

Univerzita Karlova 1. lékařská fakulta

Studijní program: Biomedicína

Studijní obor: Neurovědy



UNIVERZITA KARLOVA  
1. lékařská fakulta

**MUDr. Michaela Andělová**

**Využití magneticko-rezonančních volumetrických technik při sledování aktivity  
nemoci u pacientů s roztroušenou sklerózou**

**Magnetic resonance volumetric techniques in monitoring disease activity in patients  
with multiple sclerosis**

Disertační práce

**Školitel: doc. MUDr. Dana Horáková, Ph.D.**

**Konzultant: prof. MUDr. Manuela Vaněčková, Ph.D.**

Praha, 2021

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 18.09.2021

Michaela Andělová

**Identifikační záznam**

ANDĚLOVÁ, Michaela. *Využití magneticko-rezonančních volumetrických technik při sledování aktivity nemoci u pacientů s roztroušenou sklerózou. (Magnetic resonance volumetric techniques in monitoring disease activity in patients with multiple sclerosis).*

Praha, 2021. 151 s., 2 přílohy. Disertační práce. Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta, Neurologická klinika. Vedoucí práce doc. MUDr. Dana Horáková, Ph.D.

## **Poděkování**

Na prvním místě mockrát děkuji své školitelce doc. MUDr. Daně Horákové, Ph.D. a kolegovi doc. MUDr. Tomáši Uhrovi za vedení, inspiraci, trpělivost a zejména za jejich nadšení pro všechny klinické i výzkumné stránky roztroušené sklerózy.

Dále bych chtěla moc poděkovat své školitelce konzultantce prof. MUDr. Manuele Vaněčkové, Ph.D. a RNDr. Janu Krásenskému z Radiodiagnostické kliniky a všem kolegům z Centra pro demyelinizační onemocnění pod vedením prof. MUDr. Evy Kubala Havrdové, CSc., díky kterým je možné se současně s péčí o pacienty s roztroušenou sklerózou věnovat i výzkumu.

Zvláštní poděkování si zaslouží kolegové z Univerzitní nemocnice v Basileji, kteří mě učili se dívat na první obrázky magnetické rezonance, zejména Dr. Katrin Parmar, Dr. Michael Amann a prof. Till Sprenger. Rovněž bych ráda poděkovala kolegům ze Siemens Healthineers pod vedením Dr. Tobiasse Kobera, se kterými spolupracujeme.

Srdečně děkuji svým nejbližším za trpělivost a podporu, kterou mi nejen během studia poskytují.

## Abstrakt

Klinický průběh roztroušené sklerózy (RS) je různorodý a počet a objem mozkových ložisek na magnetické rezonanci (MR) mozku vysvětluje tuto klinickou heterogenitu jen částečně. Tato nedostatečná korelace ložiskového postižení a klinického stavu se označuje jako klinicko-radiologický paradox. Tato práce se zabývá třemi zobrazovacími markery, které by mohly pomoci klinicko-radiologický paradox zmenšit. První a největší část je věnována MR míchy (měření objemu míchy a hodnocení fokálních ložisek a difúzních změn). Ve druhé a třetí části práce se věnujeme dvěma relativně novým konceptům, modelování narušené konektivity („diskonektomu“) pomocí populačního traktografického atlasu a hodnocení gradientu poškození periventrikulární bílé hmoty pomocí T1 relaxometrie. Pro míšní projekty jsme hodnotili MR vyšetření 2044 pacientů s RS. Potvrdili jsme (i) vztah nižšího objemu míchy, difúzních změn a vyššího postižení; (ii) u pacientů, kteří zatím nemají výrazně omezenou schopnost chůze ( $EDSS \leq 4.0$ ), jsou difúzní změny spojeny s rizikem vyššího stupně postižení více než objem míchy; (iii) malý objem míchy vysvětluje u části pacientů disociaci mezi malým intrakraniálním ložiskovým postižením a vysokým stupněm postižení; (iv) mícha je postižená u 75 % pacientů s časnou RS a 43% pacientů má difúzní změny, které nemají vztah k celkovému objemu ložisek, ale jsou jasně spojeny s přítomností ložisek v mozkovém kmeni a nižším objemem thalamu. V projektu diskonektomu jsme hodnotili narušení konektivity v důsledku ložisek u 745 pacientů s RS ze tří různých kohort; (i) srovnání modelu diskonektomu získaného pomocí klasické individuální traktografie a modelu vytvořeného na podkladě volně dostupného traktografického atlasu ukázalo dobrou shodu; (ii) parametry odvozené z diskonektomu sice nekorelovaly s klinickým postižením lépe než konvenční MR parametry, ale u pacientů s malým objemem ložisek byla vyšší globální efektivita spojena s nižším EDSS. Pro T1 mapování byla u 99 pacientů s RS a u 92 zdravých dobrovolníků využita MP2RAGE sekvence. T1 abnormality v bílé hmotě mozku a ložiscích jsme hodnotili jako z-skóre za pomoci využití normativního atlasu vytvořeného na podkladě dat 92 zdravých dobrovolníků. Potvrdili jsme (i) závislost poškození tkáně normálně vypadající bílé hmoty i ložisek (tzv. „gradient poškození tkáně“, tj. větší poškození v periventrikulárních oblastech) a ukázali jsme, že(ii) parametry gradientu poškození bílé hmoty (u pacientů s relaps-remitentní RS) a gradient v ložiscích (u progresivní RS) korelují s klinickým postižením lépe než počet a objem ložisek.

**Klíčová slova:** roztroušená skleróza, mícha, atrofie, strukturální konektivita, T1 relaxometrie, gradient postižení tkáně

## **Abstract**

Clinical course of multiple sclerosis (MS) is heterogenous and white matter lesion count and volume on brain magnetic resonance imaging (MRI) correlate with clinical course only partially. Therefore, there is an urgent need for more reliable prognostic biomarkers. This work explored three imaging markers - spinal cord (SC) imaging (specifically SC volume measurement and assessment of focal and diffuse SC changes), atlas-based model of disconnectome (i.e. disruption of brain connectivity due to white matter lesions) and periventricular white matter gradient assessed with T1 relaxometry. For the SC projects, we assessed MRI from 2044 MS patients with a semi-automatic method for SC volume measurement (ScanView). We confirmed (i) a relationship between diffuse SC changes, SC volume and disability; (ii) a novel finding was that in patients with EDSS  $\leq 4.0$ , diffuse changes contributed to higher disability more than SC volume; (iii) SC volume explains the paradox in patients with dissociation between brain white matter lesion load and disability; (iv) SC focal and/or diffuse changes are present in 75% patients with early MS, of which 43% have diffuse changes that are related to brainstem lesions. In the disconnectome project, we evaluated the disruption of connectivity caused by white matter lesions in 745 patients with MS in three separate cohorts; (i) a comparison of the disconnectome model obtained by classical individual tractography and the disconnectome model based on a freely available tractographic atlas showed a good agreement. Although disconnectome-derived parameters did not overperform conventional MRI parameters in terms of correlations with disability, however, in patients with lower lesion volume, we observed an association of lower EDSS in patients with high global effectivity.

For the T1 mapping project, we used MP2RAGE sequence in 99 MS patients. We assessed the T1 abnormalities as z-scores, i.e. deviations from normative values obtained from a study specific atlas based on data from 92 healthy volunteers. The main findings are (i) confirmation of a gradient of tissue damage in normally appearing white matter (NAWM) and lesions obtained with T1 relaxometry; (ii) better correlation of NAWM T1 gradient with disability in early MS compared to lesion load and count and better correlation of lesions' T1 gradient with disability in progressive MS compared to lesion load and count.

**Key words:** multiple sclerosis, spinal cord, atrophy, structural connectivity, T1 relaxometry, gradient of tissue damage

## **Seznam zkratek**

ADEM = akutní diseminovaná encefalomyelitida  
ANCOVA = analýza kovariance  
ANOVA = analýza rozptylu  
APW = antero-posterior width, předozadní průměr (míchy)  
ASIC1 = acid-sensing ion channel 1  
BPF = brain parenchymal fraction  
CD = cluster of differentiation  
CIS = klinicky izolovaný syndrom  
CNS = centrální nervový systém  
CSF = mozkomíšní mok  
CXCL13 = Chemokinový ligand 13  
DIR = double inversion recovery  
DIS = dissemination in space – diseminace v prostoru  
DIT = dissemination in time – diseminace v čase  
DSI = diffusion spectrum imaging  
DTI = diffusion tensor imaging  
EBV = virus Epstein-Barrové  
EDSS = Expanded Disability Status Scale  
FA = fraction anisotropy  
FDR = false discovery rate  
FLAIR = Fluid-attenuated inversion recovery  
FS = funkční systém  
FSE = fast spin echo  
FSL = FMRIB (functional magnetic resonance imaging of the brain) Software Library  
GE = gradient echo  
GFAP = gliální fibrilární acidický protein  
GM = grey matter, šedá hmota  
HEB = hematoencefalická bariéra  
HHV-6 = lidský herpesvirus 6  
HLA = lidský leukocytární antigen  
ICC = vnitrotřídní koeficient korelace  
ICV = intrakraniální objem  
IgG = imunoglobulin G

INF $\beta$  = interferon beta  
IFN $\gamma$  = interferon gama  
IL6 = interleukin 6  
kNN = k-nearest neighbour  
LRW = left-right width, levo-pravý průměr (míchy)  
MD = mean diffusivity  
MHC = hlavní histopatologický komplex  
MLVP = malý objem ložisek, velké postižení  
MOG = myelinový oligodendrocytární glykoprotein  
MPRAGE = magnetization prepared rapid gradient echo  
MP2RAGE = Magnetization prepared two rapid gradient echoes  
MR = magnetická rezonance  
MT, MTR = magnetization transfer, magnetization transfer ratio  
MUCCA = mean upper cervical cord cross-sectional area  
Nav1.2 a Nav1.6 = voltage-gated sodium channels; napětím řízené sodné kanály  
NAWM = normally appearing white matter; normálně vypadající bílá hmota  
NEDA = no evidence of disease activity  
NMO = neuromyelitis optica  
NMOSD = onemocnění ze spektra neuromyelitis optica  
NODDI = neurite orientation dispersion and density imaging  
ODI = orientation dispersion index  
OCB = oligoklonální pásy  
OR = odds ratio  
PD = proton density  
PET = positron emission tomography  
PPRS = primárně progresivní roztroušená skleróza  
PSIR = phase-sensitive inversion recovery  
RD = radial diffusivity  
RIS = radiologicky izolovaný syndrom  
RS = roztroušená skleróza  
SCV = spinal cord volume  
SE = spin echo  
SMT = spherical mean technique  
SPRS = sekundárně progresivní roztroušená skleróza



SST = study specific template

STIR = short tau inversion recovery

TIV = total intracranial volume

TNF = tumor necrosis factor

TR/TE/TI = repetition time / echo time / inversion time

TRPM4 = transient receptor potential cation channel subfamily M member 4

TSPO = translocator protein

T1w, T2w = T1 vážený a T2 vážený obraz

VLMP = velký objem ložisek, malé postižení

WM = white matter, bílá hmota

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod do problematiky a motivace pro studium míchy u RS.....</b>	<b>14</b>
1.1	Roztroušená skleróza – obecné aspekty .....	15
1.1.1	Historie roztroušené sklerózy.....	15
1.1.1	Epidemiologie a rizikové faktory .....	17
1.1.2	Klinický obraz, diagnóza a prognóza.....	19
1.1.3	Imunopatogeneze a patologie RS.....	21
1.1.4	Terapie roztroušené sklerózy .....	24
1.1.5	Klinicko-radiologický paradox .....	24
1.2	Význam míchy v patogenezi a diferenciální diagnóze roztroušené sklerózy .....	26
1.2.1	Anatomie a fyziologie míchy .....	26
1.2.2	Patologie míchy u RS.....	28
1.2.3	Histopatologické nálezy .....	29
1.2.4	Hodnocení patologie míchy pomocí magnetické rezonance.....	33
1.3	Mapování narušené konektivity mozku u RS .....	48
1.3.1	Motivace pro studium konektomu u RS.....	48
1.3.2	Traktografie založená na datech z difúzní MR .....	48
1.3.3	Mapování mozkových sítí na podkladě 3D T1-vážených obrazů .....	51
1.3.4	Hodnocení mozkových sítí pomocí teorie grafů .....	51
1.3.5	Konektom a diskonektom .....	52
1.3.6	Mapování konektomu bez difúzního zobrazení .....	52
1.3.7	RS jako diskonekční syndrom.....	53
1.4	T1 mapování a koncept „surface-in“ gradientu u RS.....	54
1.4.1	Periventrikulární gradient .....	55
1.4.2	Gradient v kortikální a hluboké šedé hmotě .....	56
1.4.3	Mícha.....	57
1.4.4	Nervus opticus.....	58
1.4.5	Příčiny „surface-in“ gradientů.....	58
<b>2</b>	<b>Cíle práce a hypotézy.....</b>	<b>60</b>
2.1	Mícha.....	60
2.2	Diskonektom .....	61
2.3	T1-mapování .....	61
<b>3</b>	<b>Metody .....</b>	<b>62</b>
3.1	Míšní projekty .....	62

3.1.1	Charakteristika souboru .....	62
3.1.2	MR protokol .....	62
3.1.3	Měření objemu míchy (ScanView) .....	63
3.1.4	Spolehlivost metody .....	65
3.1.5	Determinanty MUCCA a normalizace míchy .....	66
3.1.6	Hodnocení ložiskových a difúzních změn míchy .....	67
3.1.7	Měření globálního objemu a regionálních objemů mozku (MorphoBox) .....	67
3.1.8	Segmentace intrakraniálních ložisek (LeMan-PV) .....	68
3.1.9	Klinické vyšetření .....	69
3.1.10	Přínos hodnocení fokálních a difúzních změn .....	69
3.1.11	Role míchy v klinicko-radiologickém paradoxu .....	69
3.1.12	Patologie míchy u časně RS a její vztah k topografii intrakraniálních ložisek .....	70
3.1.13	Statistické zpracování .....	70
3.2	Diskonektom .....	72
3.2.1	Charakteristika souborů .....	72
3.2.2	MR protokol .....	73
3.2.3	Předzpracování MR dat („preprocessing“) .....	74
3.2.4	Modelování diskonektomu .....	74
3.2.5	Srovnání diskonektomů založených na traktografii a diskonektomu založeném na datech z atlasu .....	76
3.2.6	Korelace vlastností diskonektomu a klinického postižení .....	76
3.3	T1 mapování a periventrikulární gradient T1 časů .....	77
3.3.1	Charakteristika souboru .....	77
3.3.2	MR protokol .....	77
3.3.3	Anatomická šablona a atlas normativních T1 hodnot .....	77
3.3.4	Statistické zpracování .....	80
<b>4</b>	<b>Výsledky .....</b>	<b>81</b>
4.1	Spolehlivost metody měření objemu míchy .....	81
4.1.1	Inter- a intrarater spolehlivost .....	81
4.1.2	Porovnání s měřením míchy z MPRAGE/T1 vážených obrazů .....	81
4.2	Determinanty MUCCA u zdravých osob a pacientů s roztroušenou sklerózou ..	83
4.3	Normalizace míchy .....	83
4.4	Přínos hodnocení fokálních ložisek a difúzních změn ve srovnání se samotným objemem míchy v predikci klinického postižení .....	84

4.4.1	Typy postižení míchy a lokalizace ložisek, vztah mezi patologií míchy a klinickým postižením .....	84
4.4.2	Srovnání hodnocení samotného objemu míchy a jeho kombinace s typem postižení míchy v predikci klinického postižení .....	86
4.5	Úloha míchy v klinicko-radiologickém paradoxu („diskrepantní“ pacienti) .....	89
4.6	Patologie míchy u časné RS a jejich vztah k topografii intrakraniálních ložisek	91
4.6.1	Infratentoriální ložiska a jejich vztah k difúzním změnám míchy .....	91
4.6.2	Predikce přítomnosti míšních fokálních ložisek a difúzních změn .....	93
4.6.3	Objem mozku a míchy u pacientů s časnou RS a rozdílnou míšní patologií .....	95
4.6.4	Klinické nálezy u pacientů s časnou RS a rozdílnou míšní patologií ...	95
4.7	Diskonektom .....	96
4.7.1	Srovnání modelování diskonektomu .....	96
4.7.2	Korelace diskonektomu a klinického stavu .....	97
4.8	T <sub>1</sub> mapování a periventrikulární gradient T <sub>1</sub> časů .....	99
<b>5</b>	<b>Diskuze .....</b>	<b>103</b>
5.1	Mícha .....	103
5.1.1	Přínos hodnocení fokálních ložisek a difúzních změn ve srovnání se samotným objemem míchy v predikci klinického postižení .....	103
5.1.2	Úloha míchy v klinicko-radiologickém paradoxu („diskrepantní“ pacienti) .....	105
5.1.3	Patologie míchy u časné RS a její vztah k topografii intrakraniálních ložisek .....	106
5.2	Diskonektom .....	109
5.3	T <sub>1</sub> gradient .....	111
<b>6</b>	<b>Závěry a zhodnocení cílů a hypotéz .....</b>	<b>114</b>
6.1	Mícha .....	114
6.1.1	Závěry .....	114
6.1.2	Zhodnocení cílů a hypotéz .....	114
6.2	Diskonektom .....	115
6.2.1	Závěry .....	115
6.2.2	Zhodnocení cílů a hypotéz .....	115
6.3	T <sub>1</sub> mapování .....	116
6.3.1	Závěry .....	116
6.3.2	Zhodnocení cílů a hypotéz .....	116
<b>7</b>	<b>Souhrn a klinický význam .....</b>	<b>117</b>
<b>8</b>	<b>Literatura .....</b>	<b>120</b>

<b>9</b>	<b>Seznam publikací.....</b>	<b>150</b>
9.1	Přiložené publikace, které jsou podkladem disertační práce: .....	150
9.2	Publikace <i>in extenso</i> , které nejsou podkladem disertace, ale vztahují se k tématu disertační práce.....	150
9.2.1	Volumetrie mozku a míchy.....	150
9.2.2	Strukturální konektivita.....	151
9.2.3	Kvantitativní MR .....	151

# 1 Úvod do problematiky a motivace pro studium míchy u RS

Roztroušená skleróza (RS) je zánětlivé, demyelinizační a degenerativní onemocnění mozku a míchy. Na světě žije asi 2.8 milionů pacientů RS (The Multiple Sclerosis International Federation, 2020) a ve vyspělých zemích je RS nejčastější netraumatickou příčinou chronického postižení u mladých dospělých. V současné době není tato choroba vyléčitelná. Přestože se organizace péče o pacienty s RS, imunomodulační léčba i monitorace v posledních dvaceti letech dramaticky zlepšují, heterogenita onemocnění stále komplikuje predikci individuální prognózy a odpovědi na léčbu. Jedním z problémů je nedostatečná korelace mezi rozsahem ložiskové patologie hodnocené na konvenčních MR obrazech a klinickým stavem pacienta. Tato diskrepance se označuje jako „klinicko-radiologický paradox“ (Barkhof, 2002), který se vysvětluje zejména nedostatečnou citlivostí konvenční MR charakterizovat a kvantifikovat heterogenní histopatologické změny v ložiscích i normálně vypadající bílé a šedé hmotě mozku.

Tato práce se zabývá třemi možnostmi, které mohou přispět ke zmenšení klinicko-radiologického paradoxu a stát se tak zobrazovacími biomarkery užívanými v běžné klinické praxi u pacientů s RS.

V první části práce stručně shrneme epidemiologii, klinický obraz, diagnostiku, patogenezi a léčbu RS. Další části se již zaměřují přímo na míchu – část 1.2.3 popisuje význam míchy u RS a shrnuje histopatologické nálezy v oblasti míchy. V části 1.2.4 se zabýváme technickými i klinickými aspekty hodnocení míchy pomocí magnetické rezonance a jejím využitím v klinické praxi a ve výzkumu. Samotná semi-automatická metoda segmentace kros-sekční plochy krční míchy na 3D T2-váženém obrazu je popsána v metodické části práce. Zabýváme se třemi hlavními otázkami: 1) lepší kombinace měření objemu míchy s hodnocením fokálních ložisek a difúzních změn korelaci s klinickým postižením (oproti samotnému měření objemu)?; 2) vysvětluje objem míchy diskrepanci mezi ložiskovým postižením mozku a klinickým nálezem? a 3) jaká je četnost difúzních změn u pacientů s časnou RS a jaký mají tyto změny vztah k topografii intrakraniálních ložisek?; Problematikou atrofie mozku a jeho jednotlivých struktur se práce podrobněji nezabývá. Druhá část je věnována modelování porušené strukturální konektivity v důsledku ložisek v bílé hmotě, která nevyžaduje difúzní MR data, konkrétně mapování diskonektomu z retrospektivních dat na podkladě populačního traktografického atlasu. Topologické parametry diskonektomu srovnáváme s konvenčními MR parametry (počet a objem ložisek)

ve vztahu ke klinickému postižení. V poslední části práce se zabýváme využitím jedné z kvantitativních MR technik, T1 mapováním a relativně novým konceptem tzv. „surface-in patologie“ u RS. I v této části práce se zabýváme přidanou hodnotou periventrikulárního gradientu ve srovnání s konvenčními MR parametry.

## 1.1 Roztroušená skleróza – obecné aspekty

### 1.1.1 Historie roztroušené sklerózy

1827

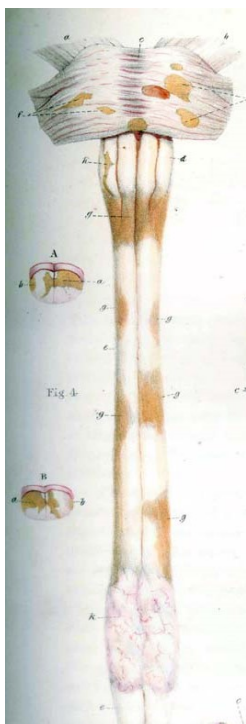
*“To my surprise (in Venice) I one day found a torpor or indistinctness of feeling about the Temple of my left Eye. At Florence I began to suffer from a confusion of sight. About the 6th November the malady increased to the extent of my seeing all objects double. Each eye had its separate visions. Dr. Kissock supposed bile to be the cause: I was twice blooded from the temple by leeches; — purges were administered; One Vomit, and I twice lost blood from the arm. The malady in my Eyes abated, I again saw all objects naturally in their single state. I was able to go out and walk. Now a new disease began to show itself: every day I found gradually (by slow degrees) my strength leaving me. — A torpor or numbness and want of sensation became apparent about the end of my Back-bone and the Perinaeum. At length about the 4th of December my strength of legs had quite left me... I remained in this extreme state of weakness for about 21 days... the problem with my eyes receded, and I recovered the vision of each object in its single state in the normal manner. I was once more able to go out and take a walk...”*

Ukázka z deníku Augusta D’Este (1794-1848), nelegitimního vnuka krále George III. (Pearce, 2005) (Landtblom et al., 2010)

Tento popis optické neuritidy a kmenových atak trvajících týdny a následovaných remisemi je nejznámější a jeden z prvních detailních popisů roztroušené sklerózy (RS). I přesto, že máme nyní k dispozici řadu nových diagnostických možností, je pro nás stále velmi přínosný. Detailní deníky si Augustus D’Este začal psát v roce 1822, kdy ve svých 28 letech prodělal první ataku optické neuritidy, po níž následovala další optická neuritida, kmenové ataky, spastická paraparéza, epizoda perineální hypestezie a sfinkterové obtíže. 16 let poté patolog Robert Carswell poprvé popsal a nakreslil míšní změny u RS (Obrázek 1), nepropojil je však s klinickým pozorováním. Jean Martin Charcot popsal v roce 1868 velmi precizně klinický obraz (kromě klasické trias s nystagmem, dysartrií a ataxií popsal velmi

podrobně i kognitivní změny a řadu patofyziologických představ) a patologické nálezy v mozku a míše u mladé pacientky ve své zásadní publikaci 'Histologie de la sclérose en plaques' (Charcot JM, 1868). Atypické případy RS popsal v následujících letech Eugen Devic (1858-1930), Josef Balo (1895-1979), Paul Ferdinand Schilder (1886-1940) a Otto Marburg (1874-1948). V roce 1935 proběhly první pokusy o vytvoření modelu RS, tzv. experimentální alergické encefalitidy (EAE) (Rivers & Schwentke, 1935) a v roce 1942 objevil Elvin Kabat v likvoru pacientů s RS oligoklonální pásy (Kabat et al., 1942) a potvrdil tak imunitní podklad RS. V 60 letech minulého století se začaly používat steroidy (tehdy ACTH) jako symptomatická léčba relapsů (Miller et al., 1961). MR byla poprvé použita v 80. letech a od té doby je zásadním a spolehlivým nástrojem k diagnostice a monitoraci léčby i jako outcome parametr v klinických studiích. Od roku 1986 lze pomocí gadoliniové kontrastní látky odlišit ložiska s poruchou hematoencefalické bariéry. K léčebnému ovlivnění RS se velká část lékařů v 19. i 20. století stavěla skepticky. Průlomem v léčbě byl rok 1993, kdy klinické studie vedly ke schválení první imunomodulační terapie interferonu beta (Duquette et al., 1993). Následovaly další imunomodulační terapie, které jsou stručně popsány v odstavci 1.1.4. Objevení protilátky proti akvaporinu-4 (NMO-IgG) (Lennon et al., 2004) umožnilo jasnější definici a porozumění onemocnění ze spektra neuromyelitis optica. V roce 2011 byl pak popsán druhý biomarker pro mírnější „optikospinální“ onemocnění, komplement-aktivující protilátka proti myelinovému oligodendrocytárnímu glykoproteinu (MOG-IgG) (Mader et al., 2011). Odlišení těchto onemocnění od RS je zásadní pro léčbu těchto onemocnění.





**Obrázek 1.** První ilustrace postižení kmene a míchy u RS od skotského patologa Roberta Carswella. 'a peculiar diseased state of the chord and pons Varolii, accompanied with atrophy of the discoloured portions ...'.

### 1.1.1 Epidemiologie a rizikové faktory

V České republice má RS prevalenci dle recentních údajů 170/100 000 obyvatel a rostoucí incidenci (nyní 11,7/100 000 obyvatel/rok). Incidence onemocnění není geograficky rovnoměrně rozložená – na severní polokouli je popisován severojižní gradient incidence a na jižní polokouli gradient opačný. Tento gradient se vysvětluje odlišnou expozicí slunečnímu záření a hladinou vitamínu D, lokálními rozdíly v mikrobiomu či dokonce přímou infekcí některými viry, nicméně pro žádný z těchto faktorů nejsou přímé důkazy. Průměrný věk prvních příznaků je cca. 30 let (70% pacientů onemocní mezi 20. a 40. rokem), nástup onemocnění před 10. rokem a po 60. roce života je vzácný. Podobně jako některé další autoimunitní choroby je RS častější u žen (Ahlgren et al., 2011), poměr žen a mužů se liší se vzdáleností od rovníku (Trojano et al., 2012) a v posledních dekádech se celkově výrazně zvýšil (2.3–3.5:1) (Ahlgren et al., 2011) (Wallin et al., 2012). Rozdíl se vysvětluje efektem pohlavních hormonů, rozdíly v imunitním systému či rozdíly v expozici faktorům prostředí a výživy (Greer & McCombe, 2011). Vliv pohlaví na klinický obraz a průběh RS není tak jasný jako rozdíl v prevalenci, zdá se ale, že ženy mívají časnější počátek onemocnění, mírně nižší prevalenci primárně progresivní RS a obecně méně progresu postižení než muži (Bergamaschi, 2007).

RS se vyvíjí na podkladě chronické poruchy homeostázy imunitního systému, ke které dochází složitou interakcí mezi genetickou predispozicí, expozicí infekcím a faktory, které vedou k prozánětlivým stavům (zejména kouření, obezita a nedostatečná expozice slunečnímu záření). Genetické vlivy u RS jasně dokazují studie dvojčat, ve kterých je konkordance pro RS u monozygotických dvojčat až 30%, zatímco u dizygotických pouze kolem 1%. Riziko, že RS onemocní příbuzný 1. stupně je 1:40, což je asi 20x více než v běžné populaci, a pro příbuzné 2. stupně je riziko 1:100, tedy stále cca. 10x vyšší než celkové riziko. Geneticky nepříbuzní členové rodiny žijící v jedné domácnosti nemají celkově vyšší riziko vzniku RS (Dyment et al., 2004). Z výše uvedeného ale také vyplývá to, že 70% monozygotických dvojčat je pro RS diskordantní, což naznačuje polygenní vzorec dědičnosti. Nejlépe popsáním genetickým rizikovým faktorem, který byl nalezen v rozsáhlých celogenomových studiích, je HLA haplotyp *HLA-DRB1\*1501* (odds ratio (OR) ~3). Navzdory jasné spojitosti s RS, relativní individuální riziko RS u nosiče *HLA-DRB1\*1501* je nízké. Druhou nejsilnější genovou variantou spojenou s RS je *HLA A02*, která je protektivní (OR ~0.6) (Oksenberg et al., 2008) (Sawcer et al., 2014).

Ukazuje se, že děti, které se přestěhují z oblasti s vyšším rizikem RS do oblasti s rizikem nižším před začátkem puberty, mají stejné riziko jako děti, které žily v nízkorizikové oblasti od narození a vice versa, což naznačuje, že načasování expozice rizikovým faktorům je zásadní pro vulnerabilitu k RS (Nielsen et al., 2019). Waubant shrnula nejdůležitější genetické a environmentální rizikové faktory (Waubant et al., 2019). Jedinými konzistentně prokázanými infekčními rizikovými faktory jsou Epstein-Barrové virus (EBV) a lidský herpesvirus 6 (HHV-6.). Více než 99% pacientů s RS je EBV-seropozitivních, nicméně jasná interpretace je komplikovaná vzhledem k vysoké míře seropozitivity v celé populaci (až 95%). Mechanismem propojujícím EBV a RS by mohly být molekulární mimikry a imortalizace autoreaktivních B-lymfocytů virem, která vede k produkci autoprotilátek (Bagert, 2009) (Levin et al., 2005). Jak kouření, tak obezita v dětství či v dospívání (u dívek) zdvojnásobuje riziko vzniku RS, přestože jasný mechanismus není jasný (Hedström et al., 2009) (Huppke et al., 2019). Zvýšené riziko vzniku RS i vyšší riziko relapsů a atrofie mozku u RS se také ukázaly u osob s nižší hladinou vitamínu D. Vitamin D hraje roli v proliferaci a aktivaci T-lymfocytů, diferenciaci T-helper buněk, tkáňovém „homingu“ lymfocytů a zajímavé také je, že oslabuje cytotoxické působení T-lymfocytů a blokuje proliferaci B-lymfocytů, plasmatických buněk a produkci imunoglobulinů (Sintzel et al., 2018). Tento vztah může také do jisté míry vysvětlovat výše zmíněné rozdíly v prevalenci RS v závislosti na zeměpisné šířce, nicméně přímý kauzální vztah je složité potvrdit. Asociace s dalšími faktory prostředí a výživou – např. vliv kojení, znečištění ovzduší, dietních vlivů (např.

nadměrného příjmu soli či nedostatečného příjmu polynenasycených mastných kyselin) či role střevní dysbiózy se zkoumá, jednoznačný kauzální vztah k riziku onemocnění RS však prokázán nebyl (Waubant et al., 2019).

### **1.1.2 Klinický obraz, diagnóza a prognóza**

U přibližně 85% pacientů začíná onemocnění subakutně vzniklými neurologickými příznaky, které trvají více než 24 hodin a nejsou doprovázeny známkami infekce ani encefalopatií. Pokud nejsou léčené, dosahují příznaky maxima závažnosti většinou po 2-3 týdnech a během následujících týdnů se spontánně upraví. Nejčastějšími prvními projevy jsou dle velké studie u 46% pacientů příznaky postižení dlouhých drah, u 21% optická neuritida, u 10% kmenový syndrom a u 23% multifokální symptomy (Confavreux et al., 2000). Tyto reverzibilní epizody neurologické symptomatiky, které vznikají na podkladě fokálních oblastí imunitně-zprostředkované zánětlivé demyelinizace, se střídají s obdobími klinické remise (relaps remitentní RS, RRRS). Po cca. 10-15 letech trvání choroby se průběh onemocnění u většiny pacientů mění a objevuje se postupná, většinou pomalá progresie (sekundárně progresivní RS, SPRS) charakterizovaná ubýváním jasně ohraničených atak a spíše plíživým horšením chůze a rovnováhy v důsledku spasticity a ataxie. Asi u 10-15% pacientů, zejména u pacientů, kteří onemocní ve vyšším věku, je progresie přítomná již od počátku (primárně progresivní RS, PPRS) U těchto pacientů často dochází k postupně se horšící spastické para- či kvadruparéze (Rice et al., 2013). Stále není zcela jasné, zda je primárně progresivní RS samostatné onemocnění, nebo zda PPRS reprezentuje pouze část spektra RS. Není pochyb o tom, že mezi relaps-remitentní a progresivní fází RS existují zásadní rozdíly, což odráží také rozdílná odpovídavost na imunomodulační a imunosupresivní léčbu. V klasickém pojetí se relapsy spojují s aktivitou na magnetické rezonanci (tedy s přibýváním nových ložisek), zatímco progresivní fáze je spojována spíše s postupnou atrofií mozku a míchy. Patologické nálezy a patogenetické mechanismy se ale do jisté míry překrývají (např. přítomnost subklinické aktivity onemocnění charakterizovaná vznikem nových ložisek u pacientů se SPRS a PPRS, a atrofie se objevuje již v nejčasnějších fázích RRRS), navíc část pacientů v progresivní fázi odpovídá na léčbu původně vyvinutou pro RRRS. Z tohoto důvodu bylo navrženo klasifikovat pacienty v progresivní fázi na skupiny vykazující a nevykazující známky klinické aktivity a na skupiny s progresí a bez progresie postižení (Lublin et al., 2014).

Diagnóza RS se opírá o anamnézu, klinický obraz, magnetickou rezonanci mozku a míchy a vyšetření likvoru. Pro diagnózu je vyžadován průkaz diseminace lézí v prostoru (dissemination in space, DIS) a v čase (dissemination in time, DIT) a vyloučení jiných

diagnóz (radiologických i klinických „RS mimics“), zejména onemocnění ze spektra NMO a jiných zánětlivých onemocnění CNS (Thompson et al., 2018) (Wildner et al., 2020).

**Tabulka 1** shrnuje aktuální diagnostická kritéria pro RS

**Tabulka 1.** Revidovaná (McDonaldova) diagnostická kritéria z r. 2017 pro RS s atakou na začátku nemoci a s progresí od počátku onemocnění. Modifikováno z Klinického doporučeného postupu pro diagnostiku a léčbu roztroušené sklerózy a neuromyelitis optica a onemocnění jejího širšího spektra 2020. \*Na rozdíl od McDonaldových kritérií z roku 2010 se v kritériích z roku 2017 nerozlišuje mezi symptomatickými a asymptomatickými MR lézemi.

Klinická kritéria (ataky)	Objektivní klinický průkaz	Další údaje potřebné ke stanovení diagnózy RS
≥2	≥2	Žádné*
≥2	1 (stejně jako anamnestický důkaz předchozí ataky s lézí v odlišném anatomickém místě)	Žádné*
≥2	Objektivní klinický průkaz 1 léze	DIS (diseminace v prostoru) s průkazem další ataky lokalizované jinde klinicky nebo MRI
1	Objektivní klinický průkaz ≥ 2 lézí	DIT (diseminace v čase) dokumentovaná další atakou nebo MR NEBO nálezem oligoklonálních pásů v likvoru.
1	Objektivní klinický průkaz 1 léze	DIS (diseminace v prostoru) dokumentovaná další atakou z jiného místa CNS nebo na MR A DIT (diseminace v čase) dokumentovaná další atakou nebo MR NEBO pozitivním nálezem oligoklonálních pásů v likvoru
0 (progrese od počátku)		Rok progrese nemoci (retrospektivně nebo prospektivně) PLUS nejméně dvě z následujících kritérií: - 1 či více T2 hyperintenzních lézí typických pro RS v mozkové oblasti periventrikulární, juxtakortikální/kortikální nebo infratentoriální; - 2 či více T2 hyperintenzních lézí v míše; - přítomnost oligoklonálních pásů v likvoru.
<b>Průkaz diseminace lézí v prostoru</b>		<b>Průkaz diseminace lézí v čase</b>
≥ 1 T2 léze nejméně ve dvou ze čtyř oblastí CNS: periventrikulární, juxtakortikální/kortikální, infratentoriální nebo míšní Pro demonstraci diseminace v prostoru není nutné, aby některá z lézí vychytávala gadolinium.		Současná přítomnost asymptomatických gadolinium vychytávajících lézí a nevychytávajících lézí v jakoukoli dobu. NEBO Nová T2 a/nebo gadolinium vychytávající léze* na další MR oproti prvnímu MR skenu bez ohledu na načasování prvního skenu.
		≥2 oligoklonální IgG pruhy v likvoru (bez odpovídajícího korelátu v séru) nebo přítomnost volných řetězců kappa nebo lambda v likvoru

### 1.1.3 Imunopatogeneze a patologie RS

RS je charakterizována ložisky (plakami) demyelinizace (ztráta myelinu a oligodendrocytů) v bílé i šedé hmotě mozku i míchy. Přestože většina axonů a neuronů je v časném stádiu RS intaktní, během onemocnění dochází k jejich postupné ztrátě a objevuje se atrofie mozku i míchy, které korelují s postižením. Náš pohled na RS se v posledních dekádách změnil, zejména díky 1) novému pohledu na vztah zánětu a neurodegenerace; 2) objevení lymfatického systému CNS; 3) pochopení role B-lymfocytů a kompartmentalizace zánětu u RS.

Klasický pohled na axonální patologii a neurodegeneraci jako důsledek akutní zánětlivé aktivity nyní nahrazuje koncept neurodegenerace, která je přítomna již od velmi časných fází onemocnění, je minimálně částečně nezávislá na fokálních zánětlivých ložiscích a je ovlivněna řadou genetických a metabolických faktorů. Centrální nervový systém byl tradičně považován za imunoprivilegovaný orgán vzhledem k absenci konvenčního lymfatického systému a k hematoencefalické a hematoliquorové bariéře, které jsou za normálních podmínek neprostupné pro lymfocyty (Engelhardt, 2008). Tento pohled se však v posledních letech postupně mění. I u zdravých lidí migruje část paměťových T-lymfocytů přes hematoencefalickou bariéru, takže imunitní dohled v CNS jistě existuje. Také izolace CNS od adaptivní imunity není absolutní a k aktivaci adaptivní imunity může dojít i bez poškození HEB. V oblasti mening, perivaskulárních prostorech a v částech komorového systému jsou také umístěny buňky vrozené imunity, které prezentují antigeny T-lymfocytům pronikajícím do mozkomíšního moku a v podmínkách zánětu mohou tyto T-lymfocyty aktivovat. Dalším konceptem, který se v posledních dvou dekádách výrazně změnil je to, že RS byla tradičně považována za autoimunitní onemocnění zprostředkované T-lymfocyty, což podporovaly i zvířecí modely experimentální autoimunitní encefalomyelitidy (EAE) (Baker & Amor, 2014). Poznatky poslední dekády o účinnosti léčby cílené na B-lymfocyty (Hauser et al., 2017) zásadním způsobem posunuly náš pohled na patofyziologii RS a na roli B-lymfocytů (zejména CD19+/CD27+ paměťových buněk) v aktivitě onemocnění a daly vzniknout sjednocenému konceptu zahrnujícímu etiologické, histopatologické a terapeutické aspekty RS (Baker et al., 2017). Charakteristickým znakem časných RS je infiltrace imunitních buněk z periferie, a to buď přestupem přes hematoencefalickou bariéru či přestupem přes hematoliquorovou bariéru (choroidní plexus). Z perivaskulárních prostorů mohou buňky imunitního systému přestoupit do parenchymu CNS a spolu s aktivovanými mikrogliemi a astrocyty vedou k demyelinizaci v oblasti bílé i šedé hmoty, jader i míchy

(Popescu & Lucchinetti, 2012) a poškození oligodendrocytů a později i k přímému i nepřímému neuroaxonálnímu poškození. Autoreaktivní T-lymfocyty přítomné v oblasti ložisek již v časných fázích RS a dobře známá spojitost RS s haplotypem *HLA-DRB1\*1501* svědčí pro to, že by mohly být T-lymfocytům prezentovány specifické autoantigeny. Vzhledem k tomu, že klíčovým patologickým dějem u RS je demyelinizace, mohly by cílem autoreaktivních buněk být proteinové součásti myelinu. Např. myelinový bázeický protein, proteolipidový protein a myelinový oligodendrocytární glykoprotein jsou rozpoznávány cirkulujícími CD4<sup>+</sup> T-lymfocyty u pacientů s RS, nicméně také u zdravých osob. Data týkající se četnosti a avidity protilátek proti těmto antigenům nejsou konzistentní (Bielekova et al., 2004) (Hellings et al., 2001). To, že u RS zatím nebyl nalezen zásadní antigen, může být důsledkem technických problémů při stanovování autoantigenů, variability mezi pacienty či důsledkem tzv. *epitope spreading*. Zánět je nejvíce vyjádřený v časně fázi RS, ale méně resp. jinak aktivní přetrvává i ve stadiu chronické progresse. V časných fázích je poškození tkáně vyjádřeno hlavně v ložiscích charakterizovaných poruchou HEB a infiltráty periferních imunitních buněk, ve kterých převládají makrofágy a CD8<sup>+</sup> T-lymfocyty, zatímco CD4<sup>+</sup> T-lymfocyty, B-lymfocyty a plasmatické buňky jsou méně četné. B-lymfocyty se již od časných fází onemocnění nacházejí také v meningách, parenchymu CNS i v mozkomíšním moku a produkují protilátky, které lze detekovat v mozkomíšním moku a využívat k diagnostice RS (oligoklonální pásy). Zatímco T-buněčná složka zánětlivého infiltrátu se během onemocnění příliš nemění, relativní zastoupení B-lymfocytů a plasmatických buněk se zvyšuje (Frischer et al., 2015). U pacientů se sekundárně progresivní RS hrají zásadní roli meningeální terciární lymfoidní struktury obsahující plasmatické B-lymfocyty, T-lymfocyty a folikulární dendritické buňky, které přispívají k přetrvávajícímu zánětu a kortikální demyelinizaci (Howell et al., 2011). U primárně progresivní RS jsou meningy difúzně infiltrovány zánětlivými buňkami, ale ohraničené terciární lymfoidní struktury přítomny nejsou (Choi et al., 2012). Během progresivní fáze se tedy zánět postupně organizuje a „uzavírá“ v CNS, kde není dobře přístupný imunomodulačním terapiím. V průběhu onemocnění se zánět stává difúznější a méně aktivní, pravděpodobně při vyčerpání buněk adaptivní imunity při chronické expozici autoantigenům. Infiltráty T- i B-lymfocytů jsou patrné i mimo fokální ložiska, dochází k chronické aktivaci makrofágů, mikroglie a astrocytů, které blokují přeměnu progenitorových buněk na zralé oligodendrocyty a znemožňují tak remyelinizaci poškozených axonů. Chronický zánět vede dále k produkci reaktivních forem kyslíku a dusíku, které se podílí na poškození mitochondrií v důsledku akumulace mutací

mitochondriální DNA (Haider et al., 2011). Poškození mitochondrií je jedním z faktorů metabolického stresu, abnormálního skládání a konformaci proteinů endoplasmatického retikula a energetického deficitu. Protože axonální transport je velice energeticky náročný proces nutný pro správné fungování celé nervové buňky, je energetický deficit kritický. V tomto kontextu je zajímavé zmínit, že některé mendelovsky dědičné monogenní mitochondriální a metabolická onemocnění mohou být klinickými a radiologickými fenokopii RS (Weisfeld-Adams et al., 2015). Na demyelinizovaných axonech dochází kompenzačně ke změně funkce a k redistribuci některých iontových kanálů (acid-sensing ion channel 1 (ASIC1), transient receptor potential cation channel subfamily M member 4 (TRPM4) and voltage-gated sodium channels (Nav1.2 and Nav1.6)) (Friese et al., 2014). Cílem této redistribuce je zachovat homeostázu neuronu, nicméně důsledkem je (spolu s nadměrnou akumulací hlavního excitačního neurotransmiteru, aminokyseliny glutamátu) spíše iontová nerovnováha a další poškození tkáně. Z místa primárního poškození axonů se tyto degenerativní mechanismy mohou šířit retrogradně směrem k tělům neuronů (retrogradní degenerace či 'dying back' mechanismus) i distálním směrem podél axonu až k jeho zakončení (anterogradní či Wallerova degenerace) a mohou také ovlivnit sousední pre- i postsynaptické neurony. Nakonec může dojít k apoptóze či nekróze neuronů. Důsledkem těchto dějů je atrofie šedé i bílé hmoty v mozku i míše (Popescu & Lucchinetti, 2012).

Oproti původní představě, že k neurodegeneraci dochází až v pozdních stádiích RS, se ukazuje, že neurodegenerace doprovází zánětlivou aktivitu již od časných fází onemocnění a je hlavním faktorem vedoucím k trvalému klinickému postižení (Trapp et al., 1998) (Ferguson et al., 1997) (Kuhlmann et al., 2002) (Singh et al., 2017). Atrofie mozku a míchy není součástí diagnostických kritérií pro RS ani součástí klasifikace podtypu a průběhu RS, nicméně stále přibývá evidence pro začlenění těchto metod do klinické praxe pro časné hodnocení efektu terapie a predikce dalšího vývoje onemocnění a měření globálního objemu mozku a míchy je zahrnuto i v recentním doporučení skupiny Magnetic Resonance Imaging in MS (MAGNIMS) (Sastre-Garriga et al., 2020).

Je sice aktivována řada mechanismů, které by měly kompenzovat neuroaxonální poškození, např. upregulace a exprese pro-survival genů, aktivace kanabinoidního systému, ale prozánětlivé prostředí a energetický deficit nakonec převládnu a dochází k nezvratnému poškození buňky. Posílení neuroprotektivních mechanismů a remyelinizace v rámci

možných nových terapií RS bude proto pravděpodobně nejefektivnější při současném podávání spolu s protizánětlivou léčbou.

#### 1.1.4 Terapie roztroušené sklerózy

Léčba je vedena většinou ambulantně v Centrech vysoce specializované péče. Léčbu lze dělit na 1) léčbu akutní ataky 2) imunomodulační/imunosupresivní a 3) symptomatickou. Léčba akutní ataky RS zahrnuje pulsní intravenózní nebo orální terapii kortikosteroidy s prevencí vedlejších účinků jejich podání (Sellebjerg et al., 2005). Imunomodulační/imunosupresivní léčba je dlouhodobá či pulsní a jejím cílem je snížení počtu atak a oddálení progresu postižení. Symptomatická léčba je používána podle symptomů choroby v kterémkoli stádiu nemoci. Zásadní je také pohybová aktivita, fyzioterapie, podpůrná a režimová opatření (substituce vitamínu D, prevence a včasná léčba infekcí, prevence a léčba osteoporózy či dalších komorbidit). Imunomodulační terapie se u pacientů v relabujícím-remitujícím stadiu RS zahajuje interferonem beta, glatiramer acetátem, teriflunomidem nebo dimethyl fumarátem. V případě agresivní RS je možné terapii zahájit fingolimodem, natalizumabem nebo alemtuzumabem. Při zhoršení neurologického stavu na původní léčbě se eskaluje na preparáty s vyšší účinností (ale také vyšším rizikem nežádoucích účinků) – k dispozici máme fingolimod, kladribin, natalizumab, ocrelizumb a alemtuzumab, popř. při jejich neúčinnosti mitoxantron nebo cyklofosfamid a ve zcela výjimečných případech s vysoce agresivním průběhem je indikovaná imunoablace s podporou autologních krvetvorných kmenových buněk. Včasná eskalace léčby vede ke zpomalení progresu nemoci a asi u 20% pacientů ke zlepšení stavu, neměla by tedy být odkládána (He et al., 2015) (O’connor et al., 2011). Pro imunomodulační léčbu primárně progresivní RS máme v současnosti jedinou možnost, protilátku proti CD-20 ocrelizumab a u sekundárně progresivní RS s aktivitou je indikována léčba siponimodem.

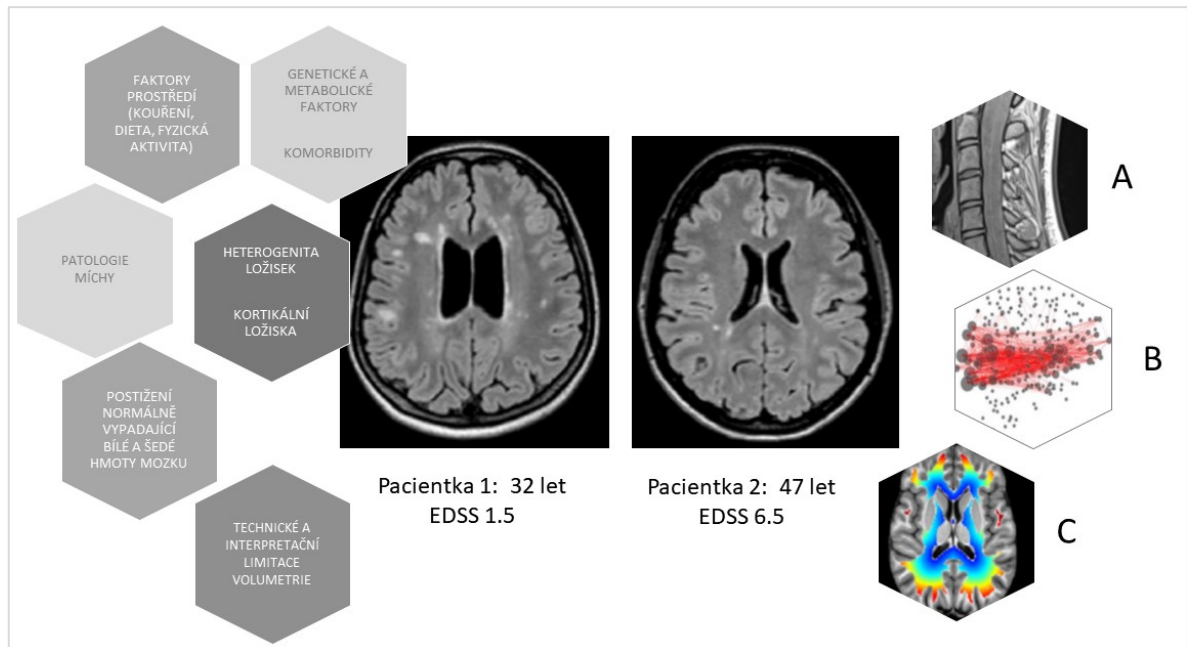
#### 1.1.5 Klinicko-radiologický paradox

Detekce ložisek v bílé hmotě a jejich diseminaci v prostoru a čase pomocí magnetické rezonance je klíčový nástroj pro diagnostiku a monitorování roztroušené sklerózy, nicméně počet a objem ložisek v bílé hmotě vysvětluje pouze malou část klinické heterogenity. Tato disociace mezi klinickým stavem a patologií viditelnou na MR se označuje jako „klinicko-radiologický paradox“ (Barkhof, 2002) (**Obrázek 2.**). Kromě klinické praxe byla tato disociace pozorována i v klinických studiích, recentně např. ve studii s ibudilastem, u kterého byl pozorován efekt na globální atrofii mozku a atrofii šedé hmoty, ale nebyl



zaznamenám efekt na klinický stav pacientů (Fox et al., 2018) . Přestože se termín klinicko-radiologický paradox objevuje v oblasti RS velice často, neexistuje jednotná definice tohoto fenoménu, a tedy ani data o jeho prevalenci. Existuje více možných vysvětlení disociace mezi nálezem na konvenční MR a klinickým stavem pacienta. Za prvé si lze představit, že strategicky uložená ložiska (např. v infratentoriální oblasti) mohou vést k vyššímu stupni postižení. Tuto zjednodušenou představu v poslední době nahrazuje nahlížení na patologii mozku nejen regionální, ale také ve smyslu sítí a tzv. konektomu (Fleischer et al., 2019), který je blíže popsán v oddílu 1.3.5. Za druhé lze pomocí konvenční MR detekovat 60% (v T2-vážených obrazech) až 70% (na sekvenci fluid-attenuated inversion recovery, FLAIR) ložisek v bílé hmotě, ale jen asi 5% ložisek v kortikální šedé hmotě a maximálně 40% v thalamu a bazálních gangliích (Geurts et al., 2005). Na 1.5T a 3T MR jsou detekovatelná pouze větší subpiální ložiska, která představují pouze „špičku patologického ledovce“ (Seewann et al., 2011). Konvenční MR za třetí neumožňuje diferencovat histopatologický charakter, aktivitu a úroveň remyelinizace ložisek v bílé hmotě (Lucchinetti et al., 2000). Na konvenčních T1-vážených obrazech lze sice detekovat tzv. „black holes“, tedy podskupinu ložisek, které jsou viditelné i na T2-vážených obrazech, ale u nichž dochází k závažnějšímu axonálnímu poškození, nicméně korelace objemů ložisek na viditelných na T1- a T2-vážených obrazech je podobná (Grimaud et al., 1999). Za čtvrté, konvenční MR není citlivá k mikrostrukturálnímu poškození normálně vypadající šedé a bílé hmoty (Granziera et al., 2021). Za páté nelze klinicko-radiologický paradox překonat ani měřením globálního objemu mozku. Přestože již dlouhou dobu víme, že u RS je neurodegenerace hlavním faktorem zodpovědným za ireverzibilní neurologické postižení a že atrofie mozku neurodegeneraci relativně dobře odráží a objem mozku je stále více používán v klinické praxi i v klinických studiích, nepostihuje atrofie struktury mozku rovnoměrně (Eshaghi, Marinescu, et al., 2018) (Tsagkas et al., 2021). Dalším problémem volumetrie jsou technické limitace (Sastre-Garriga et al., 2020). U našich pacientů jsme například pozorovali nečekaně vysoký podíl vyšetření s longitudinálním *zvýšením* objemu mozku (dle použitého softwaru a cut-offu pro atrofii kolem 20% skenů). Výsledky se ale významně lišily v závislosti na použité technice volumetrie a pouze 50% pacientů se zvýšením objemu mozku bylo klinicky stabilních (Tomas Uher et al., 2021). Za šesté se často opomíjí patologie míchy, již se věnujeme v samostatné kapitole. V neposlední řadě se ukazuje vliv životního stylu, genetických a metabolických faktorů, komorbidit a tzv. mozkové rezervy na průběh onemocnění (Zhang et al., 2018) (Sumowski et al., 2016). „Druhou stranou“ klinicko-radiologického paradoxu je důležitá problematika nedostatečné citlivosti nejčastěji

používané škály Expanded Disability Status Scale (EDSS) a hledání lepších nástrojů pro časné zachycení progresu neurologického a kognitivního postižení, kterou se v této práci nezabýváme (Tur et al., 2018) (Inojosa et al., 2020).



