilizadas para caracterizar los diversos tipos de pacientes con enfermedad de Alzheimer y predecir aquellos pacientes que son susceptibles a desarrollar depresión de inicio temprano.<sup>26</sup> La disminución de la FA en regiones anteriores del cíngulo han demostrado ser predictores de mala respuesta frente al agente antidepresivo citalopram.<sup>27</sup> En pacientes con infartos cerebrales crónicos la medición FA del tracto

corticoespinal se ha correlacionado con recuperación funcional motora, por lo que muchos autores han indicado que la FA es un biomarcador de integridad de la sustancia blanca de alta sensibilidad.

## **1.6 APLICACION DE LA RESONANCIA MAGNETICA EN LA ESCLEROSIS MULTIPLE**

La eficacia primaria de los ensayos clínicos en la esclerosis múltiple debe ser la prevención clínica o un retraso en la progresión clínica. Sin embargo, aunque la discapacidad clínica ocurre a través varios años, los ensayos clínicos no duran más allá de 2 a 3 años ya que se requiere la asignación de muchos pacientes para poder obtener un poder estadístico adecuado que permita evaluar la progresión de la enfermedad y además de un grupo placebo para comparar los resultados lo que limita su realización. Se han sugerido una gran variedad de criterios por RM para diagnosticar a la EM, de estos, los criterios de Barkhof<sup>28</sup> y posteriormente los descritos por Tintoré<sup>29</sup> son los que ha demostrado mayor utilidad. Adicionalmente, los criterios de McDonald<sup>30</sup> consideran la idea de diseminación en tiempo y espacio de las lesiones que pueden ser evaluadas por RM. Una vez realizado el diagnóstico de EM la práctica de realización de RM para el monitoreo clínico es amplia y variada; desde no realizar estudios, hasta realización anual para la vigilancia por imagen de lesiones subclínicas independientemente del curso clínico. En la práctica, la actividad de la EM puede ser monitoreada ya sea mediante escaladas clínicas o en forma anual por RM basada en el conteo de nuevas lesiones hiperintensas en el T2, debido a que la mayoría de las lesiones que captan contraste dejan una huella en las lesiones en T2, el conteo de las lesiones en T2 provee una estimación razonable de nuevas lesiones y adicionalmente permite medir carga lesional.

### **1.6.1 RESONANCIA MAGNETICA CONVENCIONAL**

Las imágenes obtenidas por RM son la modalidad más sensible, de carácter no invasiva para el diagnóstico y monitoreo las lesiones desmielinizantes en la EM,<sup>31</sup> lo anterior tiene claras ventajas sobre la evaluación clínica, debido a su naturaleza más objetiva para detectar cambios relativos. En la década pasada, un gran número de estudios controlados con placebo y ensayos clínicos han mostrado en forma más o menos ambigua la capacidad de muchos tratamientos para reducir el proceso inflamatorio y por ende la carga lesional mediante el uso de RM tanto en pacientes con síndromes clínicamente aislados como en pacientes con variedades recurrentes y secundarias progresivas.<sup>32</sup> La mayor necesidad de obtener datos cuantitativos por imagen de los aspectos más destructivos de la EM ha llevado a la exploración del efecto de los agentes modificantes de la enfermedad en la prevención de la acumulación de las lesiones hipointensas en T1 y del desarrollo de atrofia cerebral que se consideran marcadores de pérdida tisular irreversible.<sup>33</sup> En este contexto, varios medicamentos ha mostrado reducir la probabilidad de desarrollar nuevas lesiones

que evolucionan a lesiones hipointensas en T1, se han propuesto múltiples modalidades de RM como las secuencias en T1, T2 y FLAIR las cuales en su conjunto, se agrupan bajo el término de RM convencional.<sup>34</sup> Las imágenes de resonancia magnética captan diversos aspectos de la enfermedad, por ejemplo: las lesiones observadas en T1 pueden representar edema o necrosis tisular (“hoyos negros”), desafortunadamente este término es arbitrario y operador-dependiente.<sup>35</sup> Las lesiones observadas en T2 representan ya sea desmielinización o edema cerebral; además, los valores obtenidos en forma cuantitativa de las secuencias T2 permiten evaluar el tejido normal-aparente de los pacientes con EM con mayor sensibilidad en la detección de las lesiones de EM y esta propiedad se utiliza para los criterios diagnósticos, medir la carga lesional y finalmente, monitoreo a corto plazo del tratamiento modificador de enfermedad. Las imágenes en T2 también representan una medición de la frecuencia de ataques previos, sin embargo, las lesiones hiperintensas en T2 tienen poca especificidad histopatológica ya que puede reflejar una amplia gama de cambios, desde inflamación aguda hasta pérdida axonal. Esta es la principal razón por lo que es limitada la correlación entre las lesiones hiperintensas en T2 y la progresión de discapacidad.<sup>36</sup> La formación de nuevas lesiones puede ser un factor muy importante que contribuye a la aparición de nuevos síntomas y posiblemente a la acumulación de déficits neurológicos irreversibles en las etapas tempranas de la enfermedad. Existe una correlación entre la carga lesional en las imágenes ponderadas en T2 basal y segunda recaída (lo que confirma el diagnóstico de EM clínicamente definida). El análisis de la carga lesional a los 5, 10 y 14 años recalcan que la mayor correlación de la discapacidad final es con la medición a los 5 años y que los cambios subsecuentes en la carga lesional resultan poco relevantes.<sup>37</sup> Las imágenes T1 contrastadas permiten la discriminación entre las lesiones activas e inactivas. Esta diferenciación ocurre como resultado del aumento de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica y corresponden a zonas de inflamación aguda, sin embargo; estas no proveen información sobre el daño tisular, la principal aportación de las secuencias T1 contrastadas es que se correlacionan muy bien con el número de recaídas y cuando se utiliza en etapas tempranas de la enfermedad tiene un valor predictivo sobre futuras recaídas en un periodo aproximado de 1 año (con una modesta predicción a los 2 años).<sup>38</sup>

La revisión de múltiples artículos y consensos de expertos en las pasadas 2 décadas han cuestionado el valor de las imágenes convencionales de RM como un biomarcador para la EM ya que la correlación entre los parámetros convencionales y discapacidad aunque estadísticamente significativos solo han sido leves o moderados (entre  $\rho=0.09$  y  $\rho 0.60$ )<sup>39</sup> La magnitud de la relación entre las mediciones de RM convencional como la carga lesional y las manifestaciones clínicas son de valor limitado ya que no tienen una correlación entre la discapacidad clínica y la extensión de la enfermedad definida por RM. El principal problema está relacionado a la baja especificidad y otros factores entre los que se incluyen: magnitud del proceso inflamatorio, edema, desmielinización, gliosis y pérdida axonal. Asimismo, la RM convencional ha mostrado una capacidad discreta para detectar y cuantificar la extensión y severidad del daño microscópico de la sustancia blanca aparente-normal que rodean a las placas, particularmente al comienzo de la enfermedad.<sup>40</sup> La discrepancia clínica/RM o paradoja clínica/radiológica se debe principalmente a esta limitada capacidad.<sup>41</sup>



