



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

**Desarrollo de una metodología de reconstrucción
de fibras de sustancia blanca en difusión por
resonancia magnética y su aplicación al estudio
de la relación entre la conectividad estructural cerebral
y el rendimiento cognitivo en pacientes
con esclerosis múltiple**

Eloy Martínez de las Heras



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència **Reconeixement- NoComercial – SenseObraDerivada 3.0. Espanya de Creative Commons.**

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia **Reconocimiento - NoComercial – SinObraDerivada 3.0. España de Creative Commons.**

This doctoral thesis is licensed under the **Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs 3.0. Spain License.**

TESIS DOCTORAL

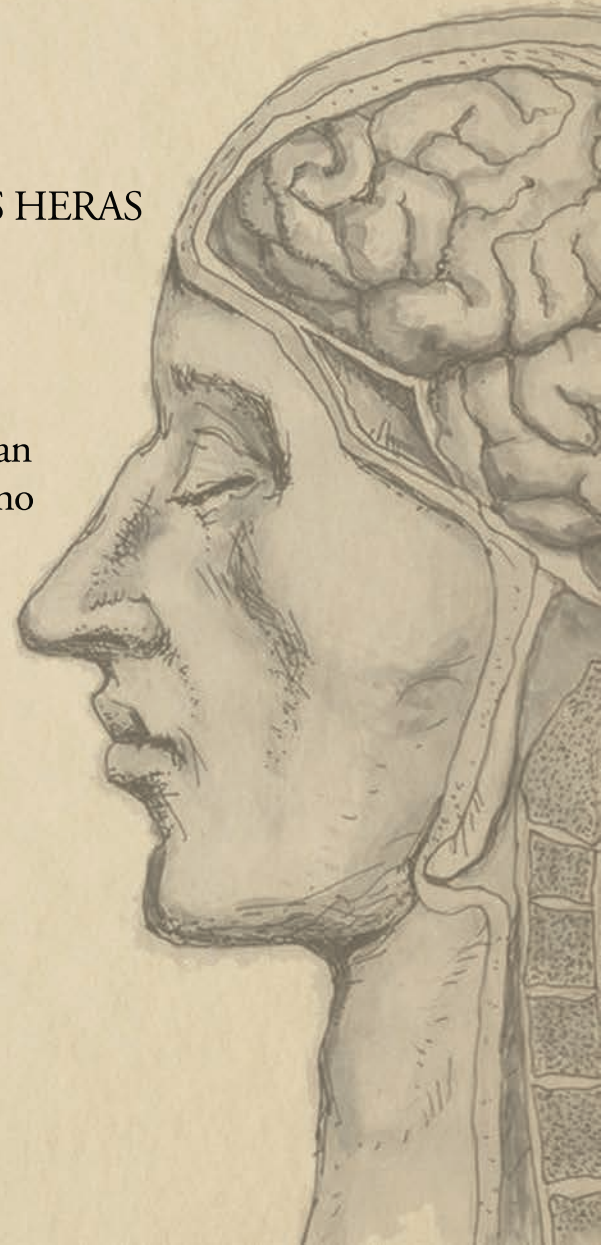
Desarrollo de una metodología de
reconstrucción de fibras de sustancia
blanca en difusión por resonancia
magnética y su aplicación al estudio de
la relación entre la conectividad
estructural cerebral y el rendimiento
cognitivo en pacientes con
esclerosis múltiple

Doctorando

ELOY MARTÍNEZ DE LAS HERAS

Directores

Dra. Sara Llufríu Duran
Dr. Alberto Prats Galino



UNIVERSITAT DE BARCELONA



TESIS DOCTORAL

Desarrollo de una metodología de reconstrucción de fibras de sustancia blanca en difusión por resonancia magnética y su aplicación al estudio de la relación entre la conectividad estructural cerebral y el rendimiento cognitivo en pacientes con esclerosis múltiple

Doctorando:

Eloy Martínez de las Heras

Directores:

Dra. Sara Llufrí Duran

Dr. Alberto Prats Galino

PROGRAMA DOCTORADO MEDICINA

UNIVERSITAT DE BARCELONA

2017

INFORME DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS

La Dra. SARA LLUFRIU DURAN, Doctor en Medicina por la Universitat de Barcelona, especialista en Neurología en el Hospital Clínic de Barcelona e investigadora de IDIBAPS, y el Dr. ALBERTO PRATS GALINO, Doctor en Medicina y Cirugía por la Universitat de Barcelona y Catedrático del Departamento de Cirugía y de Especialidades Medicoquirúrgicas,

CERTIFICAN:

Que la memoria titulada “Desarrollo de una metodología de reconstrucción de fibras de sustancia blanca en difusión por resonancia magnética y su aplicación al estudio de la relación entre la conectividad estructural cerebral y el rendimiento cognitivo en pacientes con esclerosis múltiple”, presentada por Eloy Martínez de las Heras para optar al grado de *Doctor en Medicina* por la Universitat de Barcelona se ha realizado bajo nuestra dirección y cumple todos los requisitos necesarios para ser defendida ante el tribunal correspondiente.

Firmado,

Dra. Sara Llufríu Duran

Grupo de Neuroinmunología y Esclerosis Múltiple. Hospital Clínic de Barcelona.
Imagen avanzada en enfermedades neuroinmunológicas: ImaginEM. IDIBAPS.

Dr. Alberto Prats Galino

Departamento de Cirugía y Especialidades Medicoquirúrgicas, Universitat de Barcelona. Facultat de Medicina y Ciències de la Salut de Barcelona.

Barcelona, Marzo de 2017

Agradecimientos

Esta tesis doctoral refleja un periodo muy importante en mi trayectoria profesional. Es difícil sintetizar en pocas palabras todo lo que ha conllevado este trabajo, pero pienso que este documento científico materializa con éxito el esfuerzo realizado.

Esta tesis no hubiese sido posible sin el apoyo de diversas personas. Quisiera resaltar en primer lugar a mis directores de tesis. A la Dra. Sara Llufríu por su rigor, perseverancia y espíritu crítico en el trabajo. Ha sido muy estimulante afrontar tantos desafíos a su lado. Y al Dr. Alberto Prats por contagiarme esa pasión y respeto por la ciencia.

También quisiera agradecer al Dr. Albert Saiz su apuesta firme por los proyectos de neuroimagen. Su liderazgo, consejos y ayuda han sido fundamentales para nuestro equipo. Otra persona irremplazable en nuestro equipo es la Dra. Elisabeth Solana. Su cercanía e implicación han sido claves para dar ese salto de calidad que tanto necesitábamos.

A los demás profesionales del departamento de Neuroinmunología-Esclerosis Múltiple y Laboratorio de la vía visual, es un placer formar parte de este equipo humano y colaborar en nuevos y estimulantes proyectos.

Por otra parte, también querría agradecer de forma muy especial a mis actuales compañeros y ex-compañeros de la plataforma de Imagen. Con muchos de vosotros compartimos grandes momentos y el inicio de esta carrera investigadora. Gracias por vuestra amistad y trabajo en equipo... Carlos, Anna, Magí, Elena dulce, Núria, Raúl, Emma, José, Irene, Erika, Elena Fraga, Silvia, Claudia y Carles.

A Iñigo y Alex. Por vuestra amistad en los buenos y malos momentos. Os

echo en falta en el Laboratorio.

A tantos otros compañeros que he conocido en el Hospital, gracias por vuestro afecto, sugerencias y empuje... Núria, César, Vero, Gemma, Alex, Miquel, Brisa, Esther, Cristina...

A todos los pacientes que han participado en los estudios, sin su inestimable colaboración nada de esto hubiese sido posible. Esperamos arrojar cierta luz y optimismo con nuestro trabajo.

A mis amigos y familia, por tanto cariño y afecto. A mis primos, por todos los recuerdos y momentos vividos... y por los que quedan por vivir.

A mi mujer e hijos, por sorprenderme cada instante, por arrancarme la mejor de mis sonrisas y por obligarme sin saberlo a mejorar cada día.

Y por último quisiera dedicar este trabajo a mis queridos padres y hermano, por cultivar y enriquecer mi mente. Nunca podré agradecer todo lo que hicieron por mí.