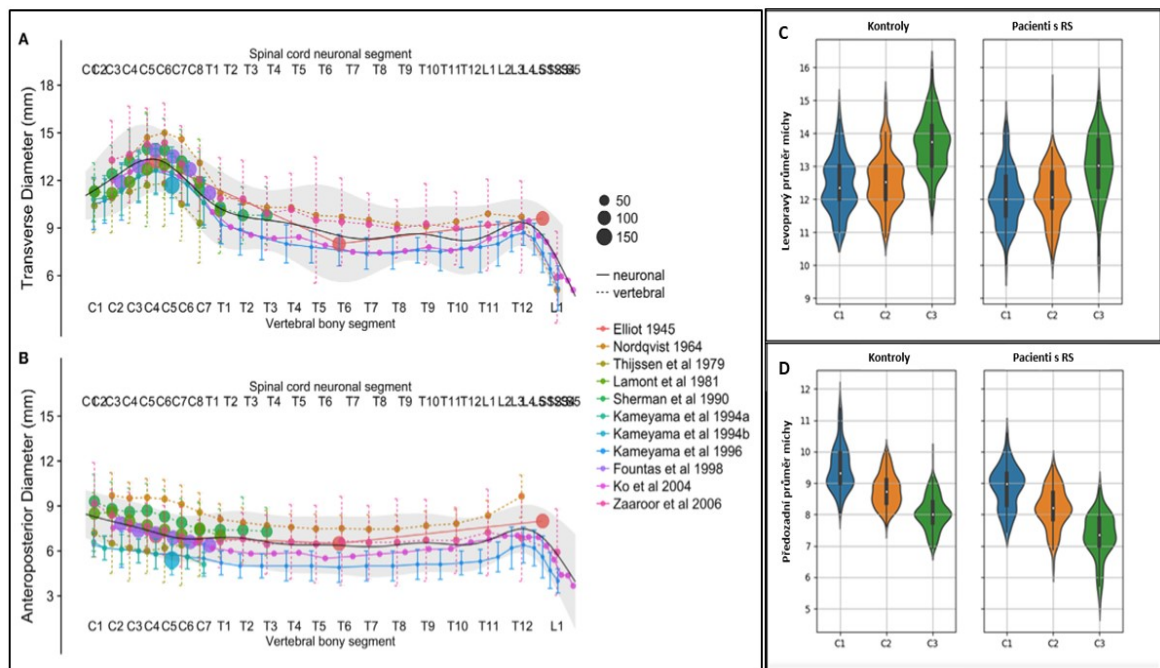
**Obrázek 2.** Některé z faktorů, které se podílí na klinicko-radiologickém paradoxu (vlevo) a tři přístupy založené na MR, které by mohly přispět k porozumění patofyziologie RS a zmenšit klinicko-radiologický paradox a kterými se zabýváme v této práci (vpravo). A. hodnocení objemu, ložiskové a difúzní patologie míchy. B. analýza diskonektomu. C. mapování periventrikulárního gradientu pomocí T1 relaxometrie.

## 1.2 Význam míchy v patogenezi a diferenciální diagnóze roztroušené sklerózy

### 1.2.1 Anatomie a fyziologie míchy

Mícha je tubulární struktura o délce 42-45 cm a hmotnosti pouze 30-50 g, která je součástí centrálního nervového systému, který spojuje mozek a periferní nervový systém. Nese tedy v sobě a své těsné blízkosti i komponenty periferního nervového a autonomního (vegetativního) nervového systému. U dospělého člověka leží mícha mezi prvním krčním obratlem (C1) a dolním obratlem L1, u dětí dosahuje až k obratli L3. Mícha se člení na 31 segmentů (míšňí segment je úsek míchy, ze kterého se sbíhá 1 pár míšňích nervů) a je tvořena bílou hmotou, která obsahuje zejména ascendentní a descendentní dráhy a šedou hmotou, která je tvořena těly neuronů, dendrity a menším množstvím axonů. Na rozdíl od

mozku je však šedá hmota uložena pouze centrálně a obklopuje ji bílá hmota, která je obalena míšními plenami (dura mater, arachnoidea a pia mater spinalis). V subarachnoidálním prostoru (mezi arachnoidea spinalis a pia mater spinalis) cirkuluje mozkomíšní mok. Průřez míchou má tvar oploštělé elipsy či fazole a její předozadní i levoprávní průměr, a tedy i plocha průřezu se v jednotlivých segmentech fyziologicky mění (**Obrázek 3**).

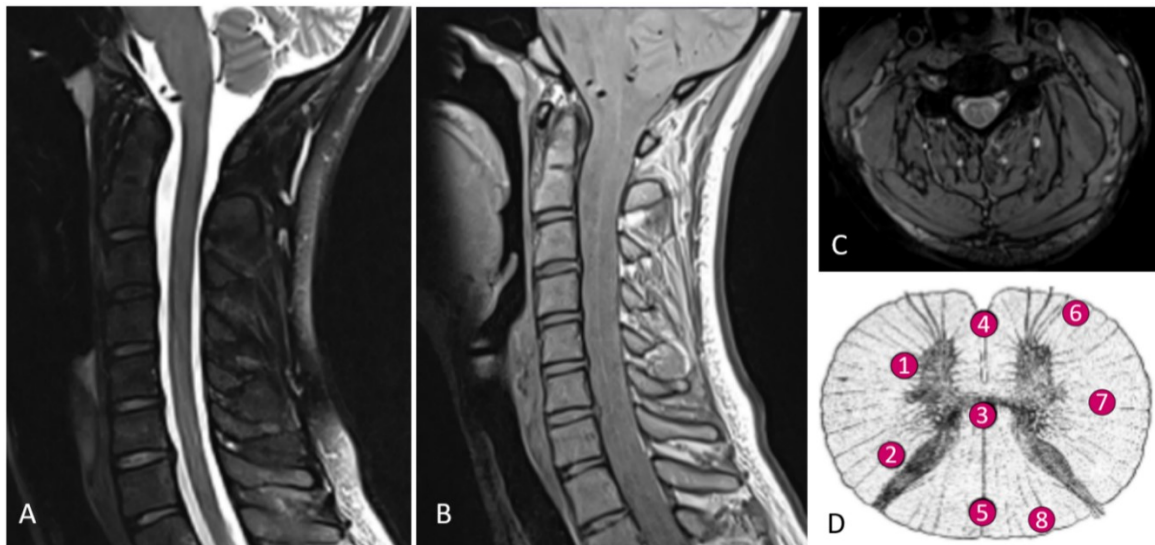


**Obrázek 3.** Mění se transverzální (levo-právní) a předozadní průměr míchy v jednotlivých míšních segmentech. Část A a B je převzata z meta-analýzy z roku 2016 (Frostell et al., 2016).

Část B a C ukazuje odpovídající hodnoty našich zdravých dobrovolníků a pacientů na úrovni obratlového těla C2, C3 a C4 změřená na MPRAGE obrazech. Obrázek použit se souhlasem Johannea Disselhorsta (Siemens Healthineers).

Na průřezu má šedá hmota tvar motýlka či písmene H (**Obrázek 4 C**), který se kraniokaudálním směrem mění (postupně relativně ubývá objem bílé hmoty a přibývá objem šedé hmoty). Symetrické poloviny šedé hmoty tvoří přední části (přední sloupce) a zadní části (zadní sloupce). Obě poloviny jsou spojeny komisurou, která obklopuje centrální kanálek vyplněný mozkomíšním mokem. Bílou hmotu na průřezu rozdělují dva zářezy – přední fisura mediana a zadní sulcus posterolateralis (**Obrázek 4 D**), které dělí obě poloviny bílé hmoty míšni na přední, střední a zadní provazce, kudy probíhají hlavní sestupné dráhy míšni, zejména sestupné motorické pyramidové a extrapyramidové dráhy (tr. corticospinalis

anterior a lateralis, tr. reticulospinalis a tectospinalis) a vzestupné dráhy povrchové a nociceptivní (tr. spinothalamicus), hluboké (tr. spinobulbaris) a proprioceptivní (tr. spinocerebellaris) citlivosti. Míchu ale nelze vidět jen jako prosté reflexní centrum a svazek drah mezi mozkem a periferním nervovým systémem převádějící signály mezi těmito strukturami, ale je nutné vzít v úvahu i milióny interneuronů a vnímat ji jako komplexní, částečně soběstačně regulovaný komplex mnoha zpětnovazebných okruhů, které mohou být u RS poškozeny (Bourane et al., 2015).



**Obrázek 4.** A: sagitální řez T2-váženého obrazu normální míchy v oblasti C1-Th2; B: sagitální řez T2-váženého obrazu normální míchy v oblasti C1-Th2, uprostřed míchy je dobře patrný centrální kanálek; C: axiální řez míchou v úrovni C2 - na řezu je patrné rozlišení bílé a šedé hmoty; D: schéma průřezu míchou (odpovídající orientaci na MR, ne klasickým anatomickým zobrazením) 1. přední sloupce/přední rohy míšni; 2. zadní sloupce/ zadní rohy míšni; 3. oblast komisury a centrálního kanálku; 4. fisura mediana anterior; 5. sulcus posterior; 6. přední provazce; 7. střední provazce; 8. zadní provazce míšni.

### 1.2.2 Patologie míchy u RS

Vzhledem k tomu, že v míše na velmi malém prostoru probíhají všechny ascendentní a descendentní dráhy cerebro-spinální resp. spino-cerebrální, poškození míchy může mít dramatické klinické důsledky. Postižení míchy je spolu se zánětem očního nervu a kmenovou symptomatikou jedním z nejčastějších typů prvních příznaků RS. Přítomnost míšních ložisek demyelinizace v úvodu onemocnění je spojeno s vyšším rizikem dalších relapsů a vyšší disability (Arrambide et al., 2018) (Brownlee et al., 2019). V pozdějších stadiích nemoci klinický obraz pacientů s RS částečně připomíná obraz progresivní

myelopatie, u které je v popředí progredující spastická paraparéza, sfinkterové a sexuální poruchy a ztráta citlivosti v oblasti dolních končetin. Patologii míchy u RS přesto rozumíme mnohem méně než patologii mozkové, částečně také proto, že jak její zkoumání *in vivo* pomocí magnetické rezonance, tak míšní biopsie či autopsie jsou technicky náročnější. V posledních letech však zájem o porozumění role míchy u RS roste, a to zejména díky možnostem MR, která umožňuje vizualizaci a kvantifikaci změn, které jsme donedávna nebyli schopni zachytit a tím poskytuje i lepší predikci klinických změn (Klaus Schmierer & Miquel, 2018). Pro správnou interpretaci nálezů na MR míchy je třeba mít přehled o základních patogenetických mechanismech odehrávajících se v míše u pacientů s RS a jejich MR korelátů, jejichž shrnutí je uvedeno v dalších odstavcích.

### **1.2.3 Histopatologické nálezy**

Ve srovnání s *post mortem* studii zaměřenými na korelaci magneticko-rezonančních a histologických nálezů v mozku, které jsou relativně četné, je prací týkajících se mikrostrukturálních změn v míše významně méně. Důvodem není nezáměr o patologii míchy u RS, ale spíše technická náročnost pitvy (Petrova et al., 2018). Kombinace MR a histologie umožňuje zkoumat klinicky relevantní postižení jednotlivých struktur, ale výsledky získané z mozkové tkáně nelze automaticky extrapolovat na míchu (Schmierer et al., 2018). Také *post-mortem* studie korelující MR s histopatologickými nálezy nelze zcela extrapolovat na *in-vivo* zobrazování, zejména vzhledem k přítomnosti artefaktů a fixaci autoptického materiálu.

#### **1.2.3.1 Demyelinizace a fokální ložiska**

Charakteristickým znakem postižení míchy u RS je přítomnost fokálních ložisek, která jsou typicky lokalizována kolem postkapilárních venul a zejména v akutní fázi zánětu charakterizována poruchou hematoencefalické, resp. "hematospinální" bariéry, zánětlivými infiltráty, demyelinizací a ztrátou neuronů i axonů (Lassmann, 2019). Míšní ložiska jsou nejčastěji lokalizována v oblasti krční míchy (Weier et al., 2012), v akutním stadiu mohou být edematózní, na MR obrazu se klasicky popisují v zadních a postranních provazcích, nicméně histopatologické studie ukazují, že demyelinizace postihuje až 3x více axonů v šedé hmotě (24-48%) než v bílé hmotě (11-20%) (Gilmore et al., 2009). Většina ložisek zasahujících do šedé hmoty zasahuje i do hmoty bílé (smíšená GM/WM ložiska) a těchto smíšených ložisek je v míše významně více než v mozku. Demyelinizace se týká pravděpodobně jak ostře ohraničených, tak difúzních ložisek (Lycklama à Nijeholt et al.,

2001). V ložiscích fokální demyelinizace, ale také v souvisejících axonech dochází k jejich sekundárnímu poškození (Petrova et al., 2018). Z hlediska histopatologického typu ložisek jsou míšní ložiska ve srovnání s mozkovými ložisky méně často aktivní, takzvané „smouldering lesions“ (pomalou se zvětšující ložiska s inaktivním centrem a lemem aktivní mikroglie na periferii) se v míše téměř nikdy nevyskytují a ve srovnání s ložisky v mozkovém kmeni jsou míšní ložiska častěji remyelinizovaná (Frischer et al., 2015) (Lucchinetti et al., 2000). Míšní ložiska demyelinizace se tedy zdají být méně agresivní v histologickém smyslu, nicméně mohou být „klinicky agresivnější“ vzhledem k jejich lokalizaci v šedé hmotě a klinicky významných drahách (pyramidová, spinothalamická dráha, zadní provazce) (Chung et al., 2020) (O ’riordan et al., 1998) (Chung et al., 2020).

### ***1.2.3.2 Ztráta axonů a synapsí***

Přestože zánět a demyelinizace jsou klasickými rysy RS, neurodegenerace a ztráta chronicky demyelinizovaných axonů jsou považovány za hlavní patologický korelát klinického postižení v progresivní fázi (Bjartmar et al., 2003) a to pravděpodobně alespoň částečně nezávisle na zánětlivé „penumbře“ v okolí ložisek demyelinizace (DeLuca et al., 2006) (Dziedzic et al., 2010). Post mortem studie míchy pacientů s RS ukazují významnou ztrátu axonů v oblasti ložiska demyelinizace (Ganter et al., 1999) a distálně od ložiska (Wallerova degenerace), zatímco typ axonální degenerace „dying back“ proximálně od ložiska se zdá být méně významný (Petrova et al., 2018). T2w-hyperintenzní oblasti na post mortem MR míchy u pacientů s RS odpovídají oblastem se sníženou denzitou axonů, zvýšenou nepravidelností a větším průměrem axonů (ve srovnání s kontrolami a s normálně vypadajícími oblastmi míchy), nicméně intenzita T2w signálu koreluje se ztrátou axonů jen velmi slabě (Bergers, Bot, De Groot, Polman, Lycklama à Nijeholt, Castelijns, Van der Valk, et al., 2002a). Snížení axonální denzity v demyelinizovaných oblastech míchy je (ve srovnání s normálně vypadající bílou hmotou míšní) u pacientů s PPRS více než dvojnásobné než u pacientů se SPRS (33% vs. 16%), což je ve shodě s pozorováním, že u pacientů s PPRS dochází k závažnějšímu axonálnímu poškození i při celkově méně vyjádřené demyelinizaci (Tallantyre et al., 2009). Také ztráta synapsí může být významným a zatím málo probádaným faktorem přispívajícím k patologii míchy u RS. Synaptická denzita hodnocená post mortem pomocí barvení synaptophysinu a synapsinu je o 58% nižší v ložiscích v šedé hmotě míšní, ale také v šedé hmotě nepostižených ložisek (54%). Také plocha synaptických zakončení byla u RS pacientů výrazně menší o 92% v non-lézionální šedé hmotě a o 96% v ložiscích v šedé hmotě míšní. U kontrol plocha synaptických

zakončení významně korelovala s plochou předních rohů míšních, plochou šedé hmoty a kros-sekční plochou míchy, zatímco u pacientů s RS tato korelace prokázána nebyla (Petrova et al., 2020).

### ***1.2.3.3 Neuronální patologie a šedá hmota***

Mechanismus ztráty neuronů u pacientů s RS není zatím zcela jasný a pravděpodobně jde o multifaktoriální proces. Samotná demyelinizace může vést k poškození neuronů při nedostatku trofických faktorů. Dále může docházet k poškození neuronu vlivem zánětlivého prostředí (neurotoxická lymfocytů) při tzv. “bystander” poškození cestou cytokinů, chemokinů, reaktivních forem dusíku a kyslíku, glutamátu a proteáz. Ne zcela jasná je také role protilátek proti některým neuronálním antigenům. Další možností je retrogradní degenerace neuronů způsobená přerušáním distálních axonů v bílé hmotě míšní. Jak počet míšních neuronů, tak počet a plocha průřezu míšních interneuronů je ve srovnání s kontrolami výrazně redukována a to jak v oblasti demyelinizace, tak v oblasti s intaktním myelinem (snížení počtu neuronů o 24% v horní krční míše a 30% v horní hrudní míše) (Gilmore et al., 2009).

### ***1.2.3.4 Meningeální infiltráty a “gradient poškození tkáně v závislosti na vzdálenosti od likvorových prostor”***

Více než 100 let poté, co Otto Marburg v roce 1906 na podkladě blízkého topografického vztahu mezi subarachnoidálním prostorem a ložisky demyelinizace vyslovil hypotézu toxického “solubilního faktoru” a Dawson usuzoval z predilekční lokalizace ložisek v periventrikulárních oblastech, že patogenetický faktor vstupuje do mozkového parenchymu cestou mozkomíšního moku (Dawson, 1916) (Fog, 1950), je tomuto fenoménu “kompartmentalizovaného” zánětu v oblasti mening v posledních 2 dekáдах opět věnována pozornost. Tento vztah mezi zánětlivým procesem v oblasti mening a přiléhajícím parenchymem je již dobře popsán v oblasti mozku (v subpiálních částech kortexu) u části pacientů se SPRS (Magliozzi et al., 2010) a podporuje teorii o přímém patogenetickém působení mediátorů produkovaných tímto meningeálním infiltrátem (např. TNF, IL6, IFN $\gamma$ , CXCL13 and Semaphorin A) (Dendrou et al., 2015). Toto “uzavření” a nepřístupnost perzistujících patogenních B-, ale i T-lymfocytárních klonů v intrathekálním prostoru, odkud mediátory těchto buněk trvale přispívají k zánětu parenchymu, se také považuje za jeden z důvodů výrazně nižší účinnosti či neúčinnosti imunomodulačních terapií u pacientů s progresivní RS. Souvislost mezi meningeálním zánětem a poškozením parenchymu míchy

prokázal histopatologicky Androdias (Androdias et al., 2010) v post mortem studii u 18 pacientů s progresivní RS. U těchto progresivních pacientů byly pouze nečetné perivaskulární T-buněčné infiltráty, zatímco difúzní ztráta axonů korelovala jak se zánětem v parenchymu (kde dominovaly CD68 makrofágy/mikroglie a jen ojediněle byly přítomny T-lymfocyty), tak v oblasti mening (kde jasně dominovaly T-lymfocyty, jejichž hustota zde byla 15x vyšší než v parenchymu). Velmi zajímavý byl v této studii také těsný vztah T-lymfocytů a meningeálních makrofágů exprimujících MHC glykoprotein třídy II, což by mohlo svědčit pro to, že makrofágy prezentují antigeny T-lymfocytům intrathekálně *in situ*. Recentně bylo prokázáno, že jedním z hlavních a zatím neprobádaných rysů patologického procesu v míše u RS je zánět lokalizovaný v oblasti mening. Rozsah zánětlivé infiltrace (vyšší množství lymfocytů v oblasti leptomening a perivaskulárních prostorů) odpovídal rozsahu postižení parenchymu míchy, aktivaci mikroglie, demyelinizaci a ztrátě axonů (Reali et al., 2020). Stejná skupina, která popsala B-lymfocytární subpiální infiltraci v mozku, recentně prokázala, že část pacientů se SPRS, u kterých byly post mortem zjištěny patologické folikuly dendritických buněk a dělících se B-lymfocytů připomínající lymfatickou tkáň, má podobné meningeální postižení i v míše. Pacienti s infiltrací v oblasti mening v mozku měli také rozsáhlejší míšní poškození než pacienti bez mozkových meningeálních infiltrátů. Hustota CD20+ B-lymfocytů v oblasti leptomening korelovala s hustotou meningeálních CD4+ T-lymfocytů, dále s hustotou CD20+ a CD4+ lymfocytů v perivaskulárních oblastech bílé hmoty míšní, s objemem míšních ložisek a s rozsahem poškození axonů pouze u pacientů s mozkovými meningeálními infiltráty (Reali et al., 2020). Zajímavým konceptem, který by svědčil pro souvislost mezi poškozením míchy a zánětlivým prostředím v likvorovém prostoru, je představa, že zánětlivé meningeální infiltráty v oblasti mozku i míchy produkují solubilní faktory, které poškozují parenchym buď difúzně, a/nebo aktivaci mikroglie a makrofágů (Kutzelnigg et al., 2005) (Lassmann, 2019). Tento koncept „surface-in“ gradientu bude detailněji popsán v části 1.4.

### **1.2.3.5 Atrofie míchy**

Všechny výše uvedené mechanismy mohou mimo jiné přispívat k atrofii míchy. Atrofie míchy je výrazná, dochází k ní velmi časně a její tíže kolísá v různých částech míchy. K nejvýraznějšímu úbytku došlo přibližně ve třetím roce onemocnění (Evangelou et al., 2005), což je zásadní vzhledem k možnosti časného terapeutického zásahu. Ve stejné práci se ukázalo, že ztráta tkáně v oblasti ložiska nekoreluje s velikostí míchy v úrovni daného ložiska, což však neznamená, že ložiska nepřispívají k celkovému poškození a úbytku tkáně



míchy. V mozkových ložiscích dochází k poškození axonů (Ferguson et al., 1997) (Trapp et al., 1999), jejich následné degeneraci a úbytku objemu bílé hmoty, pravděpodobně mechanismem Wallerovy degenerace. Podobné procesy lze očekávat i v oblasti míchy, kde bylo také pozorováno významné snížení počtu axonů jak v ložiscích, tak v normálně vypadající míše (Lovas et al., 2000). Překvapivě však nebyla zjištěna korelace mezi atrofií míchy a objemem mozkových ložisek. Denzita axonů v míše navíc nekorelovala s objemem postranních provazců (Ganter et al., 1999) ani s plochou průřezu míchy (Petrova et al., 2018). Výsledky histopatologických studií zkoumající relativní úbytek bílé a šedé hmoty i korelaci s trváním choroby nejsou jednotné. Zatímco Gilmore našel významnou atrofii bílé hmoty míšní, přičemž objem šedé hmoty se u pacientů s RS významně nelišil od kontrol (Gilmore et al., 2005), recentnější histopatologická studie prokázala u atrofických mích pacientů spíše stejnoměrnou atrofii obou typů tkáně – snížení plochy bílé hmoty mezi 19 a 24% a šedé hmoty mezi 17 a 21% (Petrova et al., 2018). V práci Evangelou bylo trvání RS důležitým prediktorem atrofie míchy, naopak Petrova prokázala korelaci trvání choroby s denzitou axonů, zatímco kros-sekční plocha míchy, bílé ani šedé hmoty s trváním choroby nekorelovala (Bjartmar et al., 2003) (Petrova et al., 2018). Ke změnám objemu míchy totiž přispívají pravděpodobně další procesy, vedoucí k úbytku objemu míchy, např. ztráta myelinu a neuronů, ale i procesy zvětšující objem míchy, např. edém a glióza. Ideálním nástrojem pro porozumění dynamiky atrofie míchy u RS je jistě longitudinální sledování pomocí MR. Hodnocení míchy u RS pomocí MR jsou shrnuty v další části.

#### **1.2.4 Hodnocení patologie míchy pomocí magnetické rezonance**

Přestože bylo publikováno několik doporučení (Wattjes et al., 2015) (Traboulsee et al., 2016) (Rovira & De Stefano, 2016), protokoly pro zobrazení míchy při diagnostice i monitorování RS jsou stále velmi heterogenní. Zvýšená dostupnost MR a recentní poznatky o významu míchy u RS by měly vést ke vzniku standardizovaného protokolu pro diagnostický proces a identifikaci pacientů s nepříznivou prognózou, u kterých je třeba eskalovat terapii. Role konvenčního MR zobrazení míchy v monitoraci onemocnění stále není zcela jasná, protože MR míchy je ve srovnání s MR mozku považována za méně senzitivní pro detekci aktivity onemocnění, zvyšuje časové i finanční nároky vyšetření, a proto je ve většině RS center mícha vyšetřována jen u vybraných pacientů, tedy většinou u pacientů s novými míšními symptomy nebo u pacientů, jejichž horšení nelze vysvětlit nálezem na MR mozku. Recentní práce však ukazují, že pravidelné sledování míchy u stabilních pacientů bez progresu na MR mozku může odhalit asymptomatickou aktivitu

RS (Zecca et al., 2016) a pravidelné vyšetření míchy by tedy mohlo zlepšit monitoraci a rozhodování o léčbě. Dalším argumentem pro vyšetření míchy je možnost měření atrofie míchy. Přestože klinický význam měření atrofie míchy byl prokázán v několika studiích, zatím se klinicky rutinně nepoužívá a jen několik málo klinických studií hodnotilo protizánětlivý a neuroprotektivní vliv léků na míchu, výsledky byly heterogenní. Dále by k porozumění patofyziologie míchy u RS i k individualizaci léčby mohly přispět kvantitativní MR techniky (zejména techniky založené na difúzi a magnetizačním transferu), které umožňují zkoumat mikrostrukturální změny míchy (např. demyelinizaci, remyelinizaci a ztrátu axonů), metabolické a funkční změny. Vysoké nároky při vyšetření a nejednoznačná interpretace výsledků ale zatím brání použití v klinické praxi.

#### ***1.2.4.1 Technické aspekty, protokol***

MR míchy je u pacientů s RS indikována méně často než MR mozku. Důvodem jsou částečně technické problémy se zobrazením velmi malé, částečně pohyblivé struktury. Plocha průřezu míchy je v úrovni C2 přibližně 90 mm<sup>2</sup> a ve srovnání s mozkem je mícha obklopena relativně větším množstvím mozkomíšní tekutiny, kostěných struktur a tuku. MR míchy navíc ovlivňují pohybové artefakty, zejména v souvislosti s dýcháním, srdeční akcí a pulzací mozkomíšního moku (Kearney et al., 2015). Vyšetření míchy by mělo proběhnout na 1.5T či 3T přístroji. 3T MR má vyšší poměr signálu k šumu, může snížit čas vyšetření a tím snížit výskyt pohybových artefaktů (Phalke et al., 2006), zároveň je ale náchylnější k artefaktům způsobeným nehomogenitami magnetického pole, vaskulární pulsací a chemickým posunem. Na rozdíl od MR mozku zatím u míchy nebylo prokázáno, že by silnější magnetické pole (3T) vedlo k vyšší senzitivitě k detekci ložisek v míše a mělo tak dopad na diagnostická McDonaldova kritéria (Stankiewicz et al., 2009) (Hagens et al., 2018). **Tabulka 2** shrnuje doporučené sekvence pro hodnocení postižení míchy u pacientů s RS. Přítomnost fokálních ložisek se hodnotí většinou na PDw, T2w a STIR sekvenci. STIR a PD sekvence jsou senzitivnější než T2w sekvence (Chong et al., 2016). STIR je však také náchylnější k artefaktům a měl by tedy být kombinován s další sekvencí. Alternativou ke STIR sekvenci může být PSIR či MPRAGE. Pokud je nález na sagitálních sekvencích nejasný, mohou axiální 2D či 3D T2w sekvence pomoci určit, zda se jedná o ložisko a upřesnit jeho topografické umístění v míše (Weier et al., 2012). Protože ložiska se mohou vytvořit kdekoli v míše, doporučuje se zobrazení celé míchy. Krční i hrudní míchu ale nelze zobrazit v jedné sekvenci a zobrazení celé míchy výrazně prodlužuje akviziční čas. Aby se

zkrátila doba vyšetření bez zásadní ztráty senzitivity, může být akceptovatelné i zobrazení horní poloviny míchy (od C1 po Th5) (Rocca et al., 2020).

**Tabulka 2.** Doporučené MR sekvence pro hodnocení postižení míchy u pacientů s RS

Krční a hrudní mícha	Doporučené sekvence
T2-hyperintenzní ložiska	<p><b>Sagitální zobrazení</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dual Echo (T2-vážený and PD-vážený) konvenční a/nebo FSE</li> <li>- STIR (jako alternativa k PD)</li> </ul> <p><b>Axiální zobrazení</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 2D nebo 3D T2-vážený FSE</li> <li>- 2D nebo 3D T2-vážený GE</li> <li>- 2D FFE</li> </ul> <p>(+ DIR)</p>
T1-hypointenzní ložiska	<p><b>Sagitální zobrazení</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 2D PSIR</li> <li>- 3D T1-vážená MPRAGE</li> </ul> <p><b>Axiální zobrazení</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 2D PSIR</li> </ul> <p>(+ MP2RAGE)</p>
Gadolinium-enhancující ložiska	<p>T1 SE nebo GE po podání gadoliniové kontrastní látky s odstupem <math>\geq 5</math> minut</p> <p>Prekontrastní T1-vážená sekvence</p>
Míšní GM/WM ložiska	<p><b>Axiální zobrazení</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 2D nebo 3D T2-vážená FSE</li> <li>- 2D nebo 3D T2-vážená GE</li> <li>- 2D PSIR</li> </ul>
Difúzní změny	<p><b>Sagitální zobrazení</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dual Echo (T2-vážená and PD-vážená) konvenční a/nebo FSE</li> </ul>
Atrofie	Prekontrastní 3D T1-vážená sekvence, 3D MPRAGE

Zkratky: 2D=dvojdímenzionální; 3D=trojdímenzionální; FFE=fast-field echo; FSE=fast spin-echo; GE=gradient echo; GM=gray matter; MPRAGE=magnetization-prepared rapid gradient echo; MT=magnetization transfer; PD=proton density; PSIR=phase-sensitive inversion recovery; SE=spin echo; STIR=short tau inversion recovery; WM=white matter. Tabulka adaptována z Rocca 2020 a Rovira, DeStefano 2016

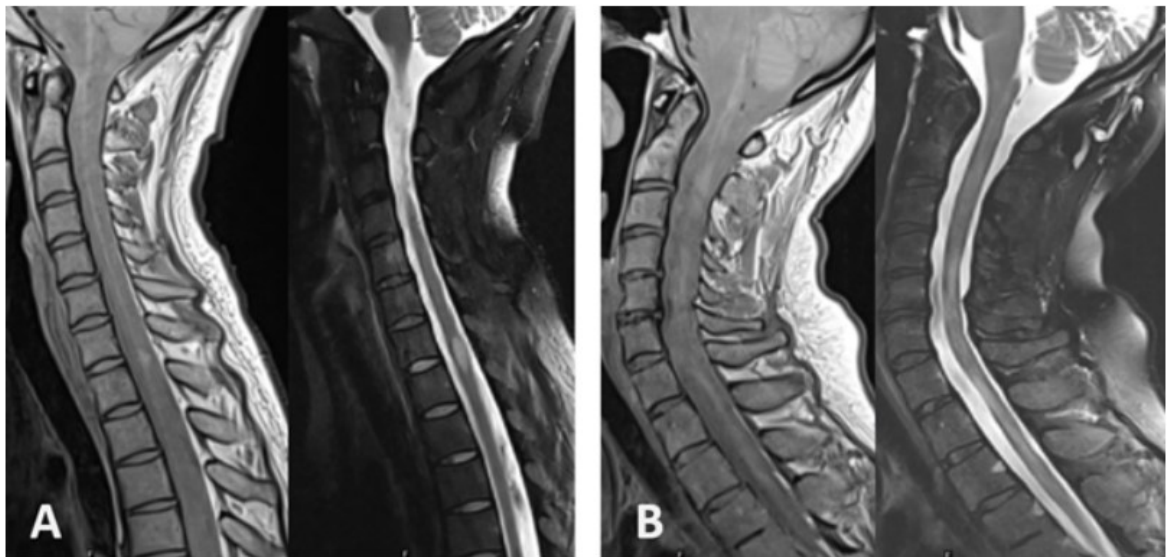
#### 1.2.4.2 Fokální ložiska a difúzní změny

U RS rozlišujeme dva základní vzorce abnormálního signálu v míše, které se liší histopatologicky: 1) fokální, jasně ohraničená ložiska a 2) difúzní změny (Lycklama et al., 2003). Příklady našich 2 pacientů ukazuje **Obrázek 5**. Fokální ložiska jsou definována jako jasně ohraničené, hyperintenzní oblasti viditelné v minimálně 2 sekvencích (T2, STIR, PD) nebo ve dvou rovinách. Nejčastěji se vyskytují v krční míše (až 59% všech míšních ložisek)

(Weier et al., 2012) (Kerbrat et al., 2020), ale mohou se vyskytovat v průběhu celé míchy. Míšní ložiska u RS většinou nepřesahují polovinu plochy míchy a co se týče délky, nejsou delší než dva míšní segmenty a jejich vzhled na MR se popisuje jako „doutníkovitý“ v sagitální rovině a klínovitý v axiálních řezech (Weier et al., 2012) (Geert J. Lycklama À Nijeholt et al., 1997) (Bot et al., 2004a) (Ciccarelli et al., 2019). Ložiska postihují nejčastěji laterální provazce (68-75% ložisek), šedou hmotu (26-38% ložisek), zadní provazce (26-38% ložisek) a méně často provazce přední (2-6%) (Ciccarelli et al., 2019) (Weier et al., 2015) (Gass et al., 2015) (Eden et al., 2019) (Kearney et al., 2015). Celkový počet a objem ložisek s postižením koreluje velmi slabě (Stankiewicz et al., 2009) (Andelova et al., 2019), nicméně při zohlednění lokalizace ložisek se již korelace ukazuje. Pomocí 3D fast field echo sekvence a 3D PSIR sekvence lze spolehlivě hodnotit zvláště ložiska v šedé a bílé hmotě (Kearney et al., 2015). Kearney prokázal, že podíl pacientů s ložisky zasahujícími do šedé hmoty je vyšší u pacientů s RRRS ve srovnání s CIS (OR 8.3) a u pacientů se SPRS ve srovnání s RRRS (OR 10.1). V další práci týkající se topografie ložisek v míše se ukázalo, že ložiska v postranních provazcích a v centrální oblasti míchy jsou častěji nalézána u SPRS a PPRS a korelují významně s EDSS (Eden et al., 2019). Ve shodě s těmito výsledky se na 7T MR ukazuje „gradient“ výskytu ložisek. U pacientů s RRRS je nejvíce ložisek demyelinizace lokalizována zejména subpiálně v oblasti jejího zevního obvodu a směrem do centrálních oblastí jich ubývá, zatímco pacienti se SPRS mají více ložisek uložených centrálně (Ouellette et al., 2020). Přestože při použití 1.5T MR se zdálo, že míšní ložiska mají pouze zřídka T1 hypointenzní korelát, recentnější 3T MR studie dokládají, že až 97% míšních ložisek je T1 hypointenzních (Nair et al., 2013) (Paola Valsasina et al., 2018). Ve srovnání s mozkovými ložisky je u míšních ložisek méně často pozorován patologický enhancement a pokud je přítomen, je většinou krátkodobý (méně než 4 týdny) a spíše nodulární než prstenčitý (Klawiter et al., 2010). V akutní fázi je často pozorován edém míchy, což komplikuje interpretaci měření jejího objemu. V pozdějších fázích může být naopak přítomna fokální atrofie. Fokální míšní léze jsou patrné až u 90% pacientů s RS (Weier et al., 2012) (Gass et al., 2015) (Lycklama et al., 2003) (Bot et al. 2004).

Difúzní změny jsou oblasti splývajícího abnormálního lehce zvýšeného signálu bez ostrého ohraničení viditelné nejlépe v PD-sekvenci na sagitálních řezech (Hua et al., 2015a). Difúzní ložiska jsou častější u progresivních typů RS (Lycklama À Nijeholt et al., 1998), nicméně u některých pacientů jsou přítomna již v časných fázích onemocnění (Coret et al., 2010). Histopatologický podklad difúzních změn není zcela objasněn a pravděpodobně se jedná

o kombinaci demyelinizace, axonální degenerace, gliózy a dalších mechanismů (Lycklama à Nijeholt et al., 2001) (Bergers et al., 2002) (Santos et al., 2002) (Bot et al., 2004) (Bellenberg et al., 2013). Difúzní změny jsou spojeny s progresivním průběhem onemocnění, vyšším stupněm postižení a atrofií míchy (Lycklama à Nijeholt et al., 1997) (Ciccarelli et al., 2019) (Coret et al., 2010) (Lukas et al., 2013). I přes tyto prognosticky nepříznivé vlastnosti nejsou difúzní změny zahrnuty do diagnostických kritérií pro RS vzhledem k obtížnosti jejich správného hodnocení a k nízké specifitě.



**Obrázek 5.** A. Příklad fokálního, dobře ohraničeného ložiska demyelinizace v oblasti C7/Th1u pacientky s časnou RS. B. Příklad difúzně zvýšeného PD i T2 signálu v celém rozsahu zobrazené krční a horní hrudní míchy, překvapivě také u pacientky s časnou RS.

#### ***1.2.4.3 Diagnóza a diferenciatní diagnóza***

Míšní ložiska jsou od roku 2001 součástí diagnostických kritérií pro RS (McDonald et al., 2001) a zůstala zahrnuta i v dalších revizích kritérií. V aktuálně platných kritériích z roku 2017 (Thompson et al., 2018) je mícha jednou ze čtyř nezávislých oblastí CNS, kde se typicky vyskytují ložiska a kde se hodnotí jejich diseminace v prostoru. Na rozdíl od předchozích verzí kritérií se pro diseminaci v čase a prostoru uznávají jak symptomatická, tak asymptomatická fokální míšní ložiska, zatímco difúzní změny do diagnostických kritérií nepřispívají (Thompson et al., 2018). Doporučený protokol pro zobrazení míchy shrnuje **Tabulka 2** a **Tabulka 3** uvádí klinické situace, ve kterých je a není zobrazení míchy doporučeno. V klinické praxi je MR vyšetření míchy doporučováno u všech pacientů, kteří se manifestují míšními příznaky, zejména k vyloučení jiných diagnóz, než je RS, při progresi onemocnění již od počátku příznaků a také pokud je nález na MR mozku při zvažované

diagnóze RS nejednoznačný (např. pro odlišení leukoaraiózy, jiných zánětlivých onemocnění CNS, ložisek u migreniků) nebo nález na MR mozku nespĺňuje plně kritéria RS, např. diseminaci v prostoru. Zobrazení míchy se ale důrazně doporučuje u všech pacientů při diagnóze RS (bez ohledu na příznaky), protože kromě diagnostiky slouží i k odhadnutí prognózy (viz. dále) a v našem RS centru se u všech nově diagnostikovaných pacientů provádí MR míchy v oblasti C1-Th4-5. Hodnocení MR míchy je dále velmi důležité pro diferenciální diagnózu RS, protože 1. MR míchy je u některých „RS mimics“ (např. u cévních ložisek či migrény) vždy negativní a 2. postižení míchy se vyskytuje u dalších neurologických zánětlivých infekčních i neinfekčních onemocnění, u nádorových, paraneoplastických, kompresivních, vaskulárních a karenčních onemocnění (Ciccarelli et al., 2019). Nejčastější diferenciální diagnózou míšních ložisek u RS jsou neinfekční zánětlivé myelopatie, zejména onemocnění ze spektra neuromyelitis optica (NMOSD), onemocnění spojené s protilátkami proti myelinovému oligodendrocytárnímu proteinu (anti-MOG), akutní diseminovaná encefalomyelitida (ADEM), neurosarkoidóza, systémové vaskulitidy a onemocnění pojiva, např. Behcetova choroba. Klasická NMOSD ložiska jsou většinou delší (tři a více míšních segmentů), ale až u 1/3 pacientů jsou popisována i ložiska kratší (Flanagan et al., 2015). Na rozdíl od pacientů s RS jsou u více než poloviny pacientů s NMOSD popisována na axiálních T2-vážených obrazech tzv. ‘bright spotty’ ložiska v centrální oblasti míchy (Yonezu et al., 2014) a v akutní fázi může být přítomen edém míchy. U myelitidy spojené s přítomností protilátek proti MOG se mohou vyskytovat jak longitudinální extenzivní ložiska delší než 3 míšní segmenty, tak krátká ložiska (< 2 segmenty). Bez ohledu na délku tato ložiska často zasahují do šedé i bílé hmoty a na průřezu míchy zaujímají > 50% a mohou být spojena s edémem míchy. Jako vysoce specifický znak se uvádí postižení míšního konu, „patchy“ či „cloud-like“ heterogenní, neostře ohraničené syčení kontrastní látky a pseudodilatace ependymálního kanálku. Jako specifický znak se také popisuje postižení šedé hmoty ve formě centrální tenké hyperintenzní linie v sagitálním T2-váženém obraze obklopené méně neostře ohraničenou („cloudy“) hyperintenzitou a „H-sign“ v axiálním řezu (Dubey et al., 2019) (Denève et al., 2019). Postižení míchy se popisuje také u 1/3 pacientů s ADEM. Charakteristická jsou splývavá dlouhá edematózní ložiska, enhancement kontrastní látky je přítomen asi ve 1/3 případů (Pohl et al., 2016). Myelitida se může také vyskytovat u nově popsané autoimunitní astrocytopatie s přítomností protilátek proti gliálnímu fibrilárnímu acidickému proteinu (GFAP). Míšní ložiska jsou dlouhá, neostře ohraničená, na T2-vážených obrazech hyperintenzní a v oblasti centrálního kanálku a subpiálně může být přítomen tenký pruh

sycení kontrastní látky. Ložiska nebývají edematózní jako myelitidy u NMOSD (Flanagan et al., 2017) (Sechi et al., 2019). Pro neurosarkoidózu je charakteristický lineární subpiální leptomeningeální enhancement zasahující někdy až do oblasti míšních kořenů a tzv. „příznak trojzubce“ (kombinace subpiálního a centrálního enhancementu) na axiálních řezech (Flanagan et al., 2016). U myelitidy při Behcetově chorobě (která je u této choroby vzácná) bývá jedno či několik oddělených ložisek, které většinou postihují více než 2-3 segmenty. Popisují se 2 typy postižení charakteristických pro myelitidu u Behcetovy choroby: 1. „bagel sign“: častá je centrálně uložená léze s hypointenzním středem a hyperintenzním okrajem na axiálním T2-váženém obraze, u které může i nemusí být enhancement a 2. vzácnější „motor neuron pattern“ se symetrickými hyperintenzitami v oblasti předních rohů míšních v T2-váženém obraze (Uygunoglu et al., 2017).

**Tabulka 3.** Navržený klinický postup pro MR zobrazení míchy u pacientů s Roztroušenou sklerózou. Modifikováno z (Maria A. Rocca et al., 2020).

Klinická situace		Cíl(e)	Doporučení
<b>Náhodný/vedlejší nález</b>	Pacienti s radiologicky izolovaným syndromem	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Identifikace asymptomatického ložiska</li> <li>• Stanovení prognózy</li> </ul>	Doporučuje se (minimálně jedno zobrazení míchy)
<b>Diagnostický proces při prvních příznacích RS</b>	Pacienti manifestující se s míšními symptomy	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vyloučení alternativních diagnóz</li> <li>• Identifikace symptomatických a asymptomatických ložisek</li> <li>• Stanovení prognózy</li> </ul>	Doporučuje se (minimálně jedno zobrazení míchy) s co nejmenším odstupem od prvních příznaků
	Pacienti bez míšních symptomů, u nichž je podezření na RS (zejména pokud je MR mozku nekonklusivní / nespĺňuje diagnostická kritéria RS; např. “cévní” změny na MR u pacientů vyššího věku, změny u pacientů s migrénou, jiná zánětlivá onemocnění)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Zvýšení senzitivity, specifity a přesnosti diagnostických kritérií</li> <li>• Identifikace asymptomatických ložisek</li> <li>• Stanovení prognózy</li> </ul>	Doporučuje se (minimálně jedno zobrazení míchy) s co nejmenším odstupem od prvních příznaků
	Pacienti s progresí již od počátku onemocnění	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vyloučení alternativních diagnóz</li> <li>• Zvýšení senzitivity, specifity a přesnosti diagnostických kritérií</li> <li>• Identifikace symptomat. a asymptomatických ložisek</li> <li>• Stanovení prognózy</li> </ul>	Doporučuje se (minimálně jedno zobrazení míchy) s co nejmenším odstupem od prvních příznaků a poté minimálně jednou za dva roky nebo v případě náhlého zhoršení průběhu onemocnění
	Všichni ostatní pacienti s podezřením na RS	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Zvýšení senzitivity, specifity a přesnosti diagnostických kritérií</li> <li>• Identifikace symptomat. a asymptomatických ložisek</li> <li>• Stanovení prognózy</li> </ul>	Doporučuje se (minimálně jedno zobrazení míchy) s co nejmenším odstupem od prvních příznaků
	Pacienti manifestující se optickou neuritidou	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kromě výše uvedeného vyloučení onemocnění ze spektra neuromyelitis optica</li> </ul>	Doporučuje se (minimálně jedno zobrazení míchy) s co nejmenším odstupem od prvních příznaků
	<b>Léčba a monitorování RS</b>	Pacienti s míšní atakou	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Identifikace nového symptomatického ložiska</li> </ul>
	Pacienti s postupnou progresí nezávislou na atakách	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Identifikace nových symptomatických a asymptomatických ložisek</li> <li>• Vyloučení další (míšní) komorbidit</li> </ul>	Doporučuje se
	Stabilní pacienti	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Identifikace nových asymptomatických ložisek</li> </ul>	Nedoporučuje se



#### ***1.2.4.4 Prognóza a monitorování průběhu onemocnění***

Nepříznivý prognostický význam postižení míchy a intrakraniálních infratentoriálních struktur (mozkový kmen a mozeček) je znám již velmi dlouho (Barkhof et al., 1997). Přítomnost intrakraniálních infratentoriálních (Minneboo et al., 2004) (Tintore et al., 2010) (Silveira et al., 2020) a míšních (Arrambide et al., 2018) (Brownlee et al., 2019) ložisek v těchto oblastech je spojena u pacientů s klinicky izolovaným syndromem s vyšším rizikem konverze do definitivní RS, s rizikem progresu postižení a progresivního průběhu onemocnění. Recentní studie ukazuje, že časná míšní ložiska jsou spojena s výrazně vyšším rizikem 6- i 11-leté progresu postižení (odds OR 3.6 a OR: 2.8), zajímavé však je, že pacienti se současným výskytem infratentoriálních i míšních ložisek ale neměli vyšší riziko progresu postižení než pacienti s ložisky v pouze jedné z těchto oblastí (Dekker et al., 2019). Jediná práce zabývající se difúzními změnami v časném stadiu RS prokázala, že výrazně více pacientů s difúzními změnami dosáhlo během následného sledování EDSS 4 (25% pacientů bez difúzních změn vs. 69.2% pacientů s difúzními změnami) a vyšší bylo také riziko přechodu do sekundárně progresivní fáze (7.7% pacientů bez difúzních změn vs. 66% pacientů) (Coret et al., 2010). Klinický význam míšních ložisek také dokládá nedávno popsaná zajímavá forma demyelinizačního onemocnění, tzv. progresivní solitární skleróza (Keegan et al., 2016), u níž vede jediné strategicky uložené ložisko demyelinizace k progredujícímu postupnému motorickému deficitu, aniž by přibývala další ložiska a aniž by se objevovaly klinické relapsy z jiných lokalizací. V dosud největší kohortě třiceti pacientů mělo 27 pacientů izolované ložisko v míše a 5 pacientů v oblasti cervikomedulární junkce (Keegan et al., 2016).

#### ***1.2.4.5 Atrofie míchy***

Bez ohledu na výše uvedené technické a metodologické překážky se vzhledem k jasnému významu míchy u RS hledají robustnější markery poškození míchy, než je přítomnost ložisek, zejména markery poškození a ztráty axonů. Atrofie míchy na magnetické rezonanci u pacientů s RS je považována za ukazatel neurodegenerace (Brex et al., 2001) (Gass et al., 2015) a za jednu z hlavních příčin dlouhodobé fyzické disability (zodpovídá až za 77% motorického postižení) (Kearney et al., 2015) (Tsagkas et al., 2018) (Cicarelli et al., 2019) (Lukas et al., 2015) (Bonati, 2011), je patrná již v časných fázích onemocnění a progreduje rychleji než atrofie mozku. Rychlost atrofie mozku se uvádí v rozmezí mezi 0.1% a 0.3%/rok u zdravých jedinců a mezi 0.5% a 1% u pacientů s RS (De Stefano et al., 2007). U míchy

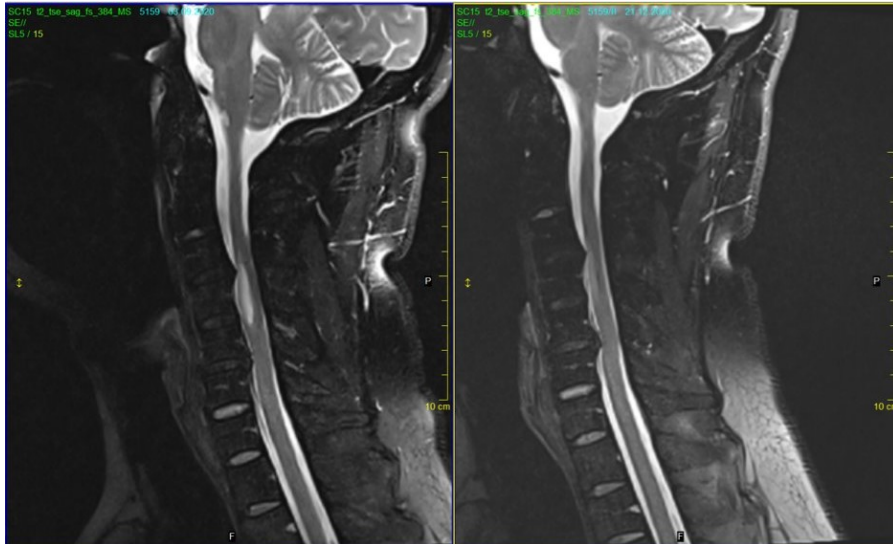
byla pozorována fyziologická atrofie u zdravých pouze 0.06%/rok, zatímco u pacientů s RS až 1.78%/rok (Casserly et al., 2018).

Od doby, kdy Losseff a jeho kolegové před 25 lety změřili kros-sekční plochu míchy pacientů s RS a prokázali její vztah s klinickým postižením pacientů (Losseff et al., 1996), bylo toto pozorování mnohokrát potvrzeno (podrobná meta-analýza (Casserly et al., 2018)). Ve srovnání s metodou měření atrofie mozku, která je již široce uznávaná a validovaná a která se již využívá v klinických studiích (je součástí konceptu No Evidence of Disease Activity „NEDA-4“) a ve větších RS centrech včetně našeho i v rutinní klinické praxi, není měření atrofie míchy součástí běžného monitorování pacientů. Zatím neexistuje žádný „zlatý standard“ metody měření a v klinických studiích je atrofie míchy využívána zatím ojediněle (viz. níže).

Výsledky studií, které se zaměřily na objem míchy v časných stadiích onemocnění, jsou částečně protichůdné – zatímco některé práce dokládají jasnou atrofii míchy u pacientů s CIS a RS ve srovnání se zdravými jedinci (Brownlee et al., 2017)(Brex et al., 2001) (Biberacher et al., 2015)(Hagström et al., 2017)(Moccia et al., 2019), jiné studie rozdíl nepotvrdily (Rocca et al., 2011) (Klein et al., 2011)(Rocca et al., 2019). Příčinou může být heterogenita pacientů v jednotlivých studiích, použití rozdílných metod a v neposlední řadě patofyziologické procesy, které mění objem míchy oběma směry (např. zánět, otok, demyelinizace, ztráta axonů a glióza), které mohou být zejména v časných stadiích onemocnění velmi dynamické a přispívat k variabilitě výsledků. **Obrázek 6** ilustruje tyto dynamické změny u našeho pacienta. U pacientů v pozdějších fázích RS je již v průřezových studiích nález atrofie míchy zcela jasný. Atrofie je méně závažná u pacientů s benigní RS (Filippi et al., 1996) (Rocca et al., 2011) a více vyjádřená u pacientů s progresivními formami postižení, dlouhým trváním onemocnění a vyšším stupněm postižení (Casserly et al., 2018). Nedávno byla také popsána „kraniokaudální progresse“ míšní atrofie. Zatímco u pacientů s RRRS byla atrofie patrná mezi segmenty C1 a C5, u pacientů s progresivními formami RS byla atrofie rozsáhlejší a zahrnovala i kaudálnější segmenty (Rocca et al., 2019). Rozdíl rozsahu postižení míchy u jednotlivých typů, resp. stadií RS se ukazuje i v mapování míchy založené na voxelech. Ve srovnání se zdravými subjekty se u pacientů s RRRS ukázaly lokalizované okrsky atrofie, zejména v oblasti zadních provazců. U pacientů se SPRS bylo postižení míchy opět více difúzní a zahrnovalo i postranní provazce (Valsasina et al., 2018) (Valsasina et al., 2012) (Rocca et al., 2013). Ve shodě s histopatologickými studiemi poukazují i zobrazovací metody na částečnou nezávislost

atrofie a ložisek. Mapování topografie T2-hyperintenzních a T1-hypointenzních fokálních míšních ložisek ukázalo, že lokalizace ložisek a regionální atrofie se překrývá pouze částečně a výsledky naznačují, že atrofie není prostý následek akumulace ložisek (Pravata et al., 2020). Pokroky v možnostech segmentace míchy (viz. 1.2.4.5.1) umožňují hodnocení šedé a bílé hmoty míšní a prokazují mírné zmenšení objemu šedé hmoty již ve velmi časných fázích onemocnění, které pravděpodobně předchází atrofii bílé hmoty míšní. Atrofie šedé hmoty v oblasti krční i hrudní míchy byla pak závažnější a relativně více vyjádřená než atrofie bílé hmoty i v progresivní fázi RS a korelovala s postižením nejlépe ze všech prediktorů v modelu zahrnujícím i normalizovaný objem bílé a šedé hmoty mozku, objem T1-hypointenzních ložisek v mozku, plochu bílé hmoty míchy a počet míšních fokálních ložisek (Schlaeger et al., 2014) (Schlaeger et al., 2015). Jak bylo zmíněno výše, longitudinální studie ukazují relativně rychlejší atrofii míchy než mozku, která překvapivě není rychlejší u SPRS než u RRRS (Tsagkas et al., 2018), ale je více vyjádřená u pacientů s progresivními formami RS a u pacientů, u kterých dochází ke zhoršení postižení. Každé 1% zvýšení rychlosti roční atrofie míchy bylo spojeno s 28% rizikem zhoršení postižení v následujícím roce, a to jak u pacientů s RRRS, tak u pacientů se SPRS (Tsagkas et al., 2018).

Předpokládáme-li odlišnou rychlost atrofie mozku a míchy (jak bylo uvedeno výše) a porozumíme-li lépe normalizaci míchy (viz. 1.2.4.5.2), mohlo by vzhledem k vyšší rychlosti atrofie míchy použití měření atrofie míchy jako primárního výstupu v preklinických a klinických studiích umožnit menší velikost vzorku při stejné statistické síle. Zatím byla atrofie míchy jako výstup použita pouze v několika spíše menších, monocentrických klinických studiích. I zde jsou výsledky nejednoznačné. Plocha průřezu míchy se nelišila mezi pacienty s RRRS a SPRS léčenými interferonem beta (INF- $\beta$ ) ve srovnání s placebem (Lin et al., 2003), nicméně jiná studie ukázala, že u pacientů s RRRS léčených INF- $\beta$  (Dupuy et al., 2016) či glatiramer acetátem (Singhal et al., 2017) byla rychlost atrofie míchy srovnatelná se zdravými jedinci, což naznačuje neuroprotektivní efekt imunomodulační léčby. U pacientů s PPRS INF- $\beta$  významně neovlivnil rychlost atrofie míchy (Leary et al., 2003) (Montalban et al., 2009). Zkoumal se také neuroprotektivní efekt riluzolu, který u pacientů s PPRS mírně zpomalil roční atrofii míchy a lamotriginu (Kalkers et al., 2002), který u pacientů se SPRS efekt na atrofii míchy neměl (Kapoor et al., 2010).



**Obrázek 6.** Vliv edému v oblasti akutního fokálního ložiska na objem míchy („pseudoatrofie“). V levé části vidíme edematózní ložisko v akutní fázi, v pravé části je po 3 měsících již ložisko výrazně zmenšené, takže měření objemu prokáže „pseudoatrofii“. Nález doprovází diskopatie, která však v tomto případě není příčinou myelopatie.