En pacientes que se presentan como síndromes clínicamente aislados sugestivos de EM, la carga lesional por medio de imágenes en T2 permite junto con la presencia de enfermedad subclínica, predecir la conversión subsecuente de EM clínicamente definitiva y la severidad de la discapacidad clínica después de 5 a 15 años.<sup>37</sup> La presencia simultánea de lesiones que refuerzan con diferentes dosis de gadolinio sugieren que la severidad de la inflamación detectada por RM es muy variable; incluso, entre las lesiones del mismo paciente. Finalmente, en pacientes con EM secundaria progresiva se ha observado que tienen elevada carga lesional en T1, en este subgrupo de pacientes se ha observado que el volumen de “hoyos negros” en T1 se correlacionan mejor con discapacidad clínica comparado con las lesiones hiperintensas en T2. Los sustratos patológicos más probables de irreversibilidad en los pacientes con EM son las desmielinización y la pérdida axonal observadas tanto en T2 como de la sustancia blanca normal-aparente las cuales posteriormente evolucionan a pérdida neuronal y atrofia cerebral.<sup>42</sup> Existe un consenso general de que las mediciones por RM en vivo de la atrofia cerebral tiene el potencial de proporcionar una mejor cuantificación de los factores que en última instancia conducen a la acumulación de discapacidad sobre otros parámetros de medición previamente mencionados. En consecuencia, una correlación estadísticamente significativa se ha encontrado entre las mediciones de atrofia cerebral y discapacidad física. A este respecto Fisher y Rudick en un estudio longitudinal de 8 años desarrollado en un subgrupo de pacientes con EM RR tratados con interferón  $\beta$  demostraron que los pacientes con mayor atrofia cerebral observada en los primeros 2 años de enfermedad tienen más probabilidad de tener una mayor discapacidad a los 6 años, por lo que sugieren usar la atrofia cerebral por RM como un marcador de discapacidad.<sup>43</sup> Sin embargo, la medición de la atrofia cerebral tiene varias limitaciones como el hecho de que puede estar influenciada por otros aspectos tales como la gliosis reactiva y las fluctuaciones del contenido de agua tisular relacionados tanto a las recaídas y los tratamientos con agentes antiinflamatorios.<sup>33</sup> A pesar de lo anterior la base patológica de la atrofia cerebral todavía es poco clara y representa un fenómeno de etapa final (en condiciones óptimas, resulta más conveniente monitorear el proceso de la EM previo a la irreversibilidad que la medición de datos en estadios finales). La literatura respecto a la correlación entre el EDSS y las mediciones por medio de RM convencional han sido discreta. Una de las principales limitaciones es que a pesar del amplio uso del EDSS en la EM, esta escala no tiene adecuada sensibilidad, es exageradamente ponderada a la deambulación y sufre una variabilidad importante interobservador e intraobservador.<sup>44</sup> Los patrones de actividad de la EM varían significativamente en pacientes individuales sobre el tiempo, de un paciente a otro y entre los diferentes fenotipos clínicos. La actividad de la enfermedad tiende a declinar con la edad y es muy baja en formas en el subtipo de EM primaria progresiva.

Además de las limitaciones descritas para la EDSS, otros factores probablemente juegan un papel en explicar la paradoja clínico-radiológica en la EM; entre ellas, la incapacidad de la RM convencional para cuantificar la extensión y la irreversibilidad del tejido dañado, otras posibles explicaciones han surgido para tal discrepancia. Primero, se deben considerar que existen diferentes mecanismos podrían operar en diversos estadios de la

enfermedad y que su relativa importancia podrían cambiar con el curso de la misma. En un estudio longitudinal de 13 años se ha observado que las lesiones en T2 que surgen entre el comienzo de la enfermedad y los 2 años se correlacionan fuertemente con el resultado clínico 11 años después comparados con los resultados clínicos a los 2 años del inicio comienzo de la enfermedad, estas observaciones permiten argumentar que los estudios clínicos a corto plazo que evalúan la correlación entre las lesiones por RM y la discapacidad clínica podrían subestimar un número significativo de pacientes debajo del umbral patológico.<sup>45</sup> En segundo término, la correlación máxima esperada entre RM y las mediciones clínicas de discapacidad podrían depender de la composición exacta de los tipos de lesiones, sus respectivas probabilidades y su peso en términos de impacto clínico. Teóricamente, cuando las lesiones son clínicamente silentes, la máxima posible correlación a priori se espera que también sea baja. Estas consideraciones son soportadas por los datos por Goodin y cols quienes mencionan que la máxima correlación esperada entre los parámetros de RM convencional y la progresión de discapacidad mediante la medición de EDSS se encuentra en el rango de  $\rho = 0.18-0.32$ .<sup>39</sup> Se pueden obtener adicionalmente mediciones compuestas o scores compuestos como medición de carga lesional, atrofia global o volumen total de las lesiones que refuerzan con gadolinio, lo que permite una correlación más robusta con el EDSS, una mayor comprensión del proceso de la enfermedad en comparación con la medición derivada de parámetros individuales;<sup>46</sup> desafortunadamente la mayoría de estos estudios han demostrado también una pobre correlación.<sup>47</sup>

### **1.6.2 RESONANCIA MAGNETICA NO CONVENCIONAL O CUANTITATIVA**

Existen otras modalidades de estudio de RM como la espectroscopia, la transferencia de magnetización, análisis de lesión en medula espinal y/o sustancia gris. Desafortunadamente cada una de estas técnicas requiere secuencias de imagen adicionales lo que incrementa el tiempo de escaneo y por ende un mayor coste económico para las instituciones de salud o grupos de trabajo en EM.<sup>48</sup> Una de estas técnicas como la espectroscopia permite obtener información sobre la estructura bioquímica de diversas regiones cerebrales; por ejemplo, la elevación del N-acetil aspartato se relaciona como un marcador de integridad tanto neuronal como axonal y a su vez, la elevación del pico de colina refleja metabolismo de la membrana celular.<sup>49</sup> Lo que ha permitido deducir que una disminución del pico de NAA se considera como un marcador de pérdida o disfunción de axonal/neuronal y una elevación del pico de colina como un incremento del intercambio de la membrana celular como se observa en la desmielinización por inflamación y remielinización en pacientes con lesiones compatibles con EM. De igual manera, se ha observado correlación entre las puntuaciones de EDSS e índice de NAA/Cr.<sup>50</sup> Mathiesen HK y cols demostraron que el índice NAA/Cr se encuentra reducido en pacientes con puntuaciones elevadas de fatiga comparados con aquellos con puntuaciones bajas y que el índice NAA/Cr se correlaciona además con disfunción cognitiva hecho que no se demuestra con mediciones de RM convencional.<sup>51</sup>

Las técnicas de transferencia de magnetización por su parte han mostrado una fuerte correlación con el porcentaje de axones residuales y el grado de desmielinización de las lesiones visibles en T2 y de la sustancia blanca normal aparente en pacientes estudiados postmortem.<sup>52</sup> Los histogramas derivados de la transferencia de magnetización se han correlacionado moderadamente con discapacidad y daño cognitivo aunque los resultados son ambiguos y contradictorios.<sup>53</sup> A pesar de ello, recientes ensayos clínicos han incorporado a la transferencia de magnetización para evaluar el impacto de los tratamientos modificadores de enfermedad sobre el daño axonal y la desmielinización.<sup>54</sup> El Surgimiento de nuevas modalidades de imagen, en particular de las ITD ha sido de gran interés para el estudio de la EM debido principalmente a la baja especificidad patológica de las anomalías observadas en las imágenes de RM convencionales y sobre todo por la incapacidad de estas últimas para cuantificar la extensión del daño en la sustancia blanca normal-aparente. Las anomalías en las ITD son más notorias en las lesiones que en la sustancia blanca normal aparente, con el grado máximo de daño encontrado en los "hoyos negros" crónicos,<sup>55</sup> sin embargo, cambios sustanciales en la difusión también se han observado en la sustancia gris cerebral.<sup>56</sup>

### **1.6.3 RESONANCIA MAGNETICA CON MEDICION DE FRACCION DE ANISOTROPIA**

La aplicación de mediciones cuantitativas por DTI ha cambiado en forma dramática el entendimiento de como la EM contribuye al desarrollo de déficits clínicos y predicen discapacidad a corto plazo. Existe una creciente percepción de que estos métodos cuantitativos deben ser empleados de manera más extensa en los ensayos clínicos. Por medio del tensor se pueden obtener 2 parámetros como la difusión media (DM) que es afectada por el tamaño celular y la integridad neuronal y la FA que refleja tanto el grado de alineamiento celular dentro de los tractos de fibras nerviosas así como su integridad estructural.<sup>57</sup> Estas mediciones ponen de manifiesto claras ventajas sobre la RM convencional. En primer término, permite obtener información cuantitativa de los sustratos patológicos de la EM, en forma secundaria permite cuantificar el daño difuso que ocurre en el tejido cerebral que aparece normal en las imágenes de RM convencional. La disminución en la fracción de anisotropía (FA) es esperada en enfermedades con afectación de la integridad axonal y de mielinización como ocurre en los pacientes con EM. En fechas recientes, muchos estudios han sobresaltado el uso de DTI en la evaluación de los pacientes con EM, particularmente en el análisis de las alteraciones microestructurales en la sustancia blanca normal-aparente. Las regiones cerebrales de pacientes con EM con señales normales en las imágenes potenciadas en T1 y T2 han mostrado valores anormales en la FA. Por otro lado, las lesiones visibles en T2 tienen valores bajos de FA y valores difusión media elevada, lo que demuestra la heterogeneidad patológica de las lesiones, esta heterogeneidad no es descrita en su totalidad por mediciones hechas con RM convencional. Lo anterior señala la necesidad de cuantificar el grado de daño intrínseco usando tecnologías de RM cuantitativas con un incremento en la especificidad. Adicionalmente, las alteraciones detectadas sobre las imágenes potenciadas en difusión parecen relacionarse mejor con el deterioro clínico en comparación con las imágenes de RM convencional.