Índice general

| | |
|--|-----------|
| Agradecimientos | 5 |
| 1. Presentación | 11 |
| 2. Glosario de abreviaturas | 13 |
| 3. Introducción | 17 |
| 3.1. Técnica de difusión por resonancia magnética | 17 |
| 3.1.1. Principios básicos de la difusión | 18 |
| 3.1.2. La difusión en el tejido cerebral | 19 |
| 3.1.2.1. Células del sistema nervioso central | 19 |
| 3.1.2.2. Sustancia blanca y sustancia gris en el sistema nervioso central | 20 |
| 3.1.3. Adquisición de secuencias de difusión | 22 |
| 3.1.4. Desafíos y limitaciones de las secuencias de difusión | 25 |
| 3.1.5. El tensor de difusión | 26 |
| 3.1.6. Imágenes por tensor de difusión | 28 |
| 3.2. Tractografía | 31 |
| 3.2.1. Tractografía por tensor de difusión | 31 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 3.2.1.1. | Limitaciones del tensor de difusión | 34 |
| 3.2.2. | Tractografía por modelos avanzados | 36 |
| 3.2.2.1. | Modelo no-paramétrico | 36 |
| 3.2.2.2. | Armónicos esféricos | 38 |
| 3.2.2.3. | Modelo paramétrico | 40 |
| 3.2.2.4. | Limitaciones de la tractografía por modelos avanzados | 41 |
| 3.3. | Conectividad cerebral | 42 |
| 3.3.1. | Representación y análisis | 43 |
| 3.3.1.1. | Nodos | 43 |
| 3.3.1.2. | Aristas | 44 |
| 3.3.2. | Teoría de grafos y visualización | 44 |
| 3.3.3. | La conectividad estructural y conducta | 48 |
| 3.4. | Esclerosis Múltiple | 49 |
| 3.4.1. | Disfunción cognitiva | 50 |
| 3.4.1.1. | Evaluación neuropsicológica | 51 |
| 3.4.2. | La resonancia magnética en la esclerosis múltiple | 52 |
| 3.4.2.1. | Técnicas por resonancia magnética no convencional: secuencias de difusión | 54 |
| 3.4.2.2. | Radiaciones ópticas | 57 |
| 3.4.2.3. | Evaluación de la disfunción cognitiva a través de la conectividad cerebral | 58 |
| 4. | Hipótesis | 63 |
| 5. | Objetivos | 65 |

| | |
|--|------------|
| 6. Resultados | 67 |
| 6.1. Artículo 1: Improved framework for tractography reconstruction of the optic radiation | 67 |
| 6.2. Artículo 2: Structural networks involved in attention and executive functions in multiple sclerosis | 89 |
| 7. Discusión | 105 |
| 8. Conclusiones | 115 |
| Bibliografía | 116 |

Capítulo 1

Presentación

Esta memoria de tesis se presenta en formato de artículos originales que corresponden a una misma unidad temática: el desarrollo de una metodología de reconstrucción de fibras de sustancia blanca basada en técnicas de difusión por resonancia magnética y su implementación en el estudio de conectividad estructural en pacientes con esclerosis múltiple.

Para el primer artículo, seleccionamos las radiaciones ópticas para poder validar nuestra metodología de reconstrucción. Para ello, empleamos modelos avanzados de tractografía y un postprocesado basado en criterios de exclusión anatómicos propios de cada sujeto. La reconstrucción final de las radiaciones ópticas fue evaluada a través de un atlas histológico validado por la comunidad científica, obteniendo una precisión y exactitud volumétrica muy cercana a la anatomía real tanto en sujetos sanos como en pacientes con esclerosis múltiple (**Improved framework for tractography reconstruction of the optic radiation**. Plos One, 2015).

En el segundo artículo se empleó la misma metodología desarrollada en el artículo precedente, con el fin de proporcionar reconstrucciones más precisas de las conexiones de sustancia blanca cerebral y obtener datos cuantitativos y patológicamente más específicos. Esto permitió conocer los cambios acontecidos en la conectividad cerebral estructural en pacientes con esclerosis múltiple y sus consecuencias sobre el rendimiento cognitivo. Pudimos identificar un daño difuso generalizado de la red cerebral así como la presencia de fenómenos de desconexión en regiones frontoparietales, sustancia gris subcortical e ínsula, relacionados

con el rendimiento en funciones atencionales y ejecutivas. Además, evidenciamos posibles mecanismos de reestructuración cerebral a través de incrementos en la conectividad en conexiones específicas. Dichos mecanismos de plasticidad podrían ser tanto, herramientas para compensar el daño tisular como cambios estructurales maladaptativos (**Structural networks involved in attention and executive functions in multiple sclerosis**. Neuroimage Clinical, 2016).

Estos estudios han permitido desarrollar y aplicar una nueva metodología de reconstrucción de fibras de sustancia blanca más precisa y reproducible, así como detectar aquellas redes más vulnerables sobre el rendimiento cognitivo. La identificación de estas redes permite contar con un biomarcador sensible a la discapacidad cognitiva y podrían llegar a utilizarse como diana para evaluar el efecto de nuevas intervenciones terapéuticas.

El factor de impacto acumulado de los artículos que componen la presente tesis es de 7,09 (Q1) según ISI-Web of KnowledgeSM- Journal of Citation Reports ® de 2015.

Capítulo 2

Glosario de abreviaturas

| | |
|-----------------|--|
| ADC | <i>Apparent Diffusion Coefficient.</i> Coeficiente de difusión aparente. |
| AD | <i>Axial Diffusivity.</i> Difusividad axial. |
| CCI | Coeficiente de correlación intraclase. |
| <i>b</i> | Factor de difusión. |
| BRB-N | <i>Brain Repeatable Battery-Neuropsychology.</i> Batería neuropsicológica repetitiva breve de Rao. |
| CEA | Criterio de exclusión anatómico. |
| CSD | <i>Constrained Spherical Deconvolution.</i> Deconvolución esférica restringida. |
| DMN | <i>Default Mode Network.</i> Red neuronal por defecto. |
| dODF | <i>Diffusion Orientation Density Function.</i> Funciones de densidad de la orientación de las fibras. |

| | |
|--------------|--|
| dRM | Difusión por resonancia magnética. |
| EM | Esclerosis múltiple. |
| EMPP | Esclerosis múltiple primaria progresiva. |
| EMRR | Esclerosis múltiple remitente-recurrente. |
| EMSR | Esclerosis múltiple secundaria progresiva. |
| EPI | <i>Echo-Planar Imaging.</i> Secuencia eco-planar. |
| DSI | <i>Diffusion Spectrum Imaging.</i> |
| DTI | <i>Diffusion Tensor Imaging.</i> Imágenes por tensor de difusión. |
| DWI | <i>Diffusion Weighted Imaging.</i> Imágenes potenciadas en difusión. |
| FA | <i>Fractional Anisotropy.</i> Fracción de anisotropía. |
| fODF | <i>Fiber Orientation Distribution Function.</i> Función de distribución de la orientación de las fibras. |
| HARDI | <i>High Angular Resolution Diffusion-weighted Imaging.</i> Alto grado de resolución angular por imagen de difusión. |
| LCR | Líquido cefalorraquídeo. |
| MD | <i>Mean Diffusivity.</i> Difusividad media. |

| | |
|--------------|--|
| NGL | Núcleo geniculado lateral. |
| PASAT | <i>Paced Auditory Serial Addition Test.</i> |
| RD | <i>Radial Diffusivity.</i> Difusividad radial. |
| RO | Radiaciones ópticas. |
| ROI | <i>Region Of Interest.</i> Región de interés. |
| SB | Sustancia blanca. |
| SDMT | <i>Symbol Digit Modality Test.</i> |
| SG | Sustancia gris. |
| SH | <i>Spherical Armonics.</i> Armónicos esféricos. |
| SNC | Sistema nervioso central. |
| TBSS | <i>Tract-Based Spatial Statistics.</i> |
| V1 | Corteza visual primaria. |
| VBA | <i>Voxel-Based Analysis.</i> |

Capítulo 3

Introducción

3.1. Técnica de difusión por resonancia magnética

La técnica de difusión por resonancia magnética (dRM) permite describir la movilidad del agua libre en un tejido orgánico de forma no invasiva. El éxito de la dRM radica principalmente en la posibilidad de obtener una imagen que relaciona la microestructura subyacente del medio orgánico con el desplazamiento del agua. En la sustancia blanca (SB) cerebral, las moléculas de agua tienden a desplazarse en dirección paralela a las fibras nerviosas, permitiendo obtener información acerca de la arquitectura e integridad del tejido. La posibilidad de poder obtener imágenes tridimensionales de la anatomía de la SB hace que esta modalidad de imagen tenga un gran atractivo para la neurociencia actual. Descifrar la intrincada red que conforma nuestro cerebro es uno de los grandes desafíos a los que se enfrenta actualmente la comunidad científica. Sin embargo, la relación de la dRM con la microestructura biológica es altamente compleja y las dificultades técnicas que presenta son notorias. Uno de los inconvenientes más significativos en este tipo de análisis es el problema de escala, ya que la resolución empleada para la obtención de imágenes tridimensionales es de varios órdenes de magnitud mayor que el tamaño de un axón individual. A pesar de las limitaciones, se están desarrollando mejoras significativas en el proceso de adquisición y procesado de imágenes de dRM que pueden facilitar la obtención de información más precisa y

de mayor calidad acerca de la microestructura y la anatomía del tejido, así como profundizar en el conocimiento de la red cerebral.

3.1.1. Principios básicos de la difusión

El concepto de difusión de las moléculas de agua libre debido a una agitación térmica fue descrito a mediados del S.XIX por Robert Brown y cuantificado posteriormente por (Einstein, 1905) mediante la siguiente ecuación:

$$\langle r^2 \rangle = 2Dt \quad (3.1)$$

Donde r es igual al desplazamiento, D es el coeficiente de difusión y t es el tiempo transcurrido. Por tanto, la ecuación de Einstein muestra que el desplazamiento crece dependiendo tan solo de la raíz cuadrada del tiempo transcurrido en un mismo medio, ya que la probabilidad de desplazarse en una dirección es idéntica a la de desplazarse en sentido contrario. Utilizando este marco teórico, Einstein demostró que la difusión libre adopta una distribución gaussiana (Figura 3.1).