#### 1.2.4.5.1 Segmentační techniky

Pro měření objemu míchy zatím neexistuje metoda, která by se dala označit za zlatý standard a která by byla používána dominantně podobně jako SienaX resp. Siena, součást softwaru FSL pro měření objemu resp. atrofie mozku (Smith et al., 2002) (Smith et al., 2004). Existuje mnoho přístupů k segmentaci míchy z MR obrazu. Segmentační metody lze dělit dle několika hledisek. Dle míry interakce s uživatelem se dělí na manuální, semi-automatické a plně automatické. Dále můžeme tyto metody dle charakteru vstupních dat členit na 2D- a 3D segmentační algoritmy, a konečně rozlišujeme metody podle samotného způsobu realizace segmentace, kde není dělení zcela jednotné a techniky se často kombinují do hybridních metod. Uvádíme rozdělení segmentačních metod z článku dle De Leenera shrnující většinu technik segmentace míchy (De Leener et al., 2016). De Leener rozlišuje 1. „intensity based“ metody, kam patří metody založené na prahování, metody založené na detekci hran a metody založené na regionech; 2. „surface based“ metody, kam patří např. metoda aktivních kontur/povrch (včetně B-spline a level sets segmentace) a deformovatelné modely a 3. „image based“ metody, které zahrnují morfometrickou segmentaci metodou rozvodí a metody založené na atlasech. Výčet není kompletní a metody pro segmentaci míchy, její šedé a bílé hmoty, jednotlivých provazců a ložisek se stále vyvíjí, kombinují a stále více je využíváno strojové učení. Například metoda segmentace míchy i míšních ložisek založená na sekvenci dvou konvolučních neuronových sítí, která byla testována na

multicentrickém, vysoce heterogenním souboru zdravých subjektů i pacientů s RS je spolehlivější než výše uvedené zatím používané metody (Gros et al., 2019). Změny objemu míchy jsou většinou stanovovány pomocí metod založených na opakované segmentaci volumetrických obrazů míchy (např. kros-sekční plocha míchy) v jednotlivých časových bodech. Atrofie míchy je u těchto metod vypočtena nepřímo prostým odečtením hodnot z jednotlivých časových bodů a její reproducibilita a citlivost na změnu je relativně nízká (Prados et al., 2016). Longitudinální metody měření atrofie míchy, u kterých je atrofie hodnocena přímo naproti tomu významně snižují šum (pravděpodobně jsou méně ovlivněny partial volume efektem) a variabilitu měření (Moccia et al., 2019).

#### *1.2.4.5.2 Normalizace míchy*

Plocha průřezu míchy v krční oblasti u dospělých zdravých osob se typicky pohybuje mezi 67 a 101 mm<sup>2</sup> (Losseff et al., 1996) (Bernitsas et al., 2015) (Casserly et al., 2018), nicméně inter-individuální variabilita je velká, což limituje využití objemu a atrofie míchy jako zobrazovacího diagnostického a prognostického biomarkeru u RS i jeho využití pro skupinová srovnání mezi pacienty. Papinutto v recentní studii ukázal, že zdrojem této variability je pohlaví, zatímco vliv věku není výrazný. Zajímavé bylo pozorování, že na rozdíl od globálního objemu mozku a objemu šedé hmoty mozku dosahoval objem míchy a šedé hmoty míšni maxima až kolem 45. roku věku (Papinutto et al., 2020). Toto pozorování musí být potvrzeno v dalších studiích, protože porozumění rozdílům ve vývoji a stárnutí mozku a míchy je zásadní pro interpretaci nálezů týkajících se atrofie u pacientů s RS a dalšími onemocněními CNS s podílem neurodegenerace.

Ohledně významu a správné metody normalizace objemu či kros-sekční plochy získané pomocí MR obrazu nemáme mnoho jednotných dat. V neurozobrazovacích metodách se často používá normalizace celého mozku nebo jeho částí pomocí intrakraniálního objemu (ICV), protože se předpokládá, že ICV je u dospělých neměnný a jedinci s větším ICV mají větší objem mozku a tyto rozdíly ve velikosti nejsou ovlivněné nemocí (výjimkou by mohla být RS vzniklá v dětském věku, resp. před dosažením maximálního objemu ICV a mozku). Normalizaci pomocí ICV lze dělat buď regresním modelem nebo proporční metodou (vydělení objemu normalizačním faktorem) (Sanfilippo et al., 2004). Pro normalizaci objemu se rovněž zkoušela normalizace pomocí ICV, tělesnou výškou, délkou míchy, objemu durálního vaku, maximálního a středního sagitálního průměru intrakraniální plochy, výšky

obratlových těl, průměru míšního kanálu či počtem řezů (Zivadinov et al., 2008) (Healy et al., 2012)(Song et al., 2008) (Oh et al., 2014).

Několik prací se snažilo otázku normalizace míchy vyřešit srovnáním korelací normalizovaného a nenormalizovaného objemu míchy s klinickými výstupy, výsledky jsou však nejednotné, pravděpodobně kvůli malému množství probandů a rozdílné metodologii (některé skupiny měří míchu v úrovni C2/3, jiné v úrovni C3/4, heterogenní skupiny dle postižení, neporovnatelné klinické výstupy). Zivadinov srovnával použití nenormalizovaného objemu míchy a objem normalizovaný na objem durálního vaku a ICV a jejich schopnost rozlišit pacienty s RS od zdravých jedinců. Nejvíce spolehlivé a zároveň nejsenzitivnější bylo použití nenormalizovaného objemu míchy (Zivadinov et al., 2008). Nejrecentnější práce zabývající se normalizací míchy a její šedé hmoty u zdravých jedinců ukázala, že nejefektivnější byla normalizace pomocí V-scale (ze SienaX), který v podstatě odpovídá ICV a pomocí průměru páteřního kanálu v úrovni C2 a C3. Normalizace založená na těchto proměnných snížila variabilitu až o 17.8% (Papinutto et al., 2020).

#### **1.2.4.6 Kvantitativní MR techniky**

Vzhledem k nízké specificitě PD a T2-vážených sekvencí pro patologii u RS a vzhledem k výše popsaným problémům s měřením objemu míchy se v současné době stále více zkoumají kvantitativní MR techniky umožňující neinvazivní *in vivo* hodnocení mikrostrukturálních změn míchy. K nim patří především techniky založené na magnetizačním transferu (MT), difúzi a magneticko-rezonanční spektroskopie. Obecně se parametry difúze považují za markery neuroaxonální integrity a parametry odvozené od MT za markery myelinizace, nicméně se ukazuje, že jak MT, tak DTI parametry (RD, MD i FA) odráží jak závažnost demyelinizace, tak počet axonů (Klawiter et al., 2011) (Mottershead et al., 2003). Dalším problémem je technická náročnost a obtížná porovnatelnost výsledků získaných v rozdílných protokolech. Vzhledem k tomu, že se tato práce nezabývá kvantitativním zobrazením míchy, nálezy vybraných studií týkajících se kvantitativní MR míchy pouze shrnuje **Tabulka 4**.

**Tabulka 4.** Nálezky získané pokročilými kvantitativními MR technikami u jednotlivých typů RS a jejich klinické a /nebo histopatologické koreláty.

Technika	RS vs. kontroly	Klinický korelát a / nebo histopatologický korelát	Reference
<b>Techniky založené na difúzi</b>			
DTI	Žádné změny u RIS ↑ MD a RD u RRRS a SPRS ↓ FA u RRRS a SPRS ↓ FA u CIS konvertujících do definitivní RS	EDSS Funkce horních končetin Funkce dolních končetin	(Kearney et al., 2015) (Alcaide-Leon et al., 2018) (Toosy et al., 2014)
DTI (post mortem)		Hodnoty $D_{rad}$ , FA i MD reflektují demyelinizaci, ale i ztrátu axonů	(Klawiter et al., 2011)
QSI	↑ ADC <sub>xy</sub> , FWHM <sub>xy</sub> , P0 <sub>xy</sub> u PPMS ↓ ADC <sub>z</sub> , FWHM <sub>z</sub> , P0 <sub>z</sub> u PPMS	Spasticita Posturální instabilita Senzorická dysfunkce	(Cortese et al., 2017) (Abdel-Aziz et al., 2015)
NODDI	↓ $v_{in}$ v ložiscích u RRRS ↑ ODI v NAWM i ložiscích u RRRS		(Collorone et al., 2020)
NODDI (post mortem)		Silná korelace mezi kvantitativním histologickým indexem, tzv. „circular variance“ (variabilita orientace neuritů) a ODI	(Grussu et al., 2017)
SMT	↓ $v_{ax}$ u RRRS		(By et al., 2018)
<b>Relaxometrie a techniky založené na magnetizačním transferu</b>			
T1, T2, MTR (post mortem)	↑ T1 a T2 ↓ MTR	Korelace ↑ T1 a T2 a ↓ MTR s rozsahem demyelinizace (↑ T2 času korelovalo s obsahem myelinu překvapivě lépe než MTR) Korelace ↓ MTR s plochou průřezu míchy	(Joseph C.J. Bot et al., 2004)
T1, T2, MTR (post mortem, ale nefixováno, 7T)		Střední silná až silná korelace mezi obsahem myelinu i denzitou axonů a mezi MTR, T1 a PD	(Mottershead et al., 2003)
MTR	↓ u RIS ↓ u RRRS	EDSS	(Alcaide-Leon et al., 2018) (Oh et al., 2013) (Combès et al., 2018)
Myelin water fraction	↓ u PPRS ↓ u RRRS	EDSS Funkce dolních končetin	(Laule et al., 2010) (Combes et al., 2017)
MTSat	n/a	EDSS Funkce dolních končetin	(Lema et al., 2017)
MTR	HC > CIS > RRMS > SPMS a PPMS	Nalezen vztah mezi MTR v oblasti zevní části míchy (pia a subpiální oblast) a atrofií míchy	(Hugh Kearney et al., 2014a)
multicomponent relaxometry+ myelin water fraction (post mortem)		T2 jako dobrý marker myelinu v šedé hmotě míšni	(Laule et al., 2016)
<b>MR spektroskopie</b>			
MRS (myo-inositol – marker aktivity a proliferace astrocytů)	↑ v ložiscích u PPRS	Posturální instabilita	(Abdel-Aziz et al., 2015)
MRS (NAA/Cr)	↓ u všech typů RS	EDSS Funkce horních končetin Funkce dolních končetin	(Bellenberg et al., 2013a)
MRS (NAA)	↓ u všech typů RS	EDSS Spasticita Posturální instabilita Senzorická dysfunkce	(Abdel-Aziz et al., 2015)
MRS (Glx)	↓ u PPMS	Posturální instabilita	(Abdel-Aziz et al., 2015)
<b>Funkční MR</b>			
BOLD fMRI	↓ v ložiscích u RRRS ↑ v perilezionálních oblastech		(Conrad et al., 2018)

ADC, apparent diffusion coefficient; BOLD, blood oxygenation level-dependent; Cr, kreatinin; DTI, diffusion tensor imaging; EDSS, expanded disability status scale; FA, fractional anisotropy; fMRI, funkční MR; FWHM, full-width half-maximum; Glx, glutamát and glutamin; MD, mean diffusivity; MR, magnetická rezonance; MRS, magneticko rezonanční spektroskopie; RS roztroušení skleróza; RRRS, relaps remitentní roztroušená skleróza; PPMS primárně progresivní roztroušená skleróza; MT, magnetizační transfer; MTR, magnetization transfer ratio; MTSat, kvantitativní MT saturace; NAA, N-acetyl-aspartát; NAWM, normálně vypadající bílá hmota; NODDI, neurite orientation dispersion and density imaging; ODI, orientation dispersion index; P0xy, zero displacement probability; QSI, q-space imaging; RD, radiální difúzivita; RIS, radiologicky izolovaný syndrom; SMT, spherical mean technique;  $V_{ax}$ , axonal volume fraction;  $v_{in}$ , intra-neurite volume fraction

## **1.3 Mapování narušené konektivity mozku u RS**

### **1.3.1 Motivace pro studium konektomu u RS**

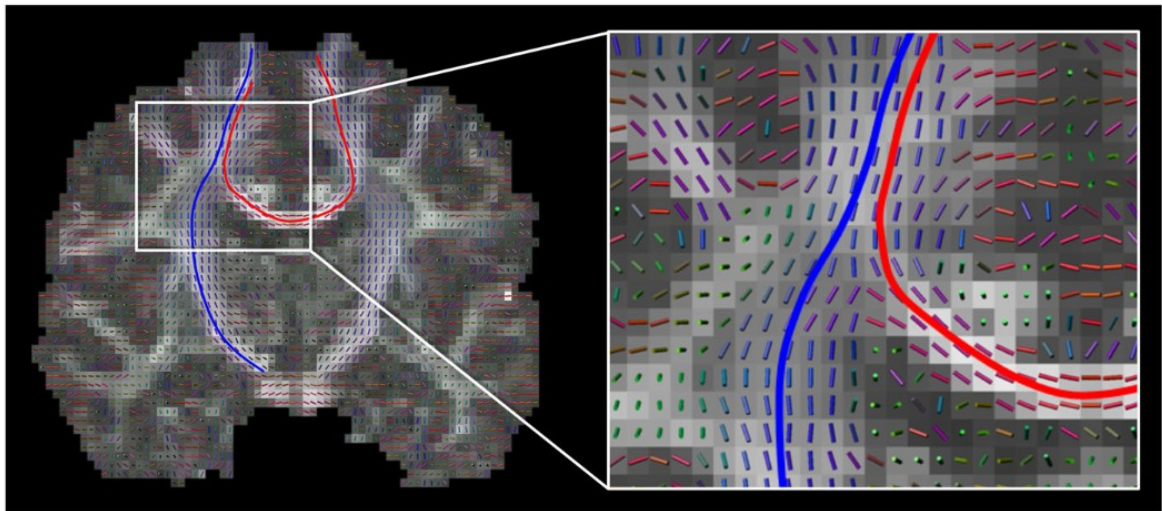
Jak bylo popsáno v odstavci 1.1.5, (klinicko-radiologický paradox), jedním z problémů hodnocení patologie RS pomocí parametrů získaných z konvenční MR (počet a objem ložisek, ale i volumetrie) je, že dostatečně neodráží narušení spojení mezi částmi centrální nervové soustavy a její reorganizaci a jen slabě korelují s klinickým stavem a dlouhodobou prognózou pacienta. Dostupnost kvalitních zobrazovacích metod umožňujících mapování strukturální a funkční konektivity a metodologické pokroky vedou k výraznému rozvoji výzkumu mozku ve smyslu konektomiky, která leží na pomezí neurovědy a tzv. „síťové vědy“ (network science) a umožňuje studium topologické organizace mozku u pacientů s neurologickými a psychiatrickými onemocněními včetně RS (Bullmore & Sporns, 2012).

Konektivitu lze určit buď mapováním (anatomických) spojů mezi jednotlivými regiony mozku, analýzou (funkčních) vztahů mezi neuronální aktivitou v jednotlivých oblastech, nebo hodnocením podobností strukturálních charakteristik (např. tloušťky kortexu) jednotlivých oblastí mozku. Dvěma hlavními MR metodami k hodnocení strukturální mozkové konektivity jsou MR traktografie (zejména zobrazení difúzního tenzoru (DTI)) a 3D T1-vážené obrazy.

### **1.3.2 Traktografie založená na datech z difúzní MR**

Modelování strukturální konektivity nahlíží na mozek nejčastěji jako na jeho jednotlivé (kortikální) oblasti, které jsou spojeny strukturálními drahami (Hagmann et al., 2008). Svazky vláken bílé hmoty jsou identifikovány pomocí deterministické či probabilistické traktografie získané z difúzního zobrazení (Behrens et al., 2007).





**Obrázek 7.** Koronální řez mozku ukazuje vektorové pole s lokální převažující orientací vláken a dvě „streamlines“ – modrá je součástí kortikospinální dráhy a červená je součástí corpus callosum. Tečny obou streamlines jsou paralelní k lokálnímu vektorovému poli v celém jejich průběhu. Obrázek i popis převzaty z (Jeurissen et al., 2019).

Traktografie založená na difúzním zobrazení v nejjednodušší podobě vychází z (ne zcela přesného) předpokladu, že každý voxel je charakterizovaný jednou hlavní orientací vláken a skládá informace o lokální orientaci do globálních trajektorií vláken (**Obrázek 7**). Matematicky se v traktografii nahlíží na soubor lokálních orientací vláken jako na třídímní vektorové pole a na trajektorie vláken jako na jeho streamlines, tedy křivky, která jsou v každém bodě tečné k vektorovému poli (Conturo et al., 1999). Difúzní MR využívá sekvenci citlivou k neuspořádanému a neustálému mikroskopickému pohybu molekul, zejména molekul vody. Pohyb molekul vody je ovlivněn fyzikálně-chemickými vlastnostmi intra- i extracelulárního prostředí, přítomností a integritou dalších struktur, jako jsou buněčné membrány, myelinové obaly axonů, makromolekuly, vaskulární a subcelulární struktury. Uspořádání nervových vláken v mozku vede k závislosti pohybu molekul vody na jejich směru, protože pohyb molekul vody má „méně překážek“ ve směru paralelním s uspořádáním vláken než ve směru na vlákna kolmém, a měřením difúzního MR signálu v každém voxelu lze usuzovat na lokální orientaci vláken. To je výchozí předpoklad veškerých modelů v difúzním zobrazení. V současnosti je hlavní technikou používanou pro charakterizaci orientace vláken a hodnocení strukturální konektivity měření difúzního tenzoru (diffusion tensor imaging, DTI). Podrobný popis principu DTI (Ibrahim Ibrahim & Tintěra Jaroslav, 2013) (Jeurissen et al., 2019) přesahuje rozsah této práce. Další technikou traktografie je diffusion spectrum imaging (DSI), metoda používaná ke komplexnímu

vyobrazení probíhajících vláken v jednotlivých voxelech pomocí 3D spektra difúzního signálu, která na rozdíl od DTI umožňuje i zobrazení křížení vláken v nervové tkáni (Wedeen et al., 2008). Tuto techniku zmiňujeme, protože u jedné z kohort v projektu diskonektomu (3.2) byla traktografie založená na DSI použita pro validaci na atlasu založeného modelu diskonektomu.

Pro rekonstrukci nervových svazků bílé hmoty je používána řada algoritmů, které lze rozdělit do dvou základních skupin: deterministické a pravděpodobnostní. Deterministické metody využívají lokální informaci tenzoru v každém voxelu (Ibrahim Ibrahim & Tintěra Jaroslav, 2013). Mezi hlavní zástupce této skupiny patří trasování hlavních vektorů difúzního elipsoidu v jednotlivých voxelech - tzv. streamline tracking techniky. K rekonstrukci dráhy se využívají mnohočetná deterministická rozhodnutí (průběh dráhy pokračuje: „ano – ne“) (Conturo et al., 1999) a ke spojení voxelů lze použít řadu algoritmů, z nichž nejpoužívanější je Fiber assignment by continuous tracking (FACT) (Tournier et al., 2011). Pravděpodobnostní algoritmy spočívají v hledání možných trajektorií mezi předem definovanou oblastí (seed) a dalšími oblastmi mozku. V oblastech, ve kterých je zjištěna vyšší hustota trajektorií, se předpokládá vyšší pravděpodobnost spojení s předem určenou oblastí. Difúzní zobrazení má celou řadu limitací. Je nutné si uvědomit, že (na rozdíl např. od elektronové mikroskopie) nezobrazuje difúzní MR individuální vlákna přímo, ale pouze pomocí hodnocením průměrné difúze molekul vody. Zatímco nervová vlákna v mozku jsou skutečné objekty, „svazky vláken“ či „streamlines“ získané pomocí traktografie jsou virtuální veličiny a odráží skutečná nervová vlákna pouze *nepřímo*. Každý voxel bílé hmoty může obsahovat stovky až tisíce nervových vláken i dalších mikroskopických struktur. Difúzní tenzor je schopen rozlišit v každém voxelu pouze jednu populaci vláken a ve voxelech s komplexní architekturou vláken (ohýbání, křížení vláken či partial volume efekt) nereprezentuje orientaci vláken správně a interpretace výsledků závisí na akvizičních parametrech a metodě rekonstrukce a traktogramy získané rozdílnými technikami se mohou výrazně odlišovat (Jeurissen et al., 2019). Dalším problémem je, že difúzní data jsou náchylná k artefaktům. Traktografické algoritmy jsou také vysoce senzitivní ke dvěma hlavním časově náročným akvizičním parametrům: prostorovému rozlišení a parametrům q-prostoru (Calabrese et al., 2014). V klinické praxi je akviziční čas zásadní limitací a protokoly s difúzními sekvencemi odpovídajícími vysokým nárokům jsou proto používány velice zřídka. K dalším technickým limitacím traktografie u RS patří vliv ložisek v bílé hmotě na difúzní vlastnosti (Tievsky et al., 1999), což může interferovat s traktografickým

algoritmem (Ciccarelli et al., 2008), i když přibývá technik, jak tyto rušivé efekty zmírnit (Pawlitzki et al., 2017)(Lipp et al., 2020).

### **1.3.3 Mapování mozkových sítí na podkladě 3D T1-vážených obrazů**

Druhou možností, jak rekonstruovat strukturální konektivitu, je použití strukturální kovariance objemu či tloušťky kortexu mezi jednotlivými oblastmi mozku (Mechelli et al., 2005) (Lerch et al., 2006), které se v dalším textu nevěnujeme.

### **1.3.4 Hodnocení mozkových sítí pomocí teorie grafů**

Architektura neuronálních sítí je charakterizovaná neuronálními spoji a jejich architekturou (topologií). Důležitým přístupem k modelování (narušených) mozkových sítí se v posledních letech stala teorie grafů. „Graf“ zde reprezentuje mapu konektivity. Mozek je v grafově teoretické analýze nahlížen jako soubor uzlů, které představují jednotlivé anatomické oblasti, a hran či spojů, které reprezentují sílu či interakci mezi dvěma uzly (oblastmi mozku). Teorii grafů lze uplatnit na strukturální i funkční MR data, jejichž uzly jsou v obou případech lokalizovány v oblastech šedé hmoty. Hrany mohou reprezentovat dráhy bílé hmoty spojující jednotlivé uzly, synchronizaci funkční MR aktivity v oblastech šedé hmoty, nebo kovarianci kortikálních struktur (např. tloušťky kortexu). Na základě vztahu uzlů a hran jsou pak definovány topologické vlastnosti grafu, které kvantifikují globální a lokální organizaci sítě.

Topologické vlastnosti sítí mohou být definovány na různých úrovních – na globální úrovni odráží vlastnosti týkající se celého grafu (např. „small-worldness“, průměr a průměrná délka nejkratší cesty, globální efektivita, modularita, asortativita), zatímco na lokální úrovni odráží vlastnosti uzlů a jejich okolí (např. sílu uzlu, shlukovací koeficient, distribuce stupňů, closeness a betweenness centralita) (De Vico Fallani et al., 2014). Není jasné, které z topologických charakteristik odvozených z analýzy mozkových sítí (**Tabulka 5**), mají největší význam pro patologii a zdraví mozku. V patologických stavech jsou některé charakteristiky neuronálních sítí zachovány, zatímco jiné jsou narušeny.

**Tabulka 5.** Vlastnosti mozkových sítí a některé z topologických parametrů, které tyto vlastnosti odrážejí (tučně jsou vyznačeny parametry, které jsme hodnotili)

Vlastnost mozkových sítí	<i>Funkční segregace</i>	<i>Funkční integrace</i>	<i>„Small world“ konektivita (sítě „malého světa“)</i>	<i>Centralita</i>	<i>Resilience</i>
Co vlastnost popisuje	Schopnost funkční specializace v silně propojených oblastech mozku	Schopnost rychle kombinovat specializované informace z různých oblastí mozku	Rovnováha mezi funkční integrací a segregací	Důležitost uzlu z hlediska jeho interakce s dalšími regiony	Vulnerabilita a odolnost sítě v případě jejího poškození
Příklady jednotlivých parametrů použit v této práci	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Transitivita</b></li> <li>• <b>Shlukovací koeficient</b></li> <li>• Modularita</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Charakteristická (nejkratší) délka cesty</b></li> <li>• <b>Globální efektivita</b></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Smallworldness</b> („malosvětiskost“)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Betweenness centralita</b> (Centralita měřená středovou mezípolohou)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Asortativita</li> <li>• Distribuce stupňů uzlů</li> <li>• <b>Konektivita sousedů</b></li> </ul>

### 1.3.5 Konektom a diskonektom

Jako konektom se označuje ucelený anatomický popis sítí tvořících lidský mozek (Sporns et al., 2005). Mozkové spoje a dráhy, které lze mapovat pomocí difúzní MR, jsou u RS narušeny přítomností ložisek v bílé hmotě, což komplikuje hodnocení v místech, kde je část dráhy narušena ložiskem. Na druhou stranu lze na konektivitu bílé hmoty narušenou ložisky nahlížet z perspektivy diskonektomu, tedy zkoumat, jak ložiska ovlivňují topologické vlastnosti neuronálních sítí a kvantifikovat „rozpojení“ oblastí šedé hmoty v důsledku fokálních ložisek (Foulon et al., 2018) (Fox, 2018).

### 1.3.6 Mapování konektomu bez difúzního zobrazení

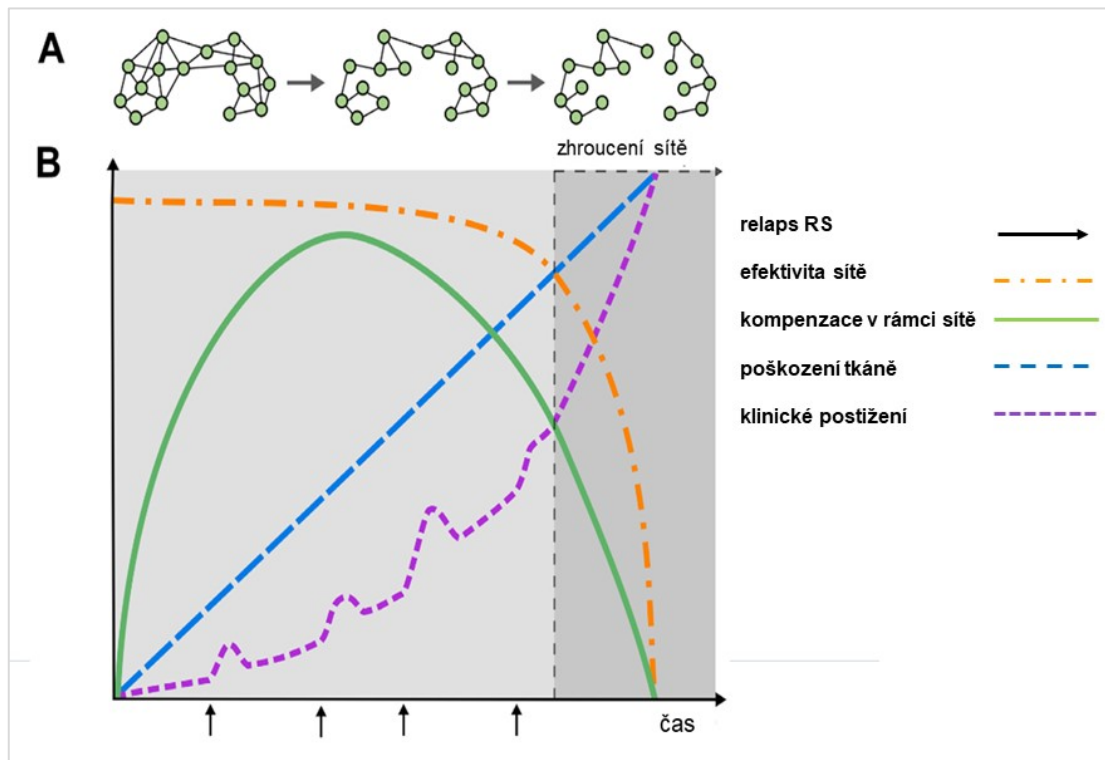
Výše uvedené limitace difúzního zobrazování jsou motivací pro modelování strukturální mozkové konektivity a jejího narušení bez nutnosti akvizice difúzních MR sekvencí. Jednou z možností je modelování diskonektomu s využitím populačního atlasu. Pokročilé neurozobrazovací metody umožnily vytvoření detailních populačních atlasů mozku na podkladě dat zdravých dobrovolníků, které mapují (mimo jiné) i trajektorie bílé hmoty (Rojkova et al., 2016) (Griffis et al., 2021) a mohou být použity k hodnocení dopadu ložisek na dráhy bílé hmoty (Griffis et al., 2017) (Thiebaut De Schotten et al., 2014). V recentních pracích (Ravano et al., 2019) (Griffis et al., 2021) byla konektivita modelována s použitím traktografického atlasu, který byl vytvořen na základě dat 842 zdravých jedinců ve věku 22-36 let (Yeh et al., 2018) v rámci projektu lidského konektomu (Human Connectome Project) (Van Essen et al., 2012). Griffis et al. vytvořili nedávno volně dostupný nástroj, který

kvantifikuje dopad fokálních ložisek (v šedé hmotě) na konektivitu bílé hmoty mozku (výstupem je procento „diskonekce“ v příslušném voxelu) a který rovněž pomocí teorie grafů hodnotí dopad ložiska na topologické vlastnosti strukturálních mozkových sítí (<https://wustl.box.com/v/LesionQuantificationTool>). Přístup k modelování diskonektomu u pacientů s RS v této práci je velmi podobný metodě Griffise, nehodnotí nicméně fokální poškození šedé, ale bílé hmoty.

### **1.3.7 RS jako diskonekční syndrom**

V posledních letech se objevují pokusy charakterizovat postižení centrální nervové soustavy u RS pomocí hodnocení strukturální diskonektivity. Ložiska demyelinizace v bílé hmotě vedou k poškození axonů, a to nejen lokálně, ale i ve vzdálenějších oblastech příslušné dráhy (Droby et al., 2015). Ireverzibilní poškození a ztráta axonů jsou podkladem atrofie a hlavními příčinami klinického postižení (Trapp et al., 1998) (Ferguson et al., 1997) (Kuhlmann et al., 2002) (Singh et al., 2017). Současně s poškozením axonů pravděpodobně dochází k narušení konektivity a snížení efektivity mozkových sítí a RS lze tedy chápat podobně jako další neurologická a psychiatrická onemocnění jako diskonekční syndrom (Rocca et al., 2015). Kromě ložisek v bílé hmotě může RS patologie ovlivnit neuronální sítě i dalšími strukturálními a funkčními faktory jakými jsou zánět, hypoxie, hypoperfúze, mitochondriální dysfunkce, poruchu funkce sodíkových kanálů a deficit neurotransmiterů. Na úrovni neuronálních sítí byla u RS pozorována porucha integrace a segregace jednotlivých komponent sítí, vedoucí k narušení toku informací mezi oblastmi mozku. V jedné z prvních prací využívající teorii grafů u pacientů s RS He et al. rekonstruovali konektivitu šedé hmoty na podkladě kovariance tloušťky kortexu a analyzovali vlastnosti takto vytvořeného konektomu ve vztahu k ložiskům v bílé hmotě. Se zvyšujícím se objemem ložisek výrazně klesala lokální i globální efektivita konektomu založeného na kovarianci kortikální tloušťky. Se zvyšujícím se ložiskovým nálezem také klesala síla regionální korelace (průměrný rozsah korelace, kterým je určitý region / uzel propojen se zbytkem sítě), což bylo nejprve patrné pro insulu, precentrální gyrus, prefrontální a temporální asociační kortex (He et al., 2009). Shu et al. prokázali pomocí deterministické traktografie vztah mezi klinickým postižením hodnoceným pomocí EDSS, objemem ložisek v bílé hmotě a lokální i globální efektivitou konektomu. Nejvýraznější snížení efektivity bylo pozorováno v oblastech, které jsou součástí Default Mode Network (Shu et al., 2011). Narušení strukturální konektivity je spojeno také se zhoršením kognitivních funkcí (zejména pozornosti a exekutivních funkcí (Llufriu et al., 2017).

Současně s narušením konektomu dochází v časných fázích RS ke kompenzaci a reorganizaci mozkových sítí (přehled těchto studií uvádí (Fleischer et al., 2019)). Schopnost reorganizace je ale pravděpodobně jen dočasná a u funkční konektivity se ukazuje, že zatímco je přítomna ve fázi klinicky izolovaného syndromu, nebyla již pozorována v pozdějších fázích onemocnění (Roosendaal et al., 2010). Tuto vyčerpatelnost kompenzace ukazuje **Obrázek 8**.



**Obrázek 8.** A. Příklad postupných změn vlastností mozkové sítě s iniciálním vzestupem lokálního a modulárního zpracování. Kompenzace je ale dočasná a po určité době neudržitelná, efektivita sítě klesá a postupně dochází až k jejímu „zhroucení“. B. Průběh reorganizace mozkové sítě u RS také ukazuje počáteční kompenzaci udržující efektivitu sítě a relativně nízké klinické poškození a následnou dekompenzaci. Obrázek modifikován z (Fleischer et al., 2019) a (Schoonheim et al., 2015).

#### 1.4 T1 mapování a koncept „surface-in“ gradientu u RS

Menší část práce se věnuje T1 mapování a periventrikulárnímu gradientu T1 časů, který odráží nedávno popsany koncept „surface-in“ gradientu patologie u RS. Zjednodušeně lze na tento gradient nahlížet jako na maximální poškození tkáně v oblastech, které jsou nejbližší v oblastech „povrchu“ mozku a míchy, přičemž povrchem jsou myšleny oblasti, které jsou v kontaktu s mozkomíšním mokem, tedy zejména kortex (Samson et al., 2014), povrch

míchy, ale i periventrikulární oblasti bílé hmoty a oblast thalamu přiléhající k ependymu (Liu et al., 2015) (Brown et al., 2017) (takže pojem „surface-in“ je mírně zavádějící). Již od prvních popisů patologie u RS je jasné, že ložiskový proces nepostihuje centrální nervovou soustavu rovnoměrně a predilekční místa ložisek odráží i diagnostická kritéria, která zohledňují mimo jiné oblast v blízkosti komor (Dawson, 1916) a oblast v blízkosti kortexu (juxtakortikální oblast) (Kutzelnigg et al., 2005). Recentní kvantitativní MR studie ukazují, že i normálně vypadající šedá a bílá hmota je postižena nejvíce v blízkosti likvorových prostor (periventrikulárně) a kortexu (subpiálně) a že tyto gradienty jsou spojeny s klinickým stavem pacienta a odpovědí na léčbu, jak je uvedeno níže.

#### **1.4.1 Periventrikulární gradient**

Periventrikulární gradient se týká jak změn uvnitř ložisek, tak změn normálně vypadající bílé hmoty. Absolutní většina ložisek v bílé hmotě obklopuje tzv. „centrální věnu“ (na 7T MR lze centrální věnu pozorovat u 87% ložisek (Tallantyre et al., 2009) a hustota cév je nejvyšší právě v oblasti postranních komor (Narayanan et al., 1997) (na rozdíl od čtvrté komory, do které drénuje pouze malé množství cév) (Wang et al., 2010). Periventrikulární oblast je zároveň ale náchylnější k hypoperfúzi a hypoxii více než ostatní oblasti mozku (Varga et al., 2009) (Beggs, 2013). Příčinou této „venocentrické“ lokalizace ložisek by mohly být faktory dostávající se do tkáně z krve, nebo z likvoru (perivaskulárních prostorech komunikují se subarachnoidálním prostorem). Také histologická heterogenita ložisek částečně závisí na jejich lokalizaci – schopnost endogenní remyelinizace (Patrikios et al., 2006), která je na MR reflektována vymizením T1-hypointenzity ložiska, je v oblasti postranních komor výrazně omezena (Papadopoulou et al., 2014).

Také oblast bílé hmoty mimo makroskopicky viditelná ložiska (normálně vypadající bílá hmota, NAWM) není u RS postižena uniformně. Brown et al. jako první prokázali, že u zdravých jedinců existuje gradient patologie zkoumaný pomocí magnetizačního transferu (magnetization transfer ratio, MTR). MTR koreluje jak s myelinem, tak s počtem axonů (Schmierer et al. 2004), je u zdravých osob nejvyšší v blízkosti mozkových komor a klesá se vzdáleností od komor. U všech typů RS byly hodnoty MTR nejnižší (nejvíce abnormální) v těsné periventrikulární blízkosti, postupně (v oblasti cca. 1 - 5 mm od komor) stoupaly a ve větší vzdálenosti od komor se již podobaly hodnotám u zdravých osob (Brown et al., 2017) (Brown et al., 2020) (Liu et al., 2015). Gradient poškození periventrikulární bílé hmoty u pacientů s RS může predikovat odpověď na léčbu (Brown et al., 2020). MTR nálezy byly zreplikovány pomocí DTI, kde byl gradient u pacientů s pozitivními oligoklonálními pásy

výraznější než u pacientů, u kterých oligoklonální pásy nalezeny nebyly (Pardini et al., 2019). Gradient se výrazně lišil u pacientů, kteří během 2 let zkonvertovali do definitivní RS a u pacientů, kteří zůstali klinicky stabilní (Brown et al., 2017). Zdá se, že gradient je nezávislý na ložiscích bílé hmoty, protože jeho závažnost se neliší v závislosti na počtu T2-hyperintenzních a enhancujících ložisek a nálezy zůstávají stejné i po vyřazení „lemu“ tkáně z okolí ložisek (Brown et al., 2017)(Pardini et al., 2019). Gradient je patrný také v okolí třetí a čtvrté komory mozku, kde je na rozdíl od postranních komor nízká hustota cév a nižší pravděpodobnost výskytu ložisek (Pardini et al., 2017) a mechanismy vzniku ložisek a mechanismy zodpovědné za tento gradient se tedy pravděpodobně liší (Pardini et al. 2021). Jedním z prvních vysvětlení by mohlo být zcela recentní velmi zajímavé pozorování z kombinované PET a MTR studie, kde byl za použití [<sup>18</sup>F]-DPA714 TSPO ligandu aktivované mikroglie pozorován gradient imunopatologie, který odpovídal gradientu MTR abnormalit. Ve srovnání s klinicky stabilními pacienty se u pacientů s progresí disability ukázalo v periventrikulární oblasti vyšší procento voxelů odpovídající aktivovaným imunitním buňkám (Poirion et al., 2021). Z hlediska diferenciální diagnózy je důležité zcela recentní pozorování Cacciguerry et al., kteří opět potvrdili abnormální periventrikulární gradient pomocí DTI a pozorovali jej i u T1/T2 poměru, zatímco u pacientů s onemocněním z okruhu neuromyelitis optica (NMOSD) gradient pozorován nebyl (Cacciaguerra et al. 2021).

#### **1.4.2 Gradient v kortikální a hluboké šedé hmotě**

Kortikální ložiska jsou také lokalizována nejvíce na povrchu kortexu, v blízkosti likvorových prostor (subpiálně), přítomna jsou již v časně fázi onemocnění a u progresivní RS tvoří dvě třetiny všech kortikálních ložisek (Bø et al. 2003). Subpiální ložiska jsou lokalizována v blízkosti fokálních meningeálních infiltrátů (Howell et al., 2011) a je možné, že meningeální infiltráty jsou zdrojem faktorů, které se difúzí dostávají do mozkomíšního moku a poškozují přilehlé oblasti mozkové kůry, kterou mozkomíšní mok „omývá“ (Kutzelnigg et al., 2005) (Howell et al., 2011). V nejzevnějších oblastech mozkové kůry byl pozorován i největší úbytek neuronů doprovázený gradientem aktivace mikroglíí (Magliozzi et al., 2010). Kortikální „surface-in“ gradient MTR mají pacienti s všemi typy RS (Brown et al., 2020) (Samson et al., 2014), byl potvrzen i v sekvenci T2\* (hodnoty T2\* inverzně korelují s obsahem myelinu a železa) a je více vyjádřený u pacientů s déle trvající a progresivní RS (Mainero et al., 2015). Podobně jako v subpiální oblasti byl „surface-in“ gradient ztráty neuronů a aktivace mikroglíí i MTR gradient byl pozorován také v thalamu



(Pardini et al., 2017), i když v případě thalamu by bylo lepší nazývat gradient „ependym-in“ (Pardini et al., 2021). U dětských pacientů s RS je přítomen také odpovídající gradient atrofie thalamu, s maximálním úbytkem objemu v jeho části, která je v kontaktu s mozkomíšním mokem (Fadda et al., 2019).

### **1.4.3 Mícha**

Také v míše se ložiska objevují okolo cév a jsou lokalizována zejména v nejzevnější, subpiální vrstvě a zároveň i v oblasti centrálního kanálku. Na rozdíl od supratentoriálních oblastí je ale pravděpodobnost výskytu ložisek v míše v různých stádiích RS rozdílná. U pacientů s RRRS je nejvíce ložisek demyelinizace lokalizováno v oblasti jejího zevního obvodu (subpiálně) a směrem do centrálních oblastí jich ubývá, zatímco pacienti se SPRS mají více ložisek uložených centrálně (Ouellette et al., 2020). Analogicky jako v periventrikulárních oblastech je v oblasti zevního povrchu míchy v blízkosti mozkomíšního moku (subpiálně) MTR vyšší než v hlubší bílé hmotě. U pacientů s RS jsou hodnoty MTR ve stejných oblastech nižší než u zdravých kontrol (i u pacientů bez atrofie míchy) a významně korelují s atrofií míchy (Kearney et al., 2014b). I v další studii neměli pacienti s časnou RS sice atrofií míchy, ve srovnání se zdravými dobrovolníky měli ale abnormální hodnoty MTR, které nebyly homogenní, ale byly (bez ohledu na fokální ložiska) výrazně více vyjádřeny na periferii a v centru míchy, tedy v blízkosti likvorových prostor (Combès et al., 2018). Souvislost mezi meningeálním zánětem a poškozením parenchymu míchy byla prokázána podobně jako v oblastech kortexu i histopatologicky (Androdias et al., 2010). Tyto nálezy podporují teorii o pravděpodobném roli faktorů v mozkomíšním moku, které by mohly indukovat a udržovat patologii v přilehlé tkáni.

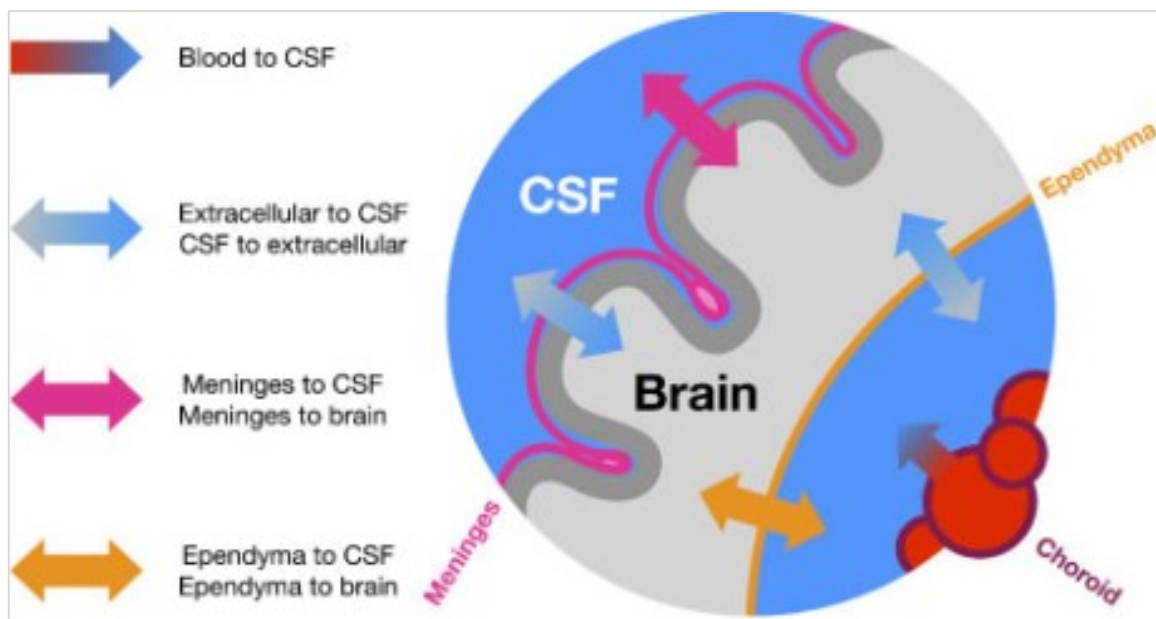
#### 1.4.4 Nervus opticus

Další oblastí relevantní pro RS, kde je centrální nervová soustava v těsném kontaktu s mozkomíšním mokem, je nervus opticus. Vzhledem k rozměrům n. opticus je zde průkaz gradientu spíše nepravděpodobný, ale bylo by zajímavé studovat vztah výše uvedených gradientů a poškození n. opticus např. pomocí vizuálně evokovaných potenciálů nebo optické koherenční tomografie.

#### 1.4.5 Příčiny „surface-in“ gradientů

Příčina periventrikulárního, kortikálního a míšního gradientu poškození tkáně není objasněna. Není sice jasné, zda se jedná o stejný proces, nicméně pozorování, že závažnost obou typů gradientů spolu koreluje a že periventrikulární poškození (gradient DTI) korelovalo s objemem kortikálních ložisek a kortikální atrofii, podporuje společnou příčinu (Pardini et al., 2017) (Jehna et al., 2015). Společným rysem všech tří gradientů je blízkost k likvorovým prostorům (**Obrázek 9**). Jako nejlepší vysvětlení gradientů se nabízí souvislost s meningeálním intrathekálním zánětem představujícím zdroj zánětlivých mediátorů (prozánětlivé cytokiny, např. IFN $\gamma$ , TNF, IL2 and IL22; molekuly stimulující aktivitu B-lymfocytů CXCL13, CXCL10, IL-6, IL-10; ceramidy, např. C24). Meningeální zánět není patrný na konvenčních MR sekvencích, ale výzkumně lze využít pro zachycení leptomeningeálního enhancementu post-kontrastní T2 FLAIR sekvence (Absinta et al., 2015) (Zivadinov et al., 2017). Leptomeningeální enhancement u pacientů s RRRS koreluje s počtem ložisek v kortikální šedé hmotě a thalamu (Zurawski et al., 2020).

Všechny tři typy gradientů korelují s klinickým postižením (Brown et al., 2020) (Kearney et al., 2014b) (Mainero et al., 2015) a léčba alemtuzumabem (Brown et al., 2020) (89) a temelimabem (Ciccarelli et al., 2019) periventrikulární MTR gradient zmírňovala. Proto by proces, který gradient způsobuje, mohl představovat důležitý terapeutický cíl a jejich zobrazení na MR by zároveň mohlo být důležitým markerem postižení a odpovědi na léčbu, zejména pokud by se potvrdilo, že gradient odpovídá axonálnímu postižení a je tedy *in vivo* markerem neurodegenerace.



**Obrázek 9.** Blízkost tkáně subarachnoidálního prostoru, resp. mozkomíšního moku, je spojena s vyšším stupněm poškození tkáně. Pro patologii mohou být relevantní jakékoli molekuly, které se difúzí mohou dostat do mozkomíšního moku včetně struktur, které jsou součástí extracelulární tekutiny mozku a krve (cestou plexus choroideus), což komplikuje hledání příčiny meningeálního a ependymálního zánětu. Patologie v oblasti mening i ependymu totiž nemusí být nutně zdrojem patologie zodpovědné za gradient, ale teoreticky i jeho důsledkem (Pardini et al., 2021). Podobný vztah platí i pro patologii v oblasti míchy a lze si ji představit i v oblasti optického nervu.

## 2 Cíle práce a hypotézy

Cíle a hypotézy jsou rozdělené do 3 částí – větší část práce se zabývá postižením míchy u RS a jejím sledováním pomocí konvenční MR a dvě menší části jsou věnované mapování narušené konektivity u RS a zobrazení gradientu poškození tkáně pomocí T1-relaxometrie.

### 2.1 Mícha

Hlavním cílem bylo testovat metodu měření plochy průřezu míchy v klinické praxi, pomocí této metody popsat velkou skupinu pacientů v různých fázích RS a zkoumat metody normalizace objemu míchy, prediktory objemu míchy a vztah plochy průřezu míchy s klinickým stavem pacientů. Na základě předchozích studií jsme předpokládali korelaci plochy průřezu míchy s klinickým postižením. Vzhledem k patologickým procesům, které mohou mít na objem míchy protichůdný efekt (edém, glióza, atrofie), bylo našimi hypotézami:

- (i) Objem míchy (resp. jeho zástupce MUCCA) koreluje s klinickým postižením pacientů s RS lépe, než počet míšních ložisek
- (ii) Přestože je MUCCA dobrý prediktor fyzického postižení, může jeho kombinace s informací o ložiskovém a difúzním postižením míchy dále zlepšit predikci postižení

Dalším cílem bylo objasnit roli míchy u podskupiny pacientů s diskrepancí mezi intrakraniálním ložiskovým postižením a klinickým nálezem. Naší hypotézou bylo:

- (iii) U pacientů s malým objemem intrakraniálních ložisek a vyšším stupněm postižení bude tuto diskrepanci vysvětlovat míšní postižení

Dalším cílem bylo zhodnocení patologie míchy u skupiny pacientů v časně fázi RS (trvání choroby < 5 let). Zajímaly nás zejména difúzní změny, které nejsou součástí diagnostických kritérií, a jejich vztah s objemem míchy, mozku a topografií intrakraniálních ložisek. Měli jsme následující hypotézy:

- (iv) Pacienti s difúzními změnami v oblasti míchy mají větší objem intrakraniálních ložisek a / nebo jinou distribuci intrakraniálních ložisek
- (v) Pacienti s difúzními změnami mají menší objem míchy než pacienti s normálně vypadající míchou a fokálními ložisky

## 2.2 Diskonektom

Cílem této části projektu bylo validovat model narušené konektivity mozku v důsledku ložisek v bílé hmotě (diskonektom), který nevyžaduje individuální difúzní zobrazení, ale je založen na traktografickém atlasu. Z tohoto modelu jsme pomocí grafově teoretické analýzy získali topologické parametry popisující narušenou konektivitu a srovnávali jsme je se stejnými parametry získanými z modelu založeném na klasické traktografii (DSI). Vycházeli jsme z těchto hypotéz:

- (vi) Nalezneme shodu mezi topologickými parametry diskonektomu získanými při použití metody založené na atlasu a parametry získanými z klasické traktografie
- (vii) Topologické parametry diskonektomu korelují s klinickým postižením lépe než konvenční parametry (objem a počet intrakraniálních ložisek)

## 2.3 T1-mapování

Hlavním cílem bylo zjistit, zda lze pomocí kvantitativního T1 mapování u pacientů s časnou a progresivní RS zachytit periventrikulární gradient poškození tkáně, který byl popsán pomocí jiných kvantitativních MR technik (MTR, DTI, MR spektroskopie). Předpokládali jsme:

- (viii) Rozdíly v T1 časech mezi pacienty s RS a zdravými jedinci jsou nejvyšší v oblastech nejbliž mozkovým komorám a se zvětšující se vzdáleností od komor postupně klesají
- (ix) Tento gradient T1 časů je výraznější u pacientů s vyšším postižením
- (x) Gradient T1 časů koreluje s postižením lépe než konvenční parametry (objem a počet intrakraniálních ložisek)

## 3 Metody

### 3.1 Míšní projekty

#### 3.1.1 Charakteristika souboru

Soubor tvořili pacienti v různých fázích RS, kteří jsou sledováni a léčeni v Centru pro demyelinizační onemocnění Neurologické kliniky 1. LF UK a VFN v Praze a kteří podstoupili diagnostické či pravidelné kontrolní vyšetření magnetickou rezonancí. Soubory pacientů se v jednotlivých projektech překrývaly (celkový soubor zahrnoval 2044 pacientů, pro normalizaci míchy bylo vybráno 300 pacientů, pro projekt „míšních fenotypů“ 1249 pacientů, pro projekt „diskrepančních“ pacientů bylo použito všech 2044 pacientů a pro projekt „časné RS“ 54 pacientů. Pro projekt „časné RS“ a pro projekt T1 mapování byla použita data celkem 102 zdravých dobrovolníků, kteří se podílí na longitudinálním projektu, jehož cílem je zejména vytvořit normativní hodnoty pro měření globálních a regionálních objemů mozku a míchy a psychometrická data. Demografická a magneticko-rezonanční data zdravých dobrovolníků shrnuje **Tabulka 6**.

**Tabulka 6.** Demografické a MR charakteristiky zdravých dobrovolníků

N (% muži)	102 (33%)
Věk (roky)	37.1 ± 10.3 (21.6 – 59.1)
Výška (cm)	172.0 ± 8.5
TIV (ml)	1453.5 ± 132.1
Celkový objem mozku (ml)	1162.2 ± 115.7
Mozkomíšni mok (ml)	291.2 ± 37.8
Šedá hmota (ml)	701.3 ± 68.6
Bílá hmota (ml)	460.1 ± 56.4
MUCCA (mm <sup>2</sup> )	89.5 ± 7.7 (73.7 – 112.9)

MUCCA = mean upper cervical cord cross-sectional area; TIV = totální intrakraniální objem

#### 3.1.2 MR protokol

Vyšetření u míšních projektů proběhla v rámci buď diagnostických (u kohorty časné RS) či rutinních (většinou každoročních) vyšetření pro monitoraci aktivity onemocnění na stejném přístroji (3T Skyra, Siemens Healthcare, Erlangen, Germany). Mícha byla hodnocena mezi cerviko-medulární junkcí (C1) a úrovní Th4-5. Detaily MR protokolu pro míšní projekty

shrnuje **Tabulka 7.** Zdraví dobrovolníci pro míšňí projekt a T1 mapování podstoupili vyšetření na stejném 3T přístroji ve stejném protokolu jako pacienti.

