

Kortikální patologie u roztroušené sklerózy – morfologické, imunopatologické a klinické souvislosti

Cortical Pathology in Multiple Sclerosis – Morphology, Immunopathology and Clinical Context

Souhrn

V rámci časných patologických změn u roztroušené sklerózy je zřejmé, že morfologické a funkční změny v oblasti mozkové kůry a podkorové šedi mohou předcházet patologickým změnám v bílé hmotě mozku. Morfologické nálezy se zavedením moderních histopatologických metod umožnily analýzu patologických změn, které vedou již v časných fázích k demyelinizaci a atrofii. Nové zobrazovací techniky, např. trojdimenzionální T1 vážené gradient echo sekvence, T2 vážené turbo spin echo, „Double Inversion Recovery“ (DIR) nebo „Phase-Sensitive Inversion Recovery“ MR, umožnily podrobnější detekci kortikální patologie. Klinickými korelátory korové a podkorové patologie jsou kognitivní poruchy, deprese, epilepsie a únava, oproti změnám v bílé hmotě, které souvisejí s poruchami motoriky. Nové techniky magnetické rezonance mohou v budoucnu umožnit další urychlení diagnostiky a včasné zahájení léčby.

Abstract

The early pathological changes in multiple sclerosis suggest that the morphological and functional changes in the cerebral cortex and subcortical gray matter may precede pathological changes in the white matter of the brain. Modern investigational methods allow histopathological analysis of the pathological changes that lead to the early demyelination and atrophy. New imaging techniques (T2-weighted turbo spin-echo, double inversion recovery MRI – DIR-MRI) or phase-sensitive inversion recovery (PSIR-MRI) allow more detailed detection of cortical pathology. Cortical and subcortical pathology clinically correlates with cognitive disorders, depression, epilepsy and fatigue, compared to white matter changes that correlate with impaired motor skills. In the future, new techniques may allow MRI to further speed up the diagnosis and early treatment.

J. Piřha^{1,2}, M. Vachová¹,
E. Havrdová²

¹ MS centrum při neurologickém oddělení, Krajská zdravotní, a.s. – Nemocnice Teplice o.z.

² Neurologická klinika
1. LF UK a VFN v Praze



MUDr. Jiř Piřha
MS centrum při neurologickém oddělení
Krajská zdravotní, a.s. –
Nemocnice Teplice o.z.
Duchcovská 53
415 29 Teplice
e-mail: pithaj@seznam.cz

Přijato k recenzi: 3. 1. 2012

Přijato do tisku: 2. 5. 2012

Klíčová slova

roztroušená skleróza – mozková kůra – podkorová šed' – kortikální léze – atrofie – magnetická rezonance

Key words

multiple sclerosis – cortical grey matter – subcortical grey matter – cortical lesion – atrophy – magnetic resonance imaging

Vzniklo za podpory VZ MŠM
0021620849 a PRVOUK-P26/LF1/4.

Úvod

Vžitou představou patologických a morfologických změn u roztroušené sklerózy (RS) jsou zánětlivé demyelinizační léze

v oblasti bílé hmoty mozku a míchy [1]. Tyto léze jsou roztroušeny v čase a prostoru a o jejich průkaz na magnetické rezonanci mozku, event. míchy se opírají

i diagnostická kritéria. Kromě zánětlivých změn je možné pozorovat i neurodegenerativní pochody vedoucí k neuroaxonální ztrátě v oblasti bílé hmoty. Navíc

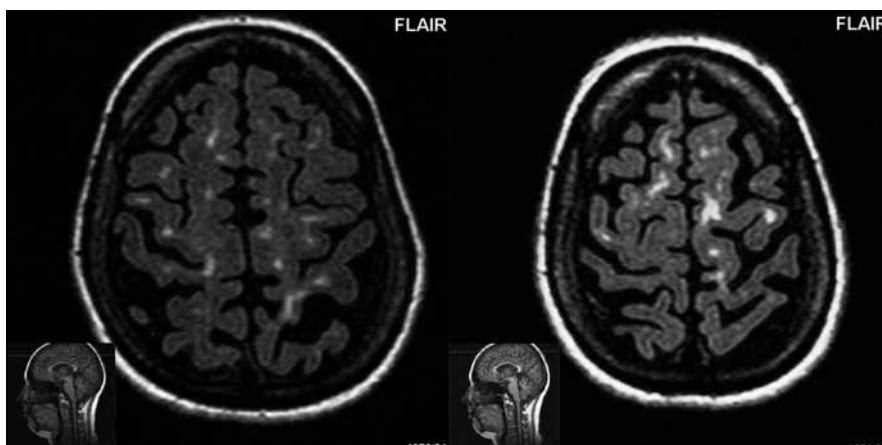
jsou prokazatelné i patologické pochody v normálně vypadající bílé hmotě, které jsou klasickými zobrazovacími metodami nepostižitelné [2].