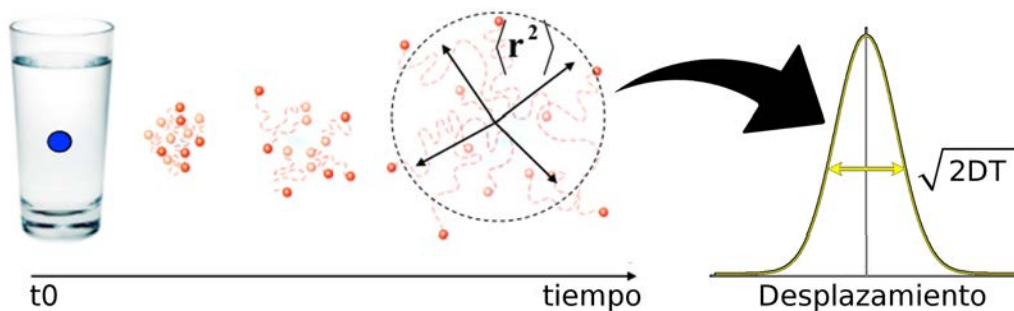


Figura 3.1: Difusión libre. El efecto de la difusión libre implica que si colocásemos una gran concentración de tinta en un recipiente de agua, la tinta con el paso del tiempo se dispersaría alejándose del punto inicial de forma aleatoria y expandiéndose alrededor. Figura adaptada Flavio Dell'Acqua, 2011 (Diffusion Imaging Models 1: from DTI to HARDI models).

Sin embargo, en los tejidos biológicos la movilidad de estas moléculas de agua no siempre es la misma en todas las direcciones, ya que está influenciada por las características locales del medio. Por consiguiente, cuando se aplica la ecuación 3.1, el valor del D es menor en el medio biológico y debemos hablar de coeficiente de difusión aparente (*Apparent Diffusion Coefficient*, ADC) (Le Bihan et al.,

1986). Este concepto permite diferenciar entre dos fenómenos de difusión:

- **Difusión isotrópica o libre**

La difusión es la misma en todas las direcciones. Se da en un medio libre de obstáculos. Este fenómeno se caracteriza por una única constante de difusión.

- **Difusión anisotrópica**

Cuando se cuantifica la difusión en un sistema estructurado, la difusión del agua queda restringida por barreras físicas que provocan que su difusión no sea la misma en todas las direcciones. Cuando la difusión es anisotrópica es necesario obtener diferentes valores del ADC para poder describir el movimiento direccional del agua.

3.1.2. La difusión en el tejido cerebral

La dRM permite la visualización y el cálculo de la difusión molecular “in vivo” a partir del movimiento traslacional del agua libre en el tejido cerebral.

3.1.2.1. Células del sistema nervioso central

El sistema nervioso central (SNC) está formado por dos tipos de células, las células nerviosas o neuronas y las células gliales. Las neuronas son células especializadas que reciben, procesan y transmiten información entre diferentes circuitos y sistemas. La transmisión de información entre neuronas se lleva a cabo a través de mecanismos químicos y eléctricos, que son esenciales para su correcto funcionamiento. Estas células presentan una estructura común a pesar de la variabilidad en tamaño y forma: un cuerpo neuronal o soma, unas ramificaciones cortas denominadas dendritas y una prolongación larga que sale del soma denominado axón. Las dendritas son las responsables de recibir la información de axones de otras neuronas y conducirla hacia el cuerpo celular. Este proceso de transporte de la información entre dos neuronas se genera por medio de la transmisión química (sinapsis) y resulta decisivo para establecer la comunicación neuronal. Esta transmisión de información permite relacionar un gran número de neuronas

entre sí formando vías de comunicación a través de las fibras nerviosas, creando un sistema altamente organizado y complejo.

Las células gliales son en general más pequeñas que las neuronas y las superan en número, constituyendo aproximadamente la mitad del volumen total del encéfalo. Se encargan de regular el ambiente interno del SNC y de ayudar en los procesos de comunicación entre neuronas. Participan activamente en el desarrollo y la formación cerebral, desempeñando un papel esencial en los mecanismos de reparación y regeneración nerviosa. En el SNC se encuentran cuatro tipos principales de células gliales: los astrocitos, los oligodendrocitos, la microglía y las células endoteliales. Los astrocitos son las células gliales más numerosas y llevan a cabo funciones clave para la actividad y mantenimiento del SNC. Los oligodendrocitos producen las vainas de mielina que rodean los axones, facilitando la conducción de los impulsos nerviosos. La microglía son las células gliales más pequeñas y se hallan dispersas en todo el SNC; su capacidad fagocitaria frente a las lesiones aseguran la defensa inmunitaria del SNC. Finalmente, las células endoteliales contribuyen a la circulación del líquido cefalorraquídeo (LCR) por las cavidades del encéfalo.

3.1.2.2. Sustancia blanca y sustancia gris en el sistema nervioso central

Las células que forman el SNC se disponen de tal manera que dan lugar a dos tipos de formaciones muy características a nivel macroscópico: la SB y la sustancia gris (SG). Mientras que la SB está compuesta por axones mielinizados que posibilitan los procesos de transmisión de información, la SG está integrada principalmente por somas neuronales y dendritas (Purves, 2008).

La SB está organizada por haces de fibras compuestas por miles de axones interconectados, que permiten la comunicación entre diferentes regiones cerebrales. Las fibras nerviosas pueden clasificarse en 3 tipos:

- **Fibras comisurales**

Son fibras nerviosas que conectan dos regiones de distintos hemisferios cerebrales. La comisura más grande del encéfalo es el cuerpo calloso.

- **Fibras de asociación**

Son fibras nerviosas que conectan regiones corticales dentro del mismo hemisferio y pueden dividirse en cortas (fibras en forma de «U») y largas. Dentro de este tipo de fibras se encuentran, por ejemplo, el fascículo longitudinal inferior, el fascículo arqueado y cíngulo, el fascículo longitudinal superior y el fascículo occipitofrontal inferior.

- **Fibras de proyección**

Son fibras nerviosas que conectan la corteza cerebral con diferentes estructuras subcorticales. En la parte superior del tronco encefálico estas fibras forman una banda compacta denominada cápsula interna y en la parte dorsal constituyen la corona radiada. Estas fibras de proyección cruzan las fibras comisurales del cuerpo calloso formando una zona conocida como centro semioval.

La SG integra la información que recibe de otras regiones cerebrales y las procesa. Está formada por la corteza cerebral y estructuras subcorticales. La corteza cerebral está organizada por unidades funcionales especializadas que dependen activamente del conjunto de conexiones implicadas dentro del circuito o sistema. La organización y comunicación de estos subsistemas determinan nuestra identidad como seres únicos y diferentes (Seung, 2010). Las estructuras subcorticales se localizan en la parte central del encéfalo, en torno a los ventrículos laterales. Esta disposición estratégica permite que estén comunicadas con diferentes regiones corticales y subcorticales, proporcionando proyecciones de gran importancia funcional.

La técnica de dRM permite obtener información anatómica de las conexiones de la red neuronal basándose en movimiento restringido o del agua libre (Figura 3.2). En la SB este movimiento predomina en la dirección paralela al axón y está limitado en la dirección perpendicular al axón. Este tipo de difusión anisotrópica suele representarse geoméricamente como un elipsoide. En contraposición, el LCR muestra un ADC independiente de la orientación del tejido y, por tanto, la difusión es igual en todas las direcciones (difusión isotrópica o libre). Este tipo de difusión se representa como una esfera.

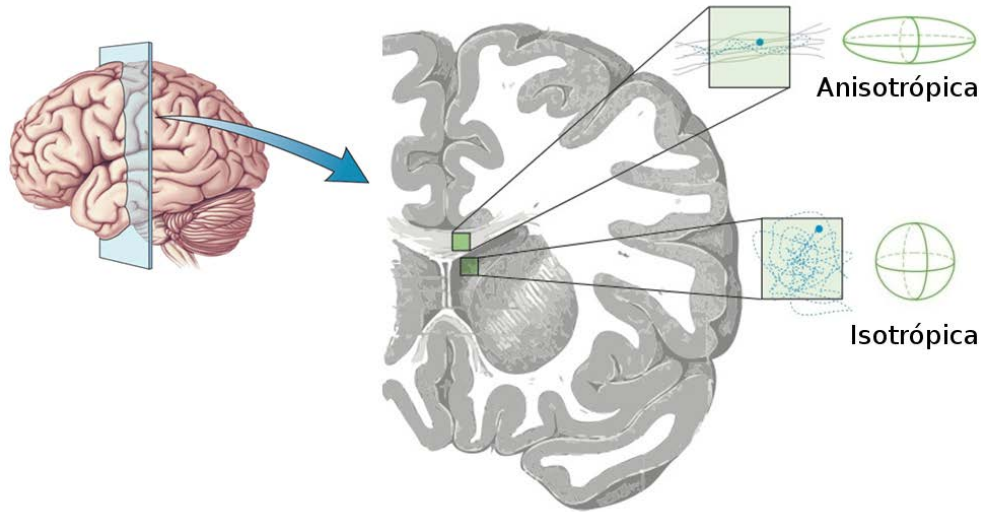


Figura 3.2: Difusión en los medios biológicos. Difusión anisotrópica: restringida en una o más direcciones (“elipsoide”). Difusión isotrópica o libre: igual en todas las direcciones (“esfera”). Figura adaptada del Brain’s Cortex and White Matter (Harvard).

3.1.3. Adquisición de secuencias de difusión

La secuencia de dRM requiere de gradientes magnéticos que permiten una excitación selectiva de los protones del agua en cualquier dirección del espacio. Con ello se excitan todos los vóxeles ¹ pertenecientes al plano perpendicular a la dirección del gradiente. Las moléculas de agua contenidas dentro del vóxel se mueven en la dirección del gradiente presentando un mayor desfase y por tanto una pérdida de señal. La pérdida de señal se describe por:

$$S = S(0) \cdot EXP(-b \cdot D) \quad (3.2)$$

Dónde: D es el coeficiente de difusión que caracteriza la movilidad de agua en el medio y b es el factor de difusión que depende de los gradientes de difusión empleados. Conociendo el valor de b y obteniendo las dos señales S y $S(0)$ se puede calcular el valor de difusión. El valor $S(0)$ corresponde al valor de la señal en ausencia de gradiente de difusión ($b=0$).