Fillipi y cols en el 2001 evaluaron las diferencias en la fracción de anisotropía entre los pacientes con EM y controles sanos en la sustancia blanca normal-aparente.<sup>58</sup> En una revisión de 11 pacientes con EM y 31 pacientes sanos se demostró la alta sensibilidad del DTI a los cambios tisulares en el parénquima cerebral no solo en las lesiones identificadas en las secuencias T1 o FLAIR sino también en una banda gruesa de sustancia blanca que rodea a las lesiones mediante la aplicación de imágenes de tensor de difusión. Esto sugiere que algunos pacientes exhiben una extensión de las lesiones que no son visibles por imágenes convencionales de RM, pero que son detectables por medio de DTI en forma temprana,<sup>59</sup> por lo tanto el DTI permite evaluar los cambios en las lesiones y en forma adicional de la sustancia blanca aparente-normal que rodea a estas lesiones típicas, permite inferir evolución temporal y la extensión real de la EM en la sustancia blanca cerebral.<sup>60</sup> reportaron anomalías difusas y sutiles en la sustancia blanca normal-aparente de 20 pacientes con EM, observando valores disminuidos de FA en los pacientes comparados con controles sanos. Aunque hay pocos estudios que correlacionen los hallazgos patológicos con las ITD, observaciones histológicas previas soportan la hipótesis acerca de la extensión de las lesiones más allá de las placas en la EM. Lo anterior indica que los cambios en la sustancia blanca normal-aparente son invariablemente detectados en todos los fenotipos de EM con uso de DTI, la severidad del daño de la sustancia blanca normal-aparente se asocia con un incremento en los niveles de discapacidad física y daño cognitivo.<sup>61</sup> Asimismo, las lesiones activas con incremento de señal posterior a la administración de gadolinio pueden mostrar valores altos de difusión media, con valores bajos de FA comparados con las lesiones inactivas.<sup>58</sup> Es importante mencionar que otro trabajo previo donde se incluyó a un mayor número de pacientes, tuvo resultados contradictorios ya que no se encontró una diferencia significativa en los valores de FA y DM.<sup>62</sup> La falta de correlación entre la FA y discapacidad indican que el impedimento al movimiento de difusión puede ser más importante en determinar el estado clínico de los pacientes que la pérdida de anisotropía, aunque los resultados son contradictorios. Es probable que con el desarrollo de nuevas secuencias potenciadas en difusión y sofisticadas técnicas de postprocesamiento de imágenes, las ITD por RM puedan establecerse en base a lo previamente comentado como una herramienta para evaluar la progresión de la enfermedad en pacientes con EM.<sup>57</sup> La correlación más robusta entre las mediciones derivadas de la RM convencional y el estado clínico se ha encontrado en los primeros años de seguimiento de los pacientes con síndromes clínicamente aislados, en el otro extremo del espectro clínico, la medición del volumen cerebral, "hoyos negros" y daño tisular irreversible usando modernas técnicas de RM permiten correlacionar mejor con la progresión de la discapacidad en el monitoreo de la evolución de la EM. El objetivo del presente trabajo es buscar una correlación entre la discapacidad física con la escala EDSS y valores de FA con técnica de tensor de difusión de pacientes con EM.

## **2. DEFINICION DEL PROBLEMA**

La EM es una enfermedad de alta prevalencia e incidencia en nuestro país, afecta principalmente a adultos jóvenes con secuelas neurológicas severas cuando esta se presenta con recaídas o brotes frecuentes o cuando presente un curso de remisiones de rápida progresión secundaria. Los tratamientos terapéuticos tienen un impacto sustancial en el número de recaídas así como en la progresión de la enfermedad, por lo que se requiere de monitoreo clínico intermitente mediante la utilización de escalas de discapacidad EDSS. La evaluación clínica mediante esta escala permite identificar el grado de discapacidad física y los efectos que tienen los tratamientos modificadores de enfermedad sobre el estado clínico. Sin embargo, se han desarrollado nuevas técnicas de imagen como las ITD ante la falta de correlación de esta escala con los hallazgos obtenidos mediante RM convencional ya que de forma independiente las mediciones derivadas de las ITD han mostrado identificar el grado de alteración funcional desde el inicio y durante transcurso de la enfermedad tras iniciar el manejo médico. El uso de la RM en la EM se ha subrayado sobre las mediciones clínicas ya que incrementa la sensibilidad de los hallazgos en la enfermedad activa y al tener medidas escalares permite un abordaje estadístico más poderoso. Desde este punto de vista; se propone conocer la correlación entre los valores de la EDSS y las mediciones cuantitativas derivadas de la RM con tensor de difusión.

Basado en esto planteamos la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es la correlación del grado de discapacidad funcional con la FA y el CAD obtenidas por resonancia magnética en pacientes con Esclerosis Múltiple?

## **3. JUSTIFICACION**

La EM es una enfermedad con un curso clínico variable; en la mayoría de los casos se presenta con remisiones y recaídas en relación a actividad de la enfermedad, en otros casos; tiene un inicio progresivo lo que conlleva a una discapacidad funcional importante en los pacientes afectados. Los costos médicos relacionados al tratamiento tienen un impacto sustancial en los servicios de salud de los centros de atención especializados. El monitoreo clínico permite tener una aproximación en relación al grado de discapacidad una vez establecida la enfermedad, en forma adicional permite implementar tratamientos modificadores de enfermedad y en el caso de un curso progresivo o falla inicial a una modificación en los esquemas de tratamiento. El monitoreo seriado de los pacientes afectados de EM mediante técnicas de imagen en forma adicional a la valoración clínica resulta de gran apoyo para el neurólogo que tiene a cargo el manejo médico. Las imágenes de RM con técnicas de tensor de difusión y en forma particular, con la medición de la FA se relacionan en forma más estrecha con el estado clínico del

paciente.<sup>62</sup> La realización de esta técnica es viable en centros hospitalarios de atención donde se cuente con equipos de RM como sucede en nuestra institución. Mediante el presente estudio se pretende correlacionar los valores de FA y TD de las placas desmielinizantes con la evaluación clínica mediante la EDSS esperando con la información obtenida identificar la viabilidad de su uso sistematizado durante el monitoreo clínico y su posible utilidad en los cambios terapéuticos que requieran los pacientes con EM en forma conjunta a la escala clínica.

### **3. HIPOTESIS**

Considerando que se trata de un estudio de correlación y que en la literatura de estadística médica se considera como una correlación elevada cuando esta es mayor del 75%, planteamos la siguiente hipótesis:

El grado de discapacidad física determinado mediante escala EDSS tiene una correlación al menos del 75% con la FA y con el CAD determinado mediante RM en pacientes con EM

### **4. OBJETIVO GENERAL**

Determinar la correlación del grado de discapacidad física con la FA y el CAD obtenidos con RM en pacientes con EM.

### **5. OBJETIVOS ESPECIFICOS**

En pacientes con Esclerosis Múltiple:

- Cuantificar las placas desmielinizantes mediante técnicas de tensor de difusión con RM y obtener valores como FA y ADC
- Medir la FA y ADC de las placas, zona periplaca y sustancia blanca normal aparente.
- Conocer el grado de discapacidad funcional de los pacientes con esclerosis múltiple mediante la utilización de la escala EDSS (escala expandida de estado de discapacidad)
- Conocer las variables demográficas y epidemiológicas de los pacientes estudiados

### **6. DISEÑO DEL ESTUDIO**

#### **6.1 Tipo de estudio.**

Transversal; observacional, descriptivo y retroelectivo

## 6.2 Tamaño de muestra.

En estadística médica se considera que una correlación es baja cuando es de 0.25 y alta cuando es de 0.75. Calculando el tamaño de muestra para ambas posibilidades, utilizando una fórmula para proporciones, para un poder de 0.80 y un error tipo I de 0.05, se requiere una población de estudio de 14 pacientes.

$$n = \frac{Z\alpha + Z\beta pq}{d^2}$$

Donde  $Z\alpha = 1.96$ ;  $Z\beta = 0.84$ ;  $p = 0.25$  o  $0.75$ ;  $q = 1-p$ ;  $d = 0.01$

## 6.3 Criterios de inclusión.

Pacientes de cualquier edad y sexo con diagnóstico de Esclerosis Múltiple atendidos en el servicio de Neurología del Centro Médico Nacional 20 de noviembre del ISSSTE con expediente vigente.