V posledních letech se obrací pozornost k patologickým změnám mozkové kůry a podkorové šedi. Je zajímavé, že demyelinizace v oblasti korové šedi byla popisována již před více než 100 lety, ale pak upadla v zapomnění [3]. Přispěly k tomu jednak technické obtíže s průkazem těchto lézí v standardním histochemickém barvení a zejména nízká senzitivita zobrazovacích metod. Detekce patologických změn v mozkové kůře při konvenčním vyšetření v T2 vážných obrazech na magnetické rezonanci (MR) je obtížná vzhledem k nízké densitě myelinu v kortexu a obtížnému rozpoznání rozdílu mezi normální korovou šedí a demyelinizacemi v mozkové kůře. Navíc jsou kortikální léze objemově malé a denzita mozkomíšního moku mezi mozkovými závitými může ještě detekci snižovat [4,5]. S rutinním zavedením FLAIR sekvencí se senzitivita vyšetření kortikálních lézí podstatně zvýšila (obr. 1, 2). Prevalence korových demyelinizací je však v sekčních a bioptických nálezech daleko vyšší než jejich detekce při MR [6].

Je patrné, že k atrofii korové šedi dochází rychleji než v bílé hmotě a že míra kortikální atrofie je nezávislá na atrofii bílé hmoty. Kortikální atrofie koreluje s klinickou progresí lépe než atrofie bílé hmoty mozku [7–9]. Tyto nálezy podporují tezi, že kortikální poškození může lépe vysvětlit příznaky kognitivní poruchy spojené s RS, zatímco léze v oblasti bílé hmoty koreluje více s motorickým deficitem [10]. Není patrná závislost mezi objemem demyelinizací bílé hmoty a kortikálním postižením (měřeno zobrazovacími metodami), což naznačuje, že oba patologické procesy mohou do určité míry probíhat nezávisle na sobě [11,12].

Histopatologické nálezy

Korové léze jsou klasifikovány diferencovaně [13,14]. Všechny se shodují v průřezu tří typů lézí: **typ I** navazuje na juxtakortikální léze, **typ II** je výhradně kortikální a **III. typ** se šíří z pia mater do povrchových korových vrstev – typ subpiální (obr. 3) [15]. Zajímavé je, že v kortikálních lézích u stejného subjektu nejsou detekovatelné plazmatické bílkoviny, což svědčí o tom, že kortikální demyelinizace



Obr. 1, 2. Kortikální demyelinizační léze na MR v sekvenci FLAIR (Philips (1,5 T) u 32leté pacientky s RR-RS po devíti letech onemocnění (MR dokumentace zapůjčena s laskavým svolením prof. MUDr. Zdeňka Seidla, CSC., MR odd. Radio-diagnostické kliniky 1. LF UK a VFN).



Obr. 3. Typy kortikálních lézí. Typ I navazuje na juxtakortikální léze v BH, typ II výhradně kortikální a III. typ subpiální. Podle [15].

u progresivní RS není spojena s významnější poruchou HEB [16].

Zatímco zánětlivá ložiska v bílé hmotě jsou bohatě celulizovaná (T buňky, B buňky, dendritické buňky, mikroglie a makrofágy), léze korové, zejména u progresivní RS, obsahují mnohem méně zánětlivých elementů. Aktivní korová demyelinizace je provázena přítomností degradačních produktů myelinu v makrofázích či mikroglii. Difúzní infiltráty, které jsou patrné u inaktivních demyelinizací, se obvykle neliší od oblastí mozkové kůry, jež nejsou poškozeny [12–14]. Mírnější zánětlivé změny, které jsou variabilní, závisí na typu lézí. Tak např. I. typ je charakterizován větším množstvím zánětlivých buněk než léze u téhož jedince, které jsou intrakortikální [17]. Pomocí DNA analýzy je genová exprese imunoglobulinů snížena u vzorků tkáně pocházející z kortexu pacientů s RS, na druhé straně je častým nálezem aktivita B lymfocytů, přítomných na meningách, jejichž produkce je ale velmi variabilní [18]. Ačkoliv většina prací zdůrazňuje u korových lézí nízký stu-

peň zánětu, jiné, zejména recentní, studie prokazují evidentní známky zánětu při vyšetření mozkovou biopsií v časných fázích RS [19,20]. Lymfocyty byly přítomny výhradně v parenchymu a perivaskulárních prostorách. Tyto infiltráty obsahovaly T buňky, B buňky a protilátky produkované plazmatickými buňkami. Převažovaly CD4 + T buňky oproti CD8 + T lymfocytům. Meningeální zánět byl pozorován v blízkosti korových infiltrátů. Zajímavé je, že v raných stádiích RS nejsou někdy nálezy demyelinizace bílé hmoty pomocí MR patrné. To naznačuje, že kortikální poškození může předcházet poškození tkáně v bílé hmotě.