Para que la señal dependa únicamente de la movilidad de agua libre se aplica un par de pulsos de gradientes bipolares (+G_x/-G_x), según el diagrama presentado a continuación (Figura 3.3):

¹* *vóxel*: Es la unidad cúbica que compone un objeto tridimensional

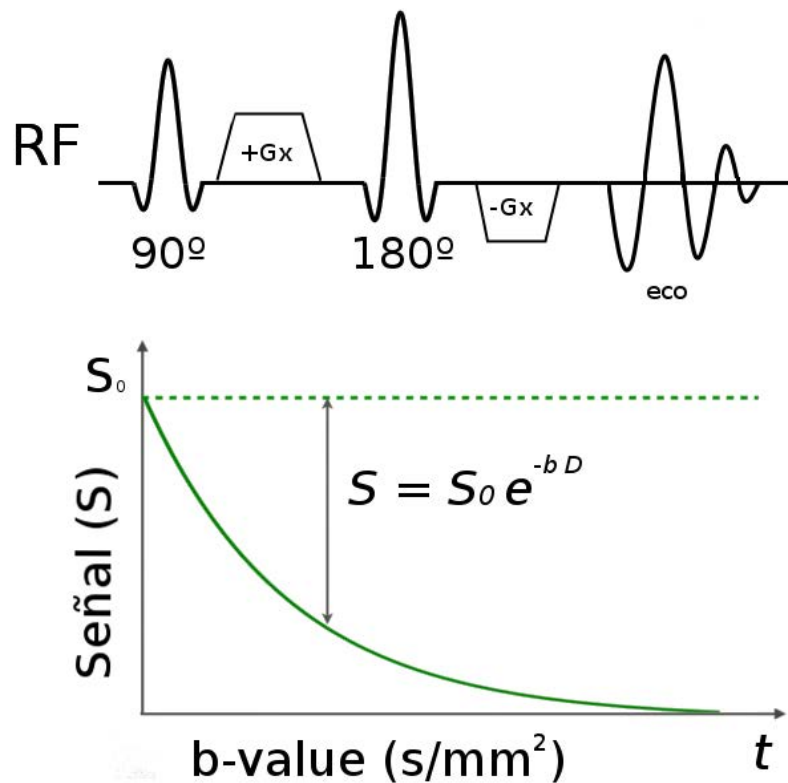


Figura 3.3: Diagrama de la secuencia de dRM. En primer lugar, el pulso de radiofrecuencia de 90° logra que todos los espines de los protones (momento angular de las partículas subatómicas) se muevan exactamente a la misma frecuencia. A medida que pasa el tiempo se crea un desfase progresivo de estos protones por la diversidad de los campos magnéticos que individualmente perciben los núcleos de cada vóxel, y se produce la atenuación de la señal. El pulso de 180° invierte la fase permitiendo quitar la influencia del desfase del gradiente de 90° y obtener una señal únicamente dependiente de la movilidad del agua en la dirección en la que se ha aplicado el gradiente. Los protones de las moléculas de agua no recuperan su fase y, como resultado, se produce esta pérdida de la señal. Este proceso permite obtener imágenes sensibles a la difusión y su medición se determina por medio de la duración y el intervalo de los gradientes. Figura adaptada de la presentación de Karla Miller: Temas avanzados sobre física por resonancia magnética.

Los pulsos de gradiente de forma trapezoidal, de igual amplitud y duración, se colocan antes y después del pulso de 180° separados por un intervalo de tiempo suficientemente largo para poder ser intercalados. El primer gradiente provoca un desfase y el segundo gradiente, exactamente opuesto al primero, permite recuperar la fase de la magnetización quitando la influencia del desfase del gradiente. Al final, la pérdida de señal después de aplicar el par de pulsos de gradiente será únicamente sensible al movimiento del agua libre a lo largo del eje de emisión del gradiente (Stejskal y Tanner, 1965). La intensidad de la imagen resultante como consecuencia de la amplitud y la forma de los pulsos de gradientes utilizados es regulada con el factor de difusión b . Cuanto mayor es su valor, mayor es el contraste de difusión del agua libre y cuanto más pequeño es su valor, menor sensibilidad a los movimientos de difusión. Si el valor del b es nulo ($b = 0$), no hay prácticamente movilidad de agua libre y, por tanto, los líquidos en reposo tienen una alta señal potenciada en T2. Este tipo de secuencia permite obtener imágenes potenciadas en difusión (*Diffusion Weighted Imaging, DWI*) según el eje de medida. Por ejemplo, si el gradiente se aplica a lo largo de la orientación horizontal (eje X), el movimiento de las moléculas de agua en ese eje será el único que proporcionará una pérdida de señal (Figura 3.4a).

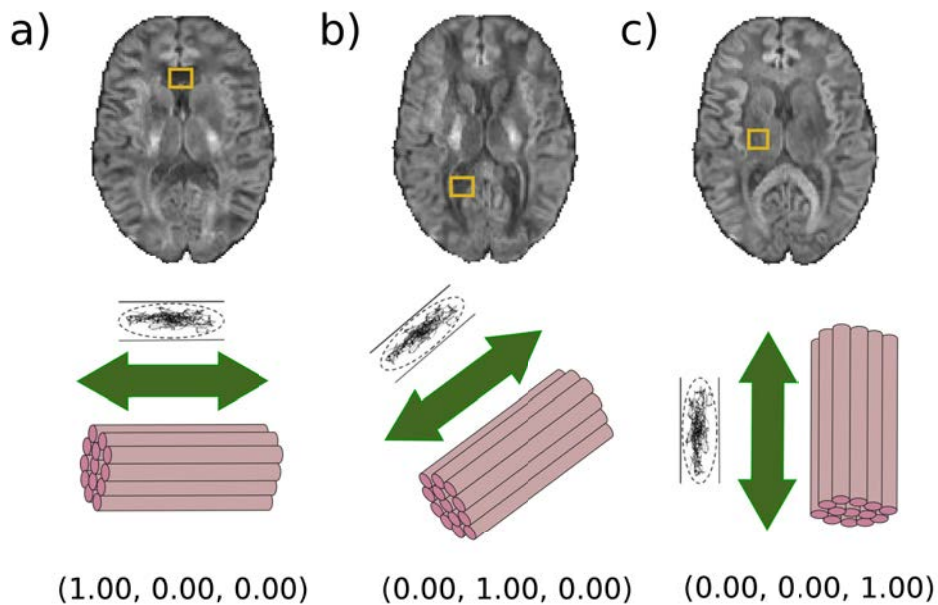


Figura 3.4: DWI activando los tres gradientes en tres diferentes direcciones de medida a) DWI_{xx} b) DWI_{yy} c) DWI_{zz} con un valor de b a 1000 s/mm^2 .

Las DWI dependerán, pues, de la señal obtenida por la secuencia T2 disminuida por el factor de difusión (b) en la dirección del gradiente. Los tejidos con gran difusión, como por ejemplo el LCR, obtienen una hipointensidad muy rápida cuando el valor del b se incrementa.

3.1.4. Desafíos y limitaciones de las secuencias de difusión

La secuencia de dRM presenta una elevada susceptibilidad a cualquier movimiento, lo que provoca la presencia de artefactos no deseados en la imagen. Para reducirlos, en parte, se emplean imágenes eco-planares (*Echo-Planar Imaging*, EPI). La técnica EPI fue descrita por (Mansfield y Pykett, 1978), sin embargo la utilización de esta técnica por RM se postergó debido a los exigentes requerimientos técnicos. La secuencia de dRM permite rellenar el espacio k^2 en un tiempo muy corto tras un único pulso de excitación. Sin embargo, estas secuencias presentan dos inconvenientes notorios:

- **Distorsiones geométricas**

Las imágenes EPI causan distorsiones geométricas en la reconstrucción final de la imagen por falta de homogeneidad del campo magnético. A lo largo de la adquisición de los ecos, los espines sometidos a distintos campos magnéticos locales van acumulando progresivamente mayor desfase, lo que conlleva variaciones en los gradientes de campo de codificación de la imagen (Jones, 2010). Esto origina que existan frecuencias adquiridas en posiciones erróneas de la imagen y pérdida de señal, especialmente en regiones de distinta susceptibilidad como en los lóbulos frontales inferiores y temporales. Para corregir la posición errónea de los vóxeles en estas regiones se emplean unas imágenes obtenidas por medio de la codificación de fase y magnitud. Estas imágenes denominadas mapas de gradiente de campo se utilizan para la posterior corrección de la distorsión geométrica (Jenkinson, 2003) (Figura 3.5).