## 6.4 Criterios de exclusión

Pacientes que:

- Sean portadores de marcapasos o prótesis cardíacas
- Padezcan de claustrofobia
- Tengan antecedentes de aplicación de clips para cirugía vascular cerebral
- Pacientes con tumores cerebrales
- Pacientes con epilepsia

## 6.5 Criterios de eliminación

Pacientes con expediente clínico incompleto

Brote de EM 1 mes previo o posterior a la determinación de EDSS y/o realización de RM

## 6.6 Definición de variables y unidades de medida.

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE	ESCALA	UNIDAD DE MEDICION
Placa de esclerosis múltiple	Zona de desmielinización y daño axonal de la sustancia blanca cerebral como consecuencia del proceso fisiopatológico de los pacientes con esclerosis múltiple.	Región hiperintensa que se observa en las secuencias de T2 o FLAIR de RM con localización predominante sobre región periventricular, centro semioval y sustancia blanca subcortical.	Cualitativa	Nominal	Dicotómica: Presente/ausente
Zona periplaca	Región de menor desmielinización y daño axonal de la sustancia blanca cerebral como consecuencia del proceso fisiopatológico en pacientes con esclerosis múltiple.	Región que rodea a las placas desmielinizantes en las secuencias de T2 o FLAIR en un radio de 1 cm con un valor decremento del 40 % de FA y un radio de 1 cm alrededor de la placa.	Cualitativa	Nominal	Dicotómica: Presente/ausente
Sustancia blanca normal aparente (SBNA)	Región cerebral de los pacientes con EM en los cuales no hay evidencia macroscópica afectación de la sustancia blanca en las imágenes de RM convencionales.	Región cerebral donde por RM convencional (T2 y FLAIR) no existan placas de desmielinización, de localización en espejo a la placa de esclerosis múltiple y donde los valores de FA tengan valores cercanos a la normalidad.	Cualitativa	Nominal	Presente/ausente
VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE	ESCALA	UNIDAD DE MEDICION
Fracción de anisotropía (FA)	Método cuantitativo que representa la porción anisotrópica o cantidad relativa de la difusión total obtenidas de las imágenes potenciadas en difusión por RM y que permite evaluar la integridad y la dirección de los tractos nerviosos del SNC.	Medida cuantitativa que se obtiene mediante las imágenes del tensor de difusión cuyos valores van desde 0.001 (isotropía) hasta 1.000 (anisotrópica) en la región de las placas, periplacas y sustancia blanca normal aparente con tamaño mínimo de la región de interés (ROI) de 78 mm <sup>3</sup> con un promedio de al menos 88 mm <sup>3</sup> que equivale a 8 a 10 píxeles	Cuantitativa	Continua	0.001-1000
Coefficiente aparente de difusión (CAD)	Medición cuantitativa escalar de la difusión del agua en un solo eje derivado de imágenes potenciadas en difusión (DWI)	El mapa ADC es usado para determinar si la señal anormal de la difusión es causado por restricción de la difusión o se debe al efecto brillante del T2	Cuantitativa	Continua	rango normal entre 0.3 y 3 mm <sup>2</sup> /s x 10 <sup>-3</sup>
EDSS (Escala expandida de estado de discapacidad) <b>*ver anexo</b>	Escala de medición por sistemas funcionales que permite evaluar el grado de discapacidad y progresión de la enfermedad en los pacientes con EM	Escala que consta de 7 sistemas funcionales. Cada sistema funcional tiene un puntaje de 0-5 o 6. A mayor puntaje mayor discapacidad. Se suman los valores de los sistemas funcionales y se determina el EDSS de acuerdo a los mismos con valores que van de 0 (normal) a 10 (muerte debido a esclerosis múltiple)	Cuantitativa	Discreta	0-10
Grado de discapacidad	Calificación obtenida de la escala expandida de estado de discapacidad (EDSS)	Discapacidad leve: 0-3 puntos Discapacidad moderada 3.5-5.5 Discapacidad severa mayor a 6 puntos	Cualitativa	Ordinal	Leve/moderada /severa



## 7. MATERIAL Y METODO

Se revisaron en forma retrospectiva un total de 14 pacientes con diagnóstico de EM y que reunieron los criterios de Mc Donald.<sup>30</sup> Se tomaron de los expedientes clínicos de los pacientes estudiados los valores de EDSS de la última revisión obtenida en la consulta externa durante el seguimiento clínico subsecuente, esta revisión fue realizada por un médico neurólogo con amplia experiencia en EM. En forma adicional se obtuvieron las variables: edad, sexo, número de brotes previos y duración de la enfermedad así como los tratamientos previos a la realización de la RM

Para la medición de fracción de anisotropía (FA) se llevó a cabo el protocolo de adquisición de imágenes en los casos seleccionados en la unidad de resonancia magnética del Centro médico Nacional 20 de noviembre. Cada estudio de resonancia magnética se obtuvo de la siguiente manera:

Tipo de resonador: Equipo de 3 T, MAGNETOM VERIO SIEMENS SECUENCIAS DE RMNCONVENCIONAL

- Secuencia T1 sagital y axial grosor de 4 mm
- Secuencia T2 axial grosor de 4mm
- Secuencia en difusión axial grosor de 4 mm
- Secuencia FLAIR axial y sagital grosor de 4mm
- Secuencia T2 FS axial (a nivel de órbita para nervio óptico), grosor de 2 mm
- T1 *vibe fs* axial más gadolinio grosor 1mm (a nivel de orbita para nervio óptico)

### SECUENCIAS ADICIONALES

T1 MPR sagital, grosor de corte 1.0 mm

### *PROTOCOLO DE TENSOR DE DIFUSION PARA LA OBTENCION DE LA FRACCION DE ANISOTROPIA*

El tensor de difusión se llevó a cabo con las siguientes características: total de cortes: 25, grosor de corte 4.0 mm; TR 4800 ms, TE 106 ms, direcciones: 12. Las imágenes de DTI se realizaron en plano axial en imágenes ecoplanar utilizando los siguientes parámetros: valor de  $b=0$ ;  $1000 \text{ s/mm}^2$ ; FOV 230 mm; Head Coil: 32 canales. Las imágenes de tensor de difusión se incluyen dentro del software que tiene el equipo con una duración en la adquisición de las imágenes de 6 minutos. El post-procesamiento de los datos se llevó a cabo el software que viene incluido en el equipo Siemens, de aquí se obtuvieron los valores de FA. Los valores de FA se calcularon de cada ROI ya definido en tamaño de las placas, zona periplaca y sustancia blanca normal aparente de los estudios de RM de cada paciente realizados posterior a la última evaluación clínica con EDSS.

En cada caso, una neuroradióloga experta en esclerosis múltiple llevo a cabo la revisión de las imágenes tanto de RM convencional como de ITD. Posteriormente se vaciaron en una base de datos clínicos y los datos de RM con tensor de difusión, para el análisis estadístico se utilizó el programa estadístico SPSS 20.0 para Windows. Para el análisis descriptivo medidas de tendencia central y de dispersión. Para el análisis de correlación entre los valores de EDSS y tensor de difusión (FA) se utilizó Correlación de Pearson (paramétrica). Consideraremos significancia estadística con una  $p < 0.05$ .

## 8. RESULTADOS

Se llevó a cabo el análisis retrospectivo de 14 casos con diagnóstico de EM todos los cuales reunían los criterios de McDonald.<sup>30</sup> La media de edad fue de 31.7 años; en relación al sexo 9 fueron hombres (56 %) y 6 fueron mujeres (44 %). La duración de la enfermedad fue en promedio de 8.8 años. Estas características sociodemográficas se resumen en la tabla 1 y figura 1. La variedad de esclerosis múltiple se distribuyó en: 12 pacientes con variedad RR y 3 pacientes con S (figura 2).