Jak již bylo uvedeno, ložiska kortikální demyelinizace jsou často infiltrována B lymfocyty. Ty pocházejí z lymfatických folikulů na meningách organizovaných v germinativních centrech [21]. Zde dochází ke klonální expanzi antigenem aktivovaných B lymfocytů, maturaci a diferenciaci na paměťové B buňky a plazmocyty. Folikulární dendritické buňky zde prezentují antigen a produkují chemokiny akti-

vující B buňky, např. CXCL13 [22]. Výskyt folikulární hyperplazie s germinativními centry v thymu je typická např. u mladých pacientů s myasthenia gravis [23]. Ektopická centra se často vyskytují ve tkáních pacientů s revmatoidní artritidou, Sjogrenovým syndromem, Crohnovou nemocí, Hashimotovou tyreoiditidou a u některých solidních tumorů [24,25]. Tyto struktury jsou považovány za zdroj autoreaktivních B buněk a protilátek a podílejí se na udržování autoimunitní reakce, i když je tuto tezi nutné potvrdit dalšími studii. Meningeální B buňky akumulované v germinativních centrech jsou průkazné cca u poloviny pacientů s progresivní RS [21], ale v jiné studii stejných autorů u primárně progresivní formy RS byl tento nález ojedinělý [26]. Jiná práce uvádí, že meningeální patologie souvisí spíše s aktivitou onemocnění [27]. Velmi málo údajů je od pacientů s relaps-remitentní formou RS (RR-RS). Je to pochopitelné, protože biopsických vzorků je velmi málo. Zvýšený počet a rozsah kortikálních lézí koreluje s přítomností meningeálních folikulů, stejně jako převaha tzv. subpiálních lézí (typ III). Folikuly se nejčastěji nacházejí v blízkosti těchto lézí. Lze předpokládat, že tvorba lymfatických folikulů souvisí s poškozením kortikální tkáně nebo v něm hraje roli. Přítomnost folikulů také koreluje s růstem kortikální atrofie a ztrátou neuronů, astrocytů a oligodendrocytů [26].

Kontroverzní jsou názory na aktivaci B buněk v souvislosti s infekcí EBV. Někteří autoři potvrdili EBV+ B lymfocyty na meningách, jiní tyto nálezy zpochybnili [28,29]. Ať je to jakkoliv, role B lymfocytů v patologii kortikálních lézí je evidentní, což dokládá i pozitivní odpověď na terapii monoklonálními protilátkami namířenými proti povrchovým antigenům B buněk [30].

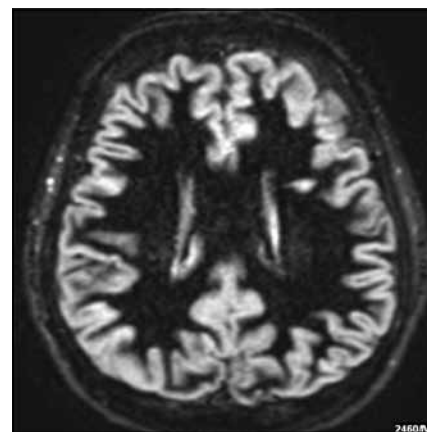
Zobrazovací metody

Vyšetření konvenčními MR technikami (T1W sekvence s použitím speciálního software) může být dostačující ke zjištění korové atrofie [31]. Ta je však patrná až při určitém stupni progresu choroby. Volumetrická analýza umožňuje stanovením mozkové parenchymální frakce určit stupeň atrofie, z důvodu vysokých nároků na přesnost měření je však nutné použít tenčí řezy. Stupeň atrofie určuje jak mozková parenchymální frakce (BPF),

tak i procentuální úbytek mozkové tkáně. Hlavní přínos BPF je porovnatelnost již na počátku měření. U pacientů s RS byla nalezena korová atrofie už v časných fázích choroby, nezávisle na typu onemocnění [32–35]. V longitudinální studii bylo prezentováno, že u pacientů se stabilním klinicky izolovaným syndromem (CIS) se mozková atrofie v čase neměnila, ale u progresivních forem onemocnění postupně narůstala. V této studii bylo sledováno sedm pacientů s CIS, 36 nemocných s relaps-remitující RS (RR-RS), 27 pacientů se sekundárně progredující RS (SP-RS) a 17 zdravých kontrol. V porovnání s kontrolami byla atrofie šedé hmoty 3,4krát větší u pacientů s klinicky CIS, konvertujícího do RR-RS, u nemocných s SP-RS byla větší 14krát. Oproti tomu atrofie bílé hmoty byla konstantní ve všech fázích nemoci [36]. Atrfie sítnice měřená optickou koherenční tomografií velmi dobře koreluje s mozkovou atrofií a může být jejím prediktivním ukazatelem [37].