^{2*} datos digitalizados depositados de forma ordenada y representados en valores de frecuencia espaciales

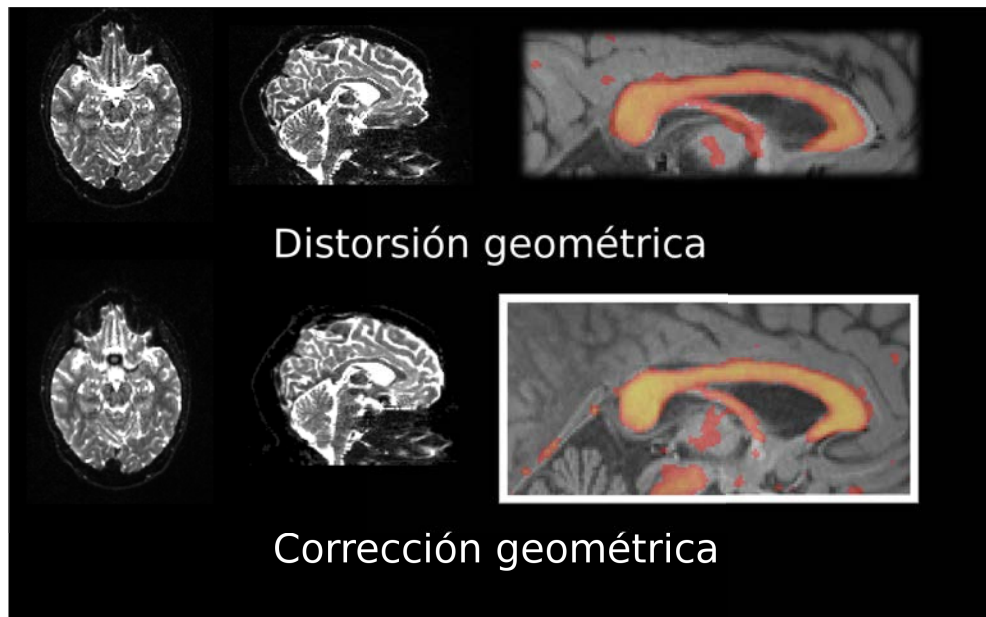


Figura 3.5: Distorsión geométrica de las imágenes EPI. Las imágenes crudas contienen distorsiones geométricas en regiones inferiores frontales y temporales. La corrección de la distorsión se lleva a cabo mediante los mapas de gradiente de campo. La obtención de estas imágenes resultan especialmente importantes para preservar la geometría de las DWI con su imagen estructural (véase el posicionamiento erróneo en el cuerpo calloso en la imagen superior).

- **Sensibilidad a los movimientos**

Los artefactos debidos al movimiento de la cabeza producen una mala alineación de las DWI y provocan estimaciones erróneas del movimiento de difusión. Para corregir este movimiento se utiliza un registro afín (rotación, traslación y cambio de escala) de todas las DWI a un volumen de referencia, normalmente sobre la imagen con ausencia de gradiente ($b=0$) (Reese et al., 2003). Otro movimiento que puede causar la aparición de artefactos es el causado por las vibraciones mecánicas debido a la aplicación rápida de las bobinas de gradiente. Este artefacto se localiza principalmente en el lóbulo parietal y afecta a los valores de difusión y a la posterior reconstrucción de las fibras de SB (Gallichan et al., 2010).

3.1.5. El tensor de difusión

El tensor de difusión fue descrito por (Basser et al., 1994) mediante una matriz de 3 x 3 elementos, compuesta por tres gradientes en las tres direcciones

ortogonales del espacio.

$$\begin{bmatrix} D_{xx} & D_{xy} & D_{xz} \\ D_{yx} & D_{yy} & D_{yz} \\ D_{zx} & D_{zy} & D_{zz} \end{bmatrix} \quad (3.3)$$

Los elementos diagonales de la matriz corresponden a la difusividad a lo largo de los tres ejes ortogonales en un vóxel, mientras que los elementos fuera de la diagonal se traducen como la interrelación entre los dos ejes. Dado que la matriz posee seis elementos diferentes (existe una simetría) es necesario un mínimo de 6 adquisiciones para obtener una medida del tensor. Para ello se adquieren 6 DWI en la dirección de difusión del eje del gradiente xx, xy, xz, yy, yz y zz con un único valor constante del b y una imagen con ausencia de gradiente ($b=0$).

El conjunto de valores de las DWI empleadas en la adquisición forman un conjunto de puntos circunscritos a una esfera (espacio q). La utilización de un mayor número de DWI está estrechamente relacionada con la precisión en el modelo de difusión. Por este motivo, se requiere un mínimo de 30 DWI para realizar una estimación robusta de la orientación del tensor (Jones, 2004). Dado que el tensor de difusión es de segundo orden y, por tanto, puede ser representado por una matriz, es posible descomponerlo en vectores y valores propios que definen la direccionalidad y magnitud del movimiento de las moléculas de agua en el espacio tridimensional (Basser et al., 1994). Los vectores que definen este sistema constituyen los tres vectores propios del tensor pertenecientes a las direcciones principales de difusión. Los valores propios se estiman cuando todos los elementos fuera de la diagonal de la matriz del tensor son nulos (Hasan et al., 2001), como se ve a continuación:

$$\begin{bmatrix} \lambda_1 & 0 & 0 \\ 0 & \lambda_2 & 0 \\ 0 & 0 & \lambda_3 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} e_1 \\ e_2 \\ e_3 \end{bmatrix} \quad (3.4)$$

El vector propio principal (e_1) describe la dirección principal de la difusión y está asociado al valor propio de mayor valor, λ_1 . λ_1 es la difusividad axial. El segundo y tercer vector propio (e_2 y e_3) se corresponden con los valores propios λ_2 y λ_3 . La difusividad radial se determina mediante λ_2 y λ_3 . Si los valores propios son significativamente diferentes entre sí, se interpretará que la difusión ocurre con mayor facilidad en una sola dirección y la forma del tensor será una elipsoide, con un semieje notablemente mayor que los otros dos (Figura 3.6).

Cuando todos los valores propios son aproximadamente equivalentes ($\lambda_1 = \lambda_2 = \lambda_3$) la difusión será isotrópica y es representada geoméricamente como una esfera. Así pues, la relación entre estos valores propios y los vectores ortogonales reflejan las propiedades del tensor de difusión.

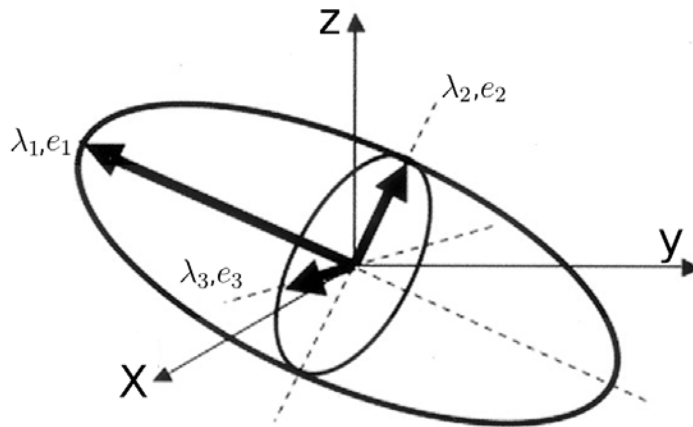


Figura 3.6: Imagen geométrica del tensor de difusión. Tensor de difusión representado por un elipsoide con una dirección de difusión preferente ($\lambda_1 \gg \lambda_2, \lambda_3$). Es el método más común para la visualización de los datos del tensor de difusión. Figura adaptada de (Jellison et al., 2004).

3.1.6. Imágenes por tensor de difusión

Las propiedades matemáticas del tensor de difusión permiten extraer imágenes cuantitativas útiles para reflejar las características de la difusión a partir de los valores propios (Bahn, 1999) (Figura 3.7):

- **Fracción de anisotropía**

Uno de los índices más comunes para describir el grado de anisotropía es la fracción de anisotropía (*Fractional Anisotropy*, FA) (Basser y Pierpaoli, 1996). La FA es una variable numérica independiente de la orientación de los gradientes cuyos valores oscilan entre 0 (máxima isotropía) y 1 (máxima anisotropía). La FA es mayor en la SB que en la SG y LCR, debido a que la movilidad del agua está altamente influenciada por la organización de las fibras nerviosas mielinizadas. Por ese motivo, el valor de FA es comúnmente

utilizado como marcador de integridad estructural (Beaulieu, 2002).

$$FA = \sqrt{\frac{(\lambda_1 - \lambda_2)^2 + (\lambda_1 - \lambda_3)^2 + (\lambda_2 - \lambda_3)^2}{2 \cdot (\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3)^2}} \quad (3.5)$$

- **Difusividad media**

La difusividad media (*Mean Diffusivity*, MD) es un promedio de los valores propios del tensor de difusión (Le Bihan et al., 2001).

$$MD = \frac{\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3}{3} \quad (3.6)$$

- **Difusividad axial**

La difusividad axial (*Axial Diffusivity*, AD) es una medida de difusión a lo largo del vector propio principal.

$$AD = \lambda_1 \quad (3.7)$$

- **Difusividad radial**

La difusividad radial (*Radial Diffusivity*, RD) es una medida del promedio de la difusión perpendicular al vector propio principal.

$$RD = \frac{\lambda_2 + \lambda_3}{2} \quad (3.8)$$

Las medidas extraídas de los valores propios no dan información de la direccionalidad pero han demostrado ser marcadores sensibles a cualquier cambio de la SB (Alexander et al., 2007). La combinación de la FA y del vector propio principal, e_1 , da una información precisa sobre la direccionalidad del proceso de difusión. Esta información se representa mediante un mapa de colores (*Red, Green, Blue*, RGB) donde cada color refleja la dirección predominante (rojo: izquierda–derecha; verde: anterior–posterior; azul: superior–inferior) y su intensidad es proporcional al valor de la FA.