**Tabulka 7.** Detaily MR protokolu pro míšňí projekty.

Sekvence	Účel	Parametry	
<b>T2W SPACE axiální</b>	Měření objemu míchy (ScanView.cz)	Velikost voxelu (mm <sup>3</sup> )	0,6x0,6x1
		TR/TE (ms)	1500/133
		Flip Angle (sklápěcí úhel) (°)	150
		Field of view (zobrazovací pole) (mm)	200
<b>T2W-Fat-Sat sagitální</b>	Hodnocení fokálních a difúzních míšňích ložisek	Velikost voxelu (mm <sup>3</sup> )	0,6x0,6x1
		TR/TE (ms)	2800/84
		Flip Angle(°)	160
		Field of view (mm)	220
<b>Proton density * sagitální</b>	Hodnocení fokálních a difúzních míšňích ložisek	Velikost voxelu (mm <sup>3</sup> )	0,7x0,7x2
		TR/TE (ms)	2500/7.6
		Flip Angle(°)	160
		Field of view (mm)	220
<b>3D FLAIR</b>	Segmentace intrakraniálních ložisek (LeMan-PV)	Velikost voxelu (mm <sup>3</sup> )	1x1x1
		TR/TE/TI (ms)	5000/397/1800
		Flip Angle(°)	120
		Field of view (mm)	256x256x176
<b>3D MPRAGE</b>	Hodnocení globálního objemu a regionálních objemů mozku (Morphobox)	Velikost voxelu (mm <sup>3</sup> )	1x1x1
		TR/TE/TI (ms)	2300/2.26/900
		Flip Angle(°)	9
		Field of view (mm)	256x256x176

TR/TE/TI = = repetition time / echo time / inversion time ; \* sekvence byla použita jen u podskupiny pacientů

### 3.1.3 Měření objemu míchy (ScanView)

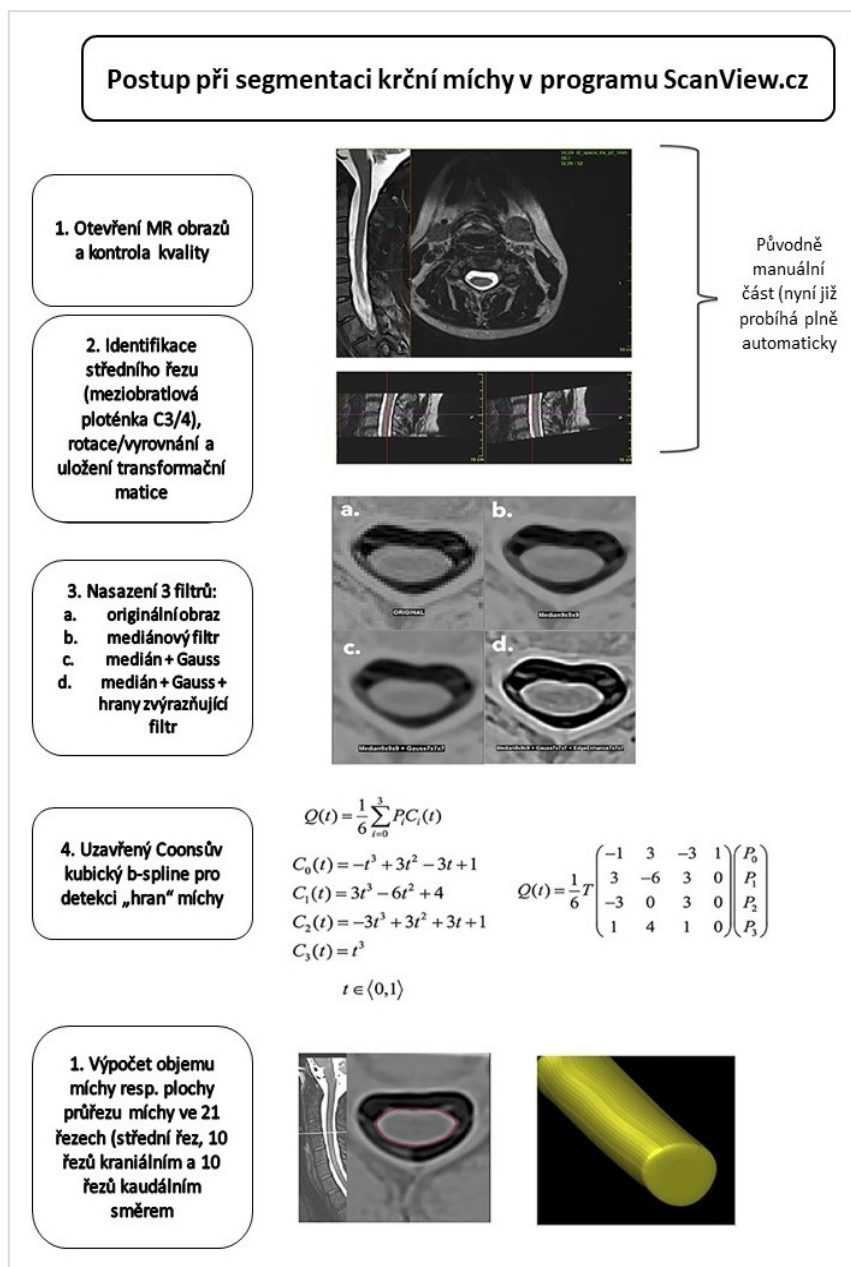
Objem, respektive kros-sekční plocha v úseku horní krční míchy pacientů s RS byla měřena pomocí semiautomatické metody v T2-váženém obraze 3D v rozsahu obratlových těl C3 a C4. Jedná se o metodu vyvinutou RNDr. Janem Krásenským na oddělení MR Radiodiagnostické kliniky VFN, která je implementována v softwaru ScanView (Uher et al.,

2019) (Andelova et al., 2019). V prvním kroku (presegmentace) je manuálně zafixován takzvaný „střední řez“ na úrovni meziobratlové ploténky C3/4 (ve středu ploténky), po němž následuje manuální „straightening“, tedy vyrovnaní míchy paralelně se zadní stranou obratlového těla C3 a uložení transformační matice pro následující automatické zpracování. Manuální vstup trvá cca. 2 minuty/1 pacienta. Následující kroky jsou plně automatizovány a zahrnují:

1. rozdělení každého původního voxelu o originální velikosti  $0.625 \times 0.625 \times 1$  mm na 27 subpixelů.
2. reverze kontrastu T2-váženého obrazu a použití souboru filtrů redukujících šum a zlepšujících kontrast mezi míchou a mozkomíšním mokem (a. mediánový filtr; b. Gaussovský filtr; c. hrany-zvýrazňující filtr).
3. Vlastní segmentace míchy založená na uzavřeném Coonsově kubickém B-splinu se 4 fixními kontrolními body. Uzavřená křivka představující míchu se skládá ze šesti segmentů, takže sít' 4 fixních a 6 nezávislých kontrolních bodů tvoří matici  $6 \times 4$ . Segmenty křivky jsou poté napojeny v místech, kde sousedící segmenty křivky sdílí vždy 3 kontrolní body (každý segment je definovaný 3 kontrolními body předchozího segmentu a jedním kontrolním bodem navazujícího segmentu) a vzniká tak křivka představující obvod míchy na „středním řezu“ a na 10 řezech kraniálním a 10 řezech kaudálním směrem od tohoto středního řezu.
4. Nakonec je vypočtena celková plocha všech 21 řezů a poté MUCCA (mean upper cervical cord cross-sectional area) vydělením celkové plochy počtem řezů. Tyto kroky schématicky znázorňuje Obrázek 10.

V této práci používáme pro zjednodušení v metodách, výsledcích i diskuzi opakovaně a pro zjednodušení termín „objem míchy“, přestože správně bychom měli užívat termín průměrná hodnota plochy průřezu v oblasti horní krční míchy (MUCCA, mean upper cervical cord cross-sectional area).



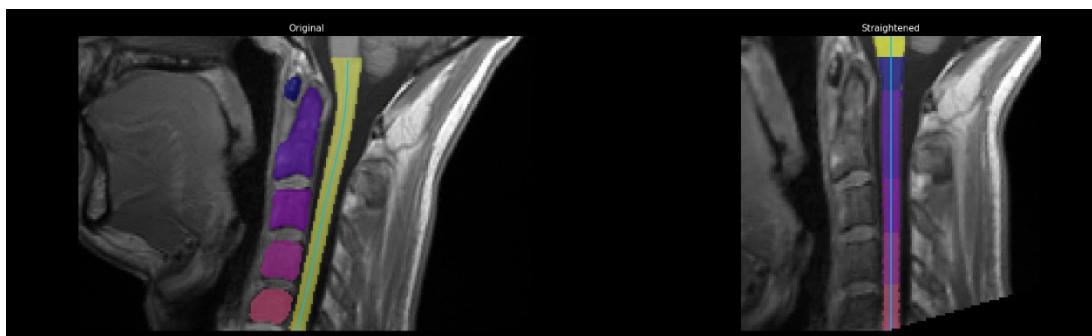


**Obrázek 10.** Schéma segmentace krční míchy pro měření objemu.

### 3.1.4 Spolehlivost metody

Spolehlivost metody jsme ověřovali jednak pomocí stanovení inter- a intra-rater variability a jednak srovnáním s měřením plochy průřezu míchy u stejných subjektů v rámci pilotního projektu, ve kterém testují naši kolegové z Lausanne plně automatickou segmentaci míchy v T1-váženém obrazů (MPRAGE) založenou na neuronálních sítích (Isensee et al., 2021) (**Obrázek 11**). Intra-rater variabilita představuje přesnost segmentační metody, pokud ji stejný hodnotitel bude provádět několikrát na stejném subjektu. Jako inter-rater variabilita se označuje přesnost metody hodnocená pomocí srovnání dvou hodnotitelů. Pro toto ověření bylo náhodně vybráno 10 subjektů, u kterých 2 hodnotitelé (E.H. a M.A.) dvakrát

(s odstupem jednoho týdne) opakovali presegmentační kroky (označení středního řezu v oblasti meziobratlové ploténky C2/3 a vyrovnání míchy).



**Obrázek 11.** Příklad segmentace míchy na MPRAGE sekvenci softwarem využívajícím konvoluční neuronové sítě, který nyní validujeme ve spolupráci s kolegy z Lausanne. Obrázek použit se souhlasem Johannese Disselhorsta (Siemens Healthineers).

### 3.1.5 Determinanty MUCCA a normalizace míchy

Abychom zjistili fyziologické vlivy na objem míchy (MUCCA), analyzovali jsme u zdravých dobrovolníků demografické parametry (věk a pohlaví), parametry spojené s tělesnou stavbou (výška a totální intrakraniální objem) a mozkové volumetrické parametry (objem mozku, mozkomíšního moku, šedé a bílé hmoty). Normalizační faktory – totální intrakraniální objem (TIV), tělesná výška a výška obratlového těla C3 byly vybrány na základě literatury (viz. 1.2.4.5.2) a hodnoceny u podskupiny pacientů ( $n=300$ ; **Tabulka 8**). Objem míchy byl normalizován pomocí proporční metody (vydělení absolutního objemu míchy daným normalizačním faktorem). Korelace mezi absolutními i normalizovanými hodnotami objemu míchy, předozadním (APW) a levo-pravým rozměrem průřezu míchy (LPW) a klinickými parametry (EDSS, pyramidový, cerebelární, sfinkterový, senzorický funkční systém a analizovaná frekvence relapsů) byly hodnoceny pomocí Spearmanova korelačního koeficientu ( $\rho$ ). Dále byla hodnocena přítomnost fokálních ložisek a difúzních změn v krční a horní hrudní míše a její vztah k SCV, APW a LRW.

**Tabulka 8.** Demografické, klinické a zobrazovací charakteristiky 300 pacientů, u kterých jsme hodnotili normalizační faktory.

	Všichni pacienti	Pacienti s EDSS ≤ 3	Pacienti s EDSS > 3	Pacienti bez difúzních změn	Pacienti s difúzními změnami
<b>N pacientů (% žen)</b>	300 (80%)	150	150	176	124
<b>Věk v letech ± SD</b>	42.4 ± 7.5	42.1 ± 7.6	42.8 ± 7.5	42.3 ± 7.8	42.6 ± 7.2
<b>Trvání choroby v letech ± SD</b>	14.4 ± 5.6	14.1 ± 5.8	14.8 ± 5.4	13.6 ± 5.7	15.5 ± 5.4**
<b>Medián EDSS (min-max)</b>	3.0 (0-6.5)	2.0 (0-3.0)	4.0 (3.5-6.5)	2.5 (0-6.0)	3.5 (1.0-6.5)
<b>Absolutní objem míchy v mm<sup>3</sup> ± SD</b>	1.71 ± .2	1.76 ± .19	1.65 ± .19**	1.75 ± .19	1.67 ± .2**
<b>Intrakraniální objem v mm<sup>3</sup> ±SD</b>	1356.6 ± 110.5	1364.9 ± 106.1	1346.8 ± 115.0	1351.9 ± 112.5	1363.2 ± 107.6
<b>Předozadní průměr míchy v mm ± SD</b>	7.72 ± .68	7.9 ± .64	7.5 ± .66**	7.86 ± .64	7.52 ± .68**
<b>Levoprávní průměr míchy v mm ± SD</b>	13.14 ± .94	13.23 ± .94	13.04 ± .94	13.13 ± .91	13.15 ± .99

### 3.1.6 Hodnocení ložiskových a difúzních změn míchy

Počet a lokalizaci (úrovně segmentů) jednotlivých fokálních míšních ložisek a přítomnost difúzních změn jsme hodnotili manuálně na sagitální T2-vážené sekvenci a PD sekvenci. Klasifikace byla založena na pracích Lycklamy a Nijeholta (Lycklama a Nijeholt et al., 1997) (Lycklama a Nijeholt et al., 1998). Jako fokální ložiska jsme hodnotili ostře ohraničené T2/PD hyperintenzní oblasti. Homogenně zvýšený signál v míše v T2 i PD vážené sekvenci byl hodnocen jako difúzní změny. Míchu hodnotil nezávisle zkušený neuroradiolog (M.V.) a neurolog (M.A.) a v případě neshody byl pacient zhodnocen znovu a o míšním „fenotypu“ bylo rozhodnuto na základě konsenzu. Protože hodnocení difúzních změn nemusí být jednoznačné, v projektu s pacienty s časnou RS, kde byly difúzní změny v popředí zájmu, hodnotili tyto změny dva další hodnotitelé (D.H. a D.Š.) a následně byla opět hodnocena jejich shoda.

### 3.1.7 Měření globálního objemu a regionálních objemů mozku (MorphoBox)

Globální a regionální objemy byly měřeny pomocí softwaru MorphoBox Prototype, který využíváme i v rutinní klinické praxi. Segmentace anatomických struktur probíhá ve dvou krocích: 1) rozdělení všech voxelů / totálního intrakraniálního objemu (označovaného MorphoBoxem jako TIV) na jednotlivé tkáně – mozkomíšní mok (CSF), šedá hmota (GM) a bílá hmota (WM). Tento krok je podobný segmentaci v SPM, ale nevyužívá v této fázi atlas; 2) vlastní segmentace mozkových struktur kombinací tkáňových map získaných

v prvním kroku a anatomických masek získaných z šablony pomocí nerigidní registrace. Anatomická šablona byla vytvořena na podkladě MR mozku 64-leté ženy bez závažných komorbidit. Detaily algoritmu popisuje práce Schmittera et al. (Schmitter et al., 2015). Metoda byla původně validována v kontextu Alzheimerovy choroby, nicméně již byla opakovaně použita i u pacientů s roztroušenou sklerózou (Bonnier et al., 2017) (Bonnier et al., 2019), epilepsií (Chen et al., 2018) či Parkinsonovou chorobou (Fang et al., 2020). Globální i regionální objemy mozku byly normalizovány pomocí totálního intrakraniálního objemu.

### 3.1.8 Segmentace intrakraniálních ložisek (LeMan-PV)

U podskupiny pacientů jsme k segmentaci intrakraniálních ložisek v bílé hmotě použili sekvenci FLAIR a MPRAGE a plně automatický software LeMan-PV Prototype (Fartaria et al., 2016)(Fartaria et al., 2019). LeManPV je založený na klasifikaci parciálního objemu pomocí Bayesovského algoritmu, ve kterém software kombinuje pravděpodobnostní mapu vytvořenou na podkladě atlasu s přístupem založeným na tzv. algoritmu *k*-nejbližších sousedů (*k-nearest neighbours*, *kNN*), který klasifikuje každý voxel podle pravděpodobnosti jako příslušnosti ke zdravé (resp. normálně vypadající) tkáni či k ložisku. Pravděpodobnost byla stanovena na podkladě 3 znaků: 1) hodnota intenzity každého voxelu (v MPRAGE, MP2RAGE, FLAIR, and DIR; 2) lokalizace ložiska a 3) pravděpodobnost typu tkáně. Na rozdíl od klasického *kNN* algoritmu využívá LeManPV *fuzzy kNN* algoritmus, kde výstupem není binární, ale pravděpodobnostní mapa. K získání binární mapy byl využit práh, který byl stanoven jako hodnota, při které byla ve validační studii dosažena maximální shoda mezi manuální segmentací ložisek neuroradiologem a automatickou segmentací. Přestože plný algoritmus využívá ke stanovení intenzity čtyři sekvence (MPRAGE, MP2RAGE, FLAIR, and DIR), ukazuje původní publikace, že pro segmentaci ložisek v bílé hmotě je segmentace pouze na podkladě konvenčních sekvencí (FLAIR a MPRAGE) srovnatelná se segmentací pomocí „pokročilých sekvencí“, zatímco detekce kortikálních ložisek je výrazně zlepšena, je-li k dispozici i DIR a MP2RAGE (Fartaria et al., 2016). LeManPV v kombinaci segmentace jednotlivých laloků a struktur mozkového kmene a mozečku umožňuje také určení topografie ložisek. Pro projekt „role míchy v klinicko-radiologickém paradoxu“ byl k segmentaci ložisek použit software ScanView. Který měří rovněž objem ložisek na sekvencích FLAIR, kde je ložisko definováno jako voxely s intenzitou > 14% průměrné intenzity bílé hmoty o velikosti minimálně 11 voxelů (což odpovídá kouli o průměru 3 mm).

### 3.1.9 Klinické vyšetření

U pacientů byly použity klinické nálezy získané v rámci pravidelných kontrol (frekvence kontrol 1-4x ročně) pomocí škály EDSS (Expanded Disability Status Scale; [www.neurostatus.net](http://www.neurostatus.net)). Hodnocení EDSS je založeno na standardizovaném vyšetření sedmi „funkčních systémů“, které hodnotí vizuální, kmenový, pyramidový, mozečkový, sensorický, sfinkterový a „cerebrální“ systém. Dále se hodnotí schopnost samostatné chůze a potřeba opory či pomůcky při chůzi. EDSS je ordinální škála, která se pohybuje mezi hodnotou 0 (odpovídá normálnímu neurologickému nálezu) a 10 (smrt v důsledku RS). Hodnoty EDSS 0 - 3.5 reflektují neurologické postižení bez jasného dopadu na mobilitu, hodnoty 4 - 7.5 odpovídají úrovní zhoršené mobility (zejména dolních končetin, protože závisí zejména na dosahu chůze) a hodnoty 8 – 9.5 jsou spojeny s dopadem na základní aktivity denního života. I přesto, že je EDSS dominantním klinickou škálou, má řadu limitací. Zejména u nižších hodnot (0 -3.5) je EDSS je náchylné k intra- i inter-rater variabilitě (Goodkin et al., 1992). EDSS dále relativně podceňuje časté a klinicky významné příznaky RS jako je kognitivní postižení a únava, takže škála komplexně nevystihuje pacientovo fungování v každodenním životě (van Munster & Uitdehaag, 2017).

### 3.1.10 Přínos hodnocení fokálních a difúzních změn

Tento soubor tvořilo 1249 pacientů, z nichž bylo 71% žen. Pro analýzu vztahu míšních parametrů jsme pacienty rozdělili na skupinu s mírným postižením (EDSS 0-3.0  $n = 902$ ,  $38.8 \pm 9.0$  let) a se středně těžkým až těžkým postižením (EDSS  $\geq 3.5$   $n = 347$ ,  $45.5 \pm 7.9$  let). Protože v kohortě splňovalo pouze 55 pacientů objektivní kritéria sekundární progresy dle definice Lorscheidera (Lorscheider et al., 2016), neanalyzovali jsme zvláště pacienty s RRRS a SPRS. Ve vedlejší analýze jsme hodnotili u podskupiny pacientů s EDSS do 4.0 zvláště pacienty bez postižení (EDSS do 1.5) a pacienty s EDSS 2.0-4.0.

### 3.1.11 Role míchy v klinicko-radiologickém paradoxu

Kohortu 2044 pacientů s RR RS jsme rozdělili do 3 skupin na podkladě úrovně fyzického postižení a objemu T2-hyperintenzních lézí (T2LV) v bílé hmotě mozku. Disociace mezi objemem lézí a postižením byla definována jako:

- T2LV  $< 2.5$  ml and EDSS  $\geq 3.5$  = malý objem lézí a vysoké postižení (MLVP)
- T2LV  $> 9$  ml and EDSS  $\leq 3.0$  = velký objem lézí a malé postižení (VLMP)
- Zbylí pacienti = „neparadoxní“

Srovnávali jsme globální a regionální objemy mozku a míchy hodnocené softwarem MorphoBox a Scanview u pacientů s klinicko-radiologickým paradoxem (MLVP, VLMP) a „neparadoxních“. Dále jsme ze skupiny 2044 pacientů vybrali 344 pacientů – 172 s EDSS 0-3.0 a 172 s EDSS 3.5-6.5 pomocí case-control párování přesně spárovaných na objem lézí v bílé hmotě mozku, pohlaví, věk, intrakraniální objem a trvání RS a srovnávali u nich opět objem mozku a míchy.

### **3.1.12 Patologie míchy u časně RS a její vztah k topografii intrakraniálních ložisek**

Pro tuto část práce jsme hodnotili kohortu 59 pacientů s časnou RRRS, tedy pacienty s trváním onemocnění do 5 let věku a 59 zdravých jedinců odpovídajícího pohlaví a věku. Opět jsme použili software MorphoBox pro stanovení mozkových objemů. Intrakraniální ložiska byla segmentována automaticky pomocí softwaru LeMan a ložiska byla klasifikována podle topografie jako „frontální“, „temporální“, „parietální“, „okcipitální“, „periventrikulární“, „cerebelární“ a „kmenová“. Segmentace byla u každého z pacientů zkontrolována manuálně a u 7 pacientů byla v infratentoriální oblasti provedena manuální korekce segmentace. Objem míchy byl hodnocen pomocí programu ScanView. Fokální ložiska a difúzní patologie byly hodnoceny manuálně (viz. výše). Hodnotili jsme patologii míchy a její vztah k topografii intrakraniálních ložisek.

### **3.1.13 Statistické zpracování**

Statistické analýzy byly provedeny pomocí programu SPSS (verze 20., IBM Inc., USA) a R (<http://www.R-project.org>).

Reliabilitu metody měření kros-sekční plochy míchy jsme hodnotili pomocí koeficientů variability vnitrotřídních koeficientů korelace (ICC). ICC a jejich 95% konfidenční intervaly byly vypočteny pro každého z hodnotitelů samostatně. Spolehlivost hodnocení difúzních změn v projektu časně RS byla hodnocena pomocí Cohenova koeficientu kappa.

Normální rozdělení sledovaných proměnných jsme hodnotili pomocí Kolmogorov-Smirnovova testu a vizuálně pomocí histogramů.

Jednotlivé proměnné, které jsme analyzovali jako determinanty MUCCA (věk, pohlaví, výška, totální intrakraniální objem, bílá a šedá hmota, objem mozku a mozkomíšního moku), nejsou zcela nezávislé. Se zvyšujícím se věkem klesá objem mozku, dále existuje komplexní vztah mezi pohlavím, tělesnou výškou a totálním intrakraniálním objemem. Abychom zachovali statistickou sílu, nevytvořili jsme proto jeden regresní model s MUCCA jako

závislou proměnnou a všemi výše uvedenými faktory jako závislými proměnnými, ale použili jsme parciální korelaci, ve které byl věk zahrnut do všech parciálních korelací, ve druhém kroku byl věk zkombinován s pohlavím a ve třetím kroku kromě navíc vždy zahrnut jeden další „přebytečný parametr“ (nuisance variable).

Korelace mezi absolutními i normalizovanými hodnotami objemu míchy, předozadním (APW) a levo-pravým rozměrem průřezu míchy (LPW) a klinickými parametry (EDSS, pyramidový, cerebelární, sfinkterový, sensorický funkční systém a anulizovaná frekvence relapsů) byly hodnoceny pomocí Spearmanova korelačního koeficientu ( $\rho$ ).

Efekt pohlaví, věku, trvání choroby, totálního intrakraniálního objemu, fokálních míšních ložisek a difúzních změn na objem míchy, resp. MUCCA, byl zkoumán pomocí analýzy kovariance (ANCOVA). Rozdíly fenotypu míchy mezi pacienty s mírným a středně závažným postižením ( $EDSS \leq 3$  a  $EDSS \geq 3.5$ ) byly hodnoceny pomocí chi-square testu. Pro posouzení vztahu mezi počtem míšních ložisek a klinickým postižením byl použit Spearmanův korelační koeficient.

Vliv míšních parametrů (dichotomizovaný objem míchy dle mediánu, dichotomizovaná přítomnost fokálních ložisek a difúzních změn) na klinické postižení („mírné“  $EDSS \leq 3$  a „středně závažné až závažné“  $EDSS \geq 3.5$ ) jsme hodnotili pomocí binární logistické regrese ve 3 analýzách: závislou proměnnou bylo ve všech případech dichotomizované postižení. Nezávislé proměnné v první analýze byly věk, pohlaví, trvání choroby a dále příslušnost k jedné ze 4 skupin podle objemu míchy a ložiskového a/nebo difúzního postižení: 1. normálně vypadající mícha s  $MUCCA \geq$  medián; 2. mícha s míšními fokálními ložisky a/nebo difúzními změnami s  $MUCCA \geq$  medián; 3. normálně vypadající mícha s  $MUCCA <$  medián a 4. mícha s míšními fokálními ložisky a/nebo difúzními změnami s  $MUCCA <$  medián. Ve druhé analýze byly nezávislými proměnnými opět věk, pohlaví, trvání choroby, MUCCA (dichotomizovaná veličina dle vztahu k mediánu) a přítomnost a počet fokálních ložisek a/nebo difúzních změn. Byla použita korekce typu FDR (false discovery rate). Pro třetí analýzu jsme vybrali pouze pacienty s  $EDSS$  do 4.0 (tedy plně mobilní – „fully ambulatory“) a postižení v tomto případě dichotomizovali na  $EDSS \leq 1.5$  and  $EDSS > 1.5$ ). Nezávislé proměnné byly stejné jako ve druhé analýze.

Srovnání pacientů s diskrepancí mezi intrakraniálními ložisky a klinickým postižením byla provedena pomocí ANOVA či studentova t-testu u proměnných s normálním rozdělením a pomocí Mann-Whitney U-testu resp. Kruskal-Wallis testu u proměnných, u kterých bylo nutné použít neparametrické testy.

Pacienty s časnou RS jsme spárovali se zdravými dobrovolníky stejného věku a pohlaví (tolerance pro věkový rozdíl byla 2 roky). Pro srovnání demografických, klinických a MR parametrů (globální a regionální objemy mozku, objem míchy a ložiska) mezi zdravými jedinci a pacienty s difúzními změnami a bez difúzních změn jsme použili analýzu rozptylu (ANOVA) nebo Kruskal-Wallisův test. Protože se ukázalo, že pacienti s difúzními změnami mají větší objem infratentoriálních ložisek, tak jsme dále zkoumali vztah mezi přítomností kmenových a mozečkových ložisek a přítomností difúzních změn pomocí chi-square testu. Prediktory přítomnosti difúzních změn a fokálních míšních ložisek jsme hodnotili pomocí dvou samostatných hierarchických binárních logistických regresních analýz, a to vždy ve třech na sebe navazujících modelech, kde byly v prvním kroku přidány demografické parametry (věk, pohlaví, trvání RS), ve druhém kroku objem intrakraniálních ložisek a ve třetím kroku dichotomizovaná přítomnost kmenových a mozečkových ložisek. Pomocí Hosmer Lemeshowa testu dobré shody bylo posuzováno, zda sledované míry událostí odpovídají očekávaným hodnotám událostí v podskupinách modelové populace, a tedy nakolik jsou jednotlivé modely vhodné.

## **3.2 Diskonektom**

### **3.2.1 Charakteristika souborů**

V této multicentrické studii jsme analyzovali tři kohorty. První kohortu nazýváme „difúzní“ či „DSI kohorta“, protože u těchto pacientů byla součástí MR protokolu kromě konvenčních MR sekvencí i sekvence diffusion spectrum imaging (DSI) pro traktografii. Difúzní/DSI kohorta byla tvořena 45 pacienty s časnou RRRS (trvání onemocnění < 5 let) a MR i klinická vyšetření proběhla v Univerzitní nemocnici Lausanne. Dva pacienti z této kohorty museli být vyřazeni pro nekompletní zobrazovací data a další dva pro výraznou atrofii. Druhou kohortu tvořilo 208 pacientů z multicentrické observační studie hodnotící efekt časně léčby interferonem  $\beta$ -1a (Horakova et al., 2013), do které bylo původně zařazeno 220 pacientů po první atace demyelinizačního onemocnění, kteří vzhledem k pozitivitě oligoklonálních páسů v likvoru z pohledu aktuálních kritérií (Thompson et al., 2018) naplňovali kritéria pro relaps-remitentní RS. Všechna MR vyšetření pacientů ze SET studie probíhala na Radiodiagnostické klinice 1.LF UK a VFN v Praze na stejném 1.5T MR skeneru a proto ji v dalším textu nazýváme „1.5T kohorta“). Do třetí, tzv. „3T kohorty“ bylo zařazeno 496 pacientů se všemi typy RS (14.6% CIS, 74.4% RRRS, 10.3% SPMS, 0.4% PPMS a 0.2% PRRS). MR vyšetření opět probíhala na Radiodiagnostické klinice 1. LF UK a VFN v Praze na 3T MR přístroji. 132 pacientů bylo zároveň v 1.5T i 3T kohortě, ale byli vyšetřeni



s odstupem několika let (průměrný odstup byl  $10.8 \pm 1.2$  roky). Pacienti z 1.5 a 3T kohorty byli klinicky vyšetřeni v Centru pro demyelinizační onemocnění Neurologické kliniky 1. LF UK a VFN v Praze. Základní charakteristiky tří kohort použitých v této části práce shrnuje **Tabulka 9**.

**Tabulka 9.** Demografické a klinické parametry a objem ložisek u tří kohort pacientů.

	Difúzní - DSI kohorta	1.5T kohorta	3T kohorta
<b>n (ženy)</b>	41 (28)	208 (139)	496 (338)
<b>Věk (roky <math>\pm</math> SD)</b>	$35.1 \pm 9.9$	$28.3 \pm 7.3$	$28.0 \pm 8.2$
<b>EDSS medián (min – max)</b>	1.5 (1.0 – 4.0)	1.5 (0-3.5)	2.0 (0 – 7.5)
<b>Trvání RS (měsíce <math>\pm</math> SD)</b>	$24 \pm 18$	< 3	$143 \pm 79$
<b>Objem ložisek (cm<sup>3</sup>)</b>	$7.7 \pm 9.4$	$4.2 \pm 5.3$	$13.0 \pm 14.6$

### 3.2.2 MR protokol

MR protokol u difúzní/DSI kohorty zahrnoval fluid attenuation inversion recovery (FLAIR) sekvenci, magnetization prepared rapid gradient echo (MPRAGE) sekvenci a diffusion spectrum imaging (DSI) sekvenci. U 1.5 kohorty byla v protokolu rovněž FLAIR sekvence a T1-weighted spoiled gradient recalled (SPGR) sekvence. U 3T kohorty protokol zahrnoval FLAIR a MPRAGE sekvence. Detaily jednotlivých protokolů ukazuje **Tabulka 10**.

**Tabulka 10.** Detaily protokolů použitých v projektu diskonektomu

Kohorta (MR systém)		„Difúzní“ DSI kohorta (Siemens 3T Trio)	1.5T kohorta (Philips 1.5T Gyroscan)	3T kohorta (Siemens 3T Skyra)
<b>T1w</b>	Velikost voxelu (mm <sup>3</sup> )	1x1x1.2	1x1x1	1x1x1
	Typ akvizice	3D	3D	3D
	TR/TE/TI (ms)	2300/2.98/900	25/5/-	2300/2.96/900
	Flip angle	9°	30°	9°
<b>FLAIR</b>	Velikost voxelu (mm <sup>3</sup> )	1x1x1.2	1x1x1.5	1x1x1
	Typ akvizice	3D	2D	3D
	TR/TE/TI (ms)	5000/394/1800	11000/140/2600	5000/397/1800
	Flip angle	120°	90°	120°
<b>DSI</b>	Velikost voxelu (mm <sup>3</sup> )	1x1x3	-	-
	TR/TE (ms)	8600/144	-	-
	b-max (s/mm <sup>2</sup> )	8000	-	-

### 3.2.3 Předzpracování MR dat („preprocessing“)

Ložiska byla segmentována opět pomocí LeMan-PV (3.1.8). Pro každého pacienta byla provedena nerigidní registrace T1-vážených obrazů do standardního T1-váženého tzv. MNI152 templátu (The Montreal Neurological Institute and Hospital) (Brett et al., 2001), konkrétně byla použita trilineární interpolace pomocí veřejně dostupného softwarového nástroje Elastix v.4.800 (Klein et al., 2010). Binární maska ložisek byla transformována pomocí interpolace nejbližším sousedem, aby byla zachována topologie ložisek. Obrazy byly pak segmentovány na 274 subregionů pomocí parcelačního atlasu (Brainnetome) (Fan et al., 2016).

U difúzní/DSI kohorty a u 1.5T kohorty byla kromě automatické segmentace ložisek provedena i manuální segmentace hyperintenzních ložisek na sekvenci FLAIR (neurolog a radiolog v Lausanne a neurolog v Praze). Vzhledem k velkému počtu pacientů u 3T kohorty manuální segmentace ložisek provedena nebyla.

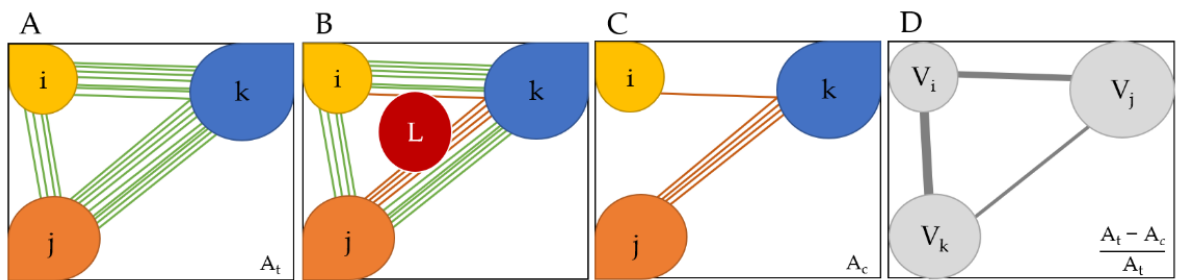
### 3.2.4 Modelování diskonektomu

Podobně jako v práci Griffise et al. bylo naším cílem vytvořit diskonektomy, tedy mapy porušených neuronálních spojů, bez difúzních zobrazovacích dat pomocí použití strukturálního traktografického atlasu HCP842 (Yeh et al., 2018). Tento atlas byl vytvořen na základě difúzních dat 842 zdravých jedinců v rámci Human Connectome Project (Van Essen et al., 2012).

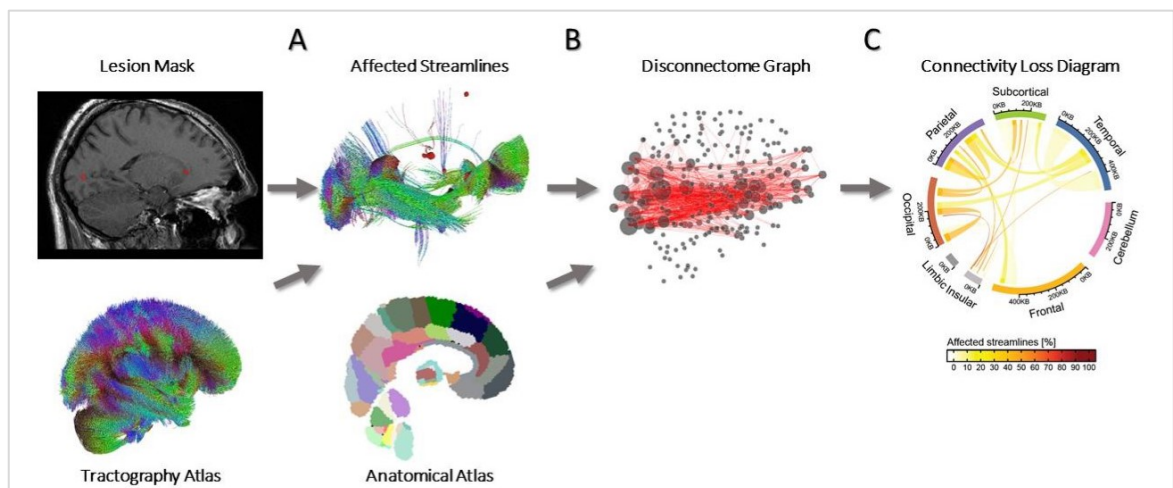
Model diskonektomu předpokládá, že konektivitu mozku u pacientů lze odhadnout z HCP842 atlasu, který ale nezohledňuje případný dopad atrofie mozku na dráhy bílé hmoty. Abychom se vyhnuli špatné interpretaci výsledků vyplývajících z použití HCP842 atlasu u pacientů s atrofií (definovanou na podkladě věku a pohlaví odpovídajících referenčních hodnot softwaru Morphobox (Schmitter et al., 2015)), byli pacienti s atrofií mozku vyřazeni z analýzy.

Postižené spoje mezi jednotlivými oblastmi mozku byly identifikovány tak, že jsme označili streamlines procházející normalizovanými maskami ložisek pomocí volně dostupného nástroje na zpracování difúzních MR dat DSI studio. Narušení spojů mezi jednotlivými regiony mozku ( $i, j$ ) získanými z atlasu Brainnetome bylo následně modelováno jako matice sousednosti poškozené konektivity  $A_c$ . Každý prvek matrix  $A_c(i, j)$  reprezentoval počet poškozených streamlines procházejících korespondujícím párem regionů ( $i, j$ ). Referenční

„zdravá“ konektivita byla reprezentována maticí sousednosti  $A_t$ , kde prvky  $A_t(i, j)$  reprezentují celkový počet streamlines procházející odpovídajícím párem regionů  $(i, j)$  v traktografickém atlasu (**Obrázek 12A – C a Obrázek 13B, C**).  $A_t$  je identická pro všechny pacienty,  $A_c$  je specifická pro každého pacienta a závislá na ložiscích. Matice poškozené konektivity  $A_c$  byla následně použita k vytvoření grafu, ve kterém je každá parcelační oblast z atlasu Brainnetome reprezentována jedním uzlem. Každá hrana  $E(i, j)$  představuje procento streamlines spojujících oblasti  $i$  a  $j$ , které jsou v kontaktu s ložiskem.



**Obrázek 12.** Vytvoření diskonektomu. A. Zjednodušená reprezentace traktogramu - konektivity mezi třemi regiony mozku  $i, j$  a  $k$  identifikovanými atlasem a jejich odpovídající streamlines. B. Kombinace traktogramu a masky ložisek. Streamlines „poškozené“ ložiskem jsou vyznačené červeně. C. Izolované „poškozené“ streamlines. D. Graf, kde jsou oblasti mozku  $i, j$  a  $k$  reprezentovány uzly  $V_i, V_j$  a  $V_k$  a hrany jsou váženy podle relativního počtu poškozených streamlines.



**Obrázek 13.** Extrakce a vizualizace diskonektomu. A. Izolace streamlines získaných z traktografického atlasu a jejich kombinace s maskou ložisek. B. Identifikace postižených streamlines mezi oblastmi mozku získaných z atlasu Brainnetome vytvoří graf reprezentující diskonektivitu. C. Vizualizace diskonektomu pomocí zjednodušeného zobrazení ztráty konektivity pomocí Circos (tloušťka spojů odpovídá počtu postižených streamlines, barva

odpovídá procentu postižených streamlines relativně vzhledem k hodnotám z atlasu (relativně ke zdravým jedincům). 274 regionů z atlasu Brainetomme bylo pro vizualizaci pomocí Circos sdruženo do laloků.

Z grafů reprezentujících diskonektom byly pomocí knihovny NetworkX implementované v jazyce Python vypočteny topologické parametry charakterizující diskonektom na lokální i globální úrovni. Konkrétně byla vypočtena transitivity, globální efektivita, délka cesty, „smallworldness“, síla uzlu, shlukovací koeficient a betweenness centralita.

### **3.2.5 Srovnání diskonektomů založených na traktografii a diskonektomu založeném na datech z atlasu**

Hypotéza, že konektivitu u pacientů s RS lze spolehlivě modelovat pomocí HCP842 traktografického atlasu, byla ověřována na podskupině pacientů (DSI kohorta) srovnáním diskonektomů získaných výše popsanou metodou s grafy, které byly vytvořeny analogicky kombinací ložiskových map a individuální traktografie z difúzní MR. Individuální traktogramy z difúzních dat byly rekonstruovány podle parametrů, které využili ve svém atlasu Yeh et al. (Yeh et al., 2018). Diskonektom získaný na podkladě difúzních dat označujeme v dalším textu jako „na traktografii založený diskonektom“.

Shoda mezi topologickými vlastnostmi grafů získaných oběma modely diskonektomu byla hodnocena v celé kohortě pomocí výpočtu koeficientu vnitrotržní korelace (ICC) a Spearmanovy korelace. ICC odráží shodu mezi oběma metodami, zatímco Spearmanova korelace udává, do jaké míry je zachováno pořadí („rank“) proměnných. Pro lokální topologické vlastnosti grafů byl ICC a Spearmanova korelace vypočteny pro každého pacienta nezávisle a byl zde hodnocen i vliv celkového objemu ložisek.

### **3.2.6 Korelace vlastností diskonektomu a klinického postižení**

Abychom zjistili, zda modelování ztráty konektivity může pomoci překlenout klinicko-radiologický paradox u pacientů s RS, srovnávali jsme korelaci těchto parametrů s EDSS a s korelací konvenčních MR parametrů (počet a objem ložisek) s EDSS. Opět byla použita Spearmanova korelace. Pacienti byli kromě toho stratifikováni podle globální efektivity a objemu ložisek. Globální efektivita byla vybrána vzhledem k tomu, že předchozí práce prokázaly její klinický význam u RS (Fleischer et al., 2019) (Rocca et al., 2016) (Liu et al., 2017). Objem ložisek byl dichotomizován na „nízký“ a „vysoký“. Jako nízký objem ložisek byl považován objem ložisek nižší než průměrný objem ložisek v dané kohortě. Analogicky

měli pacienti nízkou či vysokou globální efektivitu podle toho, zda byla nižší či vyšší, než byl průměr v příslušné kohortě. Abychom zjistili, jakou má pro klinické postižení hodnota globální efektivity přidanou hodnotu ve srovnání s objemem ložisek, srovnávali jsme pomocí Wilcoxonových testů s navazující korekcí pro mnohočetná porovnání (Benjamini Hochberg) rozložení EDSS mezi čtyřmi skupinami vytvořenými na podkladě dichotomizované globální efektivity a dichotomizovaného objemu ložisek (zvláště pro každou kohortu). Takto získané p-hodnoty byly zkombinovány v meta-analýze (Zaykin, 2011).

### **3.3 T1 mapování a periventrikulární gradient T1 časů**

#### **3.3.1 Charakteristika souboru**

92 zdravých kontrol (60 žen, věk 21-59 let), 47 pacientů s časnou RS (35 žen, věk 19-59 let, medián EDSS 2.0 [0-4]) a 52 pacientů s progresivní RS (43 žen 35-64 let, medián EDSS 5.5 [3.5-6.5]).

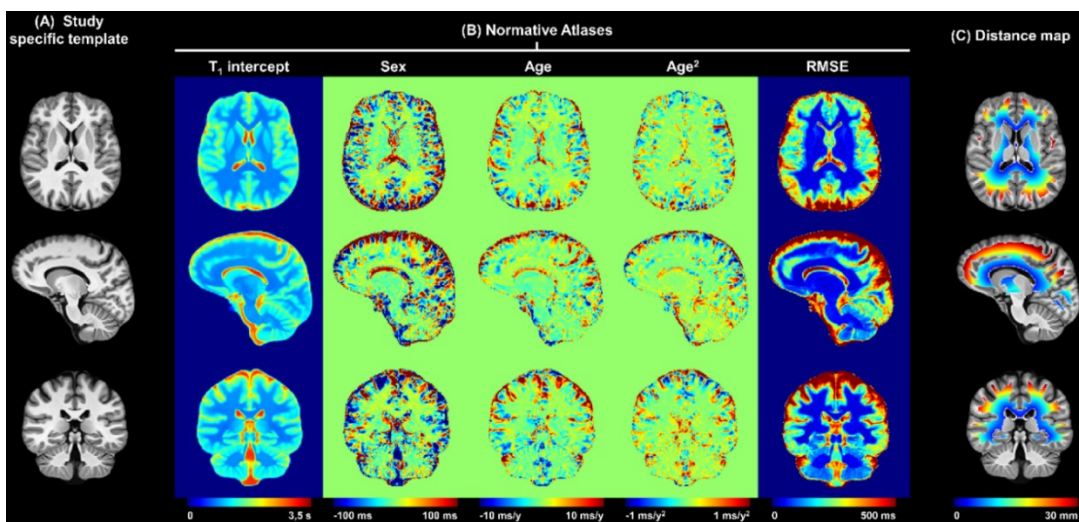
#### **3.3.2 MR protokol**

Protokol včetně MP2RAGE pro T<sub>1</sub> mapování (Marques et al., 2010; Mussard et al., 2020) shrnuje **Tabulka 11**.

#### **3.3.3 Anatomická šablona a atlas normativních T1 hodnot**

Automatická segmentace regionálních objemů mozku byla opět provedena pomocí softwaru Morphobox, tentokrát na MP2RAGE obrazech (Schmitter et al., 2015) a segmentace ložisek pomocí software LeManPV (Fartaria et al., 2018). Masky ložisek byly poté rigidně registrovány do MP2RAGE prostoru. Pro srovnání zdravých dobrovolníků a pacientů jsme na rozdíl od jiných prací zabývajících se periventrikulárním gradientem nepoužili absolutní hodnoty, ale z-skóre vzniklá srovnáním normativních hodnot z atlasu zdravých dobrovolníků vytvořeného specificky pro tento projekt našimi kolegy z Lausanne (Piredda et al., 2020). MP2RAGE data 92 zdravých kontrol a segmentační masky byly normalizované do anatomické šablony specifické pro naši studii (study specific template, SST), která byla vytvořena na základě dat dvaceti náhodně vybraných zdravých dobrovolníků (Avants et al., 2011). Referenční hodnoty T<sub>1</sub> časů ve zdravých tkáních byly vypočteny pomocí lineárního modelování variability T<sub>1</sub> časů mezi jednotlivými subjekty. Model zohledňoval věk a pohlaví jako kovariáty (Piredda et al., 2020). Data pacientů s časnou a progresivní RS byla

registrována do SST a odchylky T1 časů pacientů od T1 časů získaných z atlasu byly hodnoceny jako z-skóre (Piredda et al., 2020). Příklady map založených na těchto odchylkách (z-skóre) ukazuje **Obrázek 14 a Obrázek 15**. Pro stanovení periventrikulárního gradientu jsme hodnotili z-skóre v koncentrických “vrstvách” kolem komor o tloušťce 1 voxelu. Tyto “vrstvy” byly opět vytvořeny v SST pomocí zprůměrování a prahování masek mozkových komor zdravých dobrovolníků. Následně byla každému voxelu v supratentoriální bílé hmotě přiřazena eukleidovská vzdálenost k nejbližšímu voxelu komorové masky. Získali jsme tak 30 periventrikulárních “vrstev”, které reprezentovali vrstvy normálně vypadající bílé hmoty ve vzdálenosti od 1 do 30 mm od komor (**Obrázek 14c**). U každého pacienta bylo stanoveno průměrné z-skóre v každé ze 30 vrstev (mimo ložiska) a objem “abnormální” bílé hmoty (opět mimo ložiska), která byla definována jako objem voxelů, jejichž T1 hodnoty byly vyšší než predikované hodnoty určené normativním lineárním modelem na 95% hladině spolehlivosti (tedy absolutní z-skóre > 2) a příslušné průměrné z-skóre v těchto voxelích.

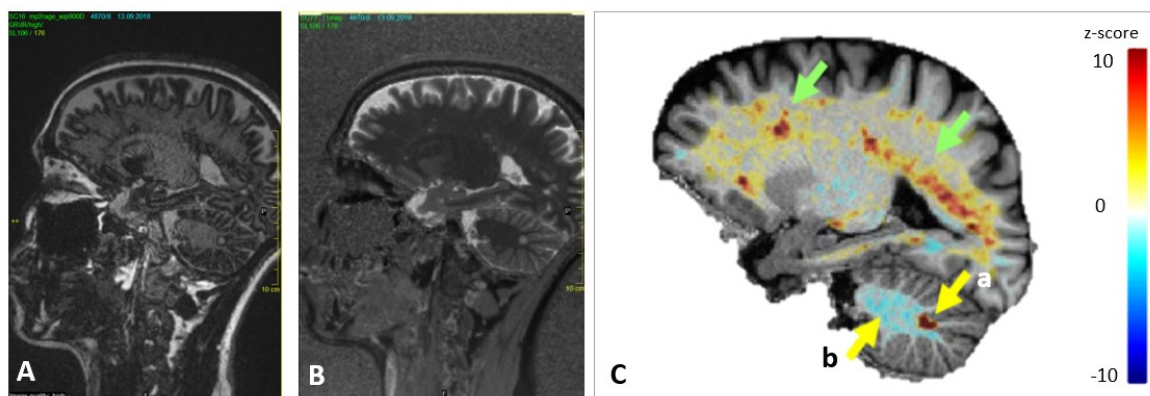


**Obrázek 14.** Reprezentativní řezy ukazují (A) anatomickou šablonu vytvořenou z dat 20 náhodně vybraných dobrovolníků specifickou pro naši studii (SST); (B) normativní T1 atlas a (C) mapa vzdáleností supratentoriálních voxelů bílé hmoty od komor (30 vrstev á 1 voxel).

Mapy zohledňující nulový intercept, pohlaví, věk a věk<sup>2</sup>. Příslušné koeficienty  $\beta_0$ ,  $\beta_{sex}$ ,  $\beta_{age}$  a  $\beta_{age^2}$  v následující rovnici popisují předpokládanou referenční T1 hodnotu v příslušném voxelu:  $E\{T1\} = \beta_{0,T1} + \beta_{sex,T1} * sex + \beta_{age,T1} * age + \beta_{age^2,T1} * age^2$  (pohlaví bylo hodnoceno jako kategorická proměnná a věk vyjádřen v letech centrovaných na průměrný věk zdravé kohorty (37 let)).

**Tabulka 11.** Detaily MR protokolu pro T1 mapování.

Sekvence	Účel	Parametry		
<b>3D MPRAGE</b>	Strukturální zobrazení (tvorba atlasu a periventrikulárních oblastí)	Velikost voxelu (mm)	1x1x1	
		TI <sub>1</sub> /TI <sub>2</sub> (ms)	900 / -	
		TR/TE (ms)	2.3	
		Flip Angle(°)	9	
		Field of view (mm <sup>3</sup> )	256x256x176	
<b>3D FLAIR</b>	Segmentace intrakraniálních ložisek (LeMan PV)	Velikost voxelu (mm <sup>3</sup> )	1x1x1	
		TI <sub>1</sub> /TI <sub>2</sub> (ms)	1800 / -	
		TR/TE (ms)	5 / 397	
		Flip Angle(°)	-	
		Field of view (mm)	256x256x176	
<b>3D MP2RAGE</b>	T1 mapování		Zdraví + časná RS	Progressivní RS
		Velikost voxelu (mm)	1.0x1.0x1.2	1.0x1.0x1.0
		TI <sub>1</sub> /TI <sub>2</sub> (ms)	700 / 2500	
		TR/TE (ms)	5 / -	
		Flip Angles(°)	4 / 5	
		Field of view (mm)	256x256x212	256x256x224



**Obrázek 15.** Příklad MP2RAGE obrazu (A), korespondující T1 mapy (B) mapy odchylek od normativních hodnot T1 časů (C). Zelené šipky označují supratentoriální ložiska a přilehlou bílou hmotu s převážně pozitivními z-skóre (abnormálně prodloužené T1 časy). Žluté šipky ukazují na (a) ložisko v mozečku s výrazným prodloužením T1 času a (b) překvapivé snížení T1 času (relativně ke zdravým dobrovolníkům) v normálně vypadající bílé hmotě mozečku.

### **3.3.4 Statistické zpracování**

Korelaci EDSS s konvenčními MR parametry a s veličinami odvozenými od z-skóre (objem voxelů s z-skóre  $> 2$ , průměrné z-skóre v těchto voxelech a gradienty- procentuální rozdíly těchto veličin mezi jednotlivými „vrstvami“) jsme hodnotili Spearmanovým korelačním koeficientem.



## 4 Výsledky

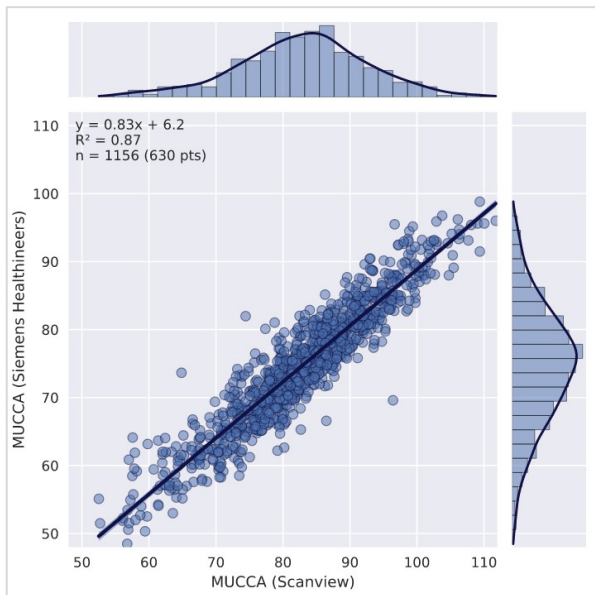
### 4.1 Spolehlivost metody měření objemu míchy

#### 4.1.1 Inter- a intrarater spolehlivost

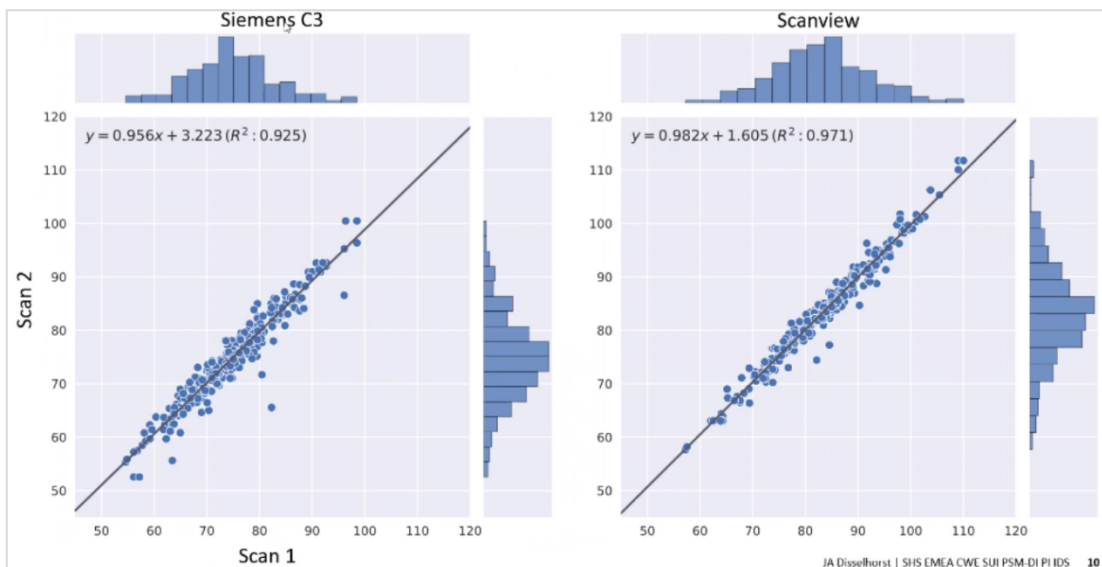
Nalezli jsme velmi dobrou shodu jak mezi jednotlivými pokusy stejného hodnotitele, tak mezi oběma hodnotiteli navzájem. Průměrný vnitrotřídní koeficient korelace (ICC) u hodnotitele 1 (M.A.) bylo .999 (95% CI .997–1.0,  $F = 1,714,6$ ,  $p < .001$ ) a u hodnotitele 2 (E.K.) rovněž .999 (95% CI .996–.999,  $F = 1,233.66$ ,  $p < 0.001$ ). V analýze inter-rater variability byl ICC .994 (95%CI .984–.998,  $F = 18.161$ ,  $p < .001$ ).

#### 4.1.2 Porovnání s měřením míchy z MPRAGE/T1 vážených obrazů

Nalezli jsme velmi dobrou korelaci mezi měřením míchy pomocí semiautomatického softwaru ScanView z T2 váženého MR obrazu a plně automatického softwaru z MPRAGE (1156 měření u 630 pacientů,  $R^2 = .87$ ) (**Obrázek 16**). Protože všechna měření jsou z klinických běžných vyšetření, klasická „scan-rescan“ analýza provedena nebyla, nicméně srovnání stability u podskupiny klinicky stabilních pacientů, kteří měli MR v odstupu 3-6 měsíců, ukázala také velmi dobrou korelaci ( $R^2 = .925$  pro měření Siemens a  $R^2 = .971$  pro ScanView). Stabilitu měření ukazuje **Obrázek 17**.