Ačkoliv průkaz korových lézí se významně zvýšil zavedením moderních histopatologických metod, při použití konvenční MR je jejich detekce jen velmi obtížná. Geurts et al studovali postmortálně u devíti případů chronické RS 49 vzorků mozku. Tkáňové řezy byly vyšetřeny porovnáním T2 váženého obrazu s 3D FLAIR sekvencemi. Léze byly označeny pomocí imunohistochemického stanovení bazického myeloproteinu a klasifikovány jako intrakortikální, smíšené, postihující subkortikální šed, nebo BH. Vyšetřující neznali navzájem histopatologické a MR nálezy. Imunohistochemicky bylo prokázáno 70 lézí BH, osm lézí v oblasti podkorové šedi, 27 smíšených, a 63 čistě kortikálních. Na MR (T2SE) však bylo identifikováno pouze 3 % lézí intrakortikálně a při zobrazení FLAIR v 5 %. Smíšené léze byly prokazatelné na T2SE a 3D FLAIR (22, resp. 41 %). T2SE zobrazení ukázala 13 % lézí podkorových oproti 38 % na 3D FLAIR. 63 % lézí BH bylo zobrazeno na T2SE, na 3D FLAIR v 71 % [38]. Podobná studie byla publikována v letošním roce. Senzitivita post mortem verifikovaných korových lézí byla u 3D DIR 18 %, což je 1,6krát více než u 3D FLAIR sekvencí. Specifita byla 90 % [39].

U pacientů s RS se k průkazu kortikálních lézí ukázaly mnohem senzitivnější MR studie, používající kvantitativní tech-



Obr. 4. Sekvence DIR s patrnou lézí v oblasti bílé hmoty (MR dokumentace zapůjčena s laskavým svolením prof. MUDr. Zdeňka Seidla, CSc., MR odd. Radiodiagnostické kliniky 1. LF UK a VFN).

niky, zaměřené na „normálně vypadající“ mozkovou kůru [31]. Již počátkem 90. let minulého století byla zavedena do klinické praxe „Double Inversion Recovery“ (DIR), která umožnila větší rozlišení mezi bílou hmotou a mozkovou kůrou potlačením signálu bílé hmoty a likvoru (obr. 4) [40]. Teprve o 20 let později byla tato technika obohacena o 3D sekvence a umožnila zvýšení detekce korové patologie [41]. Klinicky relevantní abnormality v oblasti korové a podkorové šedi byly popsány i u zobrazení magnetizačním transferem (MTI), T1 relaxometrií, MR difuzí a protonovou magnetickou spektroskopií (MRS) [42].

Longitudinální studie s pomocí DIR prokázaly, že léze v oblasti mozkové kůry jsou přítomny již v raných fázích onemocnění. Studie dále specifikovaly, že tyto léze jsou častější v sekundárně progresivní fázi RS, jsou častější u mužů a u pacientů s nálezem oligoklonálních pásovů v likvoru [43–45]. Další zvýšení senzitivity detekce těchto lézí (t.č. spíše v experimentu) by mohlo přinést „ultra high-field“ MR v kombinaci s vyšetřovacím MR přístrojem o síle 7 Tesla [46]. V ČR, stejně jako ve světě jsou nejrozšířenější přístroje 1,5 T, kde u sekvence DIR jsou četné artefakty a nízký poměr signál-šum.

Původní nadšení z možnosti detekce kortikálních lézí pomocí sekvence DIR bylo vystřídáno realistickým pohledem na současné diagnostické možnosti. DIR je dosud vyhrazena pro výzkumné účely

a v nejbližší době nelze očekávat její zavedení do rutinní praxe [47]. Detekce korových lézí je stále jen špičkou ledovce kortikální patologie u pacientů s RS [48]. Současné poznatky svědčí o tom, že srovnání dat jednotlivých studií je problematické. Zvýšení konzistence a sjednocení metodiky může zlepšit výtěžnost vyšetření [49].