*Tabla 1.- Características sociodemográficas*

Sexo	
Femenino	6 (44 %)
Masculino	9 (56 %)
Edad (promedio)	31.7 años
Promedio duración de la enfermedad	8.8 años

*Figura 1.- Pacientes por grupo de edad*

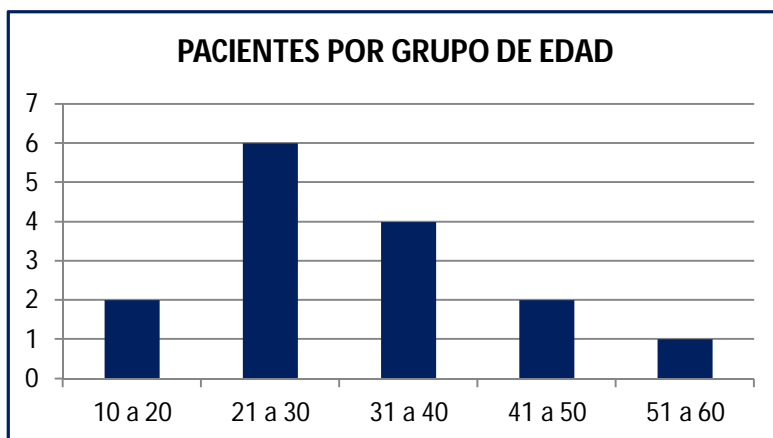
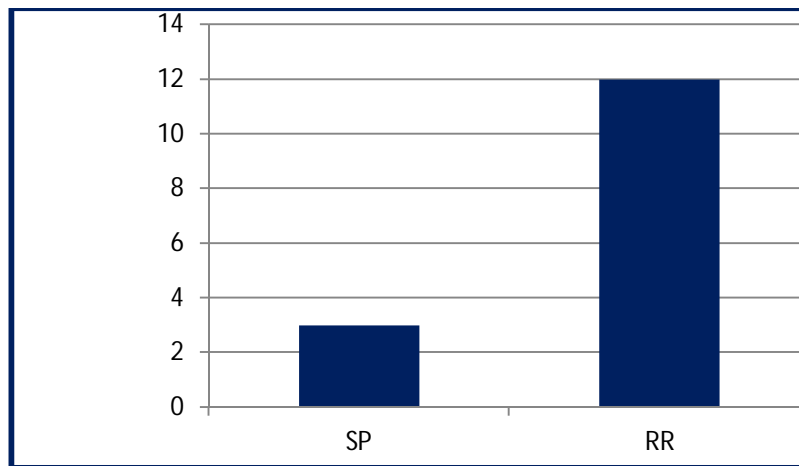


Figura 2.- Tipo o variedad predominante de EM

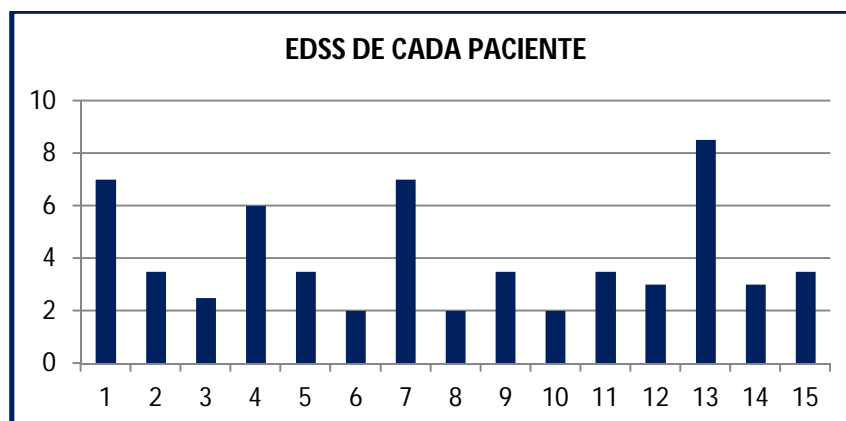


La EDSS se aplicó realizando una exploración neurológica a 7 sistemas funcionales (Apéndice 1):

- 1.- Piramidal
- 2.- Cerebelo
- 3.- Tronco encefálico
- 4.- Sensibilidad
- 5.- Vejiga e intestino
- 6.- Visión
- 7.- Funciones mentales

Una vez que se calificaron estos sistemas, se obtuvo una graduación del 0 al 10. El promedio de EDSS de todos los pacientes fue de 4.0.

Figura 3. Valores de EDSS de cada paciente



Posterior a la confirmación del estudio clínico se llevó a cabo la revisión de las RM de cada paciente en la base de datos del servicio de radiología del centro médico nacional 20 de noviembre, todos realizados en un periodo de tiempo menor a 1 año, las principales secuencias analizadas fueron T1, T2, FLAIR y se descartó en cada caso que los pacientes hayan tenido brote 1 mes previo o posterior a la realización de la RM tanto clínicamente como por ausencia de realce con gadolinio. Se obtuvieron los valores de FA de la placa, zona periplaca y SBNA los cuales se analizaron en cada paciente, la lesión se identificó previamente en las secuencias T2 Y FLAIR, fueron en la mayoría de los casos de localización periventricular y centros semiovais. Fig. 4. Los valores promedios de FA se ilustran en la tabla 2

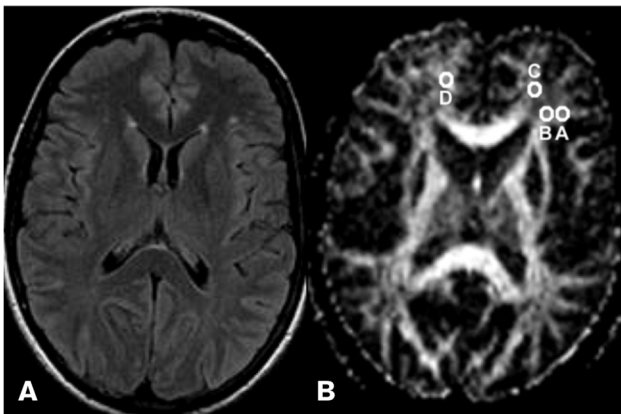


Fig. 4 Izquierda: RM en secuencia de FLAIR de paciente con EM donde se muestra una placa desmielinizante sobre centro semioval frontal izquierdo. Derecha: secuencia en difusión; se ilustra en A la medición de FA en la placa; B zona periplaca, C sustancia blanca normal aparente y D

Tabla 2.- Valores de FA de las placas. Zona periplaca y SBNA

	Placa	Zona periplaca	SBNA
Promedio de FA	0.283	0.366	0.553
Desviación Standard	0.082	0.091	0.07

La correlación observada entre las mediciones entre las placas y la EDSS con r de Pearson fue de 0.56 y una  $p < 0.05$  lo cual no se observó entre los valores de FA de la zona periplaca y la SBNA.

## DISCUSION

El daño a la sustancia blanca es uno de los principales sustratos patológicos en la EM. Las novedosas técnicas derivadas del tensor de difusión por RM permiten cuantificar el daño que ocurre en las placas desmielinizantes tanto en el proceso agudo como en etapas crónicas de la enfermedad. Una vez establecida la enfermedad, la carga de lesional visible por medio de RM convencional explica del 10 al 15 % de la discapacidad clínica. Es por ello que el uso de un biomarcador como herramienta diagnóstica es una estrategia inestimable para superar los problemas que se presentan en los ensayos clínicos.<sup>64</sup> A pesar del uso de instrumentos como la escala expandida del estado de discapacidad (EDSS) para evaluar el grado de afectación clínica neurológica; la gran variabilidad y el curso complejo le impiden tener una evaluación objetiva de la enfermedad.<sup>65</sup> En los últimos años se han buscado biomarcadores no invasivos que permitan tener un impacto importante en el manejo de la enfermedad así como evaluar la eficacia del tratamiento tomando en consideración que cualquier evaluación del tratamiento médico debe basarse en resultados clínicos significativos. En forma reciente, muchos estudios han demostrado una creciente importancia en las ITD para la evaluación de pacientes con EM, particularmente en el análisis de las alteraciones microestructurales en la sustancia blanca normal-aparente. Las regiones cerebrales con señales normales en las secuencias potenciadas en T1 Y T2 han presentado valores anormales en la FA, adicionalmente, las alteraciones detectadas por las ITD se han correlacionado mejor con el deterioro clínico en relación a los hallazgos encontrados con estudio de RM convencional,<sup>66</sup> tiene una mayor asociación con los hallazgos histopatológicos<sup>67</sup> y por otro lado, el uso de la RM en la EM se ha subrayado sobre las mediciones clínicas ya que incrementa la sensibilidad de los hallazgos en la enfermedad activa.<sup>68</sup> El presente trabajo ha permitido demostrar una fuerte correlación entre discapacidad funcional y valores bajos de FA obtenida por TD de las placas desmielinizantes. En un estudio realizado previamente en 40 pacientes con EM variedad RR se evaluó con DTI la FA en las lesiones; la región que rodea a las placas, sustancia blanca normal-aparente y sustancia blanca normal de controles sanos; con valores de FA de 0.268 en las lesiones, 0.365 en la región alrededor de la placa; 0.509 en la sustancia blanca normal aparente y de 0.573 en la sustancia blanca de controles sanos.<sup>69</sup> Los valores obtenidos en nuestro trabajo fueron similares y con mayor correlación entre los valores de FA de las placas y EDSS en comparación a la zona periplaca y SBNA.