**Obrázek 16.** Korelace výsledku segmentace míchy získané dvěma rozdílnými metodami – na ose x metoda používaná zatím v našem RS centru (ScanView.cz) z T2 váženého obrazu a na ose y segmentace získaná z MPRAGE sekvence, kterou nyní validujeme a kde není nutné samostatné zobrazení míchy (Siemens).



**Obrázek 17.** Korelace mezi dvěma měřeními v odstupu 3-6měsíců u měření z MPRAGE sekvence - Siemens (vlevo) a T2w sekvence - ScanView (vpravo). Obrázek 11 i 12 vytvořil a souhlas s použitím dal Johannes Disselhorst (Siemens Healthineers).

## 4.2 Determinanty MUCCA u zdravých osob a pacientů s roztroušenou sklerózou

Věk, tělesná výška, intrakraniální objem, objem mozku, šedé i bílé hmoty mozku korelují u zdravých jedinců s MUCCA (**Tabulka 12**). Po korekci na věk a pohlaví si zachovala významnost pouze korelace MUCCA a TIV ( $r = .316$ ;  $p = .014$ ), celkového objemu mozku ( $r = .342$ ;  $p = .001$ ) a bílé hmoty mozku ( $r = .342$ ,  $p = .001$ ).

**Tabulka 12.** Korelace mezi MUCCA, věkem, pohlavím a zkoumanými parametry souvisejícími s mozkiem a tělesnou stavbou. V prvním řádku jsou prosté Pearsonovy korelační koeficienty (a příslušné p-hodnoty). Druhý a třetí řádek ukazuje koeficienty pro parciální korelace korigované na věk a věk + pohlaví. Ve třetím řádku jsou uvedeny korelační koeficienty korigované na věk, pohlaví a jeden další „přebytečný parametr“.

Proměnné	související s mozkiem				související s tělesnou stavbou + věk		
	WM	GM	Mozek	CSF	TIV	Výška	Věk
<b>Zero-order korelace (r / p)</b>	.576/ <.001	.348/ .005	.481/ <.001	.184/ .150	.482/ <.001	.356/ .004	- .393/.001
<b>Parciální korelace +Věk</b>	.577 / <.001	.400/ .001	.510/ <.001	.195/ .129	.492/ <.001	.362/ .004	-
<b>Věk + pohlaví</b>	.462/ <.001	.212/ .101	.355/ .005	.138/ .289	.335 / .008	.121/ .354	-
<b>Věk, pohlaví + nuisance variable</b>	<b>.342 / .001</b>	-0.18 / .858	<b>.341/ .001</b>	.000 / .99	<b>.316 / .014</b>	-0.23/ .861	-
<b>Nuisance variable</b>	<b>GM</b>	<b>WM</b>	<b>CSF</b>	<b>Mozek</b>	<b>Výška</b>	<b>TIV</b>	-

CSF = mozkomíšní mok; GM = šedá hmota, TIV = totální intrakraniální objem; WM = bílá hmota

## 4.3 Normalizace míchy

Pozorovali jsme korelaci mezi absolutními hodnotami objemu míchy, předozadního průměru míchy (APW) a trváním RS, EDSS, pyramidovým, cerebelárním, senzitivním a sfinkterovým FS skóre, oproti tomu levopravý průměr míchy (LRW) nekoreloval s žádným z klinických parametrů (**Tabulka 13**). Normalizace objemu míchy pomocí TIV a tělesné výšky vedla k úplnému vymizení rozdílu mezi ženami a muži (v celé skupině je absolutní objem míchy u mužů průměrně o 4.5% vyšší než u žen), žádný z normalizačních faktorů však nezlepšil korelaci s EDSS a jednotlivými funkčními skóre této škály.

**Tabulka 13.** Srovnání korelace absolutního objemu míchy a normalizovaného objemu míchy s klinickým postižením

	EDSS	Pyramidový FS	Cerebelární FS	Senzorický FS	Sfinkterový FS	Anormalizovaná frekvence relapsů
SCV absolutní	-.27**	-.28**	-.231**	-.136*	-.163**	-.233**
SCVn TIV	-.189**	-.216**	-.18**	-.103	-.11	-.173**
SCVn tělesná výška	-.246**	-.274**	-.229**	-.133*	-.14*	-.178**
SCVn výška obratle C3	-.219**	-.243**	-.192**	-.116*	-.152**	-.137*
APW	-.321**	-.355**	-.269**	-.182**	-.196**	-.201**
LRW	-.105	-.067	-.1	-.042	-.041	-.121*

APW = předozadní objem míchy; EDSS = expanded disability status scale; FS = funkční systém; LRW = levopravý průměr míchy; SCV = spinal cord volume – objem míchy; SCVn = objem míchy normalizovaný příslušným faktorem; TIV = totální intrakraniální objem; \*  $p < .05$ ; \*\*  $p < .001$

#### 4.4 Přínos hodnocení fokálních ložisek a difúzních změn ve srovnání se samotným objemem míchy v predikci klinického postižení

##### 4.4.1 Typy postižení míchy a lokalizace ložisek, vztah mezi patologií míchy a klinickým postižením

Z celkového počtu 1249 pacientů jich mělo 424 (33.9%) normálně vypadající míchu. U 499 pacientů byla patrná fokální ložiska – 318 (25.5%) pacientů mělo pouze fokální ložiska a 181 (14.5%) pacientů mělo fokální i difúzní ložiska. 326 (26.1%) pacientů mělo pouze difúzní změny bez jasně ohraničitelných ložisek (**Tabulka 14**). Podíl jednotlivých typů postižení míchy se lišil mezi pacienty s EDSS do 3.0  $\geq$  3.5. ( $\chi^2 = 17.85$ ,  $p < 0.001$ ). Většina ložisek byla lokalizována v oblasti horní krční míchy: 26.7% bylo na úrovni obratlového těla C1/2, 11.3% na úrovni C3, 19.5% na úrovni C4, 18.3% na úrovni C5, 13.9% na úrovni C6, 7.1% na úrovni C7 a 7.8% v oblasti Th1-5. Zde je nutné uvést, že v tomto projektu nebyla k dispozici PD sekvence k hodnocení fokálních a ložiskových změn míchy a vzhledem ke spíše konzervativnímu hodnocení byla pravděpodobně jak difúzní patologie, tak drobná fokální ložiska podceněna. Absolutní MUCCA (po zohlednění věku a trvání onemocnění) byla nižší u pacientů s EDSS  $\geq$  3.5 ( $78.65 \pm 9.86 \text{ mm}^2$  [95% CI 77.72–79.64]) než u pacientů s EDSS do 3.0 ( $85.99 \pm 9.86 \text{ mm}^2$  [95% CI 85.38–86.58]  $p < 0.001$ ).

**Tabulka 14.** Demografické, klinické a míšňí parametry souboru.

	Všichni pacienti	Mírné postižení EDSS 0-3.0	Středně těžké postižení EDSS ≥ 3.5
n (% ženy)	1249 (71)	902 (70)	347 (75.5)
Průměrný věk(roky) ±SD	40.6 ± 9.7	38.8 ± 9.0	45.5 ± 7.9
Průměrné trvání choroby (roky) ±SD	11.1 ± 7.7	9.36 ± 6.8	15.59 ± 7.93
medián EDSS (min.-max.)	2.5 (0-7.0)	2.0 (0-3)	4.0 (3.5-7)
MUCCA (mm <sup>2</sup> ±SD)	83.95 ± 9.69	85.99 ± 8.81	78.65 ± 9.86
<b>Typ postižení míchy:</b>			
Normálně vypadající n (%)	424 (33.9)	346 (38.4)	78 (22.5)
Fokální ložiska n (%)	318 (25.5)	225 (24.9)	93 (26.8)
Difúzní změny n (%)	326 (26.1)	217 (24.1)	109 (31.4)
Difúzní změny a ložiska n (%)	181 (14.5)	114 (12.6)	67 (19.3)

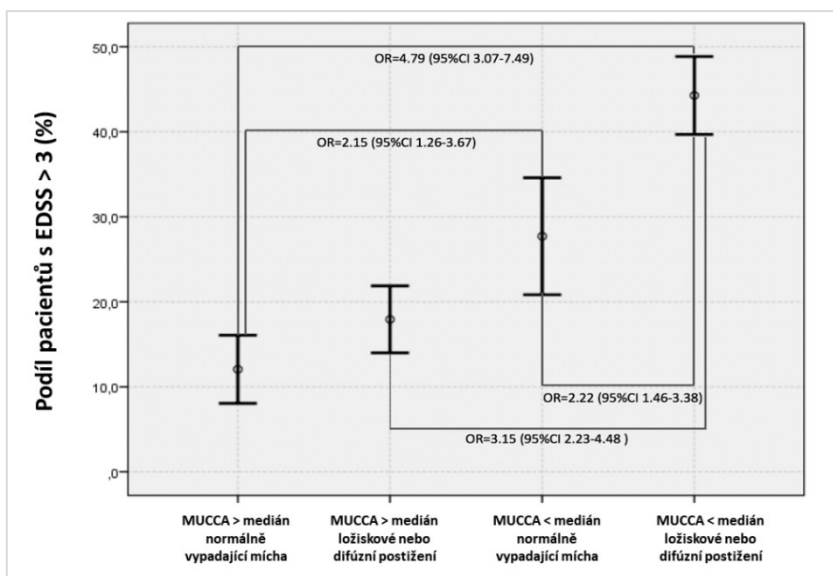
**Tabulka 15** ukazuje slabou až střední korelaci mezi MUCCA a EDSS ( $\rho = -0.315$ ), pyramidovým skóre ( $\rho = -0.341$ ), senzorickým skóre ( $\rho = -0.231$ ), sfinkterovým skóre ( $\rho = -0.251$ ), kumulativním počtem relapsů ( $\rho = -0.279$ ), věkem ( $\rho = -0.161$ ) a trváním RS ( $\rho = -0.272$ ). Počet fokálních míšňích ložisek koreloval velmi slabě pouze s EDSS a s pyramidovým skóre.

**Tabulka 15.** Spearmanovy korelační koeficienty pro vztah mezi počtem fokálních míšňích ložisek, resp. objemu míchy a klinickými parametry

		EDSS	Pyramidový FS	Senzorický FS	Sfinkterový FS	Anualizovaný počet relapsů	Kumulativní počet relapsů	Věk	Trvání choroby
<b>Počet míšňích ložisek</b>	m	n.s.	n.s.	.192*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	ž	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	all	.077*	.059*	n.s.	n.s.	n.s.	.062*	n.s.	n.s.
<b>MUCCA (mm<sup>2</sup>)</b>	m	-.326*	-.355*	-.218*	-.197*	n.s.	-.280*	-.155*	-.277*
	ž	-.316*	-.339*	-.231*	-.276*	n.s.	-.267*	-.156*	-.265*
	all	-.315*	-.341*	-.231*	-.251*	n.s.	-.279*	-.161*	-.272*

#### 4.4.2 Srovnání hodnocení samotného objemu míchy a jeho kombinace s typem postižení míchy v predikci klinického postižení

**Obrázek 18** ukazuje podíl pacientů se středně těžkým klinickým postižením ( $EDSS \geq 3.0$ ) u čtyř typů postižení míchy dle dichotomizovaného objemu míchy (MUCCA pod / nad medián) a přítomnosti či nepřítomnosti míšních ložisek a/nebo difúzních změn. Pacienti s „nejzávažnějším“ postižením míchy (MUCCA < medián a zároveň přítomností ložiskových či difúzních změn) měli ve srovnání s nejméně postiženou (referenční) skupinou (normálně vypadající mícha s MUCCA > medián) téměř 5krát vyšší riziko středně těžkého postižení (OR 4.75, 95% CI 3.07–7.49,  $p < 0.001$ ) a 3krát vyšší riziko než pacienti, kteří sice měli fokální či difúzní ložiska, ale MUCCA > medián (OR 3.15, 95% CI 2.23–4.48,  $p < 0.001$ ) a 2krát vyšší riziko než pacienti s „malou“ míchou (MUCCA < medián) bez ložiskových či difúzních změn (OR 2.22, 95% CI 1.46–3.38,  $p = 0.003$ ). Pacienti s normálně vypadající míchou a MUCCA < medián měli více než dvakrát vyšší riziko postižení než referenční skupina (OR 2.15, 95% CI 1.26–3.67,  $p < 0.001$ ). Naopak u pacientů s „velkou“ míchou (MUCCA > medián) přítomnost ložisek a difúzních změn nezvyšovala riziko středně těžkého postižení ve srovnání s referenční skupinou, zároveň nebyl nalezen ani rozdíl mezi touto skupinou a pacienty s malou, normálně vypadající míchou. U skupiny s MUCCA > medián nebyl nalezen rozdíl v MUCCA u pacientů s normálně vypadající míchou (MUCCA =  $91.54 \pm 5.92 \text{ mm}^2$ ) a ložisky/difúzními změnami ( $91.33 \pm 5.88 \text{ mm}^2$ ), zatímco u pacientů s MUCCA < medián byl objem míchy u pacientů s ložisky a difúzními změnami významně menší (MUCCA  $75.88 \pm 6.59 \text{ mm}^2$ ) než u pacientů bez těchto změn (MUCCA  $78.0 \pm 5.52 \text{ mm}^2$ ).



**Obrázek 18.** Podíl pacientů s EDSS > 3.0 u čtyř skupin pacientů s různým postižením míchy definovaných dichotomizovanými míšními MR parametry (MUCCA nad a pod mediánem a přítomnost resp. nepřítomnost fokálních ložisek a difúzních změn). Obrázek ukazuje průměr a 95% konfidenční intervaly.

V binární logistické regresi, do které byli zařazeni všichni pacienti a ve které byl závislou proměnnou stupeň postižení (dichotomizované postižení s EDSS  $\leq$  3.0 vs. EDSS > 3.0), byl hodnocen relativní prediktivní podíl MUCCA, difúzních změn a fokálních ložisek. Všechny míšní parametry přispívaly k predikci postižení. Celkově vysvětlovaly demografické a míšní parametry 27.9% variability postižení, přičemž většinu vysvětlovalo zejména trvání RS, dichotomizovaná MUCCA vysvětlila dalších 20.1% a přítomnost difúzních a fokálních ložisek dále mírně zlepšily model, ale jejich podíl na vysvětlení variability byl malý (pouze 3.4% resp. 3.9% vysvětlené variability). Model s dichotomizovanými ložisky a počtem míšních ložisek se od sebe nelišily ( $R^2$  a  $\chi^2$  ukazuje **Tabulka 16 A**)

Ve druhé analýze, do které byli zařazeni pouze pacienti s RRRS a EDSS  $\leq$  4.0 a ve které byl závislou proměnnou opět dichotomizovaný stupeň postižení (EDSS  $\leq$  1.5 and EDSS > 1.5), byl opět podíl míšních parametrů signifikantní, nicméně opět vysvětloval pouze malou část variability v postižení. 78.7% vysvětlené variability připadalo na věk a trvání RS, 8.9% na difúzní změny, MUCCA se na vysvětlené variabilitě podílela 6.8% a fokální ložiska se podílela 5.5% (**Tabulka 16 B**).

**Tabulka 16 A a B.** Vztah mezi demografickými a míšními proměnnými a dichotomizovaným postižením v části A (EDSS  $\leq$  3 vs. EDSS  $>$  3 u všech pacientů) a v části B (EDSS  $\leq$  1.5 vs. EDSS  $>$  1.5 v podskupině pacientů s RRRS a EDSS  $\leq$  4.0)

<b>A</b> Prediktory	B	SE	p	OR	95% CI pro OR	R <sup>2</sup>	$\chi^2$ pro daný blok	p-hodnota
Trvání choroby	.070	.010	<.001	1.073	1.051 – 1.095	0.207	192.51	<.0001
Věk	.049	.009	<.001	1.050	1.033 – 1.068			
Pohlaví	-.261	.163	.108	.770	.560 – 1.059			
<b>Model 1: MUCCA, přítomnost difúzních změn a fokálních míšních ložisek (všechny proměnné jsou dichotomizovány)</b>								
<b>Blok 1:</b> MUCCA < medián	1.040	.150	<.001	2.828	2.109-3.791	0.263	58.18	<.001
<b>Blok 2:</b> + přítomnost difúzních změn	.632	.177	<.001	1.881	1.330-2.661	0.266	4.64	.031
<b>Blok 3:</b> + přítomnost fokálních ložisek	.660	.196	.001	1.935	1.317-2.843	0.279	11.416	.001
<b>Model 2: dichotomizovaná MUCCA, dichotomizovaná přítomnost difúzních změn a absolutní počet fokálních míšních ložisek</b>								
<b>Blok 1:</b> MUCCA < medián	1.040	.150	<.001	2.828	2.109-3.791	0.263	58.18	<.001
<b>Blok 2:</b> + přítomnost difúzních změn	.346	.146	.018	1.413	1.061-1.883	0.268	4.64	.031
<b>Blok 3:</b> + počet ložisek	.227	.064	<.001	1.255	1.107-1.423	0.279	12.38	<.001
<b>B</b>								
<b>B</b> Prediktory	B	SE	p	OR	95% CI pro OR	R <sup>2</sup>	$\chi^2$ pro daný blok	p-hodnota
Trvání choroby	.030	.011	.005	1.031	1.009 – 1.052	0.115	98.41	<.0001
Věk	.058	.008	<.001	1.060	1.042 – 1.077			
Pohlaví	-.172	.142	.227	.842	.637 – 1.113			
<b>Model 1: MUCCA, přítomnost difúzních změn a fokálních míšních ložisek (všechny proměnné jsou dichotomizovány)</b>								
<.001	.337	.134	.012	1.401	1.078-1.820	0.125	9.23	.002
<b>Blok 2:</b> + přítomnost difúzních změn	.483	.139	<.001	1.621	1.235-2.127	0.138	11.4	.01
<b>Blok 3:</b> + přítomnost fokálních ložisek	.217	.135	.108	1.242	0.953-1.618	0.140	2.6	.107
<b>Model 2: dichotomizovaná MUCCA, dichotomizovaná přítomnost difúzních změn a absolutní počet fokálních míšních ložisek</b>								
<b>Blok 1:</b> MUCCA < medián	.335	.134	.012	1.399	1.076-1.818	0.125	9.226	.002
<b>Blok 2:</b> + přítomnost difúzních změn	.484	.138	<.001	1.622	1.237-2.128	0.138	11.39	.001
<b>Blok 3:</b> + počet ložisek	.179	.064	.006	1.196	1.054-1.357	0.146	7.961	.005

MUCCA = mean upper cervical cord cross-sectional area; B = intercept; SE = standard error; R<sup>2</sup> = Nagelkerke R square;  $\chi^2$  = chí kvadrát.

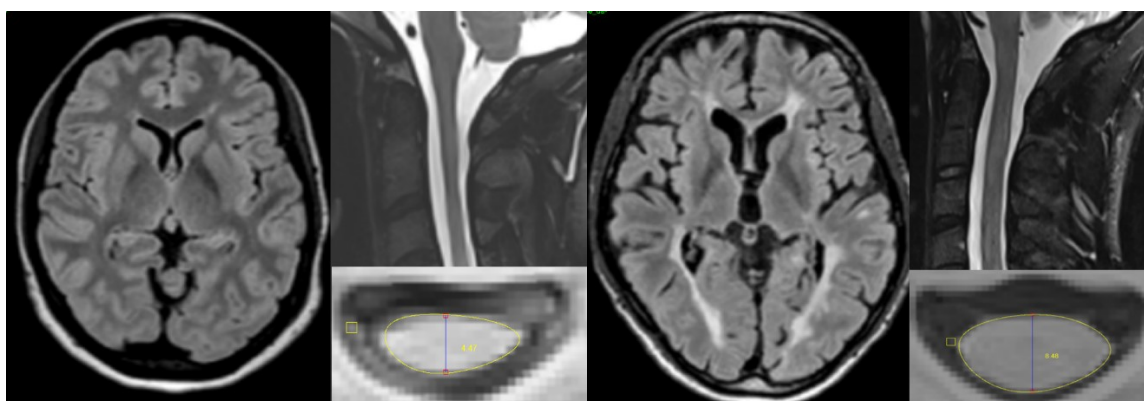


#### 4.5 Úloha míchy v klinicko-radiologickém paradoxu („diskrepantní“ pacienti)

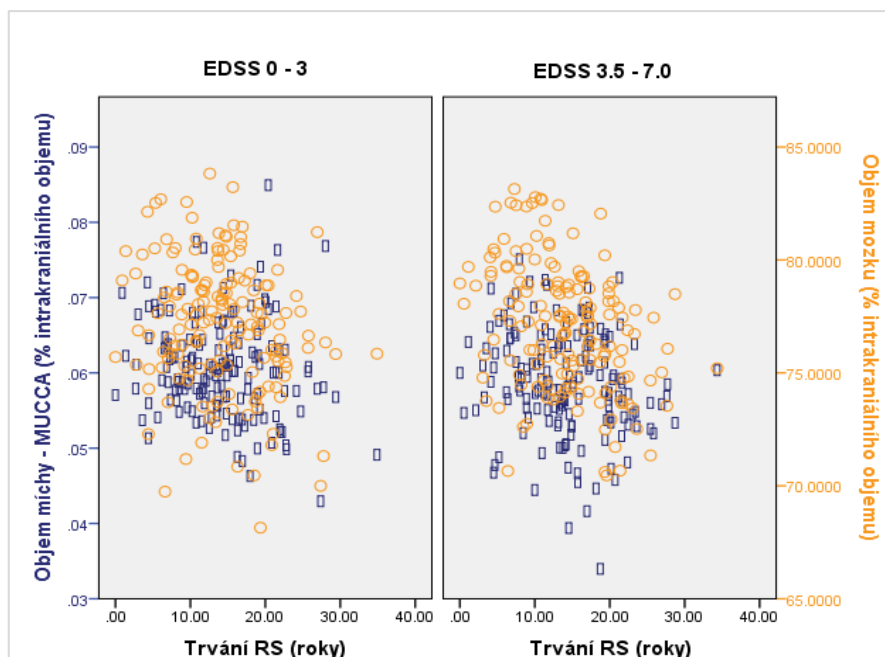
U pacientů s malým objemem ložisek a relativně vyšším stupněm postižení (MLVP; n = 281) se celkový normalizovaný objem mozku a jeho jednotlivých struktur většinou buď významně nelišil, nebo byl vyšší než u neparadoxní skupiny a než u pacientů s velkým ložiskovým postižením a nepoměrně malým klinickým postižením (VLMP n = 54), avšak jejich absolutní objem míchy byl významně nižší než u „neparadoxních“ pacientů a VLMP skupiny (**Tabulka 17**). Normalizované objemy míchy se mezi skupinami nelišily, což by hypoteticky bylo možné připsat významně většímu intrakraniálnímu objemu u pacientů ve VLMP skupině, kteří tedy mají jakousi mozkovou rezervu. V analýze s pacienty přesně spárovanými na objem intrakraniálních ložisek, kteří se lišili stupněm postižení, se ukázalo, že pacienti vyšším stupněm postižení mají menší objem míchy (MUCCA  $78.9 \pm 9.3 \text{ mm}^2$ ) než pacienti s malým postižením (MUCCA  $84.1 \pm 9.5 \text{ mm}^2$ ), a to i přes identický objem intrakraniálních lézí v bílé hmotě ( $p=0.01$ ) (**Obrázek 19 a Obrázek 20**). Normalizovaný objem mozku ( $p=0.4$ ) ani regionální objemy mozkových struktur se mezi oběma skupinami nelišily.

**Tabulka 17.** Srovnání objemů mozku a míchy u pacientů s výrazným klinicko-radiologickým paradoxem a bez něj. Proměnné jsou uváděny jako průměr ± SD / % intrakraniálního objemu s výjimkou EDSS, které je uvedeno jako medián (min—max).

	1. Neparadoxní n = 1709	2. Malý objem lézí, vysoké EDSS n = 281	3. Velký objem lézí, nízké EDSS n = 54	(p-hodnota)		
				1 vs. 2	1 vs. 3	2 vs. 3
Věk (roky)	42.6±10.1	47.5±9.0	46.2±10.1	<.001	.025	n.s.
Trvání RS (roky)	12.6±8.7	15.2±8.2	14.5±9.7	<.001	n.s.	n.s.
EDSS	2.5 (0-8.0)	4.5 (3.5 – 7.0)	2. (0-3)			
Intrakraniální objem (ml)	1407.4 ± 128.1	1364.7±111.5	1426.6±121.8	<.001	n.s.	.003
Mozek (ml/%)	1075.8±115.9 / 76.4	1052.6±100.2 / 77.1	1027.5±106.0 / 72	.022	<.001	<.001
Postranní komory (ml/%)	31.5±19.3 / 2.2	24.5±8.8 / 1.8	51.6±22.3 / 3.6	<.001	.001	<.001
Mícha - MUCCA (mm <sup>2</sup> )	83.7±9.8	79.9±10.3	83.9±7.0	<.001	n.s.	.026
Thalamus (ml/%)	13.2±1.6 / 0.94	13.1±1.4 / 0.96	12.3±1.4 / 0.86	<.001	<.001	<.001
Bílá hmota (ml/%)	425.4±58.7 / 30.2	420.6±51.0 / 31.0	401.3±52.7 / 28.1	<.001	<.001	<.001
Šedá hmota (ml/%)	650.5±66.1 / 46.3	631.9±57.2 / 46.3	626.2±59.4 / 43.9	n.s.	<.001	<.001
Kortex (ml/%)	506.9±53.6 / 36.0	491.0±47.6 / 36.0	491.1±50.2 / 34.4	n.s.	<.001	<.001
Mozeček (ml/%)	119.7±13.1 / 8.5	116.4±11.5 / 8.5	115.9±13.4 / 8.1	n.s.	<.001	.001
Corpus callosum (mm <sup>2</sup> /%)	4.7±0.8 / 3.7	4.7±0.7 / 3.9	3.9±0.8 / 3.1	<.001	<.001	.001



**Obrázek 19.** Reprezentativní příklady dvou pacientů s „disociací“ mezi ložiskovým nálezem v bílé hmotě a klinickým postižením, u kterých je patrná i disociace objemu mozku a míchy (předozadní průměr míchy v úrovni meziobratlové ploténky C3/4 pacienta vlevo je pouze 4.47 mm, zatímco u pacienta vpravo 8.48 mm).



**Obrázek 20.** Objem míchy a mozku u 172 pacientů s nízkým fyzickým postižením a 172 pacientů s vyšším postižením spárovaných na pohlaví, věk, intrakraniální objem, trvání RS a objem ložisek v bílé hmotě mozku.

## 4.6 Patologie míchy u časně RS a jejich vztah k topografii intrakraniálních ložisek

### 4.6.1 Infratentoriální ložiska a jejich vztah k difúzním změnám míchy

Co se týče spolehlivosti hodnocení míšních patologie, byla mezi hodnotiteli nalezena velmi dobrá shoda pro normálně vypadající míchu (Cohenovo kappa  $\kappa = 0.79$ ), izolovaná fokální ložiska ( $\kappa = 0.71$ ), kombinaci fokálních ložisek a difúzních změn ( $\kappa = 0.67$ ) a pro difúzní změny bez přítomnosti ložisek ( $\kappa = 0.84$ ).

15 pacientů (25.9%) mělo normálně vypadající míchu. Postižení míchy bylo patrné u 74.1 % pacientů, z toho mělo 19 (32.8%) pouze fokální ložiska, 14 (24.1%) fokální ložiska i difúzní změny a 10 (17.2%) pouze difúzní změny. Celkově byly difúzní změny patrné u 24 (41.4%) pacientů. Vzhledem k malému počtu pacientů a absenci rozdílů ve věku, trvání RS a EDSS byli pacienti dichotomizováni dle přítomnosti / nepřítomnosti difúzních změn.

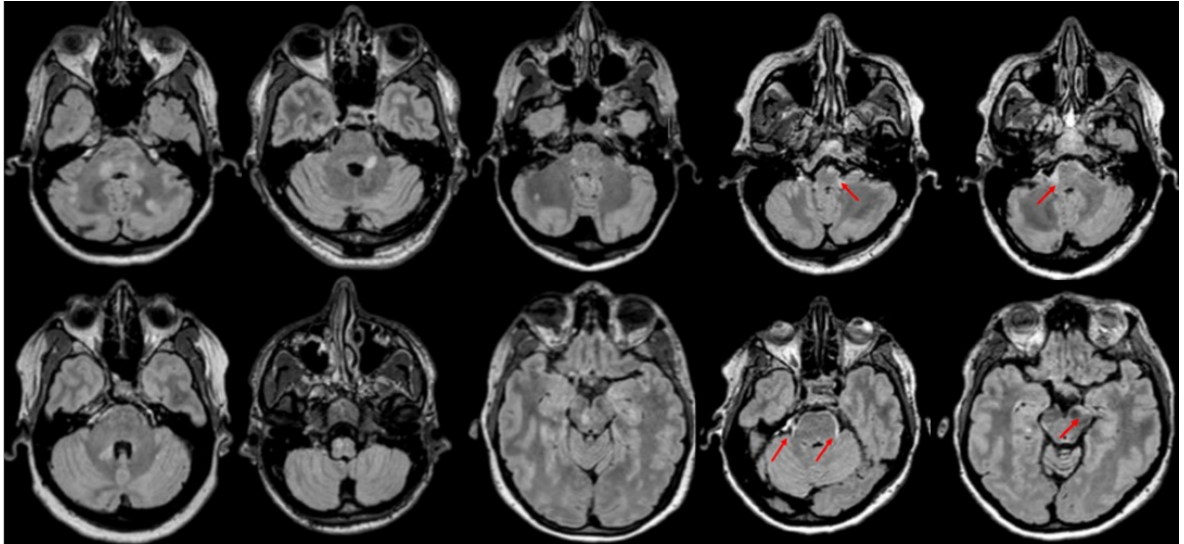
Infratentoriální ložiska (**Obrázek 21**) byla přítomna u 21 (87.5%) z 24 pacientů s difúzními změnami. Deset pacientů mělo pouze kmenová ložiska, dalších 10 mělo jak kmenová, tak mozečková ložiska a jeden pacient měl pouze izolované ložisko v mozečku. Ze skupiny pacientů bez difúzních změn míchy mělo infratentoriální ložiska 10 (29.4%) ze 34 pacientů,

z toho měl jeden pacient pouze jedno kmenové ložisko, čtyři pacienti měli ložiska v kmeni i mozečku a pět pacientů mělo pouze mozečková ložiska. **Tabulka 18** ukazuje topografii a objemy ložisek a další MR parametry. Pacienti s difúzními změnami míchy měli vyšší objem kmenových ( $p = .001$ ) i mozečkových ( $p = .016$ ) ložisek než pacienti bez difúzních změn, objem supratentoriálních ložisek byl mírně vyšší u pacientů s difúzními změnami, rozdíl však nebyl statisticky významný.

**Tabulka 18.** MR parametry zdravých kontrol a pacientů s rozdílným postižením míchy. Vztah míšního postižení a přítomnosti infratentoriálních ložisek

	Zdravé kontroly	Pacienti bez difúzních ložisek		Pacienti s difúzními ložisky	
		Normálně vypadající mícha	Pouze fokální ložiska	S fokálními ložisky	Bez fokálních ložisek
n (%)		15 (25.9)	19 (32.8)	24 (41.3)	
Věk (roky)		35.1 ± 7.3	32.2 ± 7.0	32.3 ± 7.4	29.5 ± 8.0
Trvání choroby (roky)	-	0.8 ± 1.2	0.8 ± 1.0	0.7 ± 1.0	1.3 ± 1.8
Objem intrakan. ložisek (cm <sup>3</sup> )	-	8.8 ± 11.1	3.8 ± 3.3	9.6 ± 14.0	10.9 ± 4.9
Objem infratentoriálních ložisek (cm <sup>3</sup> )	-	0.02 ± 0.04	0.03 ± 0.07	0.09 ± 0.16	0.23 ± 0.35
Objem cerebelárních ložisek (cm <sup>3</sup> )	-	0.01 ± 0.04	0.01 ± 0.05	.02 ± 0.05	0.09 ± 0.19
Objem kmenových ložisek (cm <sup>3</sup> )	-	0.01 ± 0.02	.02 ± 0.04	0.07 ± 0.11	0.15 ± 0.18
Počet pacientů s / bez infratentoriálních ložisek	-	4 / 11	13 / 6	20 / 4	
MUCCA (mm <sup>2</sup> )	89.25±7.90	90.29 ± 7.34	87.68 ± 7.83	91.20 ± 9.17	84.69 ± 13.95
Celkový objem mozku (%)	80.31±2.0	78.12 ± 3.52	79.74 ± 2.13	80.00 ± 3.23	78.44 ± 3.40
Šedá hmota (%)	49.17±2.11	48.0 ± 2.21	49.02 ± 1.44	47.71 ± 2.08	48.69 ± 2.73
Bílá hmota (%)	31.15±1.61	30.14 ± 1.66	30.72 ± 1.66	32.27 ± 2.78	29.74 ± 3.01
Postranní komory (%)	1.37±0.64	1.81 ± 0.70	1.45 ± 0.41	1.43 ± 0.84	1.82 ± 0.77
3. komora (%)	0.09±0.03	0.12 ± 0.05	0.10 ± 0.03	0.09 ± 0.03	0.14 ± 0.05
4. komora (%)	0.15±0.04	0.16 ± 0.04	0.14 ± 0.04	0.15 ± 0.04	0.18 ± 0.04
Mozeček (%)	8.84 ± 0.68	8.91 ± 0.49	9.05 ± 0.54	8.68 ± 0.64	9.08 ± 0.49
Corpus callosum (%)	4.06±0.46	3.78 ± 0.43	3.96 ± 0.39	4.03 ± 0.53	3.72 ± 0.69
Thalamus (%) ¥, □	0.99±0.06	0.97 ± 0.08	1.00 ± 0.06	0.93 ± 0.08	0.93 ± 0.06

¥= zdraví vs. pacienti s difúzními změnami; □= pacienti bez difúzních změn vs. pacienti s difúzními změnami míchy; data jsou uvedena jako průměry ± SD. Hodnoty jednotlivých struktur jsou objemy normalizované na totální intrakraniální objem kromě MUCCA, která není normalizovaná.



**Obrázek 21.** Reprezentativní obrázky infratentoriálních ložisek u našich pacientů s časnou RS. V souladu s literaturou (Droby et al., 2015) byla nejčastější lokalizací oblast pedunklů. Zajímavý je také méně častý, ale pro RS typický typ ložiska charakteru diskrétního subpiálního „lemování“ na periférii mozkového kmene (označeno šípkami). Tento typ byl nalezen u 2 pacientů a nebyl spojen s difúzními změnami.

#### 4.6.2 Predikce přítomnosti míšních fokálních ložisek a difúzních změn

V binární logistické regresi se ukázalo, že přítomnost kmenových ložisek je jediná proměnná spojená s vyšším rizikem difúzních míšních změn (OR 47.1; 95% CI 6.9-321.61;  $p < 0.001$ ). Model vysvětloval 54.9% variability míšní patologie ve smyslu difúzních změn. Objem supratentoriálních ložisek a přítomnost mozečkových ložisek nebyla spojena s vyšším rizikem difúzních změn (**Tabulka 19**). Ani kmenová, ani mozečková ložiska nebyla identifikována jako rizikový faktor přítomnosti fokálních míšních ložisek (OR 0.22; 95% CI 0.01-4.3;  $p = 0.32$ ) (**Tabulka 20**).

**Tabulka 19.** Hierarchická binární logistická regrese ukazující, jak se jednotlivé proměnné relativně podílí na predikci přítomnosti difúzních změn míchy.

	Model 1			Model 2			Model 3		
	OR	95% CI	p	OR	95% CI	p	OR	95% CI	p
Pohlaví (žena=reference)	1.76	0.51-6.11	.372	2.05	0.57-7.41	.271	2.12	0.42-10.79	.276
Věk	0.96	0.89-1.04	.333	0.96	0.88-1.04	.276	.94	0.85-1.04	.284
Trvání RS	1.05	0.67-1.64	.835	1.02	0.65-1.6	.938	1.43	0.78-2.63	.153
Objem intrakraniálních ložisek				1.06	0.99-1.13	.103	1.02	0.94-1.11	.606
Přítomnost kmenových ložisek							<b>47.10</b>	<b>6.9-321.61</b>	<b>&lt;.001</b>
Přítomnost mozečkových ložisek							0.29	0.04-2.47	.259
Hosmer a Lemeshow chi2/p	3.07 / 0.93			7.81 / 0.45			3.54 / 0.9		
Chi2 / významnost na úrovni jednotlivých částí ( a celého modelu)	1.69 / 0.69 (0.64)			4.95 / 0.071 (0.29)			35.01 / 0.001 (0.001)		
Nagelkerke R <sup>2</sup> pro celý model	0.04			0.11			0.55		

Závislá proměnná je zde přítomnost difúzních změn míchy. CI = konfidenční interval; OR: odds ratio; p = hladina významnosti.

**Tabulka 20.** Hierarchická binární logistická regrese ukazující, jak se jednotlivé proměnné relativně podílí na predikci přítomnosti fokálních míšních ložisek.

	Model 1			Model 2			Model 3		
	OR	95% CI	p	OR	95% CI	p	OR	95% CI	p
Pohlaví (žena=reference)	1.19	.187-7.615	.851	.74	.101-5.047	.737	.55	.059-5.152	.602
Věk	.94	.854-1.042	.252	.93	.839-1.039	.205	.93	.825-1.042	.205
Trvání RS	.95	.475-1.932	.905	1.07	.512-2.223	.863	1.23	.533-2.819	.633
Objem intrakraniálních ložisek				.83	.677-1.020	.076	.73	.541- .989	.042
Přítomnost kmenových ložisek							.22	.012-4.299	.320
Přítomnost mozečkových ložisek							20.97	.681 - 645.127	.082
Hosmer a Lemeshow chi2/p	8.479 / .388			14.731 / .065			12.516 / .130		
Chi2 / významnost na úrovni jednotlivých částí ( a celého modelu)	1.374 / .712 (.712)			6.545 / .023 (.162)			11.198 / .098 (0.082)		
Nagelkerke R <sup>2</sup> pro celý model	.053			.253			0.376		

Závislá proměnná je zde přítomnost fokálních míšních ložisek. CI = konfidenční interval; OR: odds ratio; p = hladina významnosti

#### 4.6.3 Objem mozku a míchy u pacientů s časou RS a rozdílnou míšní patologií

Pacienti s difúzními změnami měli nižší normalizovaný objem thalamu než pacienti bez difúzních změn ( $p = .008$ ;  $p = 0.002$ ) a než zdraví jedinci odpovídajícího věku a pohlaví ( $p = 0.002$ ). Kromě thalamu nebyly nalezeny rozdíly globálního a regionálních objemů mozku a překvapivě ani MUCCA mezi skupinami (**Tabulka 21**).

#### 4.6.4 Klinické nálezy u pacientů s časou RS a rozdílnou míšní patologií

Pacienti s difúzními změnami měli vyšší pyramidové ( $p=.002$ ), cerebelární ( $p=.036$ ) a kmenové ( $p=.002$ ) funkční systémové skóre, celkové EDSS se však nelišilo vzhledem k (nesignifikantně) vyššímu vizuálnímu skóre u pacientů bez difúzních změn (**Tabulka 21**).

**Tabulka 21.** Klinické skóre u pacientů bez difúzních změn a s difúzními změnami

		všichni	bez míšních difúzních změn	s míšními difúzními změnami
n (ženy / muži)	58 (44/14)	58 (44/14)	34 (27/7)	24 (17/7)
% mužů	24.1	24.1	20.6	29.2
Věk (roky) ± SD	32.8 ± 7.5	32.8±7.4	31.7 ± 7.7	33.5 ± 7.2
Trvání choroby (roky) ± SD	-	0.89±1.20	0.84 ± 1.08	0.96 ± 1.36
EDSS	-	2.0 (0-4.0)	1.5 (0-4.0)	2.0(1.0-4.0)
Vizuální skóre	-	0 (0-6)	0 (0-6)	0 (0-2)
Pyramidové skóre *	-	1 (0-3)	1 (0-3)	2 (1-3)
Kmenové skóre *	-	0 (0-2)	0 (0-1)	0 (0-2)
Mozečkové skóre *	-	0 (0-2)	0 (0-1)	0 (0-2)
Senzorické skóre	-	1 (0-3)	1 (0-2)	1 (0-3)
<b>Iniciální symptomy</b>				
Optická neuritida n (%)	-	19 (32.8)	13 (38.2)	6 (25)
Kmenový syndrom n (%)	-	6 (10.3)	3 (8.8)	3 (12.5)
Míšní / dlouhé dráhy n (%)	-	28 (48.3)	16 (47.1)	12 (50)
Hemisferická / polyregionální n (%)	-	5 (8.6)	2 (5.9)	3 (12.5)

Věk a trvání choroby jsou uvedeny jako průměr ±SD. EDSS a jednotlivá funkční skóre jsou uvedena jako medián (minimum – maximum). EDSS = Expanded Disability Status Scale.

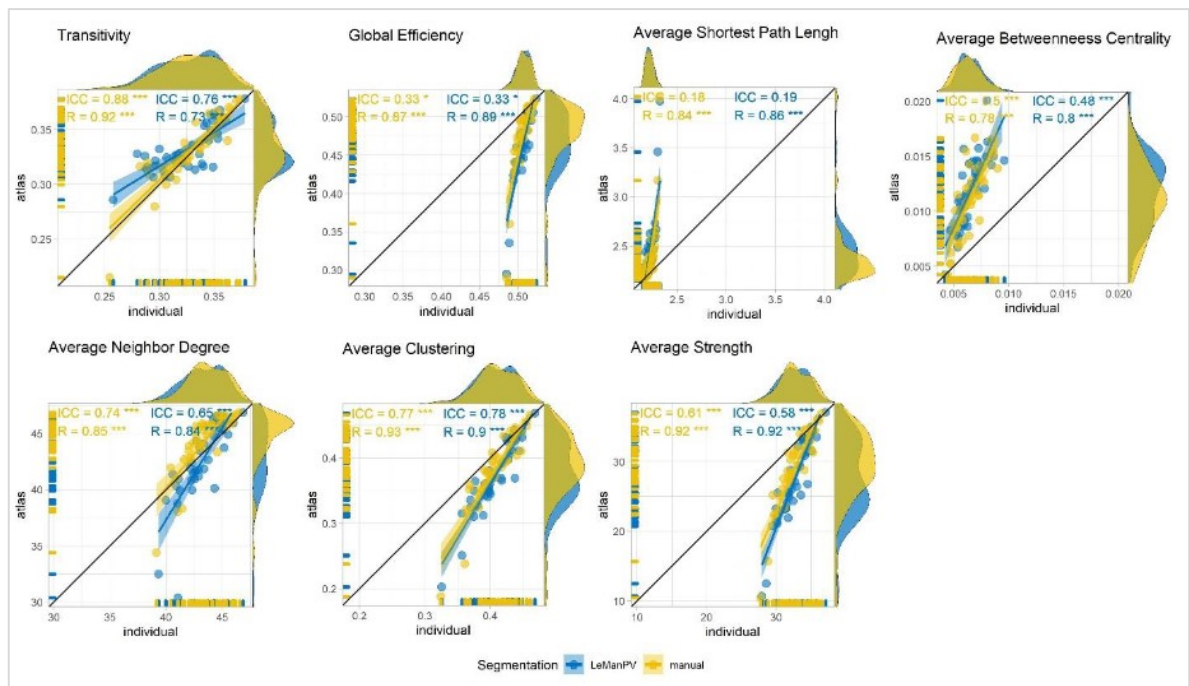
## 4.7 Diskonektom

### 4.7.1 Srovnání modelování diskonektomu

Spearmanova korelace mezi na atlasu založené a na individuální traktografii založené konektivitě (mezi jednotlivými mozkovými laloky) byla  $0.76 \pm 0.07$  (pro manuální segmentaci ložisek) a  $0.75 \pm 0.07$  (pro automatickou segmentaci).

Spearmanovy korelační koeficienty a koeficienty vnitrotržní korelace odrážející shodu mezi globálními topologickými parametry odvozenými z diskonektomu získaného pomocí traktografie (DTI) respektive pomocí atlasu (žlutě pro manuální segmentaci a modře pro automatickou segmentaci pomocí LeMan-PV) a hladiny významnosti po korekci pro mnohočetná porovnání ukazuje **Obrázek 22**. Při manuální segmentaci ložisek byly korelace lehce vyšší, ale podobné a Spearmanovy korelační koeficienty byly  $\geq 0.73$  pro všechny topologické znaky. ICC ukázal relativně dobrou shodu pro transitivitu, průměrné shlukování a průměrný stupeň sousedů (neighbour degree) ( $> 0.6$ ). Nízká shoda ( $< 0.5$ ) byla pozorována pro průměrnou centralitu měřenou středovou mezípolohou (betweenness centrality), ale také pro globální efektivitu a průměrnou nejkratší cestu. U ostatních lokálních topologických vlastností byly korelace mezi hodnotami získanými z individuální traktografie a technikou založenou na atlasu vysoké ( $ICC > 0.75$ ,  $\rho > 0.70$ ) a metoda segmentace ložisek zde korelace významně neovlivnila.



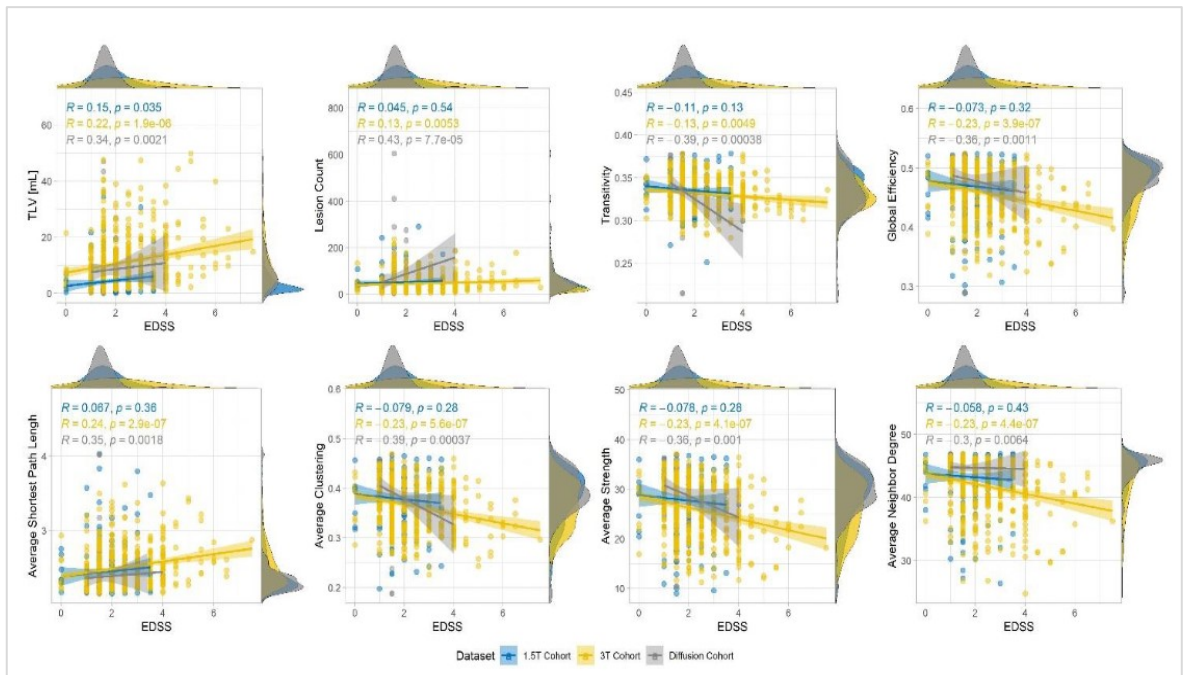


**Obrázek 22.** Korelace topologických vlastností získaných z diskonektomu založeném na atlasu (osa y) a ekvivalentní veličiny získané pomocí diskonetomu z individuální traktografie (osa x) u pacientů z difúzní/DSI kohorty. Každý bod je jeden pacient. Data získaná při použití manuální segmentace jsou znázorněna žlutě, data získaná při použití automatické segmentace pomocí softwaru Le-Man-PV modře. ICC(3,1) a Spearmanovy korelační koeficienty jsou uvedeny s příslušnými hladinami významnosti po korekci pro mnohočetná porovnání \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$

#### 4.7.2 Korelace diskonektomu a klinického stavu

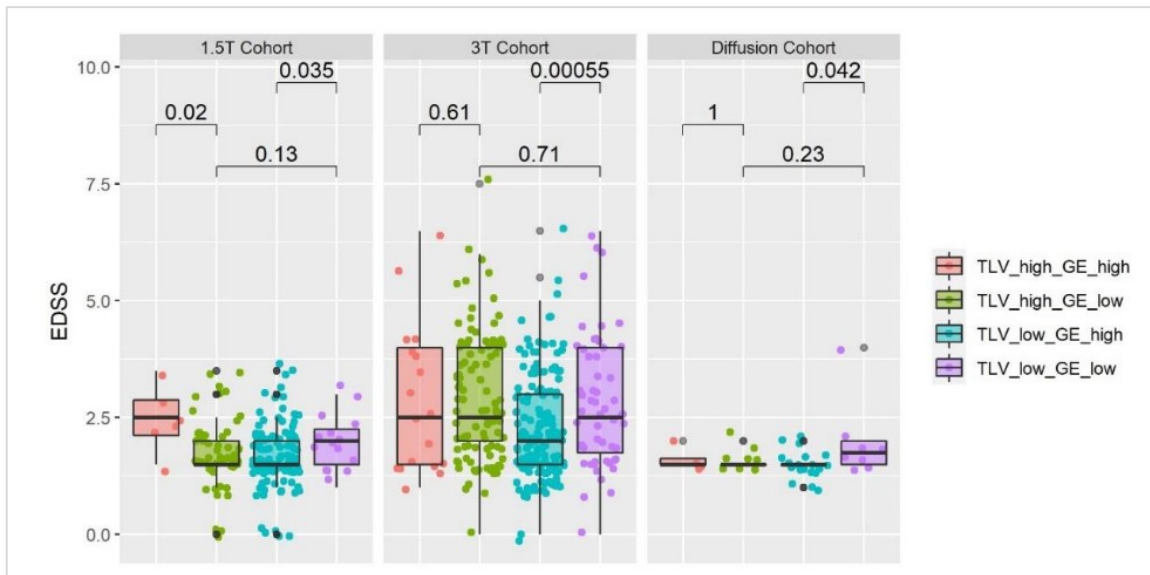
Všechny parametry získané z diskonektomu korelovaly s objemem ložisek ve všech kohortách. Nejslabší korelace byla pozorována pro transitivity (zejména u 3T kohorty:  $\rho = -0.46$ ). Transitivity, globální efektivita, průměrné shlukování, průměrný stupeň uzlu a souseda klesaly se zvyšujícím se objemem ložisek, zatímco hodnota average shortest path vzrůstala. Obrázek 23 ukazuje korelace globálních topologických parametrů s EDSS u jednotlivých kohort a pro srovnání jsou uvedeny i korelace s konvenčními MR parametry (objem a počet ložisek). Korelace konvenčních MR parametrů a EDSS u všech kohort byly srovnatelné.

Korelace EDSS a topologických parametrů odvozených od diskonektomu byly konzistentně nejslabší u 1.5T kohorty. Korelace EDSS s topologickými parametry byly srovnatelné, ale ne významně silnější než korelace EDSS s objemem a počtem ložisek **Obrázek 23.**



**Obrázek 23.** Korelace EDSS (osa x) a topologických parametrů diskonektomu (osa y).

Při stratifikaci podle dichotomizovaného objemu ložisek a globální efektivity jsme pozorovali významné rozdíly v EDSS zejména u 1.5 kohorty (**Obrázek 24**). Tabulka 22 uvádí p-hodnoty (adjustované s použitím Benjamini-Hochberg metody). Cut-off hodnoty objemu ložisek a globální efektivity (tedy průměrné hodnoty) byly 13 ml a 0.449 u 3T kohorty, 4.2 ml a 0.466 u 1.5T kohorty a 7.7 a 0.475 u DSI kohorty. U pacientů ve 3T a 1.5T kohortě s nízkým objemem ložisek, u kterých byla globální efektivity nízká, bylo EDSS vyšší než u pacientů s vyšší globální efektivitou. U pacientů v DSI kohortě tento rozdíl v EDSS nebyl po korekci pro mnohočetná porovnání signifikantní.



**Obrázek 24.** Distribuce EDSS u jednotlivých kohort a u pacientů rozdělených podle dichotomizovaného (vysokého resp. nízkého objemu ložisek) a podle dichotomizované (vysoké a nízké) globální efektivity.

**Tabulka 22.** Srovnání distribuce EDSS mezi skupinami charakterizovanými vysokým, resp. nízkým objemem ložisek (první a druhý řádek; srovnání je mezi skupinou s nízkou a vysokou globální efektivitou) a mezi skupinami s vysokou a nízkou globální efektivitou (třetí a čtvrtý řádek; srovnání je zde mezi skupinami s nízkým a vysokým objemem ložisek), zvláště pro každou kohortu; p-hodnoty jsou adjustované pomocí Benjamin-Hochberg metody.

	1.5T kohorta	3T kohorta	DSI kohorta
	Adjustovaná p-hodnota		
Vysoký objem ložisek	0.041 *	0.71	1
Nízký objem ložisek	0.047 *	0.002 **	0.17
Vysoká globální efektivita	0.026 *	0.175	0.60
Nízká globální efektivita	0.127	0.71	0.46

#### 4.8 T<sub>1</sub> mapování a periventrikulární gradient T<sub>1</sub> časů

Jak u časné RS (n = 47), tak u progresivní RS (n = 52) jsme pozorovali periventrikulární gradient poškození normálně vypadající bílé hmoty. Podíl poškozené bílé hmoty (vyjádřený jako % voxelů v NAWM se z-skóre > 2 a normalizovaný na velikost dané vrstvy) byl nejvyšší v blízkosti komor (21% u časné a 36% u progresivní RS) a postupně klesal (na 3% resp. 17% u časné a progresivní RS v poslední, třicáté vrstvě). Podobně jsme zachytili i gradient absolutních hodnot z-skóre s maximem periventrikulárně a postupným poklesem,

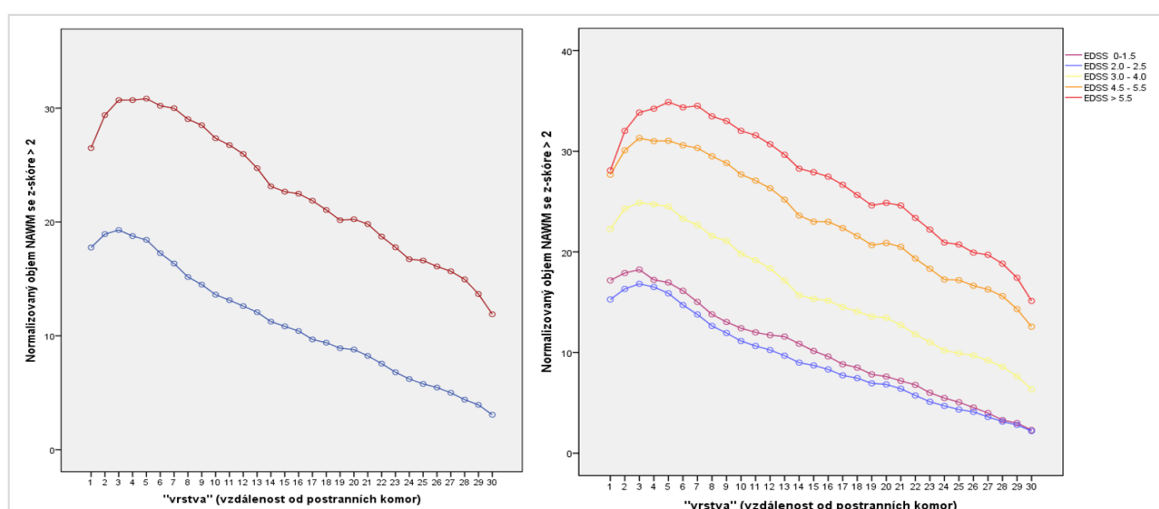
což naznačuje závažnější poškození tkáně v těsné blízkosti komor. Také absolutní z-skóre byla vyšší v progresivní kohortě. Ukázal se také „gradient“ pravděpodobnosti výskytu ložiska, která byla u obou kohort nejvyšší v blízkosti komor a s narůstající vzdáleností od komor klesala. Překvapivě jsme nenalezli významný rozdíl mezi pacienty s časnou a progresivní RS v absolutních T1 časech ani gradientech z-skóre v ložiscích.