MR ukázala, že demyelinizační léze je možné nalézt i v podkorových strukturách, jako jsou thalamus, hipokampus, nucleus caudatus, putamen, palidum, klastrum, amygdala, hypothalamus a substantia nigra [42]. Řada prací prokázala atrofii thalamu u různých typů RS, dokonce u pacientů s CIS. Zajímavé je, že redukce objemu thalamu je větší u pacientů s RR fází onemocnění než u sekundárního progresu. Longitudinální studie prokázaly, že u RR-RS se thalamická atrofie objevuje dříve než atrofie korová [50,51]. Recentní práce u většího počtu pacientů ukázala signifikantně větší atrofii podkorové šedi oproti mozkové kůře [52].

Predilekční lokalizací pro demyelinizaci podkorové šedi je hipokampus, přičemž strukturální změny s atrofií byly nalezeny u RR-RS v cornu amonis [53,54]. Řada abnormit byla nalezena při funkční MR (fMR). Např. u pacientů s atrofií hipokampu byly nalezeny funkční poruchy vedení vzruchů mezi hipokampem a gyrus cingulus anterior, thalamem a prefrontálním kortexem [55].

Korelace s klinickým nálezem

Jedním z časných klinických příznaků u RS je kognitivní porucha odpovídající kortikální atrofii. Poruchy kognitivních funkcí postihuje více než 40 % pacientů ve všech klinických fázích onemocnění [56]. Nejvíce bývají postiženy pozornost, recentní a dlouhodobá paměť, exekutivní funkce a vizuospatální schopnosti [57]. Stupeň atrofie šedé hmoty koreluje s klinickými parametry lépe než postižení bílé hmoty [58,59]. Kognitivní deficit, jako jsou porucha paměti, nižší stupeň rychlosti zpracování informací a deficit pozornosti, vysvětlují lépe kortikální léze než léze subkortikální [59]. Izolovaná atrofie má významnou prediktivní hodnotu, protože pacienti s CIS dříve konvertují do klinicky definitivní RS [60].

U nemocných s kortikální patologií je pozorován častější výskyt depresivních poruch [61]. V tříleté longitudi-

ální studii měli pacienti s epilepsií větší objem a počet korových lézí než pacienti bez záchvatů [62]. Onemocnění modifikující léky signifikantně snižují rozvoj nových lézí a progresi korové atrofie v porovnání s neléčenými pacienty. Výraznější efekt má subkutánně podávaný IFN beta-1a než IFN podávaný intramuskulárně nebo glatiramer acetát [63].

Atrofie thalamu byla spojena s kognitivní poruchou a únavou [64,65]. Snižování objemu hipokampu koreluje nejen s poruchou kognitivních funkcí, ale i s depresivní symptomatologií [66].

Závěr

Významný pokrok histopatologických a zejména zobrazovacích technik přinesl nové poznatky o patologii mozkové kůry a podkorové šedi u nemocných s RS. Patologické změny jsou přítomny ve všech stadiích choroby, výrazněji v progresivních fázích nemoci. Důležitý se jeví poznatek, že korové patologické změny se mohou vyskytovat již v časných fázích nemoci a že dokonce mohou předcházet změnám v bílé hmotě. Ačkoliv jsou morfologické změny méně specifické, atrofie mozkové kůry silně koreluje s kognitivním deficitem, o něco méně pak s disabilitou. Korové patologické změny se objevují již v časných fázích onemocnění, kdy nemusí být výraznější postižení bílé hmoty. Kortikální léze jsou konvenčními metodami MR obtížně detekovatelné, ale nové zobrazovací techniky, zejména DIR, vedou ke zlepšení rozpoznání těchto lézí. Atrofie thalamu a hipokampu významně koreluje. V současné době nejsou k dispozici jednotná kritéria pro sjednocení vyšetřovacích protokolů. DIR a další nové MR techniky jsou t.č. využívány výhradně pro výzkumné účely. Atrofie thalamu a hipokampu významně koreluje zejména s neuropsychologickými parametry. Lze si jen přát, aby došlo v co nejbližší době k možnosti přenést teoretické poznatky do klinické praxe.

Literatura

- Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG. Multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2000; 343(13): 938–952.
- Moll NM, Rietsch AM, Thomas S, Ransohoff AJ, Lee JC, Fox R et al. Multiple sclerosis normal-appearing white matter: pathology-imaging correlations. *Ann Neurol* 2011; 70(5): 764–773.
- Dawson JW. The Histology of Multiple Sclerosis. *Trans R Soc Edinburgh* 1916; 50: 517–740.