Guo y cols en el 2002 analizaron la sustancia blanca normal-aparente que rodean a las placas desmielinizantes en 26 pacientes con esclerosis múltiple y en un grupo control, comparando los valores de ADC y FA para estimar anomalías en la sustancia blanca, estos autores observaron que los valores de FA fueron significativamente más bajos en las placas comparados con las regiones periplaca, la sustancia blanca normal-aparente y un

grupo control.<sup>70</sup> Por otro lado Tiesvky y cols compararon el CAD y la FA en placas agudas y crónicas de 12 pacientes en diferentes estadios de EM. Los resultados demostraron que las regiones de las placas tenían valores más bajos de FA en las placas agudas comparadas con las placas crónicas, regiones periplaca y sustancia blanca normal aparente. Por lo que los hallazgos del presente estudio corroboran estas observaciones previas.<sup>71</sup> Diversas iniciativas se han puesto en marcha para definir los criterios de éxito/fracaso de agentes terapéuticos basándose en la actividad de la EM sobre la RM tanto por técnicas convencionales como técnicas avanzadas no convencionales entre las que se incluyen las ITD. Asimismo el desarrollo de mediciones compuestas así como la aplicación de otras escalas como la MSFC permitan tener una mayor correlación clínica en relación al deterioro funcional en el seguimiento de pacientes con esclerosis múltiple.

## **CONCLUSION**

La correlación encontrada entre los valores de FA de las placas mediante técnicas de RM con tensor de difusión y EDSS del presente estudio permiten inferir que es posible utilizar esta técnica cuantitativa para el seguimiento clínico de los pacientes con EM y establecerse como una herramienta de rutina para evaluar el efecto del tratamiento, ya sea individualmente o en forma conjunta a la escalas clínicas. Los resultados del presente trabajo sirven de base para un segundo estudio de seguimiento longitudinal en donde se puede utilizar la FA como un biomarcador no invasivo para predecir la respuesta al tratamiento médico, asimismo sería interesante identificar que valores de FA serían útiles al inicio de la enfermedad para predecir el curso clínico de los pacientes afectados de esclerosis múltiple.

## ANEXOS

### Apéndice: Escala Expandida del Estado de Discapacidad (EDSS)

#### A) Sistemas funcionales (SF):

##### I: Piramidal

- 1.- Normal
- 2.- Signos anormales sin incapacidad
- 3.- Incapacidad mínima
- 4.- Paraparesia o hemiparesia leve o moderada. Monoparesia grave
- 5.- Paraparesia o hemiparesia grave. Monoplejía o cuadriparesia moderada
- 6.- Paraplejía o hemiplejía. Cuadriparesia intensa
- 7.- Cuadriplejía

##### II: Cerebelo

- 1.- Normal
- 2.- Signos anormales sin incapacidad
- 3.- Ligera ataxia
- 4.- Moderada ataxia de los miembros o del tronco
- 5.- Ataxia intensa de todas las extremidades
- 6.- Incapaz de realizar movimientos coordinados por ataxia

##### III: Tronco encefálico

- 1.- Normal
- 2.- Solamente signos
- 3.- Nistagmo moderado o cualquier otro tipo de incapacidad
- 4.- Nistagmo intenso, parálisis extraocular intensa o moderada incapacidad por otros pares
- 5.- Disartria intensa o cualquier otro tipo de incapacidad
- 6.- Incapacidad para deglutir o hablar

##### IV: Sensibilidad

- 1.- Normal
- 2.- Alteración de sensibilidad vibratoria o grafiestesia en una o dos extremidades
- 3.- Disminución ligera de la sensibilidad táctil o dolorosa, o de la propioceptiva y/o disminución ligera de la vibratoria en uno o dos miembros o vibratoria (o grafiestesia) en 3 ó 4 miembros
- 4.- Igual que 3, moderada, incluida alteración propioceptiva en 3 ó 4 miembros
- 5.- Igual que 4, intensa, o bien grave alteración propioceptiva en más de 2 miembros
- 6.- Pérdida de la sensibilidad en una o dos extremidades o bien disminución del tacto o dolor y/o pérdida de propiocepción en más de dos miembros
- 7.- Pérdida de la sensibilidad prácticamente total por debajo de la cabeza

##### V: Vejiga e intestino

###### V.1 Vejiga

- 1.- Función normal
- 2.- Ligero titubeo, urgencia o retención
- 3.- Moderado titubeo, urgencia o retención tanto del intestino como de la vejiga, o incontinencia urinaria poco frecuente
- 4.- Incontinencia menos de 1 vez por semana
- 5.- Incontinencia más de 1 vez por semana
- 6.- Incontinencia diaria

7.- Catéter vesical

(Añada un punto más en la puntuación de 1-4 si se usa autocateterismo vesical)

V.2 Intestino

- 1.- Función normal
- 2.- Estreñimiento menos de 1 vez a la semana, sin incontinencia
- 3.- Estreñimiento menos de una vez al día, sin incontinencia
- 4.- Incontinencia menos de 1 vez a la semana
- 5.- Incontinencia más de 1 vez a la semana pero no diario
- 6.- Ningún control intestinal
- 7.- Grado 5 de disfunción vesical más grado 5 intestinal

VI: Visión

- 1.- Normal
  - 2.- Escotoma con agudeza visual (corregida) superior a 20/30
  - 3.- El ojo que está peor con un escotoma tiene de agudeza entre 30/30 y 20/59
  - 4.- El ojo peor (por escotoma o alteración de campo) con agudeza máxima entre 20/60 y 20/99
  - 5.- El ojo peor (por escotoma o alteración de campo) con agudeza máxima entre 20/100 y 20/200; igual un grado 3 más máxima agudeza en el mejor ojo de 20/60 o inferior
  - 6.- El ojo peor con agudeza visual inferior a 20/200; o bien grado 4 más máxima agudeza en el ojo mejor de 20/60 o menos
- (Añada un punto más de los grados 0-5 si existe palidez temporal)

VII: Funciones mentales

- 1.- Normal
- 2.- Alteración del estado de ánimo únicamente (no afecta a la puntuación EDSS)
- 3.- Ligera alteración cognitiva
- 4.- Moderada alteración cognitiva
- 5.- Marcada alteración cognitiva
- 6.- Demencia