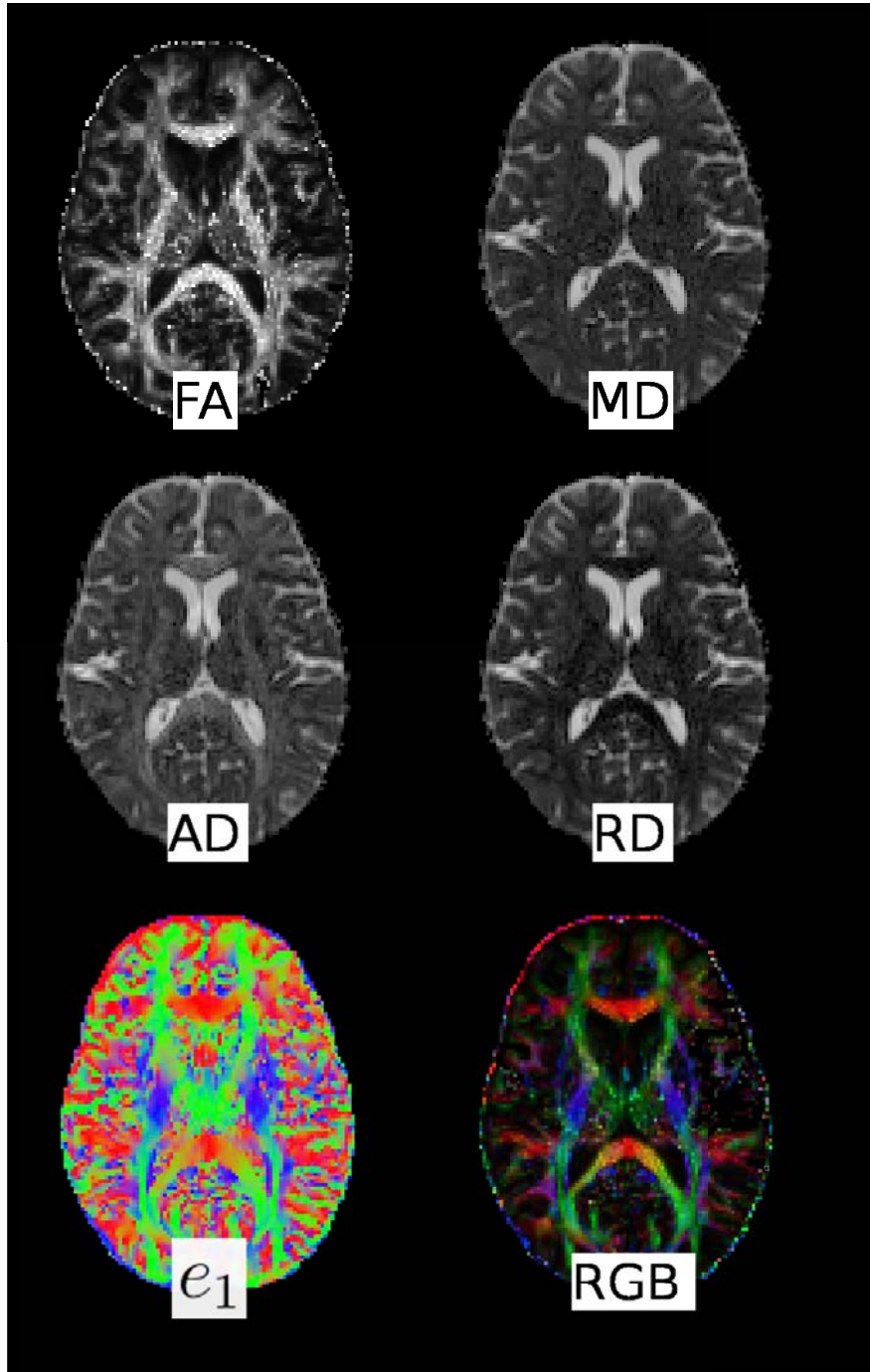


Figura 3.7: Parámetros derivados del tensor de difusión. Imágenes características de FA, MD, AD, RD. Información del vector propio principal (e_1) e imagen FA con la superposición del mapa de colores (RGB).

3.2. Tractografía

La tractografía es una de las herramientas más poderosas desarrolladas para facilitar la interpretación de la imagen por difusión a través de la visualización de las fibras de SB (Mori et al., 1999). El propósito principal de la tractografía es representar la configuración de la arquitectura de la SB mediante la integración de vías de máxima difusión. Los *streamlines*³ simulan las fibras de SB, pero en realidad representan líneas de difusión rápida que siguen la máxima difusión local. Esta distinción es importante porque si la relación señal/ruido y la resolución de la imagen no es óptima, la dirección de máxima difusión puede diferir de la anatomía real.

3.2.1. Tractografía por tensor de difusión

La tractografía permite reconstruir y visualizar en 3D la organización de la SB cerebral a partir de la información del tensor de difusión mediante algoritmos de seguimiento vóxel a vóxel. Estos algoritmos se basan principalmente en la suposición que la mayor difusión del vector propio principal, e_1 , es aproximadamente paralela a la dirección de las fibras nerviosas (Moseley et al., 1990). Mediante esta técnica, se pueden representar las conexiones existentes entre diferentes regiones de SG creando un mapa completo de la red cerebral a través de la reconstrucción de los *streamlines*. A través de la codificación de colores RGB se obtiene la información de la direccionalidad de las fibras, facilitando su visualización e identificación. Actualmente es una de las aproximaciones más utilizadas para evaluar la orientación e integridad de las redes anatómicas cerebrales “in vivo”.

El tensor de difusión se puede visualizar a través del vector propio principal o de los denominados *glyphs* (Margulies et al., 2013). El mapa vectorial nos permite visualizar la difusión a través de líneas de máxima difusión en cada vóxel, mientras que los *glyphs* muestran la direccionalidad y magnitud de los tres vectores dentro de cada vóxel mediante una forma geométrica (Figura 3.8). La asignación a través de una única forma geométrica de las líneas de difusión en cada vóxel de la imagen dificulta la detección de aquellos vóxeles donde las fibras se cruzan (Tuch et al., 2002).

^{3*} *streamlines*: reconstrucción de fibras artificiales basadas en los algoritmos de tractografía

La obtención de las trayectorias de los *streamlines* basándose en el eje principal del tensor se puede realizar mediante dos tipos de aproximaciones:

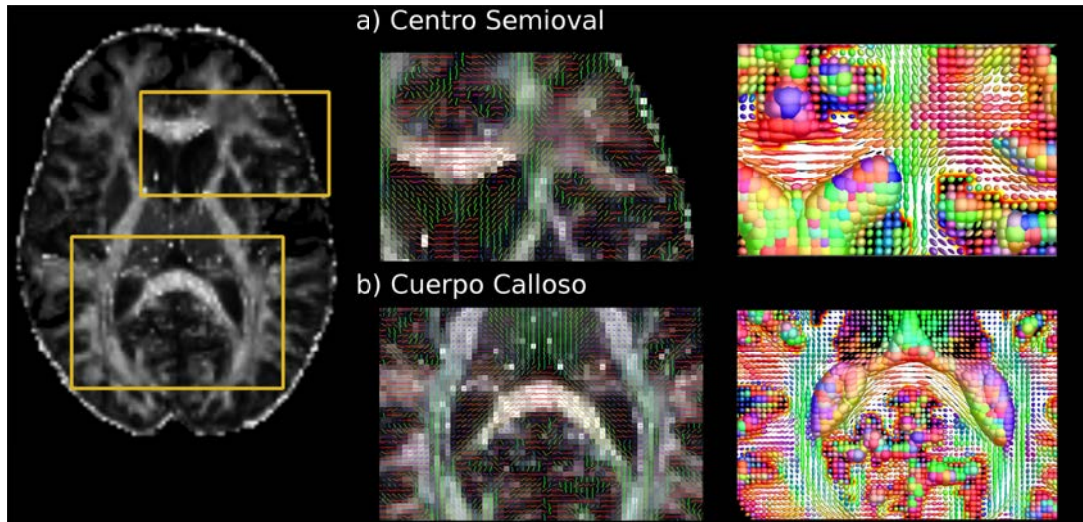


Figura 3.8: Mapa de FA con la representación del mapa vectorial del vector propio principal (figura izquierda) y *glyphs* (figura derecha). a) Centro semioval: región con un gran contenido de fibras que se cruzan. b) Cuerpo calloso: fibras comisurales de una única dirección y que no presentan cruce de fibras.

■ Tractografía determinista

Es una propagación lineal basada en la información local de imágenes por tensor de difusión (*Diffusion Tensor Imaging*, DTI) según unos umbrales específicos asignados manualmente (valor de FA, máxima inclinación...). El algoritmo más utilizado dentro de este grupo es el basado en la asignación de *streamlines* mediante un trazado continuo (Mori et al., 1999). Se han descrito otras aproximaciones fundamentadas por un estimador numérico para trazar la dirección del vector propio principal, como el algoritmo Euler o Runge-Kutta (Basser et al., 2000). Estos algoritmos funcionan correctamente en casos en los que la difusión es altamente anisotrópica (configuración de fibras fuertemente organizadas con una única direccionalidad), pero cuando hay regiones con más de una dirección principal contenida dentro del vóxel se produce una incertidumbre en la medida. La propagación de los *streamlines* se basa únicamente en los umbrales utilizados y, por tanto, un error de asignación se puede acumular a lo largo de toda la propagación de los *streamlines*. Este tipo de algoritmo únicamente da información binaria, 1 si

se le asigna al vóxel un *streamline* o 0 si no lo contiene. En otras palabras, refleja si hay conexión o no. Por tanto, un error de medida a través de la tractografía determinista puede crear *streamlines* que no se corresponden con la anatomía subyacente, haciendo de esta técnica una aproximación poco fiable para la aplicación clínica (Kinoshita et al., 2005).