- Kidd D, Barkhof F, McConnell R, Algra PR, Allen IV, Revesz T. Cortical lesions in multiple sclerosis. *Brain* 1999; 122 (Pt 1): 17–26.
- Newcombe J, Hawkins CP, Henderson CL, Patel HA, Woodroffe MN, Hayes GM et al. Histopathology of multiple sclerosis lesions detected by magnetic resonance imaging in unfixed postmortem central nervous system tissue. *Brain* 1991; 114 (Pt 2): 1013–1023.
- Boggild MD, Williams R, Haq N, Hawkins C. Cortical plaques visualised by fluid-attenuated inversion recovery imaging in relapsing multiple sclerosis. *Neuroradiology* 1996; 38 (Suppl 1): S10–S13.
- Fisniku LK, Chard DT, Jackson JS, Anderson VM, Altmann DR, Miszkal KA et al. Gray matter atrophy is related to long-term disability in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2008; 64(3): 247–254.
- Fisher E, Lee JC, Nakamura K, Rudick RA. Gray matter atrophy in multiple sclerosis: a longitudinal study. *Ann Neurol* 2008; 64(3): 255–265.
- Rudick RA, Lee JC, Nakamura K, Fisher E. Gray matter atrophy correlates with MS disability progression measured with MSFC but not EDSS. *J Neurol Sci* 2009; 282(1–2): 106–111.
- Papadopoulos D, Dukes S, Patel R, Nicholas R, Vora A, Reynolds R. Substantial archaic cortical atrophy and neuronal loss in multiple sclerosis. *Brain Pathol* 2009; 19(2): 238–253.
- Bö L, Geurts JJ, van der Valk P, Polman C, Barkhof F. Lack of correlation between cortical demyelination and white matter pathologic changes in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2007; 64(1): 76–80.
- Kutzelnigg A, Lucchinetti CF, Stadelmann C, Brück W, Rauschka H, Bergmann M et al. Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. *Brain* 2005; 128 (Pt 11): 2705–2712.
- Bö L, Vedeler CA, Nyland HI, Trapp BD, Mörk SJ. Subpial demyelination in the cerebral cortex of multiple sclerosis patients. *J Neuropathol Exp Neurol* 2003; 62(7): 723–732.
- Peterson JW, Bö L, Mörk S, Chang A, Trapp BD. Transected neurites, apoptotic neurons, and reduced inflammation in cortical multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 2001; 50(3): 389–400.
- Calabrese M, Filippi M, Gallo P. Cortical lesions in multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol* 2010; 6(8): 438–444.
- van Horssen J, Brink BP, de Vries HE, van der Valk P, Bö L. The blood-brain barrier in cortical multiple sclerosis lesions. *J Neuropathol Exp Neurol* 2007; 66(4): 321–328.
- Vercellino M, Masera S, Lorenzatti M, Condello C, Merola A, Mattioda A et al. Demyelination, inflammation, and neurodegeneration in multiple sclerosis deep gray matter. *J Neuropathol Exp Neurol* 2009; 68(5): 489–502.
- Torkildsen O, Stansberg C, Angelskår SM, Kooi EJ, Geurts JJ, van der Valk P et al. Upregulation of immunoglobulin-related genes in cortical sections from multiple sclerosis patients. *Brain Pathol* 2010; 20(4): 720–729.
- Popescu BF, Bunyan RF, Parisi JE, Ransohoff RM, Lucchinetti CF. A case of multiple sclerosis presenting with inflammatory cortical demyelination. *Neurology* 2011; 76(20): 1705–1710.
- Lucchinetti CF, Popescu BF, Bunyan RF, Moll NM, Roemer SF, Lassmann H et al. Inflammatory cortical demyelination in early multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2011; 365(23): 2188–2197.
- Magliozzi R, Howell O, Vora A, Serafini B, Nicholas R, Puopolo et al. Meningeal B-cell follicles in secondary progressive multiple sclerosis associate with early onset of disease and severe cortical pathology. *Brain* 2007; 130 (Pt 4): 1089–1104.