## Escala Expandida del Estado de Discapacidad:

- 0= Examen neurológico normal (todos los ítems de SF son de cero)
- 1.0= Ninguna incapacidad pero signos mínimos solamente en un apartado de SF
- 1.5= Ninguna incapacidad pero signos mínimos en más de un apartado de SF
- 2.0= Incapacidad mínima en un apartado de SF (al menos uno con puntuación de 2)
- 2.5= Incapacidad mínima (dos apartados de SF puntuando 2)
- 3.0= Incapacidad moderada en un SF (un SF puntúa 3 pero los otros entre 0 y 1). El paciente deambula sin dificultad
- 3.5= Deambula sin limitaciones pero tiene moderada incapacidad en un SF (uno tiene un grado 3) o bien tiene uno o dos SF que puntúan un grado 2 o bien dos SF puntúan un grado 3 o bien 5 SF tienen un grado 2 aunque el resto estén entre 0 y 1
- 4.0= Deambula sin limitaciones, es autosuficiente y se mueve de un lado para otro alrededor de doce horas por día pese a una incapacidad relativamente importante. De acuerdo con un grado 4 en un SF (los restantes entre 0 y 1). Capaz de caminar sin ayuda o descanso unos 500 metros.
- 4.5= Deambula plenamente sin ayuda, va de un lado para otro gran parte del día, capaz de trabajar un día completo, pero tiene ciertas limitaciones para una actividad plena, o bien requiere un mínimo de ayuda. El paciente tiene una incapacidad relativamente importante, por lo general con un apartado de SF de grado 4 (los restantes entre 0 y 1) o bien una combinación alta de los demás apartados. Es capaz de caminar sin ayuda ni descanso alrededor de 300 metros.
- 5.0= Camina sin ayuda o descanso en torno a unos 200 metros; su incapacidad es suficiente para afectarle en funciones de la vida diaria, como trabajar todo el día sin medidas especiales. Los equivalentes de SF habituales son uno de grado 5 solamente, los otros entre 0 y 1 o bien combinaciones de grados inferiores por lo general superiores a un grado 4.
- 5.5= Camina sin ayuda o descanso por espacio de unos 100 metros; la incapacidad es suficientemente grave como para impedirle plenamente las actividades de la vida diaria. El equivalente de SF habitual es de un solo grado 5, otros de 0 a 1, o bien una combinación de grados inferiores por encima del nivel 4.
- 6.0= Requiere ayuda constante, bien unilateral o de forma intermitente (bastón, muleta) para caminar en torno a 100 metros, sin o con descanso. Los equivalentes de los SF representan combinaciones con más de dos SF de grado 3.
- 6.5= Ayuda bilateral constante (bastones, muletas) para caminar unos 20 metros sin descanso. Los SF habituales equivalen a combinaciones con más de dos SF de grado superior a 3.
- 7.0= Incapaz de caminar más de unos pasos, incluso con ayuda, básicamente confinado a silla de ruedas y posibilidad de trasladarse de ésta a otro lugar, o puede manejarse para ir al baño, durante 12 horas al día. El equivalente habitual son combinaciones de dos o más SF de grado superior a 4. Muy raramente síndrome piramidal grado 5 solamente.
- 7.5= Incapaz de caminar más de unos pasos. Limitado a silla de ruedas. Puede necesitar ayuda para salir de ella. No puede impulsarse en una silla normal, pudiendo requerir un vehículo motorizado. El equivalente habitual son combinaciones con más de un SF de grado superior a 4.
- 8.0= Básicamente limitado a la cama o una silla, aunque puede dar alguna vuelta en la silla de ruedas, puede mantenerse fuera de la cama gran parte del día y es capaz de realizar gran parte de las actividades de la vida diaria. Generalmente usa con eficacia los brazos. El equivalente habitual es una combinación de varios SF en grado 4 o superior.
- 8.5= Básicamente confinado en cama la mayor parte del día, tiene un cierto uso útil de uno o ambos brazos, capaz de realizar algunas actividades propias. El equivalente habitual son combinaciones diversas generalmente con puntuaciones mayores a 4.
- 9.0= Paciente inválido en cama, puede comunicarse y comer. El equivalente habitual son combinaciones de SF de un grado mayor a 4 para la mayor parte de los apartados.
- 9.5= Totalmente inválido en cama, incapaz de comunicarse o bien comer o deglutir. El equivalente habitual son combinaciones de casi todos los SF en grado mayor a 4.
- 10= Muerte por EM.

## BIBLIOGRAFIA

1. Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG. Multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2000; 343 (13): 938–952.
2. Hemmer B, Archelos JJ, Hartung HP. New concepts in the immunopathogenesis of multiple sclerosis. *Nat Rev Neurosci* 2002; 3: 291–301.
3. Hawkins SA, McDonnell GV. Benign multiple sclerosis? Clinical course, long term follow up, and assessment of prognostic factors. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999; 67 (2): 148–152.
4. Trapp BD, Peterson J, Ransohoff RM, et al. Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N Engl J Med* 1998; 338: 278–85.
5. Inglese M, Ge Y, Filippi M, et al. Indirect evidence for early widespread gray matter involvement in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Neuroimage* 2004; 21: 1825–9.
6. Poser CM, Paty DW, Scheinberg L. New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Ann Neurol* 1983; 13: 227–231.
7. Frohman EM, Goodin DS, Calabresi PA, et al. The utility of MRI in suspected MS—report of the therapeutics and technology assessment subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2003; 61: 602–611.
8. Commowick O, Fillard P, Clads O, Warfield SK. Detection of DTI White Matter Abnormalities in Multiple Sclerosis Patients. *Med Image Comput Comput Assist Interv.* 2008 ; 11(Pt 1): 975–982.
9. Kurtzke JF. Rating neurological impairment in MS: an Expanded Disability Status Scale (EDSS). *Neurology* 1983; 33: 1444–1452.
10. Hobart J, Freeman J, Thompson A. Kurtzke scales revisited: the application of psychometric methods to clinical intuition. *Brain* 2000; 123 (Pt 5): 1027–40.
11. Carr HY, Purcell EM. Effects of diffusion on free precession in nuclear magnetic resonance experiments. *Phys Rev* 1954; 94: 630–638.
12. Basser PJ, Mattiello J, LeBihan D. MR diffusion tensor spectroscopy and imaging. *Biophysical journal* 1994; 66:259–267.
13. Deacon TW. Cortical connections of the inferior arcuate sulcus cortex in the macaque brain. *Brain research* 1992; 573: 8–26.
14. Richards, TL.; Heide, AC.; Tsuruda, JS.; Alvord, EC. Vector analysis of diffusion images in experimental allergic encephalomyelitis. Presented at Society for Magnetic Resonance in Medicine; Berlin. 1992.

15. Filler A. MR Neurography and Diffusion Tensor Imaging: Origins, History and Clinical Impact of the first 50,000 cases with an Assessment of Efficacy and Utility in a Prospective 5,000 Patient Study Group. *Neurosurgery*. 2009 October; 65(4 Suppl): A29–A43
16. Le Bihan D, Breton E, Lallemand D, Aubin MI, Vignaud J, Laval-Jeantet M. Separation of diffusion and perfusion in intravoxel incoherent motion MR imaging. *Radiology* 1988;168:497–505.
17. Chenevert TL, Brunberg JA, Pipe JG. Anisotropic diffusion in human white matter: demonstration with MR techniques in vivo. *Radiology* 1990;177: 401–405.
18. Pierpaoli C, Jezzard P, Basser PJ, Barnett A, DiChiro G. Diffusion tensor MR imaging of the human brain. *Radiology* 1996;201:637–648.
19. Lansberg MG, Thijs VN, O'Brien MW, Ali JO, de Crespigny AJ, Tong DC, Moseley ME, Albers GW. Evolution of apparent diffusion coefficient, diffusion-weighted, and T2-weighted signal intensity of acute stroke. *Ajnr* 2001;22:637–644.
20. Koay CG, Chang LC, Carew JD, Pierpaoli C, Basser PJ. A unifying theoretical and algorithmic framework for least squares methods of estimation in diffusion tensor imaging. *J Magn Reson* 2006;182:115–125.
21. Mukherjee P, Bermann JI, Chung SW, Hess CP, Henry RG. Diffusion Tensor MR imaging and fiber tractography: theoretic underpinnings. *AJNR* April 2008;29: 632-641
22. Yoshioka H, Horikoshi T, Aoki S, Hori M, Ishigame K, Uchida M, Sugita M, Araki T, Kinouchi H. Diffusion tensor tractography predicts motor functional outcome in patients with spontaneous intracerebral hemorrhage. *Neurosurgery* 2008 62: 97–103
23. Yang Q, Tress BM, Barber PA, et al. Serial study of apparent diffusion coefficient and anisotropy in patients with acute stroke. *Stroke* 1999; 30: 2382–2390
24. Wu JS, Zhou LF, Tang WJ, Mao Y, Hu J, Song YY, Hong XN, Du GH. Clinical evaluation and follow-up outcome of diffusion tensor imaging-based functional neuronavigation: a prospective, controlled study in patients with gliomas involving pyramidal tracts. *Neurosurgery* 2007; 61: 935–948.
- 25- Diehl B, Busch RM, Duncan JS, Piao Z, Tkach J, Luders HO. Abnormalities in diffusion tensor imaging of the uncinate fasciculus relate to reduced memory in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2008; 49: 1409–1418.
26. Muller MJ, Greverus D, Weibrich C, et al. Diagnostic utility of hippocampal size and mean diffusivity in amnesic MCI. *Neurobiol Aging* 2007; 28: 398–403.
27. Alexopoulos GS, Kiosses DN, Choi SJ, Murphy CF, Lim KO. Frontal white matter microstructure and treatment response of late-life depression: a preliminary study. *Am J Psychiatry* 2002; 159: 1929–1932.