- **Tractografía probabilística**

La tractografía probabilística incorpora un grado de incertidumbre en el algoritmo de trazado. El carácter probabilístico de este tipo de reconstrucción solventa el principal problema de la tractografía determinista al representar una densidad de probabilidad en la generación de los *streamlines*. Además, esta aproximación probabilística permite generar varios *streamlines* dentro de un solo vóxel, pudiendo trazar múltiples trayectorias contenidas dentro del vóxel en regiones de mayor incertidumbre. Este enfoque es de gran utilidad para la generación de ramificaciones propias de las fibras de SB. Sin embargo, el impedimento principal es que los resultados son difíciles de interpretar, ya que el seguimiento vóxel a vóxel no se basa en la anatomía existente. Este factor hace que se puedan generar *streamlines* erróneos con respecto a la verdadera anatomía, trazando trayectorias anatómicamente inverosímiles (Jones, 2010). Además, la conexión probabilística no cumple un criterio de simetría ⁴, y por tanto, no tiene una relación directa con el número y densidad de fibras (Friman y Westin, 2005; Sherbondy et al., 2008).

En general, la utilización del algoritmo de tractografía se basa en la asignación de una semilla como región de interés (*Region Of Interest*, ROI) a partir de la cual se generan los *streamlines*. Estas ROIs permiten generar *streamlines* en todo el cerebro (Figura 3.9a) utilizando como semilla una máscara binarizada de toda la SB del parénquima cerebral. También es posible generar tractos específicos de SB a través de la conexión entre dos ROIs pertenecientes a SG cortical o subcortical (Figura 3.9b).

^{4*} *criterio de simetría: dos regiones conectadas entre sí tienen que tener un mismo número de streamlines generados desde un punto u otro*

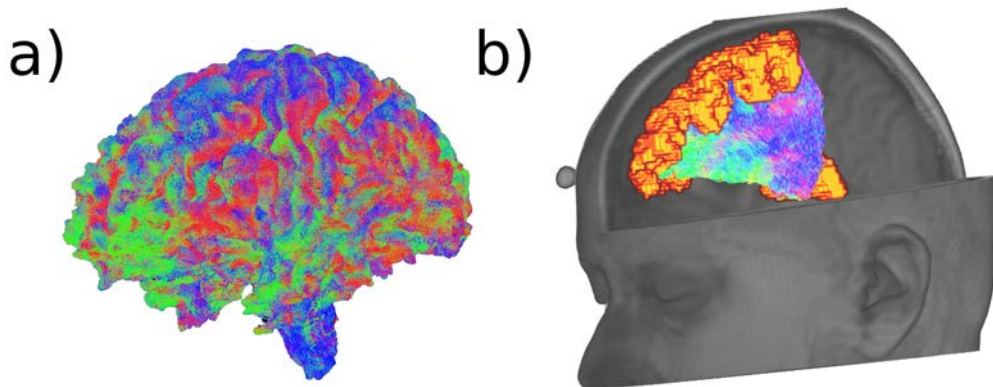


Figura 3.9: Tractografía. a) Tractografía cerebral con máscara binarizada de toda la SB y b) Tractografía de un tracto específico a través de la unión de dos regiones de interés (conexión de la región frontal superior con el tálamo).

Este procedimiento es de enorme utilidad para la medición de diferentes conexiones de SB, ya que permite estudiar la patología y anatomía subyacente de un determinado tracto específico o de toda la red cerebral (mirar apartado 3.3).

3.2.1.1. Limitaciones del tensor de difusión

Uno de los mayores obstáculos que aparecen al utilizar el modelo de DTI es la inexactitud al representar configuraciones complejas propias de la estructura local de la SB, como pueden ser los cruces, dobleces o dispersión de fibras, presentes en más del 90 % de los vóxeles (Jeurissen et al., 2013). Las diferentes direcciones que pueden presentar los haces de fibras contenidos en un solo vóxel hacen que los resultados tractográficos obtenidos mediante DTI sean poco fiables (Alexander et al., 2001; Tuch et al., 2003).

El problema de la tractografía por DTI radica en la utilización del modelo gaussiano, el cual no es capaz de solucionar las múltiples trayectorias de fibras presentes en un solo vóxel (Figura 3.10). El vector propio principal de la difusión refleja un promedio de las diferentes orientaciones de las fibras que puede no corresponder con la verdadera dirección de las fibras. En muchos casos, el efecto producido por el cruce de fibras es un vector propio poco definido. Por tanto, hay que tener especial precaución al utilizar parámetros derivados de DTI como marcadores de integridad axonal, ya que se puede malinterpretar los resultados obtenidos debido al efecto penalizador en este tipo de regiones (Beaulieu, 2002;

Jones, 2010; Wheeler-Kingshott y Cercignani, 2009). Además, la técnica de dRM tiene un ruido intrínseco que puede causar la aparición de numerosos falsos positivos (*streamlines* no correspondientes a fibras reales) y en menor medida falsos negativos (fibras reales no identificadas por medios tractográficos) (Behrens et al., 2007; Pierpaoli et al., 2001).

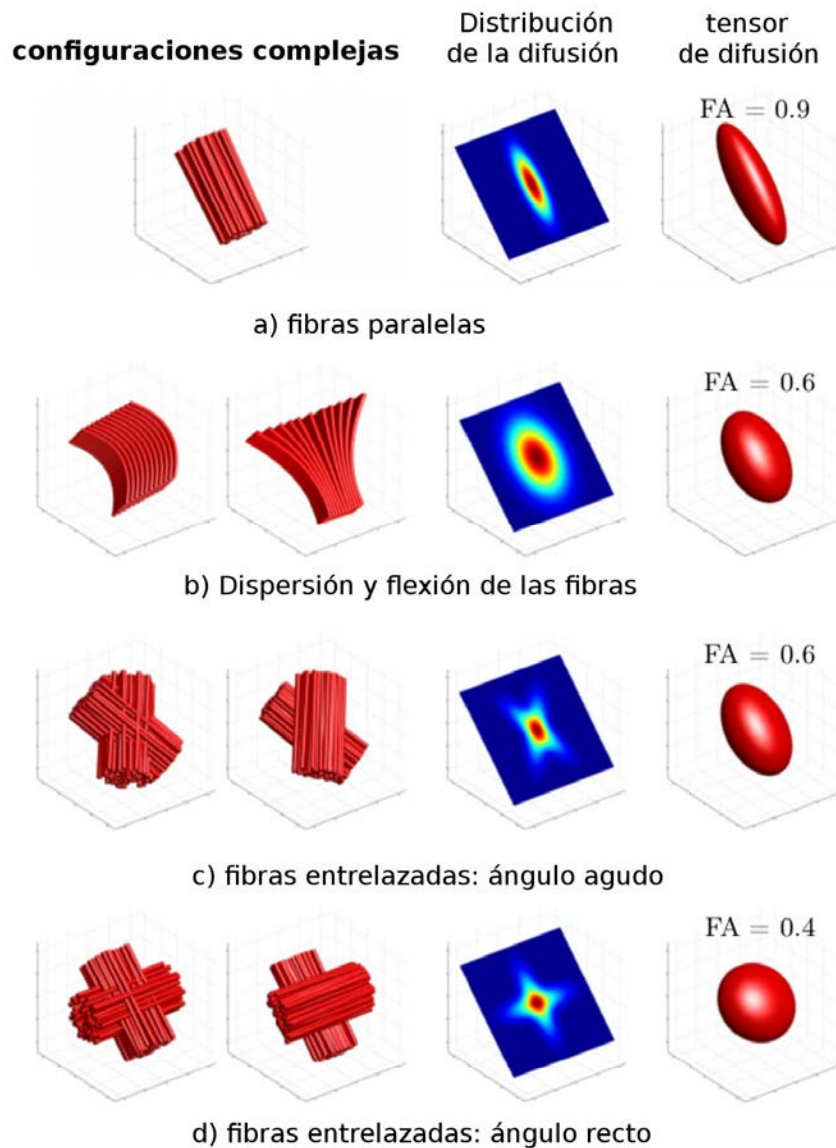


Figura 3.10: La estimación por DTI es poco sensible a los cambios en la configuración de las fibras. Figura adaptada de la tesis de (Jeurissen, 2012).

3.2.2. Tractografía por modelos avanzados

Para solucionar las limitaciones propias del modelo con DTI en regiones de cruce de fibras se han desarrollado numerosos modelos matemáticos sensibles a la medición local de la difusión. Estos algoritmos permiten aprovechar mejor la información contenida en el vóxel (Assemlal et al., 2011) utilizando métodos de reconstrucción basados en la variación de la difusión en función de la dirección de medición intravóxel. Estas mediciones requieren un alto grado de resolución angular (*High Angular Resolution Diffusion-weighted Imaging*, HARDI) para proporcionar una representación con mayor precisión de los vóxeles con más de una trayectoria de fibras.

La aplicación de DWI produce una difusión ponderada en función de la dirección de medición correspondiente a una posición (q_x, q_y, q_z) en el espacio q (Hagmann et al., 2006). Cada punto del espacio q representa una DWI dependiente de la intensidad y dirección del gradiente de difusión empleado (Figura 3.11a). La intensidad del gradiente de difusión viene regulada por el factor b . El valor de b puede aumentarse mediante el aumento de la duración y del valor del gradiente. Cuanto mayor es el valor b mayor potenciación en difusión y, por tanto, más sensible a los movimientos de difusión (mayor resolución angular). Sin embargo, el incremento del valor b presenta una peor relación señal/ruido.