22. Howell OW, Reeves CA, Nicholas R, Carassiti D, Radotra B, Gentleman SM et al. Meningeal inflammation is widespread and linked to cortical pathology in multiple sclerosis. *Brain* 2011; 134 (Pt 9): 2755–2771.
23. Le Panse R, Bismuth J, Cizeron-Clairac G, Weiss JM, Cufi P, Dartevielle P et al. Thymic remodeling associated with hyperplasia in myasthenia gravis. *Autoimmunity* 2010; 43(5–6): 401–412.
24. Weyland CM, Kurtin PJ, Goronzy JJ. Ectopic lymphoid organogenesis: a fast track for autoimmunity. *Am J Pathol* 2001; 159(3): 787–793.
25. Aloisi F, Pujol-Borrell R. Lymphoid neogenesis in chronic inflammatory diseases. *Nat Rev Immunol* 2006; 6(3): 205–217.
26. Magliozzi R, Howell OW, Reeves C, Roncaroli F, Nicholas R, Serafini B et al. A Gradient of neuronal loss and meningeal inflammation in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2010; 68(4): 477–493.
27. Frischer JM, Bramow S, Dal-Bianco A, Lucchinetti CF, Rauschka H, Schmidbauer M et al. The relation between inflammation and neurodegeneration in multiple sclerosis brains. *Brain* 2009; 132 (Pt 5): 1175–1189.
28. Serafini B, Rosicarelli B, Franciotta D, Magliozzi R, Reynolds R, Cinque P et al. Dysregulated Epstein-Barr virus infection in the multiple sclerosis brain. *J Exp Med* 2007; 204(12): 2899–2912.
29. Sargsyan SA, Owens GP, Gilden DH, Bennett JL, Shearer AJ, Ritchie AM et al. Absence of Epstein-Barr virus in the brain and CSF of patients with multiple sclerosis. *Neurology* 2010; 74(14): 1127–1135.
30. He D, Zhou H, Han W, Zhang S. Rituximab for relapsing-remitting multiple sclerosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; 12: CD009130.
31. Miller DH, Barkhof F, Frank JA, Parker GJ, Thompson AJ. Measurement of atrophy in multiple sclerosis: pathological basis, methodological aspects and clinical relevance. *Brain* 2002; 125 (Pt 8): 1676–1695.
32. Calabrese M, Atzori M, Bernardi V, Morra A, Romualdi C, Rinaldi L et al. Cortical atrophy is relevant in multiple sclerosis at clinical onset. *J Neurol* 2007; 254(9): 1212–1220.
33. Sastre-Garriga J, Ingle GT, Chard DT, Cercignani M, Ramió-Torrentà L, Miller DH et al. Grey and white matter volume changes in early primary progressive multiple sclerosis: a longitudinal study. *Brain* 2005; 128 (Pt 6): 1454–1460.
34. Roosendaal SD, Bendfeldt K, Vrenken H, Polman CH, Borgwardt S, Radue EW et al. Grey matter volume in a large cohort of MS patients: relation to MRI parameters and disability. *Mult Scler* 2011; 17(9): 1098–1106.
35. Dalton CM, Chard DT, Davies GR, Miszkiel KA, Altmann DR, Fernando K et al. Early development of multiple sclerosis is associated with progressive grey matter atrophy in patients presenting with clinically isolated syndromes. *Brain* 2004; 127 (Pt 5): 1101–1107.
36. Fisher E, Lee JC, Nakamura K, Rudick RA. Gray matter atrophy in multiple sclerosis: a longitudinal study. *Ann Neurol* 2008; 64(3): 255–265.
37. Frohman EM, Dwyer MG, Frohman T, Cox JL, Salter A, Greenberg BM et al. Relationship of optic nerve and brain conventional and non-conventional MRI measures and retinal nerve fiber layer thickness, as assessed by OCT and GDx: a pilot study. *J Neurol Sci* 2009; 282(1–2): 96–105.
38. Geurts JJ, Bö L, Pouwels PJ, Castelijns JA, Polman CH, Barkhof F. Cortical lesions in multiple sclerosis: combined postmortem MR imaging and histopathology. *AJNR Am J Neuroradiol* 2005; 26(3): 572–577.
39. Seewann A, Kooi EJ, Roosendaal SD, Pouwels PJ, Wattjes MP, van der Valk P et al. Postmortem verification of MS cortical lesion detection with 3D DIR. *Neurology* 2012; 78(5): 302–308.
40. Redpath TW, Smith FW. Technical note: use of a double inversion recovery pulse sequence to image selectively grey or white brain matter. *Br J Radiol* 1994; 67(804): 1258–1263.
41. Simon B, Schmidt S, Lukas C, Gieseke J, Träber F, Knol DL et al. Improved in vivo detection of cortical lesions in multiple sclerosis using double inversion recovery MR imaging at 3 Tesla. *Eur Radiol* 2010; 20(7): 1675–1683.
42. Hulst HE, Geurts JJ. Gray matter imaging in multiple sclerosis: what have we learned? *BCM Neurol* 2011; 11: 153.
43. Calabrese M, Filippi M, Rovaris M, Bernardi V, Atzori M, Mattisi I et al. Evidence for relative cortical sparing in benign multiple sclerosis: a longitudinal magnetic resonance imaging study. *Mult Scler* 2009; 15(1): 36–41.
44. Calabrese M, Rocca MA, Atzori M, Mattisi I, Favaretto A, Perini P et al. A 3-year magnetic resonance imaging study of cortical lesions in relapse-onset multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2010; 67(3): 376–383.