Srovnání T<sub>1</sub> veličin odvozených od z-skóre v normálně vypadající bílé hmotě a jejich rozdíly mezi pacienty s časnou a progresivní RS shrnuje **Tabulka 23**.

**Tabulka 23.** Periventrikulární změny vyjádřené jako objem normálně vypadající bílé hmoty se z-skóre > 2 a absolutní z-skóre > 2 v jednotlivých vrstvách.

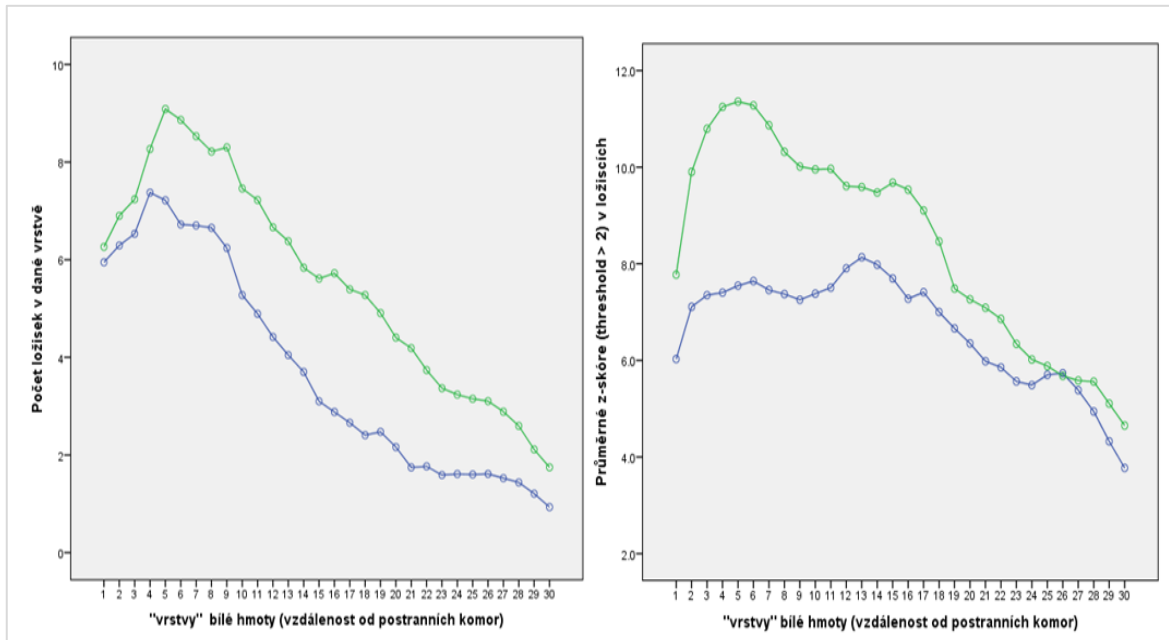
	Objem NAWM se z-skóre>2		Absolutní z-skóre		% rozdíl mezi vrstvou 1 a příslušnou vrstvou (objem NAWM se z-skóre > 2)		% rozdíl mezi vrstvou 1 a příslušnou vrstvou (absolutní z-skóre)	
	Časná RS	Progresivní RS	Časná RS	Progresivní RS	Časná RS	Progresivní RS	Časná RS	Progresivní RS
<b>Vrstva 1</b>	16.8±13.1	34.7±11.1	2.8±0.3	3.5±0.6	-	-	-	-
<b>Vrstva 5</b>	18.6±13.7	35.7±9.4	2.8±0.3	3.5±0.5	+28.0±47.8	+5.3±10.4	+1.1±4.1	+1.6±4.4
<b>Vrstva 10</b>	13.6±11.4	31.1±9.0	2.7±0.3	3.4±0.4	-15.0±27.3	-8.5±10.3	-1.3±4.5	-1.6±6.6
<b>Vrstva 15</b>	10.6±10.8	25.3±9.1	2.7±0.3	3.3±0.4	-39.3±26.3	-27.6±8.9	-3.4±5.1	-5.7±5.5
<b>Vrstva 20</b>	8.1±8.0	21.7±8.7	2.7±0.3	3.2±0.4	-55.0±19.4	-38.5±9.9	-3.0±5.9	-6.8±6.8
<b>Vrstva 30</b>	3.3±4.4	14.8±7.8	2.5±0.2	2.9±.3	-84.1±13.2	-59.5±13.5	-8.7±7.0	-14.6±8.6

NAWM = normálně vypadající bílá hmota. Tučně uvedené hodnoty se statisticky významně liší u pacientů s časnou a progresivní RS.



**Obrázek 25.** Graf vlevo - srovnání objemu voxelů se z-skóre > 2 v jednotlivých periventrikulárních koncentrických „vrstvách“ mezi pacienty s časnou RS (modrá) a progresivní RS (červená) a graf vpravo- srovnání mezi skupinami pacientů s rozdílným postižením dle EDSS.

**Obrázek 26.** Graf vlevo - periventrikulární gradient počtu ložisek v jednotlivých vrstvách u pacientů s časnou RS (modrá) a progresivní RS (zelená); graf vpravo - průměrné z-skóre v ložiscích u pacientů s časnou a progresivní RS.



U pacientů s časnou RS srovnání korelace EDSS s počtem (Spearmanovo rho ( $\rho$ ) = 0.117,  $p$  = .432) a objemem ložisek ( $\rho$  = .179,  $p$  = .228) a korelace EDSS s veličinami odvozenými od T1 časů ukázalo, že gradient poškození NAWM mezi vrstvami (rozdíl z-skóre mezi vrstvami vydělený vzdáleností mezi vrstvami) koreluje s EDSS lépe než konvenční parametry (**Tabulka 24**). Nejlépe s EDSS koreloval gradient průměrných z-skóre při zvolené hranici z-skóre 2 mezi vrstvami 1 a 5 ( $\rho$  = .315,  $p$  = .031), 1 a 10 ( $\rho$  = .338,  $p$  = .02) a 1 a 20 ( $\rho$  = .306,  $p$  = .036). Parametry v ložiscích u časně RS s EDSS nekorelovaly (data proto neuvádíme). Naopak u pacientů s progresivní RS nebyla korelace EDSS a z-skóre v NAWM lepší než korelace s počtem ( $\rho$  = .274,  $p$  = .049) a objemem ložisek ( $\rho$  = .195,  $p$  = .166), zatímco průměrná z-skóre a gradienty z-skóre v ložiscích s EDSS korelovala významně lépe (**Tabulka 25**).

**Tabulka 24.** Korelace mezi gradientem v NAWM (rozdíl průměrných z-skóre mezi příslušnými vrstvami korigovaný na vzdálenost mezi vrstvami) a EDSS u pacientů s časnou RS. V řádcích jsou gradienty mezi vrstvou 1 a dalšími vrstvami (2, 5, 10, 20 a 30) a sloupce představují hranice z-skóre pro výpočet průměrných hodnot v daných vrstvách (z-skóre 0, 1, 2, 3).

Gradient mezi vrstvami	Koeficient korelace pro jednotlivá z-skóre				p-hodnoty			
	0	1	2	3	0	1	2	3
1-2	0.252	0.28	0.303	0.228	0.087	0.057	0.038	0.123
1-5	0.281	0.298	0.315	0.251	0.056	0.042	0.031	0.089
1-10	0.276	0.307	0.338	0.229	0.06	0.036	0.02	0.122
1-20	0.28	0.281	0.306	0.136	0.057	0.055	0.036	0.362
1-30	0.292	0.277	0.293	0.166	0.046	0.06	0.045	0.264

**Tabulka 25.** Korelace mezi gradientem v ložiscích (rozdíl průměrných z-skóre mezi příslušnými vrstvami korigovaný na vzdálenost mezi vrstvami) a EDSS u pacientů s progresivní RS. V řádcích jsou gradienty mezi vrstvou 1 a dalšími vrstvami (2, 5, 10, 20 a 30) a sloupce představují hranice z-skóre pro výpočet průměrných hodnot v daných vrstvách (z-skóre 0, 1, 2, 3).

Gradient mezi vrstvami	Koeficient korelace pro jednotlivá z-skóre				p-hodnoty			
	0	1	2	3	0	1	2	3
1-2	0.275	0.296	0.297	0.306	0.048	0.033	0.033	0.027
1-5	0.246	0.267	0.276	0.296	0.079	0.056	0.048	0.033
1-10	0.327	0.319	0.340	0.363	0.018	0.021	0.014	0.008
1-20	0.349	0.364	0.374	0.388	0.011	0.008	0.006	0.004
1-30	0.345	0.337	0.345	0.352	0.012	0.014	0.012	0.01

## 5 Diskuze

### 5.1 Mícha

První část práce potvrzuje dlouho známý význam hodnocení objemu míchy u RS a vztah difúzních změn míchy, míšní atrofie a vyššího klinického postižení. Ukázali jsme, že malý objem míchy také u části pacientů vysvětluje disociaci mezi malým intrakraniálním ložiskovým postižením a nepoměrně vysokým stupněm postižení. Dále jsme potvrdili, že difúzní změny míchy jsou spojeny s míšní atrofií a vyšším postižením. Novým pozorováním je, že u relativně méně postižených pacientů, kteří zatím nemají výrazně omezenou schopnost chůze (EDSS do 4.0), jsou difúzní změny spojeny s rizikem vyššího stupně postižení více než samotný objem míchy. Difúzní změny jsou překvapivě přítomny u části pacientů již v časně fázi onemocnění a u těchto pacientů jsou jasně spojeny s přítomností ložisek v mozkovém kmeni.

#### 5.1.1 Přínos hodnocení fokálních ložisek a difúzních změn ve srovnání se samotným objemem míchy v predikci klinického postižení

Ve velké kohortě 1249 pacientů jsme prokázali dobrou spolehlivost semi-automatické metody měření objemu míchy pomocí inter- a intra-rater variability i potvrzením výsledků některých předchozích studií: slabá až střední korelace mezi MUCCA a EDSS resp. jednotlivými funkčními systémy odpovídá korelaci publikované v 1.5T studii (Stankiewicz et al., 2009). Rozdíly v MUCCA mezi muži a ženami taktéž odpovídají pozorováním v literatuře (Lukas et al., 2013) (Mann et al., 2007) (Rashid et al., 2006). Dále se potvrdilo, že difúzní postižení koreluje s atrofií míchy. Novým pozorováním bylo, že oba aspekty poškození míchy (atrofie a fokální i difúzní ložiska) zvyšují pravděpodobnost závažnějšího klinického postižení, a to rozdílně v různých skupinách pacientů. V celé kohortě pacientů s RRRS i SPRS přispívá MUCCA celkově k predikci vyššího stupně postižení relativně více než fokální ložisková a difúzní patologie. Naopak pokud se díváme pouze na skupinu pacientů s RRRS, kteří jsou dosud plně mobilní (EDSS do 4.0) a snažíme se odlišit pacienty s minimálním klinickým postižením od pacientů více postižených, přítomnost difúzních změn je zde významnějším faktorem než samotný objem míchy. Relativně vyšší význam difúzních změn než objemu míchy při hodnocení rizika disability u pacientů s nižším EDSS naznačuje, že minimálně u části pacientů by tyto změny mohly být časnějším indikátorem

poškození míchy než její atrofie. Dále může hrát podobně jako u mozku (Sumowski et al., 2016) roli “míšní rezerva”

Předchozí studie prokázaly, že počet míšních segmentů postižených ložisky a přítomnost difúzních změn je nejsilnějším prediktorem rychlosti atrofie míchy (Lukas et al., 2015). Pozorování s difúzními změnami se v naší práci potvrdilo a nově jsme ukázali, že u pacientů s “malou míchou” (MUCCA < medián) je přítomnost fokálních i difúzních ložiskových změn spojena s výrazně vyšší atrofií i postižením, kdežto u pacientů s “velkou míchou” (MUCCA > medián) není rozdíl mezi těmito míšními “fenotypy” co se týče atrofie i klinického stavu patrný. Toto pozorování částečně odpovídá pracím zabývajícím se ložiskovou patologií a atrofií mozku, které ukazují komplementární efekt mezi akumulací ložisek a atrofií mozku ve vztahu k fyzickému i kognitivnímu postižení (Uher et al., 2017) (Sormani et al., 2014).

Na základě našich kros-sekčních dat se nelze vyjádřit k tomu, zda se u pacientů s fokálními a difúzními změnami vyvine atrofie míchy rychleji než u pacientů s normálně vypadající míchou a jaký je vzájemný vztah fokálních a difúzních změn (zda se difúzní změny vyvíjí z fokálních ložisek). V longitudinální studii bychom chtěli sledovat vývoj míšních změn od počátku onemocnění a objasnit, zda se difúzní změny vyvíjí z fokálních ložisek a zda difúzní změny u pacientů s časnou RS představují vyšší riziko progresu postižení než fokální míšní ložiska. Dále je možné, že topografie fokálních ložisek v míše, zejména lokalizace v oblasti šedé hmoty či v postranních provazcích, která je spojena s horší prognózou (Eden et al., 2019) (Bonacchi et al., 2020), může rovněž hrát roli ve vzniku difúzních změn a atrofie. Míšní MR sekvence, které jsme používali v této práci, neumožňují popsat přesnou lokalizaci ložisek v bílé a šedé hmotě míšní. Dosud není také jasné, zda mají difúzní změny, které vidíme na MR, společný histopatologický korelát, nebo zda se - podobně jako u ložisek v mozku - jedná o velmi heterogenní patologii. Lze si tedy představit, že existují více a méně “aktivní” difúzní změny. Pro objasnění bude nutná kvantitativní MR a ideálně v kombinaci s histopatologickým korelátem.

Hlavní limitací této části práce je hodnocení fokálních ložisek a difúzních změn pouze na T2-vážené sekvenci, která velmi pravděpodobně vedla k podcenění rozsahu patologie míchy, zejména difúzních změn, které jsme hodnotili velmi konzervativně. Zatímco předchozí práce ukázaly, že míšní ložiska jsou patrná až u 90% pacientů s RS (G. J. Lycklama À Nijeholt et al., 1998), 30% našich pacientů mělo normálně vypadající míchu. Částečně to může být způsobeno relativně vysokým podílem pacientů s minimálním



a mírným postižením v naší kohortě (pouze 33 pacientů mělo EDSS 6.0 a více). Podobně jako v naší kohortě, v práci Dastagira et al. (Dastagir et al., 2018) mělo normálně vypadající míchu 25% pacientů s RRRS a Rovaris (Rovaris et al., 2008) našel ložiska pouze u 39% pacientů s časnou RS. Je také možné, že 3T MR má ve srovnání s 1.5T MR nižší senzitivitu k míšním ložiskům (Stankiewicz et al., 2009). Autoři připisují tuto nižší senzitivitu 3T MR míchy k ložiskům vyšší náchylností k respiračním a kardiálním artefaktům. Pro hodnocení fokálních a difúzních změn jsme neprovedli formální zaslepenou analýzu shody při opakovaných hodnoceních jedním hodnotitelem a shody mezi dvěma hodnotiteli. Zejména odlišení mnohočetných míšních ložisek a difúzních změn je do jisté míry subjektivní a ideální by bylo korelovat a kvantifikovat difúzní změny na konvenčních sekvencích s objektivním kvantitativním MR markerem, např. MTR (Combes et al., 2017) (Oh et al., 2013) či MR spektroskopii (Bellenberg et al., 2013a). Dalším omezením je nekompletní zobrazení hrudní míchy.

### **5.1.2 Úloha míchy v klinicko-radiologickém paradoxu („diskrepantní“ pacienti)**

Naše práce dále ukazuje, že výrazná atrofie míchy může minimálně u části pacientů vysvětlovat diskrepanci mezi malým intrakraniálním ložiskovým nálezem a vysokým stupněm postižení. Healy et al. ukázali v práci s podobným designem, že pacienti s malým intrakraniálním ložiskovým nálezem a vysokým stupněm postižení mají větší množství míšních ložisek, objem míchy v této studii analyzován nebyl (Healy et al., 2017). Schee a Viswanathan popsali kohortu pacientů s relabujícími myelitidami bez intrakraniálních ložisek (Schee & Viswanathan, 2019). U našich diskrepantních pacientů jsme bohužel zatím systematicky nehodnotili topografii mozkových a míšních ložisek ani klinickou manifestaci (zda se u těchto pacientů mohlo i klinicky jednat o optikospinální nebo spinální MS). Druhý typ diskrepance představují pacienti se stejným objemem T2-ložisek v mozku, ale rozdílným stupněm postižení. I zde se ukazuje, že pacienti s vyšším postižením mají menší objem míchy, přičemž objem mozku se mezi skupinami neliší. Trapp v nedávné post-mortem studii identifikoval skupinu pacientů, u nichž dochází k demyelinizaci pouze v kortikální šedé hmotě a v míše (Trapp et al., 2018). Přestože mají tito pacienti na magnetické rezonanci T2-hyperintenzní ložiska typická pro RS, nemají tato ložiska patologický korelát demyelinizace. Autoři tuto skupinu pacientů označují jako „myelokortikální RS“. Dále několik studií ukázalo disociaci mezi rychlostí progresu atrofie mezi různými částmi CNS (Eshaghi, Prados, et al., 2018) (Tsagkas et al., 2018a) (Tsagkas et al., 2021). Tento pohled na heterogenitu pacientů s RS ukazuje, že klasifikace RS by v budoucnu měla odrážet různé

fenotypy RS a jejich patologický podklad, aby bylo možné pro pacienty správně vybrat imunomodulační a neuroprotektivní léčbu (Coetzee & Thompson, 2018).

### **5.1.3 Patologie míchy u časné RS a její vztah k topografii intrakraniálních ložisek**

Vzhledem k tomu, že jsme v první části práce potvrdili význam difúzních změn u pacientů s nižším stupněm postižení, v další části jsme chtěli zjistit, jak jsou difúzní změny časté u pacientů s časnou RS s délkou trvání do 5 let (většinu z nich tvořili čerstvě diagnostikovaní pacienti, medián trvání choroby byl 10.5 měsíců) a s jakými dalšími radiologickými nálezy jsou spojené. Nalezli jsme nečekaně vysoký podíl pacientů s difúzními změnami. Míšní patologii jsme na konvenční MR pozorovali u 75%, difúzní změny byly patrné u 41.3%, což je vyšší podíl než uvádí Bot u podobné skupiny pacientů s časnou RS (medián trvání RS byl 1.5 roku), kde mělo difúzní změny jen 13% pacientů (Bot et al., 2004a). Lukas et al. našli difúzní změny u 14.9% pacientů (11.9% u RRMS, 17.4% u SPMS a 21.6% u PPMS) (Lukas et al., 2013). Na druhou stranu se naše výsledky shodují se studií Coreta, který pozoroval difúzní míšní změny u 12 ze 32 (38%) pacientů s časnou RS (Coret et al., 2010). Do Coretovy studie byli však zařazeni pacienti s míšní symptomatikou, takže je pravděpodobné, že mohli být pacienti s míšní patologií zastoupeni relativně více než v běžné populaci pacientů s RS. Protože v našem RS centru je zobrazení míchy po Th4 součástí MR protokolu u všech pacientů s podezřením na RS bez ohledu na klinickou manifestaci a protože zastoupení jednotlivých prvních příznaků odpovídá četnosti udávané v literatuře (Eriksson et al., 2003), věříme, že naše nálezy jsou reprezentativní pro neselektovanou populaci pacientů s časnou RS. Dále je možné, že vyšetření na 3T přístroji zvýšilo senzitivitu k difúzním změnám ve srovnání s 1.5T MR, které bylo použito v předchozích studiích (Bot et al., 2004) (Lukas et al., 2013). Kohorty se od sebe dále mohou lišit i genetickými faktory, např. nosičstvím HLA-DRB1\*1501, které může být spojeno s vyšší prevalencí difúzních míšních změn (Qiu et al., 2011).

Pacienti s difúzními změnami měli ve srovnání s pacienty s normálně vypadající míchou či s fokálními ložisky bez difúzních změn vyšší objem kmenových ložisek, a to nezávisle na celkovém objemu T2-hyperintenzních ložisek, který se mezi pacienty významně nelišil. Přítomnost minimálně jednoho kmenového ložiska byla spojena s výrazně vyšší pravděpodobností difúzních ložisek, tento vztah ale neplatil pro fokální míšní ložiska. Tyto nálezy by mohly naznačovat, že přítomnost infratentoriální demyelinizace je spojena se závažnějším postižením míchy. Kauzální vztah na základě těchto průřezových dat nelze potvrdit, nicméně lze si představit různá vysvětlení tohoto vztahu, zejména Wallerovu

degeneraci míšních axonů v důsledku fokální demyelinizace v mozkovém kmeni (Singh et al., 2017). Infratentoriální ložiska mají vliv na integritu tkáně a to nejen v blízkém okolí ložiska, ale v celé dráze bílé hmoty, ve které se dané ložisko nachází (Droby et al., 2015) a spojují tak fokální zánětlivou aktivitu a neurodegeneraci ve vzdálených oblastech CNS. Na druhé straně bylo prokázáno, že axonální poškození v míše je do velké míry nezávislé na míšních ložiscích a axonální denzita se v oblasti difúzních změn neliší od fokálních ložisek (Bergers et al., 2002). Navíc se opakovaně ukázalo, že podkladem míšních difúzních změn je převážně demyelinizace (Lycklama à Nijeholt et al., 2001) (Bot et al., 2004). Kombinace longitudinálního zobrazení míchy a MR fenotypů v oblasti mozku (Hemond et al., 2019) by mohla pomoci objasnit, jak se fokálních ložiska v mozku a míše podílí na vývoji difúzních změn a zhodnotit roli difúzních změn v progresi postižení a odpovědi na léčbu.

Kromě neurodegenerativních procesů v míše způsobených infratentoriálními ložisky je dalším možným vysvětlením společný patofyziologický geneticky či imunologicky (antigeně) podmíněný proces postihující predilekčně mozkový kmen a míchu. Například nosičství HLA-DRB1\*1501 je spojeno s větším rozsahem postižení míchy ve smyslu většího množství fokálních ložisek (Sombekke et al., 2009). Difúzní změny, ložiska v oblasti mozkového kmene a mozečku nebyla v této práci hodnocena. V další studii však nosičství HLA-DRB1\*1501 korelovalo s difúzními míšními změnami a vyšším stupněm postižení (Qiu et al., 2011). U pacientů s RS, kteří měli zároveň psoriázu, byla pozorována vysoká incidence kmenových a mozečkových ložisek a zvýšená reaktivita T-lymfocytů proti určitým myelinovým antigenům. Tito pacienti byli nosiči HLA-DRB1\*1501 a HLA-DRB1\*07 alel (Ganesvaran et al., 2009) (Greer & McCombe, 2011).

Difúzní změny nebyly u této skupiny mladších pacientů s časnou RS spojeny s míšní atrofií. MUCCA byla nižší ve skupině pacientů s difúzními ložisky, kteří zároveň neměli fokální ložiska, což je ve shodě s literaturou (Bellenberg et al., 2013b), nicméně rozdíly mezi skupinami nebyly statisticky významné. Předchozí studie hodnotily vztah difúzních změn a atrofie u více postižených pacientů s delším trváním RS. Je proto možné, že u našich pacientů s difúzními změnami se atrofie (zatím) neprojevila vzhledem k míšní rezervě. Dále je možné, že se poškození míchy v časných fázích neprojeví vzhledem k dalším procesům, které mohou vést ke zvýšení objemu tkáně (edém, glióza).

Podobně jako u míchy jsme nepozorovali významné rozdíly v objemu globálního a regionálních objemů mozku mezi skupinami pacientů s různým postižením míchy. Výjimkou byl objem thalamu, který byl u skupiny pacientů s difúzními změnami významně menší než u zdravých dobrovolníků a pacientů bez difúzních změn. To odpovídá nálezům

u časné RS, resp. již u radiologicky- a klinicky izolovaného syndromu, kde se atrofie thalamu objevuje dříve než atrofie bílé a šedé hmoty (Azevedo et al., 2015) (Henry et al., 2008) a i zde je představitelné, že by atrofií thalamu, infratentoriální ložiska a difúzní změny mohla spojovat Wallerova degenerace způsobená ložisky v drahách bílé hmoty. V recentní studii byla popsána podskupina pacientů charakterizovaná výraznou atrofií thalamu a míchy, u které bylo pozorováno i závažnější horšení motorických funkcí a vyšší průměrná hodnota lehkých řetězců neurofilament, které jsou markerem poškození a ztráty axonů a korelují s horšením klinického stavu (Barro et al., 2018). I další práce ukazují jasný vztah mezi atrofií thalamu a míchy a progresí RS (Eshaghi, Prados, et al., 2018) (Magon et al., 2020).

U našich pacientů s různými postižením míchy jsme nezaznamenali rozdíl v klinickém postižení (EDSS), což se dá vzhledem k celkově nízkému postižení u recentně diagnostikovaných pacientů předpokládat. Bude zajímavé sledovat, zda budou difúzní míšní změny podobně jako fokální ložiska prediktorem dlouhodobějšího prognózy (Dekker et al., 2019) (Brownlee et al., 2019). Kromě klinického vyšetření by mohly k posouzení významu difúzních změn, jejich srovnání s fokálními ložisky a k detekci subklinického postižení míchy přispět i elektrofyziologické metody, např. evokované potenciály (Von Meyenburg et al., 2013). Pokud se potvrdí ve větší studii vztah infratentoriálních ložisek a závažnějšího poškození míchy spojeného s následnou atrofií, vyšší hladinou neurofilament a horší prognózou, měli bychom pacienty s infratentoriálními ložisky intenzivněji monitorovat pomocí MR celé míchy. U pacientů s difúzními změnami v krční míše bylo totiž pozorována výrazně vyšší riziko ložisek v hrudní míše (OR 71.94) (Hua et al., 2015b) a míšní ložiska jsou překvapivě často asymptomatická (Granella et al., 2019). Je tedy nutné tyto pacienty identifikovat a zohlednit míšní patologii i při rozhodování o terapii.

Limitací této části práce je opět subjektivní faktor v hodnocení difúzních změn. I na konvenční MR jsou mezi pacienty patrné výrazné rozdíly v rozsahu difúzních změn, což jsme nezohlednili. Změny na konvenční MR bude nutné korelovat s nálezy kvantitativních MR technik, které dokážou zobrazit integritu axonů (jako je např. DTI či NODDI), stav myelinu (jako např. MTR či myelin water imaging) nebo metabolismus neuronů (MR spektroskopie), objektivizovat je a objasnit jejich mikroskopický podklad (Combès et al., 2018) (Oh et al., 2013) (Bellenberg et al., 2013b). Dále je možné, že s patologií míchy nesouvisí pouze infratentoriální ložiska, ale např. počet a objem ložisek v určitých drahách (např. kortikospinální dráha), což jsme v naší studii nezohlednili.

## 5.2 Diskonektom

Validovali jsme novou techniku modelování strukturálního diskonektomu u pacientů s RS založenou na traktografickém atlasu HCP842 (Yeh et al., 2018) bez nutnosti akvizice difúzní MR. Tento atlas byl použit k identifikaci mozkových spojů poškozených ložisky a „nepostižená“ konektivita byla hodnocena pomocí teorie grafů. Na rozdíl od přístupu „lesion network mapping“ (Fox, 2018), který hodnotí vliv léze na předem definované mozkové dráhy, umožňuje tato metoda kvantifikovat vliv ložisek na celý strukturální konektom. Až tomuto novému přístupu porozumíme lépe, topologické vlastnosti konektomu by se mohly stát novými zobrazovacími biomarkery.

Korelace mezi modelem konektomu založeným na atlasu založenou a na individuální (DTI) traktografií ukazují jasnou shodu. Topologické vlastnosti získané z diskonektomu založeném na atlasu dobře korelovaly s odpovídajícími parametry získanými z klasických individuálních modelů, i když mezi nimi nebyla absolutní shoda. Na atlasu založené modelování diskonektomu se tedy zdá být dobrým markerem individuální ztráty konektivity. Nejmenší shoda se ukázala pro středovou mezipolohu (betweenness centrality), což naznačuje, že na atlasu založená metoda dobře odráží globální konektivitu či vlastnosti uzlů nezávislé na specifických spojích, zatímco neumožňuje precizní hodnocení sousedství uzlu. Důvodem může být normální individuální variabilita axonálních spojů a/nebo nepřesné hodnocení diskonektomu z individuální traktografie (např. přítomnost falešně pozitivních streamlines) (Jeurissen et al., 2011).

Protože použití automatické segmentace ložisek softwarem LeMan-PV na FLAIR obrazech nemělo negativní dopad na výsledky, mohla by být extrakce diskonektomu plně automatická.

Při srovnání diskonektomu získaného na atlasu založenou metodou a diskonektomu získaného pomocí individuální traktografie je nutné vzít v úvahu, že přestože byly u obou skupin použity stejné rekonstrukce a stejný traktografický algoritmus, u individuálních traktogramů nebyly filtrovány falešně pozitivní streamlines jako tomu bylo při vytváření atlasu. Dále je nutné vzít v úvahu, že individuální traktografie může být ovlivněna samotnou přítomností ložisek (Tievsky et al., 1999) (Reich et al., 2007) Lokální i globální topologické vlastnosti grafu jsou také zásadně ovlivněny výběrem uzlů, v tomto případě typem parcelace mozku na neuroanatomické regiony (Zalesky et al., 2010). Neznamená to, že jeden typ

parcelace je „optimálnější“ než jiný a v dalších studiích by měly být testovány i jiné způsoby definice uzlů.

Globální topologické vlastnosti korelovaly s objemem ložisek ve všech kohortách navzdory významným demografickým rozdílům a rozdílům v klinickém postižení a objemu ložisek. Se zvyšujícím se objemem ložisek se snižovala hodnota transitivity, průměrného shlukování a globální efektivity, zatímco průměrné hodnoty nejkratší cesty se zvyšovaly. To je v souladu s předchozími pracemi, které ukázaly u pacientů s RS ve srovnání se zdravými jedinci nižší sílu uzlu, efektivitu, shlukování, delší nejkratší cestu a zhoršenou efektivitu v sítích „malého světa“ a korelaci těchto parametrů s objemem ložisek a s kognitivními funkcemi (Shu et al., 2011) (Solana et al., 2019).

Univariátní korelace mezi globálními topologickými charakteristikami a EDSS byly celkově slabé, ale srovnatelné s korelacemi EDSS s objemem a počtem ložisek. I předchozí práce ukázaly slabou korelaci globální efektivity a EDSS (Muthuraman et al., 2016; Shu et al., 2011). Zajímavé však bylo, že když jsme pacienty rozdělili do skupin podle objemu ložisek a globální efektivity, ukázalo se, že u pacientů s malým objemem ložisek se EDSS liší v závislosti na globální efektivitě: u skupiny s nižší globální bylo klinické postižení relativně vyšší. Toto pozorování bylo validováno u všech tří kohort a naznačuje, že by topologické parametry získané z diskonektomu mohly doplňovat informaci o objemu ložisek. Naopak nečekané bylo pozorování u 1.5T kohorty, ve které měli pacienti s vysokým objemem ložisek a vyšší globální efektivitou vyšší EDSS. Tyto pacienty jsme zatím neanalyzovali individuálně, lze si ale představit, že EDSS u těchto pacientů s časnou RS mohla ovlivnit např. i optická neuritis, která je první manifestací RS až u 40% pacientů (Tintore et al., 2015), či míšní postižení, které analýza mozkového diskonektomu nezohledňuje. Tato limitace samozřejmě platí obecně pro všechny kohorty. Jak bylo zmíněno v úvodu, je škála EDSS náchylná k intra- i inter-rater variabilitě zejména v oblasti skóre 0 – 3.5 (Goodkin et al., 1992), což mohlo být relevantní právě u časně 1.5T kohorty. EDSS dále podceňuje kognitivní postižení a únavu, (van Munster & Uitdehaag, 2017) a v budoucnu bude zajímavé hodnotit parametry diskonektomu ve vztahu k podrobnějším neuropsychologickým vyšetřením a výsledkům sdělovaných pacientem (patient reported outcomes).

Analýza diskonektomu také nezohledňuje kortikální ložiska a histopatologickou heterogenitu ložisek v bílé hmotě mozku (Lucchinetti et al., 2000). Kombinace našeho přístupu s přístupem, který by zohledňoval T1-hypointenzní ložiska („black holes“) nebo

dokonce charakterizoval ložiska a normálně vypadající tkáň pomocí kvantitativní MR (např. MTR či T1 mapování) by mohla dále zlepšit korelaci s klinickým stavem pacienta. Protože Yehův traktografický atlas „pokrývá“ pouze věkové rozpětí 22 až 36 let, museli pacienti zařazení do naší analýzy splňovat kritérium nepřítomnosti závažné atrofie. Výsledky tedy nejsou zobecnitelné na celou populaci pacientů s RS. Dále jsme ani u pacientů bez globální atrofie mozku zařazených do analýzy nehodnotili regionální atrofii (zejména šedé hmoty), která se objevuje již v časných fázích RS (Eshaghi, Marinescu, et al., 2018) a která také může ovlivňovat anatomii neuronálních spojů. Dále naše metoda neumožňuje zohlednit plasticitu a rezervu mozku, která, zejména v časných fázích onemocnění může významně kompenzovat poškození tkáně (Aerts et al., 2016) a ovlivňovat tak korelaci s EDSS.

Předností tohoto přístupu je naopak možnost jejího retrospektivního použití u již existujících dat s konvenčními MR sekvencemi u RS i dalších neurologických onemocnění charakterizovaných přítomností ložisek v bílé hmotě.

### **5.3 T<sub>1</sub> gradient**

V této části jsme pomocí T1 relaxometrie potvrdili přítomnost gradientu poškození normálně vypadající bílé hmoty v závislosti na vzdálenosti od postranních komor, a to jak u pacientů s časnou RS, tak u pacientů s progresivní RS. Na rozdíl od předchozích prací, které tento gradient ukazují (Liu et al., 2015) (Brown et al., 2017), jsme nehodnotili rozdíl mezi absolutními T1 časy pacientů a zdravých kontrol, ale použili jsme atlas vytvořený přímo pro tuto studii k vytvoření z-skóre, které odráží i pohlaví a věk. Díky využití srovnání založeném na z-skóre místo na absolutních hodnotách umožňuje metoda srovnávat i heterogenní skupiny nebo jako v našem případě dvě skupiny pacientů, jež se významně lišily věkem a trváním onemocnění.

Podobně jako u předchozích prací bylo poškození tkáně nejvyšší těsně u komor (ve vzdálenosti cca. 5 mm od komor), výraznější u progresivních pacientů a se vzdáleností od komor postupně klesalo. Zajímavé je, že jeden z nejvyšších z-skóre i nejstrmější gradient ve skupině časně RS jsme pozorovali u pacientky, u které byla zjištěna myelitida, ale supratentoriálně byl patrný jen minimální ložiskový nález, což potvrzuje pozorování, že poškození periventrikulární bílé hmoty je minimálně částečně nezávislé na ložiscích v téže oblasti (Brown et al., 2020). Gradient (abnormalita z-skóre v těsné blízkosti komor

a rychlost poklesu) poškození tkáně v periventrikulární normálně vypadající bílé hmotě koreloval u pacientů s časnou RS s EDSS výrazně lépe než objem a počet ložisek v bílé hmotě. Korelační koeficient byl podobný jako v předchozí práci, která korelovala periventrikulární MTR gradient a EDSS (Brown et al., 2017). Naopak u pacientů s progresivní RS se významná korelace neukázala. Periventrikulární oblast se u pacientů s progresivní RS může chovat odlišně než u pacientů s časnou RS. Recentně zavedený MR kvantitativní marker, tzv. atrofizující ložiska, který odráží objem voxelů ložisek, který je v čase nahrazen signálem odpovídajícím mozkomíšnímu moku (většinou v periventrikulární oblasti) by mohl komplikovat hodnocení periventrikulárních „vrstev“.

Hodnotili jsme i T1 časy, resp. z-skóre uvnitř ložisek. Zajímavé je, že se skupiny mezi sebou nelišily a u části progresivních pacientů byly absolutní T1 časy i z-skóre v ložiscích nižší než u pacientů s časnou RS, což naznačuje, že u těchto ložisek se pravděpodobně kombinuje více procesů, které mohou zkracovat T1 čas (např. remyelinizace či ukládání železa) a komplikovat interpretaci T1 hodnot. Zatímco gradient poškození tkáně v ložiscích ale u časné RS s postižením nekoreloval, u pacientů s progresivní RS koreloval s EDSS lépe než konvenční MR parametry. To je ve shodě s předchozí prací, ve které se ukázalo, že objem ložisek s velmi dlouhými T1 relaxačními časy („black holes“) koreloval s klinickým skóre lépe než celkový objem ložisek a pokles T1 relaxačních časů v ložiscích v čase byl spojen s klinickým zlepšením a odpovědí na léčbu (Thaler et al., 2015). Podobně jako v této práci ukázala recentní [<sup>18</sup>F]-DPA714 PET studie gradient aktivace mikroglie kromě normálně vypadající bílé hmoty i v T2-hyperintenzních ložiscích. Autoři spekulují, že kompartmentalizace zánětu v periventrikulárních ložiscích by mohla být dalším zdrojem prozánětlivých mediátorů, které stejně jako z intrathekálního prostoru difundují z ložiska do tkáně v jeho blízkém okolí, aktivují imunitní buňky a tím podporují neurodegenerativní procesy.

I tato část práce má četné limitace. I když na z-skóre založené hodnocení patologie umožňuje srovnávat heterogenní skupiny pacientů, představují pacienti s časnou a progresivní RS do jisté míry extrémní skupiny a výsledky nelze generalizovat na celou populaci pacientů s RS. I když byly abnormální periventrikulární gradienty u SPRS a PPRS srovnatelné, což naznačuje podobný proces (Brown et al., 2020), není zcela správné analyzovat tyto dvě skupiny dohromady jako v naší práci. Nebrali jsme v úvahu vzdálená ložiska mimo oblast, ve které byl hodnocen gradient, tedy v infratentoriální oblasti a míše, které mohou ovlivňovat integritu vzdálené tkáně (Droby et al., 2015). Kros-sekční charakter práce



neumožňuje hodnotit vývoj gradientu v čase a jeho případnou odpověď na léčbu. První data hodnotící odpověď na léčbu ukazují horšení gradientu v čase u neléčených pacientů a naopak zlepšení po podání alemtuzumabu (Brown et al., 2020).

Pokud se toto pozorování potvrdí, mohl by se gradient T1 hodnot stát důležitým prognostickým MR markerem.

## **6 Závěry a zhodnocení cílů a hypotéz**

### **6.1 Mícha**

#### **6.1.1 Závěry**

- Poškození míchy je u pacientů s RS časté; již v časných fázích RS má 75% pacientů fokální ložiska a/nebo difúzní změny
- Atrofie míchy koreluje celkově s klinickým postižením lépe, než počet míšních ložisek
- Informace o atrofii míchy, fokálních a difúzních ložiscích je do jisté míry komplementární. Zejména u méně postižených pacientů mohou difúzní změny vysvětlovat vyšší stupeň klinického postižení lépe než objem míchy
- U pacientů s disociací mezi ložiskovým nálezem na mozku a klinickým postižením (malý ložiskový nález s vysokým EDSS), kterých bylo v naší kohortě 10%, vysvětluje minimálně část této diskrepance malý objem míchy
- U pacientů s časnou RS existuje vztah mezi přítomností infratentoriálních, resp. kmenových ložisek a difúzními změnami míchy
- Difúzní změny míchy nejsou u časně RS spojeny s míšní atrofií, pacienti s difúzními změnami mají ale významně menší objem thalamu

#### **6.1.2 Zhodnocení cílů a hypotéz**

Cíl validace metody měření plochy průřezu míchy v klinické praxi a jeho využití v klinické praxi byl splněn.

Hypotéza, že objem míchy (resp. jeho zástupce MUCCA) koreluje s klinickým postižením pacientů s RS lépe, než počet míšních ložisek se potvrdila.

Hypotéza, že kombinace MUCCA s informací o ložiskovém a difúzním postižením míchy dále zlepší predikci postižení se potvrdila. MUCCA hraje dominantní roli v predikci vyššího stupně postižení, naopak identifikace difúzních ložisek jako rizikového faktoru může být přínosná u pacientů s menším postižením.

Hypotéza, že u pacientů s malým objemem intrakraniálních ložisek a vyšším stupněm postižení tuto diskrepanci vysvětluje alespoň částečně míšní postižení se potvrdila. Objem

míchy dále vysvětloval i rozdíl mezi pacienty s identickým ložiskovým nálezem v mozku, ale rozdílným postižením, a to nezávisle na objemu mozku.

Cíl zhodnocení patologie míchy u skupiny pacientů v časně fázi RS (trvání choroby < 5 let) byl splněn.

Hypotéza, že pacienti s časnými difúzními změnami v oblasti míchy mají větší objem intrakraniálních ložisek se celkově nepotvrdila – ukázalo se, že celkový objem ložisek se mezi pacienty s difúzními změnami a bez difúzních změn neliší, nicméně pacienti s difúzními změnami mají větší počet a objem infratentoriálních ložisek.

Hypotéza, že pacienti s časnými difúzními změnami mají menší objem míchy než pacienti s normálně vypadající míchou a fokálními ložisky se nepotvrdila. Objem míchy byl u těchto pacientů mírně nižší, ale rozdíl nebyl statisticky významný. Pacienti s difúzními změnami měli nižší objem thalamu než pacienti bez difúzních změn.

## **6.2 Diskonektom**

### **6.2.1 Závěry**

- Na atlasu založený model diskonektomu umožňuje bez nutnosti akvizice difúzních MR dat identifikaci topologických parametrů, které jsou v relativně dobré shodě s odpovídajícími parametry získanými z modelu diskonektomu založenému na klasické individuální traktografii.
- Lokální a globální parametry diskonektomu mohou přispět ke snížení klinicko-radiologického paradoxu u pacientů s RS . U pacientů s nízkým objemem ložisek jsme však pozorovali efekt globální efektivity na EDSS (pacienti s nízkým objemem ložisek a nízkou globální efektivitou měli vyšší EDSS než pacienti s nízkým objemem ložisek a vyšší globální efektivitou).

### **6.2.2 Zhodnocení cílů a hypotéz**

Cíl validovat model diskonektomu, který lze vytvořit na podkladě populačního atlasu bez nutnosti akvizice difúzních MR dat a aplikovat na retrospektivní data byl splněn.

Hypotéza, že topologické charakteristiky získané z diskonektomů založených na atlasu, resp. na DSI traktografii, spolu korelují, se u většiny z nich potvrdila.

Hypotéza, že parametry diskonektomu korelují s klinickým postižením lépe než konvenční parametry, se nepotvrdila ve smyslu korelace s EDSS, nicméně u podskupiny pacientů s menším objemem ložisek globální efektivita částečně vysvětluje variabilitu EDSS.

## **6.3 T1 mapování**

### **6.3.1 Závěry**

- Pomocí T1 relaxometrie jsme prokázali u pacientů s RS gradient poškození normálně vypadající bílé hmoty, který ukazuje, že poškození tkáně je nejvyšší v periventrikulární oblasti a se vzdáleností od komor klesá.
- Gradient poškození normálně vypadající bílé hmoty tkáně je výraznější u více postižených pacientů, ale koreluje s klinickým poškozením pouze u pacientů s časnou RS, a to výrazně lépe než objem a počet ložisek.
- Nalezli jsme i gradient poškození v oblasti ložisek, který se neliší mezi pacienty s časnou a progresivní RS a koreluje s klinickým postižením pouze u pacientů s progresivní RS.

### **6.3.2 Zhodnocení cílů a hypotéz**

Hlavní cíl, identifikace gradientu poškození normálně vypadající bílé hmoty pomocí kvantitativního T1 mapování, byl splněn. Potvrdil se gradient T1 časů podobný gradientu popsanému jinými technikami (MTR, MR spektroskopie).

Hypotéza, že rozdíly v T1 časech mezi pacienty s RS a zdravými jedinci v normálně vypadající bílé hmotě jsou nejvyšší v oblastech nejbliž mozkovým komorám a se zvětšující se vzdáleností od komor postupně klesají, se potvrdila.

Hypotéza, že gradient T1 časů je výraznější u pacientů s vyšším postižením, se potvrdila v oblasti normálně vypadající bílé hmoty, překvapivě však ne v oblasti ložisek.

Hypotéza, že gradient T1 časů koreluje s postižením lépe než konvenční parametry (objem a počet intrakraniálních ložisek), se potvrdila

## 7 Souhrn a klinický význam

Tato práce je z větší části věnována kvantitativní MR míchy, konkrétně významu měření objemu míchy a hodnocení fokálních ložisek a difúzních změn u pacientů s RS s různým stupněm postižení. Potvrdili jsme vztah nižšího objemu míchy, difúzních změn a vyššího klinického postižení. Nově jsme ukázali, že u méně postižených pacientů, kteří zatím nemají výrazně omezenou schopnost chůze ( $EDSS \leq 4.0$ ), jsou difúzní změny spojeny s rizikem vyššího stupně postižení více než objem míchy a mohly by tedy odrážet i některé z kvantitativních změn pozorovaných ještě před nástupem atrofie (Kearney et al., 2014b) (Combes et al., 2017). Překvapivě velká část pacientů s časnou RS (43%) má difúzní změny míchy, které jsou jasně spojeny s přítomností ložisek v mozgovém kmeni a s menším objemem thalamu. U více postižených pacientů objem míchy odráží postižení lépe. U části pacientů může atrofie míchy vysvětlit disociaci mezi malým intrakraniálním ložiskovým postižením a nepoměrně vysokým stupněm postižení. Důležitý posun by přinesla možnost objektivního hodnocení difúzních změn míchy pomocí kvantitativní magnetické rezonance.

Kvantitativní hodnocení poškození mozkových spojů v důsledku ložisek bílé hmoty (vytvoření „diskonektomu“) je novým přístupem v nahlížení na patologii u RS. Srovnání modelu diskonektomu získaného pomocí klasické individuální traktografie a modelu vytvořeného retrospektivně s použitím konvenčních MR sekvencí na podkladě volně dostupného traktografického atlasu (bez nutnosti akvizice difúzních dat) ukazuje dobrou shodu. Hodnocení parametrů odvozených z diskonektomu, konkrétně globální efektivity, může u podskupiny pacientů s malým objemem ložisek přispět ke zmenšení klinicko-radiologického paradoxu.

Pomocí T1 relaxometrie jsme potvrdili přítomnost gradientu poškození tkáně v normálně vypadající bílé hmotě i v ložiscích (maximum poškození v periventrikulárních oblastech, které se postupně normalizuje). Gradient poškození normálně vypadající bílé hmoty je spojen s mírou klinického postižení u časné RS, zatímco u progresivní RS koreluje s klinickým postižením lépe gradient v oblasti ložisek. K ozřejmění významu těchto pozorování v diagnostice a monitorování pacientů s RS bude nutné srovnání s dalšími onemocněními CNS, u nichž se může objevit ložiskové postižení bílé hmoty (např. Fabryho choroba či migréna u mladších pacientů a cévní změny u starších pacientů) a dále longitudinální sledování, které by u pacientů s časnou RS mohlo ukázat vliv terapie na gradient patologie a u pacientů s pokročilejší RS vývoj gradientu ve vztahu ke

klinickému postižení a k atrofii mozku a míchy. Poznatky o „surface-in“ gradientu poškození tkáně by dále mohly být motivací ke zkoumání kompartmentalizovaného zánětu a intrathekálního prostoru nejen jako diagnostického, ale i jako terapeutického cíle.

Kombinace zobrazovacích markerů, které odráží jednotlivé aspekty poškození CNS (ložiskový nález, globální a regionální atrofie mozku a míchy a kvantitativní techniky, např. T1 a T2 relaxometrie, analýza gradientů v oblasti kortexu, thalamu i bílé hmoty a hodnocení leptomeningeálního enhancementu, optická koherenční tomografie) s laboratorními nálezy (např. sérové hladiny lehkých řetězců neurofilament) by mohla pomoci lépe odhadnout individuální prognózu pacientů s RS a vybrat již v počátku onemocnění optimální terapii.

### **Summary and clinical implications**

This work is largely devoted to quantitative spinal cord MRI, specifically measuring the spinal cord volume and combining it with evaluation of focal and diffuse spinal cord to predict clinical disability. We confirmed the relationship between lower spinal cord volume, diffusion changes and higher clinical disability. In less affected patients without restricted mobility (EDSS  $\leq$  4.0), diffuse changes are associated with a risk of a higher disability more than spinal cord volume and could therefore reflect some of the quantitative changes that have been observed even in absence of atrophy (Kearney et al., 2014b) (Combes et al., 2017). A surprisingly large proportion of patients with early MS (43%) have diffuse spinal cord changes that are clearly associated with the presence of brainstem lesions and a smaller thalamus volume. In patients with higher disability, spinal cord volume reflects disability better. In a subset of patients, spinal cord atrophy may explain the dissociation between small intracranial lesion load and disproportionately high disability. An important step would be a possibility of an objective evaluation of diffuse spinal cord changes, i.e. by using quantitative magnetic resonance.

Quantitative assessment of brain damage due to white matter lesions (construction of a "disconnectome") is a new approach or viewing the pathology of MS. A comparison of the disconnectome model obtained created based on classical individual tractography and the model created retrospectively by using conventional MR sequences and a freely available tractographic atlas (without the need to acquire diffusion data) shows a good agreement. Evaluation of disconnectome-derived parameters, specifically global efficacy, may

contribute to a reduction in the clinical-radiological paradox in a subset of patients with a small lesion volume.

Using T1 relaxometry, we confirmed the presence of a gradient of tissue damage in the normal-appearing white matter and in the lesions (maximal damage in the periventricular areas, which gradually normalizes). The gradient of normal-appearing white matter damage is associated with the clinical disability in early MS, while in progressive MS, the gradient in the area of lesions correlates with clinical involvement better than conventional parameters. To clarify the importance of these observations in the diagnosis and monitoring of MS patients, a comparison with other CNS diseases characterized by focal white matter lesions (e.g. Fabry disease or migraine in younger patients and vascular changes in older patients, NMOSD) and longitudinal follow-up is warranted. Understanding the "surface-in" gradient of tissue damage and access to the intrathecal space could further motivate the study of compartmentalized inflammation and intrathecal space not only as a diagnostic, but also as a therapeutic target.

Combination of imaging markers that reflect different aspects of CNS damage (lesion load, global and regional brain and spinal cord atrophy and quantitative techniques, e.g. T1 and T2 relaxometry, analysis of cortical, thalamus and white matter gradients and evaluation of leptomeningeal enhancement, optical coherence tomography) with laboratory findings (e.g. serum levels of neurofilament light chains) could help to better estimate the individual prognosis of patients with MS and select the optimal therapy.