28. Barkhof F, Filippi M, Miller DH. Comparison of MRI criteria at first presentation to predict conversion to clinically definite Multiple sclerosis. *Brain* 1997; 120: 2059-2069.
29. Tintoré M, Rovira A, Martínez MJ et al. Isolated demyelinating syndromes: comparison of different MR imaging Criteria to predict conversion to clinically definite multiple sclerosis. *Am J Neuroradiol* 2000; 21:702-706.
30. McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, 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.
31. Zivadinov R, Leist TP. Clinical-Magnetic Resonance Imaging Correlations in Multiple Sclerosis. *J Neuroimaging*. 2005; 15: 10S–21S
32. Paolillo, A, Coles, AJ, Molyneux, PD, Gawne-Cain, M, MacManus, D, Barker, GJ, et al. Quantitative MRI in patients with secondary progressive MS treated with monoclonal antibody Campath 1H. *Neurology* 1999; 53: 751–757.
33. De Stefano, N, Battaglini, M, Smith, SM. Measuring brain atrophy in multiple sclerosis. *J Neuroimaging* 2007; 17 (Suppl. 1): 10S–15S.
34. Ge Y. Multiple sclerosis: The role of MR imaging. *American Journal of Neuroradiology* June; 2006 27: 1165–1176.
35. Van Walderveen MAA, Kamphorst W, Scheltens P *et al.* Histopathologic correlate of hypointense lesions on T1-weighted spin-echo MRI in multiple sclerosis. *Neurology* 1998; 50: 1282–
36. Molyneux PD, Filippi M, Barkhof F, Gasperini C, Yousry TA, Truyen L, et al. Correlations between monthly enhanced MRI lesion rate and changes in T2 lesion volume in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1998; 43: 32–39.
37. Brex PA, Ciccarelli O, O’Riordan JI, Sailer M, Thompson AJ, Miller DH. A longitudinal study of abnormalities on MRI and disability from multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2002; 346: 158–164.
38. Kappos, L, Moeri, D, Radue, EW, Schoetzau, A, Schweikert, K, Barkhof, F, et al. Predictive value of gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging for relapse rate and changes in disability or impairment in multiple sclerosis: a meta-analysis. *Gadolinium MRI Meta-analysis Group. Lancet* 1999; 353: 964–969.
39. 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.
40. Caramia F, Pantano P, Di Legge S, et al. A longitudinal study of MR diffusion changes in normal appearing white matter of patients with early multiple sclerosis. *Magn Reson Imaging* 2002;20:383-388.

41. Barkhof F. The clinico-radiological paradox in multiple sclerosis revisited. *Curr Opin Neurol*. 2002 June; 15(3): 239–245.
42. Trapp, BD, Peterson, J, Ransohoff, RM, Rudick, R, Mörk, S, Bö, L. Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N Engl J Med* 1998; 338: 278–285.
43. Fisher, E, Rudick, RA, Cutter, G, Baier, M, Miller, D, Weinstock-Guttman, B, et al. Relationship between brain atrophy and disability: an 8-year follow-up study of multiple sclerosis patients. *Mult Scler* 2000; 6: 373–377.
44. Poonawalla AH et al. Composite MRI scores improve correlation with EDSS in multiple sclerosis *Mult Scler* September 1, 2010 16:1117-1125
45. Rudick, RA, Lee, J-C, Simon, J, Fisher, E. Significance of T2 lesions in multiple sclerosis: a 13-year longitudinal study. *Ann Neurol* 2006; 60: 236–242.
46. Martinelli Boneschi F, et al. The use of magnetic resonance imaging in multiple sclerosis: lessons learned from clinical trials. *Mult Scler* 2004;10(4):341–7
47. Paty DW, Li DK. Interferon beta-1b is effective in relapsing-remitting multiple sclerosis. II. MRI analysis results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Neurology* 1993; 43: 662–7.
48. Bellmann-Strobl J, et al. MR spectroscopy (MRS) and magnetisation transfer imaging (MTI), lesion load and clinical scores in early relapsing remitting multiple sclerosis: a combined cross-sectional and longitudinal study. *Eur Radiol* 2009;19(8):2066–74.
49. Wolinsky, JS, Narayana, PA. Magnetic resonance spectroscopy in multiple sclerosis: window into the diseased brain. *Curr Opin Neurol* 2002; 15: 247–251.
50. Ruiz-Pena, JL, Pinero, P, Sellers, G, Argente, J, Casado, A, Foronda, J, et al. Magnetic resonance spectroscopy of normal appearing white matter in early relapsingremitting multiple sclerosis: correlations between disability and spectroscopy. *BMC Neurol* 2004; 4:8.
- 51- Mathiesen, HK, Jonsson, A, Tscherning, T, Hanson, LG, Andresen, J, Blinkenberg, M, et al. Correlation of Global N-Acetyl Aspartate With Cognitive Impairment in Multiple Sclerosis. *Arch Neurol* 2006; 63: 533–536.
- 52- Van Waesberghe, JH, Kamphorst, W, De Groot, C, van Walderveen, MA, Castelijns, A, Ravid, R, et al. Axonal loss in multiple sclerosis lesions: magnetic resonance imaging insights into substrates of disability. *Ann Neurol* 1999; 46: 747–754.
53. Van Buchem, MA, Grossman, RI, Armstrong, C, Polansky, M, Miki, Y, Heyning, FH, et al. Correlation of volumetric magnetization transfer imaging with clinical data in MS. *Neurology* 1998; 50: 1609–1617.

- 54- Rovaris, M, Agosta, F, Sormani, MP, Inglese, M, Martinelli, V, Comi, G, et al. Conventional and magnetization transfer MRI predictors of clinical multiple sclerosis evolution: a medium-term follow-up study. *Brain* 2003; 162: 2323–2332.
55. Bammer, R, Augustin, M, Strasser-Fuchs, S, Seifert, T, Kapeller, P, Stollberger, R, et al . Magnetic resonance diffusion tensor imaging for characterizing diffuse and focal white matter abnormalities in multiple sclerosis. *Magn Reson Med* 2000; 44: 583–589.
56. Rovaris, M, Filippi, M. Diffusion tensor MRI in multiple sclerosis. *J Neuroimaging* 2007; 17 (Suppl. 1): 27S–30S.
57. Filippi M, Inglese M. Overview of diffusion-weighted magnetic resonance studies in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2001; 186 (Suppl 1) : S37–43
58. Filippi M, Cercignani M, Inglese M, Horsfield MA, Comi G. Diffusion tensor magnetic resonance imaging in multiple sclerosis. *Neurology* 2001; 56: 304–11
59. Commowick O, Fillard P, Clads O, Warfield SK. Detection of DTI White Matter Abnormalities in Multiple Sclerosis Patients. *Med Image Comput Comput Assist Interv.* 2008 ; 11(Pt 1): 975–982.
60. Rocca MA, Filippi M. Diffusion tensor and magnetization transfer MR imaging of early-onset multiple sclerosis. *Neurol Sci* 2004;25:344-345.
61. Tortorella C, Viti B, Bozzali M. A magnetization transfer histogram study of normal appearing brain tissue in multiple sclerosis. *Neurology* 2000; 54 : 186–93
62. Werring DJ, Clark CA, Barker GJ, Thompson AJ, Miller DH. Diffusion tensor imaging of lesions and normal-appearing white matter in multiple sclerosis. *Neurology* 1999; 52: 1626–32
63. Sämann PG, Knop M, Golgor E, Messler S, Czish M, Weber F. Brain volume and diffusion markers as predictors of disability and short-term disease evolution in multiple sclerosis. *Am J Neuroradio* 2012; (7): 1356-62.
64. Katz, R. FDA: evidentiary standards for drug development and approval. *NeuroRx. J Am Soc Exp Neuro Therapeu* 2004;1: 307–316
65. Miller DH, Thompson AJ. Nuclear magnetic resonance monitoring of treatment and prediction of outcome in multiple sclerosis. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1999;354(1390):1687–95.
66. 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.

67. Traboulsee, A. MRI relapses have significant pathologic and clinical implications in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2007; 256: S19–S22.
68. Miller, DH, Barkhof, F, Nauta, JJ. Gadolinium enhancement increases the sensitivity of MRI in detecting disease activity in multiple sclerosis. *Brain* 1993; 116: 1077–1094.
69. Maia de Andrade RE et al. Evaluation of white matter in patients with multiple sclerosis through diffusion tensor magnetic resonance imaging. *Arq Neuropsiquiatr* 2007; 65 (3-a):561-564.
70. Guo AC, MacFall JR, Provenzale JM. Multiple sclerosis diffusion tensor MR imaging for evaluation of normal appearing white matter. *Radiology* 2002; 222:729-736.
71. Tievsky AL, Ptak T, Farkas J. Investigation of apparent diffusion coefficient and diffusion tensor anisotropy in acute and chronic multiple sclerosis lesions. *Am J Neuroradiol* 1999;20:1491-1499.