45. Calabrese M, De Stefano N, Atzori M, Bernardi V, Mattisi I, Barachino L et al. Detection of cortical inflammatory lesions by double inversion recovery magnetic resonance imaging in patients with multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2007; 64(10): 1416–1422.
46. Metcalf M, Xu D, Okuda DT, Carvajal L, Srinivasan R, Kelley DA et al. High-resolution phased-array MRI of the human brain at 7 tesla: initial experience in multiple sclerosis patients. *J Neuroimaging* 2010; 20(2): 141–147.
47. Ciccarelli O, Chen JT. MS cortical lesions on double inversion recovery MRI: few but true. *Neurology* 2012; 78(5): 296–297.
48. Seewann A, Vrenken H, Kooi EJ, van der Valk P, Knol DL, Polman CH et al. Imaging the tip of the iceberg: visualization of cortical lesions in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2011; 17(10): 1202–1210.
49. Geurts JJ, Roosendaal SD, Calabrese M, Cirraccelli O, Agosta F, Chard DT et al. Consensus recommendations for MS cortical lesion scoring using double inversion recovery MRI. *Neurology* 2011; 76(5): 418–424.
50. Ramasamy DP, Benedict RH, Cox JL, Fritz D, Abdelrahman N, Hussein S et al. Extent of cerebellum, subcortical and cortical atrophy in patients with MS: a case-control study. *J Neurol Sci* 2009; 282(1–2): 47–54.
51. Rocca MA, Mesaros S, Pagani E, Sormani MP, Comi G, Filippi M. Thalamic damage and long-term progression of disability in multiple sclerosis. *RadioLOGY* 2010; 257(2): 463–469.
52. Bergsland N, Horakova D, Dwyer MG, Dolezal O, Seidl ZK, Vaneckova M et al. Subcortical and cortical gray matter atrophy in a large sample of patients with clinically isolated syndrome and early relapsing-remitting multiple sclerosis. *AJNR Am J Neuroradiol* 2012; 33(8): 1573–1578.
53. Geurts JJ, Bö L, Roosendaal SD, Hazes T, Daniëls R, Barkhof F et al. Extensive hippocampal demyelination in multiple sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 2007; 66(9): 819–827.
54. Sciotte NL, Kern KC, Giesser BS, Arshanapalli A, Schultz A, Montag M et al. Regional hippocampal atrophy in multiple sclerosis. *Brain* 2008; 131 (Pt 4): 1134–1141.
55. Roosendaal SD, Hulst HE, Vrenken H, Feenstra HE, Castelijns JA, Pouwels PJ et al. Structural and functional hippocampal changes in multiple sclerosis patients with intact memory function. *Radiology* 2010; 255(2): 595–604.
56. Patti F. Cognitive impairment in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2009; 15(1): 2–8.
57. Chiaravalloti ND, DeLuca J. Cognitive impairment in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2008; 7(12): 1139–1151.
58. Tedeschi G, Lavorgna L, Russo P, Prinster A, Dinacci D, Savettieri G et al. Brain atrophy and lesion load in a large population of patients with multiple sclerosis. *Neurology* 2005; 65(2): 280–285.
59. Calabrese M, Rinaldi F, Grossi P, Gallo P. Cortical pathology and cognitive impairment in multiple sclerosis. *Expert Rev Neurother* 2011; 11(3): 425–432.
60. Calabrese M, Rinaldi F, Mattisi I, Bernardi V, Favaretto A, Perini P et al. The predictive value of gray matter atrophy in clinically isolated syndromes. *Neurology* 2011; 77(3): 257–263.
61. Feinstein A, Roy P, Lobaugh N, Feinstein K, O'Connor P, Black S. Structural brain abnormalities in multiple sclerosis patients with major depression. *Neurology* 2004; 62(4): 586–590.
62. Calabrese M, Grossi P, Favaretto A, Romualdi C, Atzori M, Rinaldi F et al. Cortical pathology in multiple sclerosis patients with epilepsy: a 3 year longitudinal study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2012; 83(1): 49–54.
63. Calabrese M, Bernardi V, Atzori M, Mattisi I, Favaretto A, Rinaldi F et al. Effect of disease-modifying drugs on cortical lesions and atrophy in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler* 2012; 18(4): 418–424.
64. Houtchens MK, Benedict RH, Killiany R, Sharma J, Jaisani Z, Singh B et al. Thalamic atrophy and cognition in multiple sclerosis. *Neurology* 2007; 69(12): 1213–1223.
65. Calabrese M, Rinaldi F, Grossi P, Mattisi I, Bernardi V, Favaretto A et al. Basal ganglia and frontal/parietal cortical atrophy is associated with fatigue in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler* 2010; 16(10): 1220–1228.
66. Kiy G, Lehmann P, Hahn HK, Eling P, Kastrup A, Hildebrandt H. Decreased hippocampal volume, indirectly measured, is associated with depressive symptoms and consolidation deficits in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2011; 17(9): 1088–1097.