## 8 Literatura

- Abdel-Aziz, K., Schneider, T., Solanky, B. S., Yiannakas, M. C., Altmann, D. R., Wheeler-Kingshott, C. A. M., Peters, A. L., Day, B. L., Thompson, A. J., & Ciccarelli, O. (2015). Evidence for early neurodegeneration in the cervical cord of patients with primary progressive multiple sclerosis. *Brain*, *138*(6). <https://doi.org/10.1093/brain/awv086>
- Absinta, M., Vuolo, L., Rao, A., Nair, G., Sati, P., Cortese, I. C. M., Ohayon, J., Fenton, K., Reyes-Mantilla, M. I., Maric, D., Calabresi, P. A., Butman, J. A., Pardo, C. A., & Reich, D. S. (2015). Gadolinium-based MRI characterization of leptomeningeal inflammation in multiple sclerosis. *Neurology*, *85*(1). <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001587>
- Aerts, H., Fias, W., Caeyenberghs, K., & Marinazzo, D. (2016). Brain networks under attack: Robustness properties and the impact of lesions. In *Brain* (Vol. 139, Issue 12). <https://doi.org/10.1093/brain/aww194>
- Ahlgren, C., Odén, A., & Lycke, J. (2011). High nationwide prevalence of multiple sclerosis in Sweden. *Multiple Sclerosis Journal*, *17*(8), 901–908. <https://doi.org/10.1177/1352458511403794>
- Alcaide-Leon, P., Cybulsky, K., Sankar, S., Casserly, C., Leung, G., Hohol, M., Selchen, D., Montalban, X., Bharatha, A., & Oh, J. (2018). Quantitative spinal cord MRI in radiologically isolated syndrome. *Neurology: Neuroimmunology and NeuroInflammation*, *5*(2). <https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000000436>
- Andelova, Michaela, Uher, T., Krasensky, J., Sobisek, L., Kusova, E., Srpova, B., Vodehnalova, K., Friedova, L., Motyl, J., Preiningerova, J. L., Havrdova, E. K., Horakova, D., & Vaneckova, M. (2019). Additive effect of spinal cord volume, diffuse and focal cord pathology on disability in multiple sclerosis. *Frontiers in Neurology*, *10*(JUL). <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.00820>
- Androdias, G., Reynolds, R., Chanal, M., Ritleng, C., Confavreux, C., & Nataf, S. (2010). Meningeal T cells associate with diffuse axonal loss in multiple sclerosis spinal cords. *Annals of Neurology*, *68*(4), 465–476. <https://doi.org/10.1002/ana.22054>
- Arrambide, G., Rovira, A., Sastre-Garriga, J., Tur, C., Castelló, J., Río, J., Vidal-Jordana, A., Galán, I., Rodríguez-Acevedo, B., Midaglia, L., Nos, C., Mulero, P., Arévalo, M. J., Comabella, M., Huerga, E., Auger, C., Montalban, X., & Tintore, M. (2018). Spinal cord lesions: A modest contributor to diagnosis in clinically isolated syndromes but a relevant prognostic factor. *Multiple Sclerosis Journal*, *24*(3), 301–312. <https://doi.org/10.1177/1352458517697830>
- Avants, B. B., Tustison, N. J., Song, G., Cook, P. A., Klein, A., & Gee, J. C. (2011). A reproducible evaluation of ANTs similarity metric performance in brain image registration. *NeuroImage*, *54*(3), 2033–2044. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2010.09.025>
- Azevedo, C. J., Overton, E., Khadka, S., Buckley, J., Liu, S., Sampat, M., Kantarci, O., Frenay, C. L., Siva, A., Okuda, D. T., & Pelletier, D. (2015). Early CNS neurodegeneration in radiologically isolated syndrome. *Neurology: Neuroimmunology and NeuroInflammation*, *2*(3), e102. <https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000000102>



- Bagert, B. A. (2009). *Epstein-Barr Virus in Multiple Sclerosis*.
- Baker, D., & Amor, S. (2014). Experimental autoimmune encephalomyelitis is a good model of multiple sclerosis if used wisely. In *Multiple Sclerosis and Related Disorders* (Vol. 3, Issue 5, pp. 555–564). Elsevier.  
<https://doi.org/10.1016/j.msard.2014.05.002>
- Baker, D., Marta, M., Pryce, G., Giovannoni, G., & Schmierer, K. (2017). Memory B Cells are Major Targets for Effective Immunotherapy in Relapsing Multiple Sclerosis. In *EBioMedicine* (Vol. 16, pp. 41–50). Elsevier B.V.  
<https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.01.042>
- Barkhof, F. (2002). The clinico-radiological paradox in multiple sclerosis revisited. In *Current Opinion in Neurology* (Vol. 15, Issue 3). <https://doi.org/10.1097/00019052-200206000-00003>
- Barkhof, F., Scheltens, P., & Comi, G. P. (1997). *Comparison of MRI criteria at first presentation to predict conversion to clinically definite multiple sclerosis Intraoperative EEG monitoring View project Cortical graphs and brain disconnection in multiple sclerosis View project*. <https://www.researchgate.net/publication/13833166>
- Barro, C., Benkert, P., Disanto, G., Tsagkas, C., Amann, M., Naegelin, Y., Leppert, D., Gobbi, C., Granziera, C., Yaldizli, Ö., Michalak, Z., Wuerfel, J., Kappos, L., Parmar, K., & Kuhle, J. (2018). Serum neurofilament as a predictor of disease worsening and brain and spinal cord atrophy in multiple sclerosis. *Brain*, *141*(8), 2382–2391.  
<https://doi.org/10.1093/brain/awy154>
- Beggs, C. B. (2013). Venous hemodynamics in neurological disorders: An analytical review with hydrodynamic analysis. In *BMC Medicine* (Vol. 11, Issue 1).  
<https://doi.org/10.1186/1741-7015-11-142>
- Behrens, T. E. J., Berg, H. J., Jbabdi, S., Rushworth, M. F. S., & Woolrich, M. W. (2007). Probabilistic diffusion tractography with multiple fibre orientations: What can we gain? *NeuroImage*, *34*(1). <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.09.018>
- Bellenberg, B., Busch, M., Trampe, N., Gold, R., Chan, A., & Lukas, C. (2013a). 1H-magnetic resonance spectroscopy in diffuse and focal cervical cord lesions in multiple sclerosis. *European Radiology*. <https://doi.org/10.1007/s00330-013-2942-7>
- Bellenberg, B., Busch, M., Trampe, N., Gold, R., Chan, A., & Lukas, C. (2013b). 1H-magnetic resonance spectroscopy in diffuse and focal cervical cord lesions in multiple sclerosis. *European Radiology*, *23*(12), 3379–3392. <https://doi.org/10.1007/s00330-013-2942-7>
- Bergamaschi, R. (2007). Prognostic Factors in Multiple Sclerosis. In *International Review of Neurobiology* (Vol. 79, pp. 423–447). [https://doi.org/10.1016/S0074-7742\(07\)79019-0](https://doi.org/10.1016/S0074-7742(07)79019-0)
- Bergers, E., Bot, J. C. J., De Groot, C. J. A., Polman, C. H., Lycklama à Nijeholt, G. J., Castelijns, J. A., Van der Valk, P., & Barkhof, F. (2002a). Axonal damage in the spinal cord of MS patients occurs largely independent of T2 MRI lesions. *Neurology*, *59*(11), 1766–1771. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000036566.00866.26>
- Bergers, E., Bot, J. C. J., De Groot, C. J. A., Polman, C. H., Lycklama à Nijeholt, G. J., Castelijns, J. A., Van der Valk, P., & Barkhof, F. (2002b). Axonal damage in the

- spinal cord of MS patients occurs largely independent of T2 MRI lesions. *Neurology*, 59(11), 1766–1771. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000036566.00866.26>
- Bergers, E., Bot, J. C. J., De Groot, C. J. a, Polman, C. H., Lycklama à Nijeholt, G. J., Castelijns, J. a, van der Valk, P., & Barkhof, F. (2002). Axonal damage in the spinal cord of MS patients occurs largely independent of T2 MRI lesions. *Neurology*. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000036566.00866.26>
- Bernitsas, E., Bao, F., Seraji-Bozorgzad, N., Chorostecki, J., Santiago, C., Tselis, A., Caon, C., Zak, I., Millis, S., & Khan, O. (2015). Spinal cord atrophy in multiple sclerosis and relationship with disability across clinical phenotypes. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2014.11.002>
- Biberacher, V., Boucard, C. C., Schmidt, P., Engl, C., Buck, D., Berthele, A., Hoshi, M. M., Zimmer, C., Hemmer, B., & Mühlau, M. (2015). Atrophy and structural variability of the upper cervical cord in early multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis*, 21(7), 875–884. <https://doi.org/10.1177/1352458514546514>
- Bielekova, B., Sung, M.-H., Kadom, N., Simon, R., McFarland, H., & Martin, R. (2004). Expansion and Functional Relevance of High-Avidity Myelin-Specific CD4 + T Cells in Multiple Sclerosis . *The Journal of Immunology*, 172(6), 3893–3904. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.172.6.3893>
- Bjartmar, C., Wujek, J. R., & Trapp, B. D. (n.d.). *Axonal loss in the pathology of MS: consequences for understanding the progressive phase of the disease*. [www.elsevier.com/locate/jns](http://www.elsevier.com/locate/jns)
- Bø, L., Vedeler, C. A., Nyland, H. I., Trapp, B. D., & Mørk, S. J. (2003). Subpial demyelination in the cerebral cortex of multiple sclerosis patients. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 62(7). <https://doi.org/10.1093/jnen/62.7.723>
- Bonacchi, R., Pagani, E., Meani, A., Cacciaguerra, L., Preziosa, P., de Meo, E., Filippi, M., & Rocca, M. A. (2020). Clinical Relevance of Multiparametric MRI Assessment of Cervical Cord Damage in Multiple Sclerosis. *Radiology*, 296(3). <https://doi.org/10.1148/radiol.2020200430>
- Bonati, U. (2011). Spinal cord volume+ disability longitudinal. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 82, 469–471. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2009.194480>
- Bonnier, G., Fisci-Gomez, E., Roche, A., Hilbert, T., Kober, T., Krueger, G., & Granziera, C. (2019). Personalized pathology maps to quantify diffuse and focal brain damage. *NeuroImage: Clinical*, 21. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2018.11.017>
- Bonnier, Guillaume, Maréchal, B., Fartaria, M. J., Falkowskiy, P., Marques, J. P., Simioni, S., Schlupe, M., Pasquier, R. Du, Thiran, J. P., Krueger, G., & Granziera, C. (2017). The combined quantification and interpretation of multiple quantitative magnetic resonance imaging metrics enlightens longitudinal changes compatible with brain repair in relapsing-remitting multiple sclerosis patients. *Frontiers in Neurology*, 8(SEP). <https://doi.org/10.3389/fneur.2017.00506>
- Bot, Joost C.J., Barkhof, F., Polman, C. H., Lycklama À Nijeholt, G. J., De Groot, V., Bergers, E., Ader, H. J., & Castelijns, J. A. (2004b). Spinal cord abnormalities in

- recently diagnosed MS patients: Added value of spinal MRI examination. *Neurology*, 62(2), 226–233. <https://doi.org/10.1212/WNL.62.2.226>
- Bot, Joseph C.J., Blezer, E. L. A., Kamphorst, W., Lycklama À Nijeholt, G. J., Ader, H. J., Castelijns, J. A., Ig, K. N., Bergers, E., Ravid, R., Polman, C., & Barkhof, F. (2004). The spinal cord in multiple sclerosis: Relationship of high-spatial- resolution quantitative MR imaging findings to histopathologic results. *Radiology*, 233(2), 531–540. <https://doi.org/10.1148/radiol.2332031572>
- Bourane, S., Grossmann, K. S., Britz, O., Dalet, A., Del Barrio, M. G., Stam, F. J., Garcia-Campmany, L., Koch, S., & Goulding, M. (2015). Identification of a spinal circuit for light touch and fine motor control. *Cell*, 160(3), 503–515. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.01.011>
- Brett, M., Christoff, K., Cusack, R., & Lancaster, J. (2001). Using the talairach atlas with the MNI template. *NeuroImage*, 13(6). [https://doi.org/10.1016/s1053-8119\(01\)91428-4](https://doi.org/10.1016/s1053-8119(01)91428-4)
- Brex, P. A., Leary, S. M., O’riordan, J. I., Miskiel, K. A., Plant, G. T., Thompson, A. J., & Miller, D. H. (n.d.). *Measurement of spinal cord area in clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis*. [www.jnnp.com](http://www.jnnp.com)
- Brown, J. William L., Pardini, M., Brownlee, W. J., Fernando, K., Samson, R. S., Carrasco, F. P., Ourselin, S., Gandini Wheeler-Kingshott, C. A. M., Miller, D. H., & Chard, D. T. (2017). An abnormal periventricular magnetization transfer ratio gradient occurs early in multiple sclerosis. *Brain*, 140(2). <https://doi.org/10.1093/brain/aww296>
- Brown, J. William L., Prados Carrasco, F., Eshaghi, A., Sudre, C. H., Button, T., Pardini, M., Samson, R. S., Ourselin, S., Wheeler-Kingshott, C. A. G., Jones, J. L., Coles, A. J., & Chard, D. T. (2020). Periventricular magnetisation transfer ratio abnormalities in multiple sclerosis improve after alemtuzumab. *Multiple Sclerosis Journal*, 26(9). <https://doi.org/10.1177/1352458519852093>
- Brown, James William L., Chowdhury, A., Kanber, B., Prados Carrasco, F., Eshaghi, A., Sudre, C. H., Pardini, M., Samson, R. S., van de Pavert, S. H. P., Wheeler-Kingshott, C. G., & Chard, D. T. (2020). Magnetisation transfer ratio abnormalities in primary and secondary progressive multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal*, 26(6). <https://doi.org/10.1177/1352458519841810>
- Brownlee, W. J., Altmann, D. R., Alves Da Mota, P., Swanton, J. K., Miskiel, K. A., Wheeler-Kingshott, C. A. M. G., Ciccarelli, O., & Miller, D. H. (2017). Association of asymptomatic spinal cord lesions and atrophy with disability 5 years after a clinically isolated syndrome. *Multiple Sclerosis*, 23(5), 665–674. <https://doi.org/10.1177/1352458516663034>
- Brownlee, Wallace J., Altmann, D. R., Prados, F., Miskiel, K. A., Eshaghi, A., Gandini Wheeler-Kingshott, C. A. M., Barkhof, F., & Ciccarelli, O. (2019). Early imaging predictors of long-term outcomes in relapse-onset multiple sclerosis. *Brain : A Journal of Neurology*, 142(8), 2276–2287. <https://doi.org/10.1093/brain/awz156>
- Bullmore, E., & Sporns, O. (2012). The economy of brain network organization. In *Nature Reviews Neuroscience* (Vol. 13, Issue 5). <https://doi.org/10.1038/nrn3214>
- By, S., Xu, J., Box, B. A., Bagnato, F. R., & Smith, S. A. (2018). Multi-compartmental

- diffusion characterization of the human cervical spinal cord in vivo using the spherical mean technique. *NMR in Biomedicine*, 31(4).  
<https://doi.org/10.1002/nbm.3894>
- Cacciaguerra, L., Rocca, M. A., Storelli, L., Radaelli, M., & Filippi, M. (2021). Mapping white matter damage distribution in neuromyelitis optica spectrum disorders with a multimodal MRI approach. *Multiple Sclerosis Journal*, 27(6).  
<https://doi.org/10.1177/1352458520941493>
- Calabrese, E., Badea, A., Coe, C. L., Lubach, G. R., Styner, M. A., & Johnson, G. A. (2014). Investigating the tradeoffs between spatial resolution and diffusion sampling for brain mapping with diffusion tractography: Time well spent? *Human Brain Mapping*, 35(11). <https://doi.org/10.1002/hbm.22578>
- Casserly, C., Seyman, E. E., Alcaide-Leon, P., Guenette, M., Lyons, C., Sankar, S., Svendrovski, A., Baral, S., & Oh, J. (2018). Spinal Cord Atrophy in Multiple Sclerosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Neuroimaging*.  
<https://doi.org/10.1111/jon.12553>
- Charcot JM. (1868). Histologie de la sclérose en plaques. *Gazette Des Hopitaux*, 41.
- Chen, X., Qian, T., Maréchal, B., Zhang, G., Yu, T., Ren, Z., Ni, D., Liu, C., Fu, Y., Chen, N., & Li, K. (2018). Quantitative volume-based morphometry in focal cortical dysplasia: A pilot study for lesion localization at the individual level. *European Journal of Radiology*, 105. <https://doi.org/10.1016/j.ejrad.2018.06.019>
- Choi, S. R., Howell, O. W., Carassiti, D., Magliozzi, R., Gveric, D., Muraro, P. A., Nicholas, R., Roncaroli, F., & Reynolds, R. (2012). Meningeal inflammation plays a role in the pathology of primary progressive multiple sclerosis. *Brain*, 135(10), 2925–2937. <https://doi.org/10.1093/brain/aws189>
- Chong, A. L., Chandra, R. V., Chuah, K. C., Roberts, E. L., & Stuckey, S. L. (2016). Proton density MRI increases detection of cervical spinal cord multiple sclerosis lesions compared with T2-weighted fast spin-echo. *American Journal of Neuroradiology*, 37(1), 180–184. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A4476>
- Chung, K. K., Altmann, D., Barkhof, F., Miszkiel, K., Brex, P. A., O’Riordan, J., Ebner, M., Prados, F., Cardoso, M. J., Vercauteren, T., Ourselin, S., Thompson, A., Ciccarelli, O., & Chard, D. T. (2020). A 30-Year Clinical and Magnetic Resonance Imaging Observational Study of Multiple Sclerosis and Clinically Isolated Syndromes. *Annals of Neurology*, 87(1), 63–74. <https://doi.org/10.1002/ana.25637>
- Ciccarelli, O., Catani, M., Johansen-Berg, H., Clark, C., & Thompson, A. (2008). Diffusion-based tractography in neurological disorders: concepts, applications, and future developments. In *The Lancet Neurology* (Vol. 7, Issue 8).  
[https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(08\)70163-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(08)70163-7)
- Ciccarelli, O., Cohen, J. A., Reingold, S. C., Weinshenker, B. G., Amato, M. P., Banwell, B., Barkhof, F., Bebo, B., Becher, B., Bethoux, F., Brandt, A., Brownlee, W., Calabresi, P., Chatway, J., Chien, C., Chitnis, T., Cohen, J., Comi, G., Correale, J., ... Xu, J. (2019). Spinal cord involvement in multiple sclerosis and neuromyelitis optica spectrum disorders. In *The Lancet Neurology* (Vol. 18, Issue 2, pp. 185–197). Lancet Publishing Group. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30460-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30460-5)
- Coetzee, T., & Thompson, A. J. (2018). Unified understanding of MS course is required

- for drug development. In *Nature Reviews Neurology* (Vol. 14, Issue 4).  
<https://doi.org/10.1038/nrneurol.2017.184>
- Collorone, S., Cawley, N., Grussu, F., Prados, F., Tona, F., Calvi, A., Kanber, B., Schneider, T., Kipp, L., Zhang, H., Alexander, D. C., Thompson, A. J., Toosy, A., Wheeler-Kingshott, C. A. G., & Ciccarelli, O. (2020). Reduced neurite density in the brain and cervical spinal cord in relapsing–remitting multiple sclerosis: A NODDI study. *Multiple Sclerosis Journal*, 26(13). <https://doi.org/10.1177/1352458519885107>
- Combes, A. J. E., Matthews, L., Lee, J. S., Li, D. K. B., Carruthers, R., Traboulsee, A. L., Barker, G. J., Palace, J., & Kolind, S. (2017). Cervical cord myelin water imaging shows degenerative changes over one year in multiple sclerosis but not neuromyelitis optica spectrum disorder. *NeuroImage: Clinical*, 16.  
<https://doi.org/10.1016/j.nicl.2017.06.019>
- Combès, B., Kerbrat, A., Ferré, J. C., Callot, V., Maranzano, J., Badji, A., Le Page, E., Labauge, P., Ayrignac, X., Carra Dallièrè, C., de Champfleury, N. M., Pelletier, J., Maarouf, A., de Seze, J., Collongues, N., Brassat, D., Durand-Dubief, F., Barillot, C., Bannier, E., & Edan, G. (2018). Focal and diffuse cervical spinal cord damage in patients with early relapsing–remitting MS: A multicentre magnetisation transfer ratio study. *Multiple Sclerosis Journal*, 1–11. <https://doi.org/10.1177/1352458518781999>
- Conrad, B. N., Barry, R. L., Rogers, B. P., Maki, S., Mishra, A., Thukral, S., Sriram, S., Bhatia, A., Pawate, S., Gore, J. C., & Smith, S. A. (2018). Multiple sclerosis lesions affect intrinsic functional connectivity of the spinal cord. *Brain*, 141(6).  
<https://doi.org/10.1093/brain/awy083>
- Conturo, T. E., Lori, N. F., Cull, T. S., Akbudak, E., Snyder, A. Z., Shimony, J. S., Mckinstry, R. C., Burton, H., & Raichle, M. E. (1999). Tracking neuronal fiber pathways in the living human brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(18). <https://doi.org/10.1073/pnas.96.18.10422>
- Coret, F., Bosca, I., Landete, L., Magraner, M., Navarré, A., Leó, J., & Casanova, B. (n.d.). *Early diffuse demyelinating lesion in the cervical spinal cord predicts a worse prognosis in relapsing–remitting multiple sclerosis*.  
<https://doi.org/10.1177/1352458510371960>
- Dastagir, A., Healy, B. C., Chua, A. S., Chitnis, T., Weiner, H. L., Bakshi, R., & Tauhid, S. (2018). Brain and spinal cord MRI lesions in primary progressive vs. relapsing–remitting multiple sclerosis. *ENeurologicalSci*.  
<https://doi.org/10.1016/j.ensci.2018.07.002>
- Dawson, J. W. (1916). XVIII.—The histology of disseminated sclerosis. *Transactions of the Royal Society of Edinburgh*, 50(3). <https://doi.org/10.1017/S0080456800027174>
- De Leener, B., Taso, M., Cohen-Adad, J., & Callot, V. (2016). Segmentation of the human spinal cord. In *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine* (Vol. 29, Issue 2, pp. 125–153). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s10334-015-0507-2>
- De Stefano, N., Battaglini, M., & Smith, S. M. (2007). Measuring brain atrophy in multiple sclerosis. *Journal of Neuroimaging*, 17(SUPPL. 1). <https://doi.org/10.1111/j.1552-6569.2007.00130.x>
- De Vico Fallani, F., Richiardi, J., Chavez, M., & Achard, S. (2014). Graph analysis of

- functional brain networks: Practical issues in translational neuroscience. In *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* (Vol. 369, Issue 1653). <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0521>
- Dekker, I., Sombekke, M. H., Balk, L. J., Moraal, B., Geurts, J. J. G., Barkhof, F., Uitdehaag, B. M. J., Killestein, J., & Wattjes, M. P. (2019). Infratentorial and spinal cord lesions: Cumulative predictors of long-term disability? *Multiple Sclerosis Journal*. <https://doi.org/10.1177/1352458519864933>
- DeLuca, G. C., Williams, K., Evangelou, N., Ebers, G. C., & Esiri, M. M. (2006). The contribution of demyelination to axonal loss in multiple sclerosis. *Brain*, *129*(6), 1507–1516. <https://doi.org/10.1093/brain/awl074>
- Dendrou, C. A., Fugger, L., & Friese, M. A. (2015). Immunopathology of multiple sclerosis. In *Nature Reviews Immunology* (Vol. 15, Issue 9). <https://doi.org/10.1038/nri3871>
- Denève, M., Biotti, D., Patsoura, S., Ferrier, M., Meluchova, Z., Mahieu, L., Heran, F., Vignal, C., Deschamps, R., Gout, O., de Champfleury, N. M., Ayrignac, X., Dallièrè, C. C., Labauge, P., Dulau, C., Tourdias, T., Dumas, H., Cognard, C., Brassat, D., & Bonneville, F. (2019). MRI features of demyelinating disease associated with anti-MOG antibodies in adults. In *Journal of Neuroradiology* (Vol. 46, Issue 5, pp. 312–318). Elsevier Masson SAS. <https://doi.org/10.1016/j.neurad.2019.06.001>
- Droby, A., Fleischer, V., Carnini, M., Zimmermann, H., Siffrin, V., Gawehn, J., Erb, M., Hildebrandt, A., Baier, B., & Zipp, F. (2015). The impact of isolated lesions on white-matter fiber tracts in multiple sclerosis patients. *NeuroImage: Clinical*, *8*, 110–116. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2015.03.003>
- Dubey, D., Pittock, S. J., Krecke, K. N., Morris, P. P., Sechi, E., Zalewski, N. L., Weinshenker, B. G., Shosha, E., Lucchinetti, C. F., Fryer, J. P., Lopez-Chiriboga, A. S., Chen, J. C., Jitprapaikulsan, J., McKeon, A., Gadoth, A., Keegan, B. M., Tillema, J. M., Naddaf, E., Patterson, M. C., ... Flanagan, E. P. (2019). Clinical, Radiologic, and Prognostic Features of Myelitis Associated with Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein Autoantibody. *JAMA Neurology*, *76*(3), 301–309. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2018.4053>
- Dupuy, S. L., Khalid, F., Healy, B. C., Bakshi, S., Neema, M., Tauhid, S., & Bakshi, R. (2016). The effect of intramuscular interferon beta- 1a on spinal cord volume in relapsing-remitting multiple sclerosis. *BMC Medical Imaging*, *16*(1). <https://doi.org/10.1186/s12880-016-0158-4>
- Duquette, P., Girard, M., Despault, L., DuBois, R., Knobler, R. L., Lublin, F. D., Kelley, L., Francis, G. S., Lapierre, Y., Antel, J., Freedman, M., Hum, S., Greenstein, J. I., Mishra, B., Muldoon, J., Whitaker, J. N., Evans, B. K., Layton, B., & Sibley, W. A. (1993). Interferon beta-1b is effective in relapsing-remitting multiple sclerosis. I. Clinical results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo- controlled trial. *Neurology*, *43*(4 I). <https://doi.org/10.1212/wnl.43.4.655>
- Dyment, D. A., Ebers, G. C., & Sadovnick, A. D. (2004). Genetics of multiple sclerosis. In *THE LANCET Neurology* (Vol. 3). <http://neurology.thelancet.com>
- Dziedzic, T., Metz, I., Dallenga, T., König, F. B., Müller, S., Stadelmann, C., & Brück, W. (2010). Wallerian degeneration: A major component of early axonal pathology in

- multiple sclerosis. *Brain Pathology*, 20(5), 976–985. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2010.00401.x>
- Eden, D., Gros, C., Badji, A., Dupont, S. M., De Leener, B., Maranzano, J., Zhuoquiong, R., Liu, Y., Granberg, T., Ouellette, R., Stawiarz, L., Hillert, J., Talbott, J., Bannier, E., Kerbrat, A., Edan, G., Labauge, P., Callot, V., Pelletier, J., ... Cohen-Adad, J. (2019). Spatial distribution of multiple sclerosis lesions in the cervical spinal cord. *Brain*, 142(3), 633–646. <https://doi.org/10.1093/brain/awy352>
- Engelhardt, B. (2008). Immune cell entry into the central nervous system: Involvement of adhesion molecules and chemokines. *Journal of the Neurological Sciences*, 274(1–2), 23–26. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2008.05.019>
- Eriksson, M., Andersen, O., & Runmarker, B. (2003). Long-term follow up of patients with clinically isolated syndromes, relapsing-remitting and secondary progressive multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis*, 9(3), 260–274. <https://doi.org/10.1191/1352458503ms914oa>
- Eshaghi, A., Marinescu, R. V., Young, A. L., Firth, N. C., Prados, F., Jorge Cardoso, M., Tur, C., De Angelis, F., Cawley, N., Brownlee, W. J., De Stefano, N., Laura Stromillo, M., Battaglini, M., Ruggieri, S., Gasperini, C., Filippi, M., Rocca, M. A., Rovira, A., Sastre-Garriga, J., ... Ciccarelli, O. (2018). Progression of regional grey matter atrophy in multiple sclerosis. *Brain*, 141(6). <https://doi.org/10.1093/brain/awy088>
- Eshaghi, A., Prados, F., Brownlee, W. J., Altmann, D. R., Tur, C., Cardoso, M. J., De Angelis, F., van de Pavert, S. H., Cawley, N., De Stefano, N., Stromillo, M. L., Battaglini, M., Ruggieri, S., Gasperini, C., Filippi, M., Rocca, M. A., Rovira, A., Sastre-Garriga, J., Vrenken, H., ... Ciccarelli, O. (2018). Deep gray matter volume loss drives disability worsening in multiple sclerosis. *Annals of Neurology*, 83(2). <https://doi.org/10.1002/ana.25145>
- Evangelou, N., DeLuca, G. C., Owens, T., & Esiri, M. M. (2005). Pathological study of spinal cord atrophy in multiple sclerosis suggests limited role of local lesions. *Brain*. <https://doi.org/10.1093/brain/awh323>
- Fadda, G., Brown, R. A., Magliozzi, R., Aubert-Broche, B., O'Mahony, J., Shinohara, R. T., Banwell, B., Marrie, R. A., Yeh, E. A., Collins, D. L., Arnold, D. L., & Bar-Or, A. (2019). A surface-in gradient of thalamic damage evolves in pediatric multiple sclerosis. *Annals of Neurology*, 85(3). <https://doi.org/10.1002/ana.25429>
- Fan, L., Li, H., Zhuo, J., Zhang, Y., Wang, J., Chen, L., Yang, Z., Chu, C., Xie, S., Laird, A. R., Fox, P. T., Eickhoff, S. B., Yu, C., & Jiang, T. (2016). The Human Brainnetome Atlas: A New Brain Atlas Based on Connectional Architecture. *Cerebral Cortex*, 26(8). <https://doi.org/10.1093/cercor/bhw157>
- Fang, E., Ann, C. N., Maréchal, B., Lim, J. X., Tan, S. Y. Z., Li, H., Gan, J., Tan, E. K., & Chan, L. L. (2020). Differentiating Parkinson's disease motor subtypes using automated volume-based morphometry incorporating white matter and deep gray nuclear lesion load. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 51(3). <https://doi.org/10.1002/jmri.26887>
- Fartaria, M. J., Bonnier, G., Roche, A., Kober, T., Meuli, R., Rotzinger, D., Frackowiak, R., Schlupe, M., Du Pasquier, R., Thiran, J. P., Krueger, G., Bach Cuadra, M., &

- Granziera, C. (2016). Automated detection of white matter and cortical lesions in early stages of multiple sclerosis. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 43(6), 1445–1454. <https://doi.org/10.1002/jmri.25095>
- Fartaria, M. J., Kober, T., Granziera, C., & Bach Cuadra, M. (2019). Longitudinal analysis of white matter and cortical lesions in multiple sclerosis. *NeuroImage: Clinical*, 23. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2019.101938>
- Fartaria, M. J., Todea, A., Kober, T., O'Brien, K., Krueger, G., Meuli, R., Granziera, C., Roche, A., & Bach Cuadra, M. (2018). Partial volume-aware assessment of multiple sclerosis lesions. *NeuroImage: Clinical*, 18, 245–253. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2018.01.011>
- Ferguson, B., Matyszak, M. K., Esiri, M. M., & Perry, V. H. (1997). Axonal damage in acute multiple sclerosis lesions. *Brain*, 120(3). <https://doi.org/10.1093/brain/120.3.393>
- Filippi, M., Campi, A., Colombo, B., Pereira, C., Martinelli, V., Baratti, C., & Comi, G. (1996). A spinal cord MRI study of benign and secondary progressive multiple sclerosis. *Journal of Neurology*, 243(7). <https://doi.org/10.1007/BF00886870>
- Flanagan, E. P., Hinson, S. R., Lennon, V. A., Fang, B., Aksamit, A. J., Morris, P. P., Basal, E., Honorat, J. A., Alfugham, N. B., Linnoila, J. J., Weinshenker, B. G., Pittock, S. J., & McKeon, A. (2017). Glial fibrillary acidic protein immunoglobulin G as biomarker of autoimmune astrocytopathy: Analysis of 102 patients. *Annals of Neurology*, 81(2). <https://doi.org/10.1002/ana.24881>
- Flanagan, E. P., Kaufmann, T. J., Krecke, K. N., Aksamit, A. J., Pittock, S. J., Keegan, B. M., Giannini, C., & Weinshenker, B. G. (2016). Discriminating long myelitis of neuromyelitis optica from sarcoidosis. *Annals of Neurology*, 79(3). <https://doi.org/10.1002/ana.24582>
- Flanagan, E. P., Weinshenker, B. G., Krecke, K. N., Lennon, V. A., Lucchinetti, C. F., McKeon, A., Wingerchuk, D. M., Shuster, E. A., Jiao, Y., Horta, E. S., & Pittock, S. J. (2015). Short myelitis lesions in aquaporin-4-IgG-positive neuromyelitis optica spectrum disorders. *JAMA Neurology*, 72(1). <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2014.2137>
- Fleischer, V., Radetz, A., Ciolac, D., Muthuraman, M., Gonzalez-Escamilla, G., Zipp, F., & Groppa, S. (2019). Graph Theoretical Framework of Brain Networks in Multiple Sclerosis: A Review of Concepts. In *Neuroscience* (Vol. 403). <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2017.10.033>
- Fog, T. (1950). Topographic distribution of plaques in the spinal cord in multiple sclerosis. *Archives of Neurology And Psychiatry*, 63(3). <https://doi.org/10.1001/archneurpsyc.1950.02310210028003>
- Foulon, C., Cerliani, L., Kinkingnéhun, S., Levy, R., Rosso, C., Urbanski, M., Volle, E., & de Schotten, M. T. (2018). Advanced lesion symptom mapping analyses and implementation as BCBtoolkit. In *GigaScience* (Vol. 7, Issue 3). <https://doi.org/10.1093/gigascience/giy004>
- Fox, M. D. (2018). Mapping Symptoms to Brain Networks with the Human Connectome. *New England Journal of Medicine*, 379(23). <https://doi.org/10.1056/nejmra1706158>



- Fox, R. J., Coffey, C. S., Conwit, R., Cudkowicz, M. E., Gleason, T., Goodman, A., Klawiter, E. C., Matsuda, K., McGovern, M., Naismith, R. T., Ashokkumar, A., Barnes, J., Ecklund, D., Klingner, E., Koepp, M., Long, J. D., Natarajan, S., Thornell, B., Yankey, J., ... Zabeti, A. (2018). Phase 2 Trial of Ibudilast in Progressive Multiple Sclerosis. *New England Journal of Medicine*, 379(9). <https://doi.org/10.1056/nejmoa1803583>
- Friese, M. A., Schattling, B., & Fugger, L. (2014). Mechanisms of neurodegeneration and axonal dysfunction in multiple sclerosis. In *Nature Reviews Neurology* (Vol. 10, Issue 4, pp. 225–238). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrneuro.2014.37>
- Frischer, J. M., Weigand, S. D., Guo, Y., Kale, N., Parisi, J. E., Pirko, I., Mandrekar, J., Bramow, S., Metz, I., Brück, W., Lassmann, H., & Lucchinetti, C. F. (2015). Clinical and pathological insights into the dynamic nature of the white matter multiple sclerosis plaque. *Annals of Neurology*, 78(5), 710–721. <https://doi.org/10.1002/ana.24497>
- Frostell, A., Hakim, R., Thelin, E. P., Mattsson, P., & Svensson, M. (2016). A review of the segmental diameter of the healthy human spinal cord. *Frontiers in Neurology*, 7(DEC). <https://doi.org/10.3389/fneur.2016.00238>
- Ganesvaran, G., Greer, J. M., & Pender, M. P. (2009). Prominent brainstem and cerebellar involvement in multiple sclerosis with psoriasis. *Multiple Sclerosis*, 15(6), 763–766. <https://doi.org/10.1177/1352458509103612>
- Ganter, P., Prince, C., & Esiri, M. M. (1999). Spinal cord axonal loss in multiple sclerosis: A post-mortem study. *Neuropathology and Applied Neurobiology*. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2990.1999.00205.x>
- Gass, A., Rocca, M. A., Agosta, F., Ciccarelli, O., Chard, D., Valsasina, P., Brooks, J. C. W., Bischof, A., Eisele, P., Kappos, L., Barkhof, F., & Filippi, M. (2015). MRI monitoring of pathological changes in the spinal cord in patients with multiple sclerosis. In *The Lancet Neurology* (Vol. 14, Issue 4, pp. 443–454). Lancet Publishing Group. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70294-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70294-7)
- Geurts, J. J. G., Bö, L., Pouwels, P. J. W., Castelijns, J. A., Polman, C. H., & Barkhof, F. (2005). Cortical lesions in multiple sclerosis: Combined postmortem MR imaging and histopathology. *American Journal of Neuroradiology*, 26(3).
- Gilmore, C. P., Donaldson, I., Bö, L., Owens, T., Lowe, J., & Evangelou, N. (2009). Regional variations in the extent and pattern of grey matter demyelination in multiple sclerosis: A comparison between the cerebral cortex, cerebellar cortex, deep grey matter nuclei and the spinal cord. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 80(2), 182–187. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2008.148767>
- Gilmore, Christopher P., Deluca, G. C., Bö, L., Owens, T., Lowe, J., Esiri, M. M., & Evangelou, N. (2009). Spinal cord neuronal pathology in multiple sclerosis. *Brain Pathology*, 19(4), 642–649. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2008.00228.x>
- Gilmore, Christopher P, Deluca, G. C., Bö, L., Owens, T., Lowe, J., Esiri, M. M., & Evangelou, N. (2005). Spinal Cord Atrophy in Multiple Sclerosis Caused by White Matter Volume Loss. In *Arch Neurol* (Vol. 62). <http://archneur.jamanetwork.com/>
- Goodkin, D. E., Cookfair, D., Wende, K., Bourdette, D., Pullicino, P., Scherokman, B., & Whitham, R. (1992). Inter- and intrarater scoring agreement using grades 1.0 to 3.5 of the Kurtzke Expanded Disability Status Scale (EDSS). *Multiple Sclerosis*

- Collaborative Research Group. *Neurology*, 42(4).  
<https://doi.org/10.1212/wnl.42.4.859>
- Granella, F., Tsantes, E., Graziuso, S., Bazzurri, V., Crisi, G., & Curti, E. (2019). Spinal cord lesions are frequently asymptomatic in relapsing–remitting multiple sclerosis: a retrospective MRI survey. *Journal of Neurology*, 266(12), 3031–3037.  
<https://doi.org/10.1007/s00415-019-09526-3>
- Granziera, C., Wuerfel, J., Barkhof, F., Calabrese, M., De Stefano, N., Enzinger, C., Evangelou, N., Filippi, M., Geurts, J. J. G., Reich, D. S., Rocca, M. A., Ropele, S., Rovira, À., Sati, P., Toosy, A. T., Vrenken, H., Gandini Wheeler-Kingshott, C. A. M., Kappos, L., Barkhof, F., ... Yousry, T. (2021). Quantitative magnetic resonance imaging towards clinical application in multiple sclerosis. *Brain*, 144(5), 1296–1311.  
<https://doi.org/10.1093/brain/awab029>
- Greer, J. M., & McCombe, P. A. (2011). Role of gender in multiple sclerosis: Clinical effects and potential molecular mechanisms. In *Journal of Neuroimmunology* (Vol. 234, Issues 1–2, pp. 7–18). <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2011.03.003>
- Griffis, J. C., Metcalf, N. V., Corbetta, M., & Shulman, G. L. (2021). Lesion Quantification Toolkit: A MATLAB software tool for estimating grey matter damage and white matter disconnections in patients with focal brain lesions. *NeuroImage: Clinical*, 30. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2021.102639>
- Griffis, J. C., Nenert, R., Allendorfer, J. B., & Szaflarski, J. P. (2017). Damage to white matter bottlenecks contributes to language impairments after left hemispheric stroke. *NeuroImage: Clinical*, 14. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2017.02.019>
- Grimaud, J., Barker, G. J., Wang, L., Lai, M., MacManus, D. G., Webb, S. L., Thompson, A. J., McDonald, W. I., Tofts, P. S., & Miller, D. H. (1999). Correlation of magnetic resonance imaging parameters with clinical disability in multiple sclerosis: A preliminary study. *Journal of Neurology*, 246(10).  
<https://doi.org/10.1007/s004150050491>
- Gros, C., De Leener, B., Badji, A., Maranzano, J., Eden, D., Dupont, S. M., Talbott, J., Zhuoquiong, R., Liu, Y., Granberg, T., Ouellette, R., Tachibana, Y., Hori, M., Kamiya, K., Chougar, L., Stawiarz, L., Hillert, J., Bannier, E., Kerbrat, A., ... Cohen-Adad, J. (2019). Automatic segmentation of the spinal cord and intramedullary multiple sclerosis lesions with convolutional neural networks. *NeuroImage*, 184, 901–915. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2018.09.081>
- Grussu, F., Schneider, T., Tur, C., Yates, R. L., Tachrount, M., Ianuş, A., Yiannakas, M. C., Newcombe, J., Zhang, H., Alexander, D. C., DeLuca, G. C., & Gandini Wheeler-Kingshott, C. A. M. (2017). Neurite dispersion: a new marker of multiple sclerosis spinal cord pathology? *Annals of Clinical and Translational Neurology*, 4(9), 663–679. <https://doi.org/10.1002/acn3.445>
- Hagens, M. H. J., Burggraaff, J., Kilsdonk, I. D., de Vos, M. L., Cawley, N., Sbardella, E., Andelova, M., Amann, M., Lieb, J. M., Pantano, P., Lissenberg-Witte, B. I., Killestein, J., Oreja-Guevara, C., Ciccarelli, O., Gasperini, C., Lukas, C., Wattjes, M. P., & Barkhof, F. (2018). Three-Tesla MRI does not improve the diagnosis of multiple sclerosis: A multicenter study. *Neurology*, 91(3), e249–e257.  
<https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000005825>

- Hagmann, P., Cammoun, L., Gigandet, X., Meuli, R., Honey, C. J., Van Wedeën, J., & Sporns, O. (2008). Mapping the structural core of human cerebral cortex. *PLoS Biology*, 6(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060159>
- Hagström, I. T., Schneider, R., Bellenberg, B., Salmen, A., Weiler, F., Köster, O., Gold, R., & Lukas, C. (2017). Relevance of early cervical cord volume loss in the disease evolution of clinically isolated syndrome and early multiple sclerosis: a 2-year follow-up study. *Journal of Neurology*, 264(7). <https://doi.org/10.1007/s00415-017-8537-5>
- Haider, L., Fischer, M. T., Frischer, J. M., Bauer, J., Höftberger, R., Botond, G., Esterbauer, H., Binder, C. J., Witzum, J. L., & Lassmann, H. (2011). Oxidative damage in multiple sclerosis lesions. *Brain*, 134(7), 1914–1924. <https://doi.org/10.1093/brain/awr128>
- Hauser, S. L., Bar-Or, A., Comi, G., Giovannoni, G., Hartung, H.-P., Hemmer, B., Lublin, F., Montalban, X., Rammohan, K. W., Selmaj, K., Traboulsee, A., Wolinsky, J. S., Arnold, D. L., Klingelschmitt, G., Masterman, D., Fontoura, P., Belachew, S., Chin, P., Mairon, N., ... Kappos, L. (2017). Ocrelizumab versus Interferon Beta-1a in Relapsing Multiple Sclerosis. *New England Journal of Medicine*, 376(3), 221–234. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1601277>
- He, A., Spelman, T., Jokubaitis, V., Havrdova, E., Horakova, D., Trojano, M., Lugaresi, A., Izquierdo, G., Grammond, P., Duquette, P., Girard, M., Pucci, E., Iuliano, G., Alroughani, R., Oreja-Guevara, C., Fernandez-Bolaños, R., Grand'Maison, F., Sola, P., Spitaleri, D., ... Bulla, A. (2015). Comparison of switch to fingolimod or interferon beta/glatiramer acetate in active multiple sclerosis. *JAMA Neurology*, 72(4), 405–413. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2014.4147>
- He, Y., Dagher, A., Chen, Z., Charil, A., Zijdenbos, A., Worsley, K., & Evans, A. (2009). Impaired small-world efficiency in structural cortical networks in multiple sclerosis associated with white matter lesion load. *Brain*, 132(12). <https://doi.org/10.1093/brain/awp089>
- Healy, B. C., Arora, A., Hayden, D. L., Ceccarelli, A., Tauhid, S. S., Neema, M., & Bakshi, R. (2012). Approaches to normalization of spinal cord volume: Application to multiple sclerosis. *Journal of Neuroimaging*, 22(3). <https://doi.org/10.1111/j.1552-6569.2011.00629.x>
- Healy, B. C., Buckle, G. J., Ali, E. N., Egorova, S., Khalid, F., Tauhid, S., Glanz, B. I., Chitnis, T., Guttmann, C. R. G., Weiner, H. L., & Bakshi, R. (2017). Characterizing Clinical and MRI Dissociation in Patients with Multiple Sclerosis. *Journal of Neuroimaging*, 27(5). <https://doi.org/10.1111/jon.12433>
- Hedström, A. K., Bäärnhielm, M., Olsson, T., & Alfredsson, L. (2009). Tobacco smoking, but not Swedish snuff use, increases the risk of multiple sclerosis. *Neurology*, 73(9), 696–701. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181b59c40>
- Hellings, N., Barée, M., Verhoeven, C., Beatrijs D'hooghe, M., Medaer, R., Bernard, C. C. A., Raus, J., & Stinissen, P. (2001). *T-Cell Reactivity to Multiple Myelin Antigens in Multiple Sclerosis Patients and Healthy Controls*.
- Hemond, C. C., Healy, B. C., Tauhid, S., Mazzola, M. A., Quintana, F. J., Gandhi, R., Weiner, H. L., & Bakshi, R. (2019). MRI phenotypes in MS: Longitudinal changes and miRNA signatures. *Neurology: Neuroimmunology and NeuroInflammation*, 6(2). <https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000000530>

- Henry, R. G., Shieh, M., Okuda, D. T., Evangelista, A., Gorno-Tempini, M. L., & Pelletier, D. (2008). Regional grey matter atrophy in clinically isolated syndromes at presentation. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 79(11), 1236–1244. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2007.134825>
- Horakova, D., Zivadinov, R., Weinstock-Guttman, B., Havrdova, E., Qu, J., Tamaño-Blanco, M., Badgett, D., Tyblova, M., Bergsland, N., Hussein, S., Willis, L., Krasensky, J., Vaneckova, M., Seidl, Z., Lelkova, P., Dwyer, M. G., Zhang, M., Yu, H., Duan, X., ... Ramanathan, M. (2013). Environmental Factors Associated with Disease Progression after the First Demyelinating Event: Results from the Multi-Center SET Study. *PLoS ONE*, 8(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053996>
- Howell, O. W., Reeves, C. A., Nicholas, R., Carassiti, D., Radotra, B., Gentleman, S. M., Serafini, B., Aloisi, F., Roncaroli, F., Magliozzi, R., & Reynolds, R. (2011). Meningeal inflammation is widespread and linked to cortical pathology in multiple sclerosis. *Brain*, 134(9), 2755–2771. <https://doi.org/10.1093/brain/awr182>
- Hristian, C., Onfavreux, C., Andra, S., Ukusic, V., Hibault, T., Oreau, M., Atrice, P., & Deleine, A. (2000). *The New England Journal of Medicine RELAPSES AND PROGRESSION OF DISABILITY IN MULTIPLE SCLEROSIS A BSTRACT Background The influence of the patterns of on.*
- Hua, L. H., Donlon, S. L., Sobhanian, M. J., Portner, S. M., & Okuda, D. T. (2015a). Thoracic spinal cord lesions are influenced by the degree of cervical spine involvement in multiple sclerosis. *Spinal Cord*, 53(7), 520–525. <https://doi.org/10.1038/sc.2014.238>
- Hua, L. H., Donlon, S. L., Sobhanian, M. J., Portner, S. M., & Okuda, D. T. (2015b). Thoracic spinal cord lesions are influenced by the degree of cervical spine involvement in multiple sclerosis. *Spinal Cord*, 53(7), 520–525. <https://doi.org/10.1038/sc.2014.238>
- Huppke, B., Ellenberger, D., Hummel, H., Stark, W., Röbl, M., Gärtner, J., & Huppke, P. (2019). Association of Obesity with Multiple Sclerosis Risk and Response to First-line Disease Modifying Drugs in Children. *JAMA Neurology*, 76(10), 1157–1165. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2019.1997>
- Ibrahim Ibrahim, & Tintěra Jaroslav. (2013). Teoretické základy pokročilých metod magnetické rezonance na poli neurověd. *Ces Radiol*, 67(1), 9–18.
- Inojosa, H., Schriefer, D., & Ziemssen, T. (2020). Clinical outcome measures in multiple sclerosis: A review. In *Autoimmunity Reviews* (Vol. 19, Issue 5). <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2020.102512>
- Isensee, F., Jaeger, P. F., Kohl, S. A. A., Petersen, J., & Maier-Hein, K. H. (2021). nnU-Net: a self-configuring method for deep learning-based biomedical image segmentation. *Nature Methods*, 18(2), 203–211. <https://doi.org/10.1038/s41592-020-01008-z>
- Jehna, M., Pirpamer, L., Khalil, M., Fuchs, S., Ropele, S., Langkammer, C., Pichler, A., Stulnig, F., Deutschmann, H., Fazekas, F., & Enzinger, C. (2015). Periventricular lesions correlate with cortical thinning in multiple sclerosis. *Annals of Neurology*, 78(4). <https://doi.org/10.1002/ana.24461>
- Jeurissen, B., Descoteaux, M., Mori, S., & Leemans, A. (2019). Diffusion MRI fiber tractography of the brain. In *NMR in Biomedicine* (Vol. 32, Issue 4).

<https://doi.org/10.1002/nbm.3785>

- Jeurissen, B., Leemans, A., Jones, D. K., Tournier, J. D., & Sijbers, J. (2011). Probabilistic fiber tracking using the residual bootstrap with constrained spherical deconvolution. *Human Brain Mapping, 32*(3). <https://doi.org/10.1002/hbm.21032>
- Kabat, E. A., Moore, D. H., & Landow, H. (1942). AN ELECTROPHORETIC STUDY OF THE PROTEIN COMPONENTS IN CEREBROSPINAL FLUID AND THEIR RELATIONSHIP TO THE SERUM PROTEINS 1. *Journal of Clinical Investigation, 21*(5). <https://doi.org/10.1172/jci101335>
- Kalkers, N. F., Barkhof, F., Bergers, E., Van Schijndel, R., & Polman, C. H. (2002). The effect of the neuroprotective agent riluzole on MRI parameters in primary progressive multiple sclerosis: A pilot study. *Multiple Sclerosis, 8*(6). <https://doi.org/10.1191/1352458502ms849xx>
- Kapoor, R., Furby, J., Hayton, T., Smith, K. J., Altmann, D. R., Brenner, R., Chataway, J., Hughes, R. A., & Miller, D. H. (2010). Lamotrigine for neuroprotection in secondary progressive multiple sclerosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled, parallel-group trial. *The Lancet Neurology, 9*(7). [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70131-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70131-9)
- Kearney, H., Schneider, T., Yiannakas, M. C., Altmann, D. R., Wheeler-Kingshott, C. A. M., Ciccarelli, O., & Miller, D. H. (2015). Spinal cord grey matter abnormalities are associated with secondary progression and Physical disability in multiple sclerosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry, 86*(6), 608–614. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2014-308241>
- Kearney, Hugh, Miller, D. H., & Ciccarelli, O. (2015). Spinal cord MRI in multiple sclerosis-diagnostic, prognostic and clinical value. In *Nature Reviews Neurology*. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2015.80>
- Kearney, Hugh, Yiannakas, M. C., Samson, R. S., Wheeler-Kingshott, C. A. M., Ciccarelli, O., & Miller, D. H. (2014a). Investigation of magnetization transfer ratio-derived pial and subpial abnormalities in the multiple sclerosis spinal cord. *Brain*. <https://doi.org/10.1093/brain/awu171>
- Kearney, Hugh, Yiannakas, M. C., Samson, R. S., Wheeler-Kingshott, C. A. M., Ciccarelli, O., & Miller, D. H. (2014b). Investigation of magnetization transfer ratio-derived pial and subpial abnormalities in the multiple sclerosis spinal cord. *Brain, 137*(9), 2456–2468. <https://doi.org/10.1093/brain/awu171>
- Keegan, B. M., Kaufmann, T. J., Weinshenker, B. G., Kantarci, O. H., Schmalstieg, W. F., Mateo, M., Soldan, P., & Flanagan, E. P. (2016). *Progressive solitary sclerosis Gradual motor impairment from a single CNS demyelinating lesion*.
- Kerbrat, A., Gros, C., Badji, A., Bannier, E., Galassi, F., Combès, B., Chouteau, R., Labauge, P., Ayrignac, X., Carra-Dalliere, C., Maranzano, J., Granberg, T., Ouellette, R., Stawiarz, L., Hillert, J., Talbott, J., Tachibana, Y., Hori, M., Kamiya, K., ... Cohen-Adad, J. (2020). Multiple sclerosis lesions in motor tracts from brain to cervical cord: Spatial distribution and correlation with disability. *Brain, 143*(7). <https://doi.org/10.1093/brain/awaa162>

- Klawiter, E. C., Benzinger, T., Roy, A., Naismith, R. T., Parks, B. J., & Cross, A. H. (2010). Spinal cord ring enhancement in multiple sclerosis. *Archives of Neurology*, 67(11), 1395–1398. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2010.271>
- Klawiter, E. C., Schmidt, R. E., Trinkaus, K., Liang, H. F., Budde, M. D., Naismith, R. T., Song, S. K., Cross, A. H., & Benzinger, T. L. (2011). Radial diffusivity predicts demyelination in ex vivo multiple sclerosis spinal cords. *NeuroImage*, 55(4). <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.01.007>
- Klein, J. P., Arora, A., Neema, M., Healy, B. C., Tauhid, S., Goldberg-Zimring, D., Chavarro-Nieto, C., Stankiewicz, J. M., Cohen, A. B., Buckle, G. J., Houtchens, M. K., Ceccarelli, A., Dell'Oglio, E., Guttmann, C. R., Alsop, D. C., Hackney, D. B., & Bakshi, R. (2011). A 3T MR imaging investigation of the topography of whole spinal cord atrophy in multiple sclerosis. *AJNR Am J Neuroradiol*. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A2459>
- Klein, S., Staring, M., Murphy, K., Viergever, M. A., & Pluim, J. P. W. (2010). Elastix: A toolbox for intensity-based medical image registration. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 29(1). <https://doi.org/10.1109/TMI.2009.2035616>
- Kuhlmann, T., Lingfeld, G., Bitsch, A., Schuchardt, J., & Brück, W. (2002). Acute axonal damage in multiple sclerosis is most extensive in early disease stages and decreases over time. *Brain*, 125(10). <https://doi.org/10.1093/brain/awf235>
- Kutzelnigg, A., Lucchinetti, C. F., Stadelmann, C., Brück, W., Rauschka, H., Bergmann, M., Schmidbauer, M., Parisi, J. E., & Lassmann, H. (2005). Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. *Brain*. <https://doi.org/10.1093/brain/awh641>
- Landtblom, A. M., Fazio, P., Fredrikson, S., & Granieri, E. (2010). The first case history of multiple sclerosis: Augustus d'Esté (1794-1848). In *Neurological Sciences* (Vol. 31, Issue 1). <https://doi.org/10.1007/s10072-009-0161-4>
- Lassmann, H. (2019). Pathogenic mechanisms associated with different clinical courses of multiple sclerosis. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 10, Issue JAN). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.03116>
- Laule, C., Vavasour, I., Zhao, Y., Traboulsee, A., Oger, J., Vavasour, J., Mackay, A., & Li, D. (n.d.). *Two-year study of cervical cord volume and myelin water in primary progressive multiple sclerosis*. <https://doi.org/10.1177/1352458510365586>
- Laule, Cornelia, Yung, A., Pavolva, V., Bohnet, B., Kozłowski, P., Hashimoto, S. A., Yip, S., Li, D. K. B., & Moore, G. R. W. (2016). High-resolution myelin water imaging in post-mortem multiple sclerosis spinal cord: A case report. *Multiple Sclerosis*, 22(11). <https://doi.org/10.1177/1352458515624559>
- Leary, S., Miller, D., Stevenson, V., Brex, P., Chard, D., & Thompson, A. (2003). *Interferon-1a in primary progressive MS An exploratory, randomized, controlled trial*.
- Lema, A., Bishop, C., Malik, O., Mattoscio, M., Ali, R., Nicholas, R., Muraro, P. A., Matthews, P. M., Waldman, A. D., & Newbould, R. D. (2017). A Comparison of Magnetization Transfer Methods to Assess Brain and Cervical Cord Microstructure in Multiple Sclerosis. *Journal of Neuroimaging*, 27(2). <https://doi.org/10.1111/jon.12377>
- Lennon, P. V. A., Wingerchuk, D. M., Kryzer, T. J., Pittock, S. J., Lucchinetti, C. F.,

- Fujihara, K., Nakashima, I., & Weinshenker, B. G. (2004). A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: Distinction from multiple sclerosis. *Lancet*, *364*(9451). [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)17551-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)17551-X)
- Lerch, J. P., Worsley, K., Shaw, W. P., Greenstein, D. K., Lenroot, R. K., Giedd, J., & Evans, A. C. (2006). Mapping anatomical correlations across cerebral cortex (MACACC) using cortical thickness from MRI. *NeuroImage*, *31*(3). <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.01.042>
- Levin, L. I., Munger, K. L., Rubertone, M. V, Peck, C. A., Lennette, E. T., Spiegelman, D., & Ascherio, A. (n.d.). *Temporal Relationship Between Elevation of Epstein-Barr Virus Antibody Titers and Initial Onset of Neurological Symptoms in Multiple Sclerosis*. <http://jama.jamanetwork.com/>
- Lin, X., Tench, C. R., Turner, B., & Blumhardt, L. D. (2003). Spinal cord atrophy and disability in multiple sclerosis over four years: application of a reproducible automated technique in monitoring disease progression in a cohort of the interferon  $\beta$ -1a (Rebif) treatment trial. In *J Neurol Neurosurg Psychiatry* (Vol. 74). [www.jnnp.com](http://www.jnnp.com)
- Lipp, I., Parker, G. D., Tallantyre, E. C., Goodall, A., Grama, S., Patitucci, E., Heveron, P., Tomassini, V., & Jones, D. K. (2020). Tractography in the presence of multiple sclerosis lesions. *NeuroImage*, *209*. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2019.116471>
- Liu, Y., Wang, H., Duan, Y., Huang, J., Ren, Z., Ye, J., Dong, H., Shi, F., Li, K., & Wang, J. (2017). Functional brain network alterations in clinically isolated syndrome and multiple sclerosis: A graph-based connectome study. *Radiology*, *282*(2). <https://doi.org/10.1148/radiol.2016152843>
- Liu, Z., Pardini, M., Yaldizli, Ö., Sethi, V., Muhlert, N., Wheeler-Kingshott, C. A. M., Samson, R. S., Miller, D. H., & Chard, D. T. (2015). Magnetization transfer ratio measures in normal-appearing white matter show periventricular gradient abnormalities in multiple sclerosis. *Brain*, *138*(5). <https://doi.org/10.1093/brain/awv065>
- Llufriu, S., Martinez-Heras, E., Solana, E., Sola-Valls, N., Sepulveda, M., Blanco, Y., Martinez-Lapiscina, E. H., Andorra, M., Villoslada, P., Prats-Galino, A., & Saiz, A. (2017). Structural networks involved in attention and executive functions in multiple sclerosis. *NeuroImage: Clinical*, *13*. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2016.11.026>
- Lorscheider, J., Buzzard, K., Jokubaitis, V., Spelman, T., Havrdova, E., Horakova, D., Trojano, M., Izquierdo, G., Girard, M., Duquette, P., Ramo-Tello, C., Spitaleri, D., Petersen, T., Luis, J., Menoyo, S., Cristiano, E., Barnett, M. H., Shaw, C., Moore, F., ... Kalincik, T. (2016). *Defining secondary progressive multiple sclerosis*. <https://doi.org/10.1093/brain/aww173>
- Losseff, N. A., Webb, S. L., O'Riordan, J. I., Page, R., Wang, L., Barker, G. J., Tofts, P. S., McDonald, W. I., Miller, D. H., & Thompson, A. J. (1996). Spinal cord atrophy and disability in multiple sclerosis. A new reproducible and sensitive MRI method with potential to monitor disease progression. *Brain*. <https://doi.org/10.1093/brain/119.3.701>
- Lovas, G., Szilágyi, N., Majtényi, K., Palkovits, M., & Komoly, S. (2000). Axonal changes

- in chronic demyelinated cervical spinal cord plaques. *Brain*, 123(2), 308–317.  
<https://doi.org/10.1093/brain/123.2.308>
- Lublin, F. D., Reingold, S. C., Cohen, J. A., Cutter, G. R., Soelberg Sørensen, P., Alan Thompson, Dms. J., Wolinsky, J. S., Balcer, L. J., Brenda Banwell, M., Barkhof, F., Bebo, B., Calabresi, P. A., Clanet, M., Comi, G., Fox, R. J., Freedman, M. S., Goodman, A. D., Inglese, M., Kappos, L., ... Polman, C. H. (2014). *VIEWS & REVIEWS Defining the clinical course of multiple sclerosis The 2013 revisions*.
- Lucchinetti, C., Brück, W., Parisi, J., Scheithauer, B., Rodriguez, M., Lassmann, H., & Heterogeneity, L. H. (2000). *Heterogeneity of Multiple Sclerosis Lesions: Implications for the Pathogenesis of Demyelination*.
- Lukas, C., Knol, D. L., Sombekke, M. H., Bellenberg, B., Hahn, H. K., Popescu, V., Weier, K., Radue, E. W., Gass, A., Kappos, L., Naegelin, Y., Uitdehaag, B. M. J., Geurts, J. J. G., Barkhof, F., & Vrenken, H. (2015). Cervical spinal cord volume loss is related to clinical disability progression in multiple sclerosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 86(4), 410–418. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2014-308021>
- Lukas, C., Sombekke, M. H., Bellenberg, B., Hahn, H. K., Popescu, V., Bendfeldt, K., Radue, E. W., Gass, A., Borgwardt, S. J., Kappos, L., Naegelin, Y., Knol, D. L., Polman, C. H., Geurts, J. J. G., Barkhof, F., & Vrenken, H. (2013). relevance of spinal cord abnormalities to clinical Disability in Multiple sclerosis: MR Imaging Findings in a Large Cohort of Patients 1. *Radiology.Rsna.Org n Radiology*, 269(2—November).
- Lycklama à Nijeholt, G. J., Bergers, E., Kamphorst, W., Bot, J., Nicolay, K., Castelijns, J. A., T M van Waesberghe, J. H., Ravid, R., Polman, C. H., Barkhof, F., & to, C. (2001). Post-mortem high-resolution MRI of the spinal cord in multiple sclerosis A correlative study with conventional MRI, histopathology and clinical phenotype. *Brain*, 124, 154–166.
- Lycklama À Nijeholt, G. J., Van Walderveen, M. A. A., Castelijns, J. A., Van Waesberghe, J. H. T. M., Polman, C., Scheltens, P., Rosier, P. F. W. M., Jongen, P. J. H., & Barkhof, F. (1998). Brain and spinal cord abnormalities in multiple sclerosis: Correlation between MRI parameters, clinical subtypes and symptoms. *Brain*. <https://doi.org/10.1093/brain/121.4.687>
- Lycklama À Nijeholt, Geert J., Barkhof, F., Scheltens, P., Castelijns, J. A., Adèr, H., Van Waesberghe, J. H., Polman, C., Jongen, S. J. H., & Valk, J. (1997). MR of the spinal cord in multiple sclerosis: Relation to clinical subtype and disability. *American Journal of Neuroradiology*.
- Lycklama, G., Thompson, A., Filippi, M., Miller, D., Polman, C., Fazekas, F., & Barkhof, F. (2003). Spinal-cord MRI in multiple sclerosis. *Lancet Neurology*, 2(9), 555–562. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(03\)00504-0](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(03)00504-0)
- Mader, S., Gredler, V., Schanda, K., Rostasy, K., Dujmovic, I., Pfaller, K., Lutterotti, A., Jarius, S., Di Pauli, F., Kuenz, B., Ehling, R., Hegen, H., Deisenhammer, F., Aboul-Enein, F., Storch, M. K., Koson, P., Drulovic, J., Kristoferitsch, W., Berger, T., & Reindl, M. (2011). Complement activating antibodies to myelin oligodendrocyte glycoprotein in neuromyelitis optica and related disorders. *Journal of Neuroinflammation*, 8. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-8-184>



- Magliozzi, R., Howell, O. W., Reeves, C., Roncaroli, F., Nicholas, R., Serafini, B., Aloisi, F., & Reynolds, R. (2010). A Gradient of neuronal loss and meningeal inflammation in multiple sclerosis. *Annals of Neurology*, *68*(4). <https://doi.org/10.1002/ana.22230>
- Magon, S., Tsagkas, C., Gaetano, L., Patel, R., Naegelin, Y., Amann, M., Parmar, K., Papadopoulou, A., Wuerfel, J., Stippich, C., Kappos, L., Chakravarty, M. M., & Sprenger, T. (2020). Volume loss in the deep gray matter and thalamic subnuclei: a longitudinal study on disability progression in multiple sclerosis. *Journal of Neurology*, *267*(5). <https://doi.org/10.1007/s00415-020-09740-4>
- Mainero, C., Louapre, C., Govindarajan, S. T., Gianni, C., Scott Nielsen, A., Cohen-Adad, J., Sloane, J., & Kinkel, R. P. (2015). A gradient in cortical pathology in multiple sclerosis by in vivo quantitative 7 T imaging. *Brain*, *138*(4). <https://doi.org/10.1093/brain/awv011>
- Mann, R. S., Constantinescu, C. S., & Tench, C. R. (2007). Upper cervical spinal cord cross-sectional area in relapsing remitting multiple sclerosis: Application of a new technique for measuring cross-sectional area on magnetic resonance images. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, *26*(1), 61–65. <https://doi.org/10.1002/jmri.20959>
- Marques, J. P., Kober, T., Krueger, G., van der Zwaag, W., Van de Moortele, P.-F., & Gruetter, R. (2010). MP2RAGE, a self bias-field corrected sequence for improved segmentation and T1-mapping at high field. *NeuroImage*, *49*(2), 1271–1281. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.10.002>
- McDonald, W. I., Compston, A., Edan, G., Goodkin, D., Hartung, H. P., Lublin, F. D., McFarland, H. F., Paty, D. W., Polman, C. H., Reingold, S. C., Sandberg-Wollheim, M., Sibley, W., Thompson, A., Van Den Noort, S., Weinshenker, B. Y., & Wolinsky, J. S. (2001). Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: Guidelines from the International Panel on the Diagnosis of Multiple Sclerosis. *Annals of Neurology*, *50*(1). <https://doi.org/10.1002/ana.1032>
- Mechelli, A., Friston, K. J., Frackowiak, R. S., & Price, C. J. (2005). Structural covariance in the human cortex. *Journal of Neuroscience*, *25*(36). <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0357-05.2005>
- Miller, H., Newell, D. J., & Ridley, A. (1961). MULTIPLE SCLEROSIS TREATMENT OF ACUTE EXACERBATIONS WITH CORTICOTROPHIN (A.C.T.H.). *The Lancet*, *278*(7212). [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(61\)91030-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(61)91030-3)
- Minneboo, A., Barkhof, F., Polman, C. H., Uitdehaag, B. M. J., Knol, D. L., & Castelijns, J. A. (2004). Infratentorial Lesions Predict Long-term Disability in Patients with Initial Findings Suggestive of Multiple Sclerosis. *Archives of Neurology*, *61*(2), 217–221. <https://doi.org/10.1001/archneur.61.2.217>
- Moccia, M., Prados, F., Filippi, M., Rocca, M. A., Valsasina, P., Brownlee, W. J., Zecca, C., Gallo, A., Rovira, A., Gass, A., Palace, J., Lukas, C., Vrenken, H., Ourselin, S., Gandini Wheeler-Kingshott, C. A. M., Ciccarelli, O., & Barkhof, F. (2019). Longitudinal spinal cord atrophy in multiple sclerosis using the generalized boundary shift integral. *Annals of Neurology*, *86*(5). <https://doi.org/10.1002/ana.25571>
- Montalban, X., Sastre-Garriga, J., Tintoré, M., Brieva, L., Aymerich, F. X., Río, J., Porcel, J., Borràs, C., Nos, C., & Rovira, À. (2009). A single-center, randomized, doubleblind, placebo-controlled study of interferon beta- I b on primary progressive and transitional multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis*, *15*(10), 1195–1205.

<https://doi.org/10.1177/1352458509106937>

- Mottershead, J. P., Schmierer, K., Clemence, M., Thornton, J. S., Scaravilli, F., Barker, G. J., Tofts, P. S., Newcombe, J., Cuzner, M. L., Ordidge, R. J., McDonald, W. I., & Miller, D. H. (2003). High field MRI correlates of myelin content and axonal density in multiple sclerosis: A post-mortem study of the spinal cord. *Journal of Neurology*, *250*(11). <https://doi.org/10.1007/s00415-003-0192-3>
- Mussard, E., Hilbert, T., Forman, C., Meuli, R., Thiran, J. P., & Kober, T. (2020). Accelerated MP2RAGE imaging using Cartesian phyllotaxis readout and compressed sensing reconstruction. *Magnetic Resonance in Medicine*, *84*(4), 1881–1894. <https://doi.org/10.1002/mrm.28244>
- Nair, G., Absinta, M., & Reich, D. S. (2013). Optimized T1-MPRAGE sequence for better visualization of spinal cord multiple sclerosis lesions at 3T. *American Journal of Neuroradiology*, *34*(11), 2215–2222. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A3637>
- Narayanan, S., Fu, L., Pioro, E., De Stefano, N., Collins, D. L., Francis, G. S., Antel, J. P., Matthews, P. M., & Arnold, D. L. (1997). Imaging of axonal damage in multiple sclerosis: Spatial distribution of magnetic resonance imaging lesions. *Annals of Neurology*, *41*(3). <https://doi.org/10.1002/ana.410410314>
- Nielsen, N. M., Corn, G., Frisch, M., Stenager, E., Koch-Henriksen, N., Wohlfahrt, J., Magyari, M., & Melbye, M. (2019). Multiple sclerosis among first-and second-generation immigrants in Denmark: A population-based cohort study. *Brain*, *142*(6), 1587–1597. <https://doi.org/10.1093/brain/awz088>
- O’connor, P., Wolinsky, J. S., Confavreux, C., Comi, G., Kappos, L., Olsson, T. P., Benzerdjeb, H., Truffinet, P., Wang, L., Miller, A., & Freedman, M. S. (2011). Randomized Trial of Oral Teriflunomide for Relapsing Multiple Sclerosis. In *n engl j med* (Vol. 14).
- O’riordan, J. I., Lossev, N. A., Phatouros, C., Thompson, A. J., Moseley, I. F., Macmanus, D. G., McDonald, W. I., & Miller, D. H. (1998). Asymptomatic spinal cord lesions in clinically isolated optic nerve, brain stem, and spinal cord syndromes suggestive of demyelination. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, *64*, 353–357.
- Oh, J., Saidha, S., Chen, M., Smith, S. A., Prince, J., Jones, C., Diener-West, M., Van Zijl, P. C. M., Reich, D. S., & Calabresi, P. A. (2013). Spinal cord quantitative MRI discriminates between disability levels in multiple sclerosis. *Neurology*. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31828154c5>
- Oh, J., Saidha, S., Chen, M., Smith, S. A., Prince, J., Jones, C., Diener, M., Peter, -West, Van Zijl, C. M., Reich, D. S., & Calabresi, P. A. (n.d.). *Spinal cord quantitative MRI discriminates between disability levels in multiple sclerosis*. [www.neurology.org](http://www.neurology.org)
- Oh, J., Seigo, M., Saidha, S., Sotirchos, E., Zackowski, K., Chen, M., Prince, J., Diener-West, M., Calabresi, P. A., & Reich, D. S. (2014). Spinal Cord Normalization in Multiple Sclerosis. *Journal of Neuroimaging*, *24*(6), 577–584. <https://doi.org/10.1111/jon.12097>
- Oksenberg, J. R., Baranzini, S. E., Sawcer, S., & Hauser, S. L. (2008). The genetics of multiple sclerosis: SNPs to pathways to pathogenesis. In *Nature Reviews Genetics* (Vol. 9, Issue 7, pp. 516–526). <https://doi.org/10.1038/nrg2395>
- Ouellette, R., Treaba, C. A., Granberg, T., Herranz, E., Barletta, V., Mehndiratta, A., De

- Leener, B., Tauhid, S., Yousuf, F., Dupont, S. M., Klawiter, E. C., Sloane, J. A., Bakshi, R., Cohen-Adad, J., & Mainero, C. (2020). 7 T imaging reveals a gradient in spinal cord lesion distribution in multiple sclerosis. *Brain*, *143*(10), 2973–2987. <https://doi.org/10.1093/brain/awaa249>
- Papadopoulou, A., Menegola, M., Kuhle, J., Ramagopalan, S. V., D'Souza, M., Sprenger, T., Radue, E. W., Kappos, L., & Yaldizli, Ö. (2014). Lesion-to-ventricle distance and other risk factors for the persistence of newly formed black holes in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal*, *20*(3). <https://doi.org/10.1177/1352458513495583>
- Papinutto, N., Asteggiano, C., Bischof, A., Gundel, T. J., Caverzasi, E., Stern, W. A., Bastianello, S., Hauser, S. L., & Henry, R. G. (2020). Intersubject Variability and Normalization Strategies for Spinal Cord Total Cross-Sectional and Gray Matter Areas. *Journal of Neuroimaging*, *30*(1), 110–118. <https://doi.org/10.1111/jon.12666>
- Pardini, M., Brown, J. W. L., Magliozzi, R., Reynolds, R., & Chard, D. T. (2021). Surface-in pathology in multiple sclerosis: a new view on pathogenesis? *Brain: A Journal of Neurology*, *144*(6), 1646–1654. <https://doi.org/10.1093/brain/awab025>
- Pardini, M., Gualco, L., Bommarito, G., Roccatagliata, L., Schiavi, S., Solaro, C., Mancardi, G., Uccelli, A., Capello, E., & Inglese, M. (2019). CSF oligoclonal bands and normal appearing white matter periventricular damage in patients with clinically isolated syndrome suggestive of MS. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, *31*. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2019.03.027>
- Pardini, M., Petracca, M., Harel, A., Fleysler, L., Oesingmann, N., Bommarito, G., Fabian, M., Chard, D., Lublin, F., & Inglese, M. (2017). The relationship between cortical lesions and periventricular NAWM abnormalities suggests a shared mechanism of injury in primary-progressive MS. *NeuroImage: Clinical*, *16*. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2017.07.001>
- Patrikios, P., Stadelmann, C., Kutzelnigg, A., Rauschka, H., Schmidbauer, M., Laursen, H., Sorensen, P. S., Brück, W., Lucchinetti, C., & Lassmann, H. (2006). Remyelination is extensive in a subset of multiple sclerosis patients. *Brain*, *129*(12). <https://doi.org/10.1093/brain/aw1217>
- Pawlitzki, M., Neumann, J., Kaufmann, J., Heidel, J., Stadler, E., Sweeney-Reed, C., Sailer, M., & Schreiber, S. (2017). Loss of corticospinal tract integrity in early MS disease stages. *Neurology: Neuroimmunology and NeuroInflammation*, *4*(6). <https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000000399>
- Pearce, J. M. S. (2005). Historical descriptions of multiple sclerosis: The stories of Augustus d'Este and The Journal of a Disappointed Man. In *European Neurology* (Vol. 54, Issue 1, pp. 49–53). <https://doi.org/10.1159/000087387>
- Petrova, N., Carassiti, D., Altmann, D. R., Baker, D., & Schmierer, K. (2018). Axonal loss in the multiple sclerosis spinal cord revisited. *Brain Pathology*, *28*(3), 334–348. <https://doi.org/10.1111/bpa.12516>
- Petrova, N., Nutma, E., Carassiti, D., RS Newman, J., Amor, S., Altmann, D. R., Baker, D., & Schmierer, K. (2020). Synaptic Loss in Multiple Sclerosis Spinal Cord. *Annals of Neurology*, *88*(3), 619–625. <https://doi.org/10.1002/ana.25835>
- Phalke, V. V., Gujar, S., & Quint, D. J. (2006). Comparison of 3.0 T versus 1.5 T MR: Imaging of the Spine. In *Neuroimaging Clinics of North America* (Vol. 16, Issue 2,

- pp. 241–248). <https://doi.org/10.1016/j.nic.2006.02.005>
- Piredda, G. F., Hilbert, T., Granziera, C., Bonnier, G., Meuli, R., Molinari, F., Thiran, J., & Kober, T. (2020). Quantitative brain relaxation atlases for personalized detection and characterization of brain pathology. *Magnetic Resonance in Medicine*, *83*(1), 337–351. <https://doi.org/10.1002/mrm.27927>
- Pohl, D., Alper, G., Van Haren, K., Kornberg, A. J., Lucchinetti, C. F., Tenenbaum, S., & Belman, A. L. (2016). Acute disseminated encephalomyelitis: Updates on an inflammatory CNS syndrome. *Neurology*, *87*(9). <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002825>
- Poirion, E., Tonietto, M., Lejeune, F.-X., Ricigliano, V. A. G., Boudot de la Motte, M., Benoit, C., Bera, G., Kuhnast, B., Bottlaender, M., Bodini, B., & Stankoff, B. (2021). Structural and Clinical Correlates of a Periventricular Gradient of Neuroinflammation in Multiple Sclerosis. *Neurology*. <https://doi.org/10.1212/wnl.0000000000011700>
- Popescu, B. F. G., & Lucchinetti, C. F. (2012). Pathology of demyelinating diseases. In *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease* (Vol. 7, pp. 185–217). <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-011811-132443>
- Prados, F., Cardoso, M. J., Yiannakas, M. C., Hoy, L. R., Tebaldi, E., Kearney, H., Liechti, M. D., Miller, D. H., Ciccarelli, O., Wheeler-Kingshott, C. A. M. G., & Ourselin, S. (2016). Fully automated grey and white matter spinal cord segmentation. *Scientific Reports*, *6*. <https://doi.org/10.1038/srep36151>
- Pravatà, E., Valsasina, P., Gobbi, C., Zecca, C., Riccitelli, G. C., Filippi, M., & Rocca, M. A. (2020). Influence of CNS T2-focal lesions on cervical cord atrophy and disability in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal*, *26*(11). <https://doi.org/10.1177/1352458519865989>
- Qiu, W., Raven, S., James, I., Luo, Y., Wu, J., Castley, A., Christiansen, F. T., Carroll, W. M., Mastaglia, F. L., & Kermode, A. G. (2011). Spinal cord involvement in multiple sclerosis: A correlative MRI and high-resolution HLA-DRB1 genotyping study. *Journal of the Neurological Sciences*, *300*(1–2), 114–119. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2010.09.006>
- Cortese Rosa et al. (2017). Evidence for progressive neurodegeneration in the cervical cord of patients with early primary progressive MS during 3-year follow-up. *Multiple Sclerosis Journal*, *23*(3).
- Rashid, W., Davies, G. R., Chard, D. T., Griffin, C. M., Altmann, D. R., Gordon, R., Kapoor, R., Thompson, A. J., & Miller, D. H. (2006). Upper cervical cord area in early relapsing-remitting multiple sclerosis: Cross-sectional study of factors influencing cord size. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. <https://doi.org/10.1002/jmri.20545>
- Ravano, V., Anelova, M., Mahdi, M. F. A.-W., Meuli, R., Uher, T., Krasensky, J., Vaneckova, M., Horakova, D., Kober, T., & Richiardi, J. (2019). Atlas-based tract damage mapping improves 4-year forecast of EDSS in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal*, *25*.
- Reali, C., Magliozzi, R., Roncaroli, F., Nicholas, R., Howell, O. W., & Reynolds, R. (2020). B cell rich meningeal inflammation associates with increased spinal cord pathology in multiple sclerosis. *Brain Pathology*, *30*(4), 779–793.

<https://doi.org/10.1111/bpa.12841>

- Reich, D. S., Smith, S. A., Zackowski, K. M., Gordon-Lipkin, E. M., Jones, C. K., Farrell, J. A. D., Mori, S., van Zijl, P. C. M., & Calabresi, P. A. (2007). Multiparametric magnetic resonance imaging analysis of the corticospinal tract in multiple sclerosis. *NeuroImage*, *38*(2). <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2007.07.049>
- Rice, C. M., Cottrell, D., Wilkins, A., & Scolding, N. J. (n.d.). *Primary progressive multiple sclerosis: progress and challenges*. <https://doi.org/10.1136/jnnp>
- Rivers, T. M., & Schwentke, F. F. (1935). Encephalomyelitis accompanied by myelin destruction experimentally produced in monkeys. *Journal of Experimental Medicine*, *61*(5). <https://doi.org/10.1084/jem.61.5.689>
- Rocca, M A, Horsfield, M. A., Sala, S., Copetti, M., Valsasina, P., Mesaros, M. S., Martinelli, V., Caputo, D., Stosic-Opincal, T., Drulovic, J., Comi, G., & Filippi, M. (n.d.). *A multicenter assessment of cervical cord atrophy among MS clinical phenotypes*.
- Rocca, Maria A., Amato, M. P., De Stefano, N., Enzinger, C., Geurts, J. J., Penner, I. K., Rovira, A., Sumowski, J. F., Valsasina, P., & Filippi, M. (2015). Clinical and imaging assessment of cognitive dysfunction in multiple sclerosis. In *The Lancet Neurology* (Vol. 14, Issue 3). [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70250-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70250-9)
- Rocca, Maria A., Preziosa, P., & Filippi, M. (2020). What role should spinal cord MRI take in the future of multiple sclerosis surveillance? In *Expert Review of Neurotherapeutics* (Vol. 20, Issue 8, pp. 783–797). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/14737175.2020.1739524>
- Rocca, Maria A., Valsasina, P., Damjanovic, D., Horsfield, M. A., Mesaros, S., Stosic-Opincal, T., Drulovic, J., & Filippi, M. (2013). Voxel-wise mapping of cervical cord damage in multiple sclerosis patients with different clinical phenotypes. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2012-303821>
- Rocca, Maria A., Valsasina, P., Meani, A., Falini, A., Comi, G., & Filippi, M. (2016). Impaired functional integration in multiple sclerosis: a graph theory study. *Brain Structure and Function*, *221*(1). <https://doi.org/10.1007/s00429-014-0896-4>
- Rocca, Maria A., Valsasina, P., Meani, A., Gobbi, C., Zecca, C., Rovira, À., Montalban, X., Kearney, H., Ciccarelli, O., Matthews, L., Palace, J., Gallo, A., Biseco, A., Gass, A., Eisele, P., Lukas, C., Bellenberg, B., Barkhof, F., Vrenken, H., ... Filippi, M. (2019). Clinically relevant cranio-caudal patterns of cervical cord atrophy evolution in MS. *Neurology*, *93*(20), E1852–E1866. <https://doi.org/10.1212/WNL.00000000000008466>
- Rojkova, K., Volle, E., Urbanski, M., Humbert, F., Dell'Acqua, F., & Thiebaut de Schotten, M. (2016). Atlasing the frontal lobe connections and their variability due to age and education: a spherical deconvolution tractography study. *Brain Structure and Function*, *221*(3). <https://doi.org/10.1007/s00429-015-1001-3>
- Roosendaal, S. D., Schoonheim, M. M., Hulst, H. E., Sanz-Arigita, E. J., Smith, S. M., Geurts, J. J. G., & Barkhof, F. (2010). Resting state networks change in clinically isolated syndrome. *Brain*, *133*(6). <https://doi.org/10.1093/brain/awq058>
- Rovaris, M., Judica, E., Ceccarelli, A., Ghezzi, A., Martinelli, V., Comi, G., & Filippi, M.

- (2008). Absence of diffuse cervical cord tissue damage in early, non-disabling relapsing-remitting MS: A preliminary study. *Multiple Sclerosis*, *14*(6), 853–856. <https://doi.org/10.1177/1352458507088103>
- Rovira, A., & De Stefano, N. (2016). MRI monitoring of spinal cord changes in patients with multiple sclerosis. In *Current Opinion in Neurology* (Vol. 29, Issue 4, pp. 445–452). Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000343>
- Samson, R. S., Cardoso, M. J., Muhlert, N., Sethi, V., Wheeler-Kingshott, C. A. M., Ron, M., Ourselin, S., Miller, D. H., & Chard, D. T. (2014). Investigation of outer cortical magnetisation transfer ratio abnormalities in multiple sclerosis clinical subgroups. *Multiple Sclerosis*, *20*(10). <https://doi.org/10.1177/1352458514522537>
- Sanfilippo, M. P., Benedict, R. H. B., Zivadinov, R., & Bakshi, R. (2004). Correction for intracranial volume in analysis of whole brain atrophy in multiple sclerosis: The proportion vs. residual method. *NeuroImage*, *22*(4). <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2004.03.037>
- Santos, A. C., Narayanan, S., De Stefano, N., Tartaglia, M. C., Francis, S. J., Arnaoutelis, R., Caramanos, Z., Antel, J. P., Pike, G. B., & Arnold, D. L. (2002). Magnetization transfer can predict clinical evolution in patients with multiple sclerosis. *Journal of Neurology*, *249*(6), 662–668. <https://doi.org/10.1007/s00415-002-0686-4>
- Sastre-Garriga, J., Pareto, D., Battaglini, M., Rocca, M. A., Ciccarelli, O., Enzinger, C., Wuerfel, J., Sormani, M. P., Barkhof, F., Yousry, T. A., De Stefano, N., Tintoré, M., Filippi, M., Gasperini, C., Kappos, L., Río, J., Frederiksen, J., Palace, J., Vrenken, H., ... Rovira, À. (2020). MAGNIMS consensus recommendations on the use of brain and spinal cord atrophy measures in clinical practice. In *Nature Reviews Neurology* (Vol. 16, Issue 3). <https://doi.org/10.1038/s41582-020-0314-x>
- Sawcer, S., Franklin, R. J. M., & Ban, M. (2014). Multiple sclerosis genetics. In *The Lancet Neurology* (Vol. 13, Issue 7, pp. 700–709). Lancet Publishing Group. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70041-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70041-9)
- Schee, J. P., & Viswanathan, S. (2019). Pure spinal multiple sclerosis: A possible novel entity within the multiple sclerosis disease spectrum. *Multiple Sclerosis Journal*, *25*(8). <https://doi.org/10.1177/1352458518775912>
- Schlaeger, R., Papinutto, N., Panara, V., Bevan, C., Lobach, I. V., Bucci, M., Caverzasi, E., Gelfand, J. M., Green, A. J., Jordan, K. M., Stern, W. A., Von Büdingen, H. C., Waubant, E., Zhu, A. H., Goodin, D. S., Cree, B. A. C., Hauser, S. L., & Henry, R. G. (2014). Spinal cord gray matter atrophy correlates with multiple sclerosis disability. *Annals of Neurology*, *76*(4), 568–580. <https://doi.org/10.1002/ana.24241>
- Schlaeger, R., Papinutto, N., Zhu, A. H., Lobach, I. V., Bevan, C. J., Bucci, M., Castellano, A., Gelfand, J. M., Graves, J. S., Green, A. J., Jordan, K. M., Keshavan, A., Panara, V., Stern, W. A., Von Büdingen, H. C., Waubant, E., Goodin, D. S., Cree, B. A. C., Hauser, S. L., & Henry, R. G. (2015). Association between thoracic spinal cord gray matter atrophy and disability in multiple sclerosis. *JAMA Neurology*, *72*(8). <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2015.0993>
- Schmierer, K., McDowell, A., Petrova, N., Carassiti, D., Thomas, D. L., & Miquel, M. E. (2018). Quantifying multiple sclerosis pathology in post mortem spinal cord using

- MRI. In *NeuroImage* (Vol. 182, pp. 251–258). Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2018.01.052>
- Schmierer, Klaus, & Miquel, M. E. (2018). Magnetic resonance imaging correlates of neuro-axonal pathology in the MS spinal cord. *Brain Pathology*, 28(5), 765–772. <https://doi.org/10.1111/bpa.12648>
- Schmierer, Klaus, Scaravilli, F., Altmann, D. R., Barker, G. J., & Miller, D. H. (2004). Magnetization transfer ratio and myelin in postmortem multiple sclerosis brain. *Annals of Neurology*, 56(3). <https://doi.org/10.1002/ana.20202>
- Schmitter, D., Roche, A., Maréchal, B., Ribes, D., Abdulkadir, A., Bach-Cuadra, M., Daducci, A., Granziera, C., Klöppel, S., Maeder, P., Meuli, R., & Krueger, G. (2015). An evaluation of volume-based morphometry for prediction of mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *NeuroImage: Clinical*. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2014.11.001>
- Schoonheim, M. M., Meijer, K. A., & Geurts, J. J. G. (2015). Network collapse and cognitive impairment in multiple sclerosis. *Frontiers in Neurology*, 6(MAR). <https://doi.org/10.3389/fneur.2015.00082>
- Sechi, E., Morris, P. P., Mckeon, A., Pittock, S. J., Hinson, S. R., Weinshenker, B. G., Aksamit, A. J., Krecke, K. N., Kaufmann, T. J., Jolliffe, E. A., Zalewski, N. L., Zekeridou, A., Wingerchuk, D. M., Jitprapaikulsan, J., & Flanagan, E. P. (2019). Glial fibrillary acidic protein IgG related myelitis: Characterisation and comparison with aquaporin-4-IgG myelitis. In *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* (Vol. 90, Issue 4, pp. 488–490). BMJ Publishing Group. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2018-318004>
- Seewann, A., Vrenken, H., Kooi, E. J., Van Der Valk, P., Knol, D. L., Polman, C. H., Pouwels, P. J., Barkhof, F., & Geurts, J. J. (2011). Imaging the tip of the iceberg: Visualization of cortical lesions in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal*, 17(10). <https://doi.org/10.1177/1352458511406575>
- Sellebjerg, F., Barnes, D., Filippini, G., Midgard, R., Montalban, X., Rieckmann, P., Selmaj, K., Visser, L. H., & Sørensen, P. S. (n.d.). *EFNS TASK FORCE EFNS guideline on treatment of multiple sclerosis relapses: report of an EFNS task force on treatment of multiple sclerosis relapses*.
- Shu, N., Liu, Y., Li, K., Duan, Y., Wang, J., Yu, C., Dong, H., Ye, J., & He, Y. (2011). Diffusion tensor tractography reveals disrupted topological efficiency in white matter structural networks in multiple sclerosis. In *Cerebral Cortex* (Vol. 21, Issue 11). <https://doi.org/10.1093/cercor/bhr039>
- Silveira, F., Sánchez, F., Miguez, J., Contartese, L., Gómez, A., Patrucco, L., Cristiano, E., & Rojas, J. I. (2020). New MRI lesions and topography at 6 months of treatment initiation and disease activity during follow up in relapsing remitting multiple sclerosis patients. *Neurological Research*, 42(2), 148–152. <https://doi.org/10.1080/01616412.2019.1710415>
- Singh, S., Dallenga, T., Winkler, A., Roemer, S., Maruschak, B., Siebert, H., Brück, W., & Stadelmann, C. (2017). Relationship of acute axonal damage, Wallerian degeneration, and clinical disability in multiple sclerosis. *Journal of Neuroinflammation*, 14(1).

<https://doi.org/10.1186/s12974-017-0831-8>

- Singhal, T., Tauhid, S., Hurwitz, S., Neema, M., & Bakshi, R. (2017). The Effect of Glatiramer Acetate on Spinal Cord Volume in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis. *Journal of Neuroimaging*, 27(1). <https://doi.org/10.1111/jon.12378>
- Sintzel, M. B., Rametta, M., & Reder, A. T. (2018). Vitamin D and Multiple Sclerosis: A Comprehensive Review. In *Neurology and Therapy* (Vol. 7, Issue 1, pp. 59–85). Springer Healthcare. <https://doi.org/10.1007/s40120-017-0086-4>
- Smith, S. M., Jenkinson, M., Woolrich, M. W., Beckmann, C. F., Behrens, T. E. J., Johansen-Berg, H., Bannister, P. R., De Luca, M., Drobnjak, I., Flitney, D. E., Niazy, R. K., Saunders, J., Vickers, J., Zhang, Y., De Stefano, N., Brady, J. M., & Matthews, P. M. (2004). Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. *NeuroImage*, 23(SUPPL. 1). <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2004.07.051>
- Smith, S. M., Zhang, Y., Jenkinson, M., Chen, J., Matthews, P. M., Federico, A., & De Stefano, N. (2002). Accurate, robust, and automated longitudinal and cross-sectional brain change analysis. *NeuroImage*, 17(1), 479–489. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12482100>
- Solana, E., Martinez-Heras, E., Casas-Roma, J., Calvet, L., Lopez-Soley, E., Sepulveda, M., Sola-Valls, N., Montejo, C., Blanco, Y., Pulido-Valdeolivas, I., Andorra, M., Saiz, A., Prados, F., & Llufrui, S. (2019). Modified connectivity of vulnerable brain nodes in multiple sclerosis, their impact on cognition and their discriminative value. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56806-z>
- Sombekke, M. H., Lukas, C., Bart, J., Crusius, A., Tejedor, D., Killestein, J., Arteta, D., Martínez, A., Bernard, M. J., Uitdehaag, M. J., Knol, D. L., Peñ, A., Salvador, Jeroen, Geurts, J. G., De Jager, P. L., Barkhof, F., Vrenken, H., & Polman, C. H. (n.d.). *HLA-DRB1\*1501 and Spinal Cord Magnetic Resonance Imaging Lesions in Multiple Sclerosis*. <http://snpper.chip.org/bio>
- Song, F., Huan, Y., Yin, H., Ge, Y., Wei, G., Chang, Y., & Zhao, H. (2008). Normalized upper cervical spinal cord atrophy in multiple sclerosis. *Journal of Neuroimaging*, 18(3). <https://doi.org/10.1111/j.1552-6569.2007.00222.x>
- Sormani, M. P., Arnold, D. L., & De Stefano, N. (2014). Treatment effect on brain atrophy correlates with treatment effect on disability in multiple sclerosis. *Annals of Neurology*, 75(1), 43–49. <https://doi.org/10.1002/ana.24018>
- Sporns, O., Tononi, G., & Kötter, R. (2005). The human connectome: A structural description of the human brain. In *PLoS Computational Biology* (Vol. 1, Issue 4). <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.0010042>
- Stankiewicz, J. M., Neema, M., Alsop, D. C., Healy, B. C., Arora, A., Buckle, G. J., Chitnis, T., Guttmann, C. R. G., Hackney, D., & Bakshi, R. (2009). Spinal cord lesions and clinical status in multiple sclerosis: A 1.5 T and 3 T MRI study. *Journal of the Neurological Sciences*. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2008.11.009>
- Sumowski, J. F., Rocca, M. A., Leavitt, V. M., Meani, A., Mesaros, S., Drulovic, J., Preziosa, P., Habeck, C. G., & Filippi, M. (2016). Brain reserve against physical disability progression over 5 years in multiple sclerosis. *Neurology*. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002702>



- Tallantyre, E. C., Bø, L., Al-Rawashdeh, O., Owens, T., Polman, C. H., Lowe, J., & Evangelou, N. (2009). Greater loss of axons in primary progressive multiple sclerosis plaques compared to secondary progressive disease. *Brain*, *132*(5), 1190–1199. <https://doi.org/10.1093/brain/awp106>
- Tallantyre, Emma C., Morgan, P. S., Dixon, J. E., Al-Radaideh, A., Brookes, M. J., Evangelou, N., & Morris, P. G. (2009). A comparison of 3T and 7T in the detection of small parenchymal veins within MS lesions. *Investigative Radiology*, *44*(9). <https://doi.org/10.1097/rli.0b013e3181b4c144>
- Thaler, C., Faizy, T., Sedlacik, J., Holst, B., Stellmann, J. P., Young, K. L., Heesen, C., Fiehler, J., & Siemonsen, S. (2015). T1-Thresholds in black holes increase clinical-radiological correlation in multiple sclerosis patients. *PLoS ONE*, *10*(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144693>
- The Multiple Sclerosis International Federation. (2020). Atlas of MS, 3rd edition (September 2020). *The Multiple Sclerosis International Federation (MSIF), September 2020, September*.
- Thiebaut De Schotten, M., Tomaiuolo, F., Aiello, M., Merola, S., Silvetti, M., Lecce, F., Bartolomeo, P., & Doricchi, F. (2014). Damage to white matter pathways in subacute and chronic spatial neglect: A group study and 2 single-case studies with complete virtual “in vivo” tractography dissection. *Cerebral Cortex*, *24*(3). <https://doi.org/10.1093/cercor/bhs351>
- Thompson, A. J., Banwell, B. L., Barkhof, F., Carroll, W. M., Coetzee, T., Comi, G., Correale, J., Fazekas, F., Filippi, M., Freedman, M. S., Fujihara, K., Galetta, S. L., Hartung, H. P., Kappos, L., Lublin, F. D., Marrie, R. A., Miller, A. E., Miller, D. H., Montalban, X., ... Cohen, J. A. (2018). Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. In *The Lancet Neurology* (Vol. 17, Issue 2, pp. 162–173). Lancet Publishing Group. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30470-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30470-2)
- Tievsky, A. L., Ptak, T., & Farkas, J. (1999). Investigation of apparent diffusion coefficient and diffusion tensor anisotropy in acute and chronic multiple sclerosis lesions. *American Journal of Neuroradiology*, *20*(8).
- Tintore, M., Rovira, A., Arrambide, G., Mitjana, R., Ríó, J., Auger, C., Nos, C., Edo, M. C., Castelló, J., Horga, A., Perez-Miralles, F., Huerga, E., Comabella, R. M., Sastre-Garriga, J., & Montalban, X. (2010). *Brainstem lesions in clinically isolated syndromes*. [www.neurology.org](http://www.neurology.org)
- Tintore, Mar, Rovira, À., Ríó, J., Otero-Romero, S., Arrambide, G., Tur, C., Comabella, M., Nos, C., Arévalo, M. J., Negrotto, L., Galán, I., Vidal-Jordana, A., Castelló, J., Palavra, F., Simon, E., Mitjana, R., Auger, C., Sastre-Garriga, J., & Montalban, X. (2015). Defining high, medium and low impact prognostic factors for developing multiple sclerosis. *Brain*. <https://doi.org/10.1093/brain/awv105>
- Toosy, A. T., Kou, N., Altmann, D., Wheeler-Kingshott, C. A. M., Thompson, A. J., & Ciccarelli, O. (2014). Voxel-based cervical spinal cord mapping of diffusion abnormalities in MS-related myelitis. *Neurology*, *83*(15). <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000000857>
- Tournier, J. D., Mori, S., & Leemans, A. (2011). Diffusion tensor imaging and beyond. In *Magnetic Resonance in Medicine* (Vol. 65, Issue 6).

<https://doi.org/10.1002/mrm.22924>

- Traboulsee, A., Simon, J. H., Stone, L., Fisher, E., Jones, D. E., Malhotra, A., Newsome, S. D., Oh, J., Reich, D. S., Richert, N., Rammohan, K., Khan, O., Radue, E. W., Ford, C., Halper, J., & Li, D. (2016). Revised recommendations of the consortium of MS centers task force for a standardized MRI protocol and clinical guidelines for the diagnosis and follow-up of multiple sclerosis. In *American Journal of Neuroradiology* (Vol. 37, Issue 3, pp. 394–401). American Society of Neuroradiology. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A4539>
- Trapp, B. D., Peterson, J., Ransohoff, R. M., Rudick, R., Mörk, S., & Bö, L. (1998). Axonal Transection in the Lesions of Multiple Sclerosis. *New England Journal of Medicine*, 338(5). <https://doi.org/10.1056/nejm199801293380502>
- Trapp, B. D., Ransohoff, R., & Rudick, R. (1999). Axonal pathology in multiple sclerosis: Relationship to neurologic disability. In *Current Opinion in Neurology* (Vol. 12, Issue 3). <https://doi.org/10.1097/00019052-199906000-00008>
- Trapp, B. D., Vignos, M., Dudman, J., Chang, A., Fisher, E., Staugaitis, S. M., Battapady, H., Mork, S., Ontaneda, D., Jones, S. E., Fox, R. J., Chen, J., Nakamura, K., & Rudick, R. A. (2018). Cortical neuronal densities and cerebral white matter demyelination in multiple sclerosis: a retrospective study. *The Lancet Neurology*, 17(10). [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30245-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30245-X)
- Trojano, M., Lucchese, G., Graziano, G., Taylor, B. V., Simpson, S., Lepore, V., Grand'Maison, F., Duquette, P., Izquierdo, G., Grammond, P., Amato, M. P., Bergamaschi, R., Giuliani, G., Boz, C., Hupperts, R., Van Pesch, V., Lechner-Scott, J., Cristiano, E., Fiol, M., ... Sabel, C. (2012). Geographical Variations in Sex Ratio Trends over Time in Multiple Sclerosis. *PLoS ONE*, 7(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048078>
- Tsagkas, C., Magon, S., Gaetano, L., Pezold, S., Naegelin, Y., Amann, M., Stippich, C., Cattin, P., Wuerfel, J., Bieri, O., Sprenger, T., Kappos, L., & Parmar, K. (2018a). Spinal cord volume loss. *Neurology*. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000005853>
- Tsagkas, C., Magon, S., Gaetano, L., Pezold, S., Naegelin, Y., Amann, M., Stippich, C., Cattin, P., Wuerfel, J., Bieri, O., Sprenger, T., Kappos, L., & Parmar, K. (2018b). Spinal cord volume loss: A marker of disease progression in multiple sclerosis. *Neurology*, 91(4), e349–e358. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000005853>
- Tsagkas, C., Parmar, K., Pezold, S., Barro, C., Chakravarty, M. M., Gaetano, L., Naegelin, Y., Amann, M., Papadopoulou, A., Wuerfel, J., Kappos, L., Kuhle, J., Sprenger, T., Granziera, C., & Magon, S. (2021). Classification of multiple sclerosis based on patterns of CNS regional atrophy covariance. *Human Brain Mapping*. <https://doi.org/10.1002/hbm.25375>
- Tur, C., Moccia, M., Barkhof, F., Chataway, J., Sastre-Garriga, J., Thompson, A. J., & Ciccarelli, O. (2018). Assessing treatment outcomes in multiple sclerosis trials and in the clinical setting. *Nature Reviews Neurology*, 14(2), 75–93. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2017.171>
- Uher, T., Vaneckova, M., Sormani, M. P., Krasensky, J., Sobisek, L., Dusankova, J. B., Seidl, Z., Havrdova, E., Kalincik, T., Benedict, R. H. B., & Horakova, D. (2017). Identification of multiple sclerosis patients at highest risk of cognitive impairment

- using an integrated brain magnetic resonance imaging assessment approach. *European Journal of Neurology*, 24(2), 292–301. <https://doi.org/10.1111/ene.13200>
- Uher, Tomas, Bergsland, N., Krasensky, J., Dwyer, M. G., Andelova, M., Sobisek, L., Havrdova, E. K., Horakova, D., Zivadinov, R., & Vaneckova, M. (2021). Interpretation of Brain Volume Increase in Multiple Sclerosis. *Journal of Neuroimaging*, 31(2). <https://doi.org/10.1111/jon.12816>
- Uher, Tomas, Vaneckova, M., Krasensky, J., Sobisek, L., Tyblova, M., Volna, J., Seidl, Z., Bergsland, N., Dwyer, M. G., Zivadinov, R., De Stefano, N., Sormani, M. P., Havrdova, E. K., & Horakova, D. (2019). Pathological cut-offs of global and regional brain volume loss in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal*, 25(4). <https://doi.org/10.1177/1352458517742739>
- Uygunoglu, U., Zeydan, B., Ozguler, Y., Ugurlu, S., Seyahi, E., Kocer, N., Islak, C., Kantarci, K., Saip, S., Siva, A., & Kantarci, O. H. (2017). Myelopathy in Behçet's disease: The Bagel Sign. *Annals of Neurology*, 82(2), 288–298. <https://doi.org/10.1002/ana.25004>
- Valsasina, P., Horsfield, M. A., Rocca, M. A., Absinta, M., Comi, G., & Filippi, M. (2012). Spatial normalization and regional assessment of cord atrophy: Voxel-based analysis of cervical cord 3D T1-weighted images. *American Journal of Neuroradiology*, 33(11). <https://doi.org/10.3174/ajnr.A3139>
- Valsasina, Paola, Aboulwafa, M., Preziosa, P., Messina, R., Falini, A., Comi, G., Filippi, M., & Rocca, M. A. (2018). Cervical cord T1-weighted hypointense lesions at MR imaging in multiple sclerosis: Relationship to cord atrophy and disability. *Radiology*, 288(1), 234–244. <https://doi.org/10.1148/radiol.2018172311>
- Van Essen, D. C., Ugurbil, K., Auerbach, E., Barch, D., Behrens, T. E. J., Bucholz, R., Chang, A., Chen, L., Corbetta, M., Curtiss, S. W., Della Penna, S., Feinberg, D., Glasser, M. F., Harel, N., Heath, A. C., Larson-Prior, L., Marcus, D., Michalareas, G., Moeller, S., ... Yacoub, E. (2012). The Human Connectome Project: A data acquisition perspective. In *NeuroImage* (Vol. 62, Issue 4). <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2012.02.018>
- van Munster, C. E. P., & Uitdehaag, B. M. J. (2017). Outcome Measures in Clinical Trials for Multiple Sclerosis. In *CNS Drugs* (Vol. 31, Issue 3). <https://doi.org/10.1007/s40263-017-0412-5>
- Varga, A. W., Johnson, G., Babb, J. S., Herbert, J., Grossman, R. I., & Inglese, M. (2009). White matter hemodynamic abnormalities precede sub-cortical gray matter changes in multiple sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences*, 282(1–2). <https://doi.org/10.1016/j.jns.2008.12.036>
- Von Meyenburg, J., Wilm, B. J., Weck, A., Petersen, J., Gallus, E., Mathys, J., Schaetzle, E., Schubert, M., Boesiger, P., Von Meyenburg, K., Goebels, N., & Kollias, S. (2013). Spinal cord diffusion-tensor imaging and motor-evoked potentials in multiple sclerosis patients: Microstructural and functional asymmetry. *Radiology*, 267(3), 869–879. <https://doi.org/10.1148/radiol.13112776>
- Wallin, M. T., Culpepper, W. J., Coffman, P., Pulaski, S., Maloni, H., Mahan, C. M., Haselkorn, J. K., & Kurtzke, J. F. (2012). The Gulf War era multiple sclerosis cohort: Age and incidence rates by race, sex and service. *Brain*, 135(6), 1778–1785. <https://doi.org/10.1093/brain/aws099>

- Wang, J., Wang, J., Sun, J., & Gong, X. (2010). Evaluation of the anatomy and variants of internal cerebral veins with phase-sensitive MR imaging. *Surgical and Radiologic Anatomy : SRA*, 32(7). <https://doi.org/10.1007/s00276-010-0669-6>
- Wattjes, M. P., Rovira, À., Miller, D., Yousry, T. A., Sormani, M. P., De Stefano, N., Tintoré, M., Auger, C., Tur, C., Filippi, M., Rocca, M. A., Fazekas, F., Kappos, L., Polman, C., Barkhof, F., & Montalban, X. (2015). Evidence-based guidelines: MAGNIMS consensus guidelines on the use of MRI in multiple sclerosis - Establishing disease prognosis and monitoring patients. *Nature Reviews Neurology*, 11(10), 597–606. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2015.157>
- Waubant, E., Lucas, R., Mowry, E., Graves, J., Olsson, T., Alfredsson, L., & Langer-Gould, A. (2019). Environmental and genetic risk factors for MS: an integrated review. In *Annals of Clinical and Translational Neurology* (Vol. 6, Issue 9, pp. 1905–1922). Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/acn3.50862>
- Wedeen, V. J., Wang, R. P., Schmahmann, J. D., Benner, T., Tseng, W. Y. I., Dai, G., Pandya, D. N., Hagmann, P., D’Arceuil, H., & de Crespigny, A. J. (2008). Diffusion spectrum magnetic resonance imaging (DSI) tractography of crossing fibers. *NeuroImage*, 41(4). <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2008.03.036>
- Weier, K., Eshaghi, A., Magon, S., Andelova, M., Radue, E.-W., Kappos, L., Azimi, A. R., Sahraian, M. A., & Sprenger, T. (2015). The role of cerebellar abnormalities in neuromyelitis optica - A comparison with multiple sclerosis and healthy controls. *Multiple Sclerosis*, 21(6). <https://doi.org/10.1177/1352458514554051>
- Weier, Katrin, Mazraeh, J., Naegelin, Y., Thoeni, A., Hirsch, J. G., Fabbro, T., Bruni, N., Duyar, H., Bendfeldt, K., Radue, E. W., Kappos, L., & Gass, A. (2012). Biplanar MRI for the assessment of the spinal cord in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal*, 18(11), 1560–1569. <https://doi.org/10.1177/1352458512442754>
- Weisfeld-Adams, J. D., Sand, I. B. K., Honce, J. M., & Lublin, F. D. (2015). Differential diagnosis of Mendelian and mitochondrial disorders in patients with suspected multiple sclerosis. In *Brain* (Vol. 138, Issue 3). <https://doi.org/10.1093/brain/awu397>
- Wildner, P., Stasiólek, M., & Matysiak, M. (2020). Differential diagnosis of multiple sclerosis and other inflammatory CNS diseases. In *Multiple Sclerosis and Related Disorders* (Vol. 37). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2019.101452>
- Yeh, F. C., Panesar, S., Fernandes, D., Meola, A., Yoshino, M., Fernandez-Miranda, J. C., Vettel, J. M., & Verstynen, T. (2018). Population-averaged atlas of the macroscale human structural connectome and its network topology. *NeuroImage*, 178. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2018.05.027>
- Yonezu, T., Ito, S., Mori, M., Ogawa, Y., Makino, T., Uzawa, A., & Kuwabara, S. (2014). "Bright spotty lesions" on spinal magnetic resonance imaging differentiate neuromyelitis optica from multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal*, 20(3), 331–337. <https://doi.org/10.1177/1352458513495581>
- Zalesky, A., Fornito, A., Harding, I. H., Cocchi, L., Yücel, M., Pantelis, C., & Bullmore, E. T. (2010). Whole-brain anatomical networks: Does the choice of nodes matter? *NeuroImage*, 50(3). <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.12.027>
- Zaykin, D. V. (2011). Optimally weighted Z-test is a powerful method for combining probabilities in meta-analysis. *Journal of Evolutionary Biology*, 24(8).

<https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2011.02297.x>

- Zecca, C., Disanto, G., Sormani, M. P., Riccitelli, G. C., Cianfoni, A., Del Grande, F., Pravata, E., & Gobbi, C. (2016). Relevance of asymptomatic spinal MRI lesions in patients with multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis*, 22(6), 782–791. <https://doi.org/10.1177/1352458515599246>
- Zhang, T., Tremlett, H., Zhu, F., Kingwell, E., Fisk, J. D., Bhan, V., Campbell, T., Stadnyk, K., Carruthers, R., Wolfson, C., Warren, S., & Marrie, R. A. (2018). Effects of physical comorbidities on disability progression in multiple sclerosis. *Neurology*, 90(5). <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004885>
- Zivadinov, R., Banas, A. C., Yella, V., Abdelrahman, N., Weinstock-Guttman, B., & Dwyer, M. G. (n.d.). *Comparison of Three Different Methods for Measurement of Cervical Cord Atrophy in Multiple Sclerosis*. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A0813>
- Zivadinov, Robert, Ramasamy, D. P., Vaneckova, M., Gandhi, S., Chandra, A., Hagemeyer, J., Bergsland, N., Polak, P., Benedict, R. H. B., Hojnacki, D., & Weinstock-Guttman, B. (2017). Leptomeningeal contrast enhancement is associated with progression of cortical atrophy in MS: A retrospective, pilot, observational longitudinal study. *Multiple Sclerosis*, 23(10). <https://doi.org/10.1177/1352458516678083>
- Zurawski, J., Tauhid, S., Chu, R., Khalid, F., Healy, B. C., Weiner, H. L., & Bakshi, R. (2020). 7T MRI cerebral leptomeningeal enhancement is common in relapsing-remitting multiple sclerosis and is associated with cortical and thalamic lesions. *Multiple Sclerosis Journal*, 26(2). <https://doi.org/10.1177/1352458519885106>

## 9 Seznam publikací

### 9.1 Příložené publikace, které jsou podkladem disertační práce:

Andelova M, Uher T, Krasensky J, Sobisek L, Kusova E, Srpova B, Vodehnalova K, Friedova L, Motyl J, Preiningerova JL, Kubala Havrdova E, Horakova D, Vaneckova M. **Additive Effect of Spinal Cord Volume, Diffuse and Focal Cord Pathology on Disability in Multiple Sclerosis.** *Front Neurol.* 2019 Aug 6;10:820. doi: 10.3389/fneur.2019.00820. eCollection 2019. IF 2.889

Ravano V, Andelova M, Fartaria MJ, A-Wali Mahdi MF, Maréchal B, Meuli R, Uher T, Krasensky J, Vaneckova M, Horakova D, Kober T, Richiardi J.: **Validating atlas-based lesion disconnectomics in multiple sclerosis: a retrospective multi-centric study;** *Neuroimage Clinical;* 2021 Sep 2;32:102817. doi: 10.1016/j.nicl.2021.102817. IF 4.881

### 9.2 Publikace *in extenso*, které nejsou podkladem disertace, ale vztahují se k tématu disertační práce

#### 9.2.1 Volumetrie mozku a míchy

Srpova B, Uher T, Hrciarova T, Barro C, Andelova M, Michalak Z, Vaneckova M, Krasensky J, Noskova L, Havrdova EK, Kuhle J, Horakova D. **Serum neurofilament light chain reflects inflammation-driven neurodegeneration and predicts delayed brain volume loss in early stage of multiple sclerosis.** *Mult Scler.* 2021 Jan;27(1):52-60. doi: 10.1177/1352458519901272. Epub 2020 Jan 21. IF 5.412

Uher T, Bergsland N, Krasensky J, Dwyer MG, Andelova M, Sobisek L, Havrdova EK, Horakova D, Zivadinov R, Vaneckova M. **Interpretation of Brain Volume Increase in Multiple Sclerosis.** *J Neuroimaging.* 2021 Mar;31(2):401-407. doi: 10.1111/jon.12816. Epub 2020 Dec 13. IF 2.486

Amann M, Pezold S, Naegelin Y, Fundana K, Andělová M, Weier K, Stippich C, Kappos L, Radue EW, Cattin P, Sprenger T. **Reliable volumetry of the cervical spinal cord in MS patient follow-up data with cord image analyzer (Cordial).** *J Neurol.* 2016 Jul;263(7):1364-74. doi: 10.1007/s00415-016-8133-0. Epub 2016 May 9. IF 3.525

Magon S, Chakravarty MM, Amann M, Weier K, Naegelin Y, Andelova M, Radue EW, Stippich C, Lerch JP, Kappos L, Sprenger T. **Label-fusion-segmentation and deformation-based shape analysis of deep gray matter in multiple sclerosis: the impact of thalamic subnuclei on disability.** *Hum Brain Mapp.* 2014 Aug;35(8):4193-203. doi: 10.1002/hbm.22470. Epub 2014 Feb 7. IF 5.969

### 9.2.2 Strukturální konektivita

Collorone S, Prados F, Hagens MH, Tur C, Kanber B, Sudre CH, Lukas C, Gasperini C, Oreja-Guevara C, Andelova M, Ciccarelli O, Wattjes MP, Ourselin S, Altmann DR, Tijms BM, Barkhof F, Toosy AT; MAGNIMS Study Group. **Single-subject structural cortical networks in clinically isolated syndrome.** *Mult Scler.* 2020 Oct;26(11):1392-1401. doi: 10.1177/1352458519865739. Epub 2019 Jul 24. IF 5.412

### 9.2.3 Kvantitativní MR

Amann M, Papadopoulou A, Andelova M, Magon S, Mueller-Lenke N, Naegelin Y, Stippich C, Radue EW, Bieri O, Kappos L, Sprenger T **Magnetization transfer ratio in lesions rather than normal-appearing brain relates to disability in patients with multiple sclerosis.** *J Neurol.* 2015 Aug;262(8):1909-17. doi: 10.1007/s00415-015-7793-5. Epub 2015 Jun 5. IF 3.815