El valor de b junto con la dirección de los gradientes de difusión permite crear un modelo que describe la probabilidad que una molécula de agua difunda en una dirección determinada en el espacio q . Este modelo reemplaza la representación del elipsoide, comúnmente utilizada en DTI, por una estimación de la función de distribución de orientación. Esta aproximación es de gran utilidad porque permite obtener máximos locales dentro del vóxel según su proceso de difusión (Tuch, 2004).

3.2.2.1. Modelo no-paramétrico

Este modelo no aplica hipótesis a priori sobre el proceso de difusión. En consecuencia, los perfiles de funciones de densidad de la orientación de fibras (*diffusion Orientation Density Function*, dODF) están directamente relacionados con el desplazamiento de las moléculas de agua. El inconveniente principal que presenta este

tipo de modelado es que necesitan un mayor tiempo de adquisición para poder adquirir una información detallada del proceso de difusión.

- **q-ball**

La estimación de dODF se realiza mediante el uso de la transformación de Funk-Radon (FRT) (Tuch, 2004). Los valores de las DWI forman un conjunto de puntos uniformemente distribuidos en la superficie de una esfera (espacio q) para un único valor de b . Los valores de señal muestreados en la esfera que se encuentran en el plano perpendicular a una dirección particular se suman para contribuir a la propagación de la dODF en aquella dirección; este procedimiento debe repetirse en muchas direcciones para identificar la dirección según la cual la probabilidad de desplazamiento es mayor (Campbell et al., 2005). La dODF tiene un único pico a lo largo de la dirección de la fibra en regiones con una única dirección. En regiones de cruces de fibras, la forma de dODF refleja la aparición de dos orientaciones diferentes, sin embargo, no logra separar los dos máximos locales independientes para cada dirección debido al suavizado empleado para resolver las funciones con valores de b relativamente bajos ($<3000 \text{ s/mm}^2$) (Cho et al., 2008) (Figura 3.11b).

- **Diffusion Spectrum Imaging**

El modelo *Diffusion Spectrum Imaging* (DSI) permite resolver las heterogeneidades intravóxel mediante un muestreo exhaustivo en el espacio q (Wedeen et al., 2005). Este método es sensible a la difusión restringida porque muestra una amplia gama de valores con diferente valor de b ($b=0-12000 \text{ s/mm}^2$). Sin embargo, los requerimientos que conlleva la adquisición de numerosas imágenes de difusión (>500 DWI) provoca la existencia de ruido intrínseco y movimiento por parte de la persona dentro de la RM debido al largo tiempo de adquisición (aproximadamente entre 45-60 minutos). Aunque esta aproximación permite obtener una mayor precisión de la dODF, requiere de un postprocesado más complejo. Además, las dificultades inherentes del modelo DSI obstaculizan la aplicación “in situ” para el ámbito clínico.

Para reducir estos inconvenientes que presentan los modelos no-paramétricos, se han desarrollado nuevos modelos basados en una suposición a priori

del proceso de difusión. Esto permite una reducción del tiempo de adquisición y, por tanto, una posible aplicabilidad en el ámbito clínico.

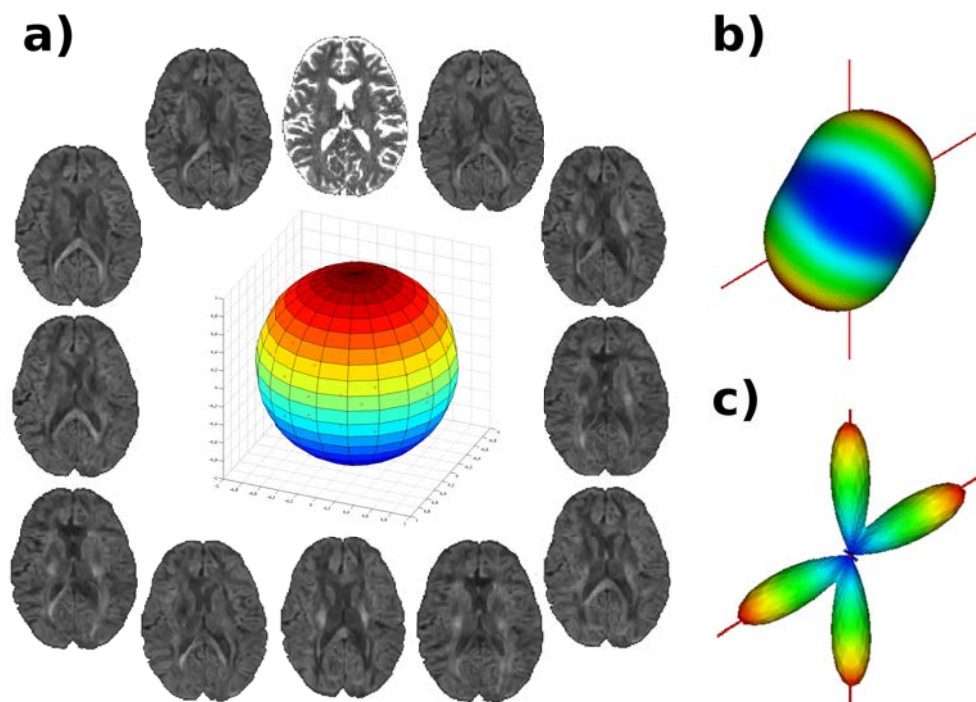


Figura 3.11: Representación del espacio q para crear la medición local del proceso de difusión con HARDI. a) Conjunto de valores del gradiente de cada DWI formando un conjunto de puntos circunscritos en una esfera. b) La dODF (modelo no-paramétrico) muestra una distribución sin máximos locales bien definidos. c) El fODF (modelo paramétrico) muestra dos máximos locales muy diferenciados representando las dos direcciones diferentes del proceso de difusión.

3.2.2.2. Armónicos esféricos

Esta técnica (*Spherical Harmonics*, SH) está dirigida a medir las diferentes direcciones del proceso de difusión y reducir el ruido en las DWI a través de la variación espacial de un conjunto ortonormal de funciones. Los SH permiten formar distintos canales para caracterizar la anisotropía en un sistema heterogéneo, determinando la magnitud y la dirección de difusión de más de un componente. Típicamente, esta función se puede expresar como un sumatorio de polinomios ortogonales para representar las deformaciones de los distintos efectos de la difusión en una esfera unitaria (Descoteaux et al., 2007). Si usamos la siguiente definición

se puede enunciar dicho teorema de adición de SH mediante la siguiente expresión:

$$S(\theta, \phi) = \sum_{l=0}^{\infty} \sum_{m=-l}^l c_l^m \cdot Y_l^m(\theta, \phi) \quad (3.9)$$

La adición de cada componente SH (Y_l^m) permite caracterizar distintos canales de distinta magnitud y con diferentes ángulos mediante un nombre infinito de funciones armónica esféricas de orden l y grado m ($l = 0, 2, 4, \dots$ y $m = -l, \dots, 0, \dots, l$) (Figura 3.12). Esta estimación de la orientación y la magnitud de la difusión intravóxel muestra con mayor claridad la presencia de múltiples direcciones en un sistema de coordenadas esféricas ($\theta \in [0, \pi]$, $\phi \in [0, 2\pi]$). El orden de los SH se basa en el número de mediciones de DWI para poderlo caracterizar a través de la siguiente fórmula:

$$N = \frac{1}{2}(l_{max} + 1)(l_{max} + 2) \quad (3.10)$$

La N es la representación del número de mediciones requeridas para caracterizar el orden de SH. Por tanto, si queremos obtener 6 componentes es necesario un mínimo de 28 DWI. Si queremos incrementar a 8 componentes se requerirá un mínimo de 45 DWI.

Es importante señalar que el orden de l_{max} depende de la direccionalidad de las fibras dentro de un solo vóxel y siempre será par. Los órdenes impares representan artefactos y pueden eliminarse del análisis. Para un haz de fibras estrechamente alineado en una sola dirección es suficiente con el mínimo orden de magnitud para poder caracterizarlo ($l_{max} = 2$). Sin embargo, con la presencia de un número mayor de fibras es necesario un orden de magnitud mayor, $l_{max} \geq 4$.

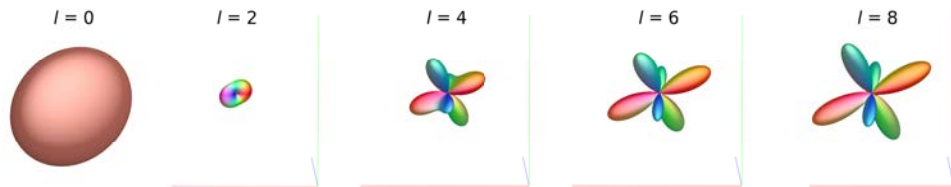


Figura 3.12: Cambio de orden del SH. Cada orden representa un armónico esférico individual. Los SH de orden más bajo ($l < 4$) presentan una peor estimación en la fODF en regiones con presencia de cruce de fibras.

3.2.2.3. Modelo paramétrico

El modelo basado en una hipótesis a priori permite caracterizar las regiones con cruce de fibras de forma más nítida (Figura 3.13) (las diferentes fibras pueden ser descritas por un mismo perfil de señal, *fibre response*) (Tournier et al., 2004). Esta suposición es capaz de reducir el coste que conlleva una información detallada del proceso de difusión y proporciona una estimación de la señal de difusión basada en un modelo explícito. El modelo basado en la deconvolución esférica restringida (*Constrained Spherical Deconvolution, CSD*) es uno de los más utilizados en la actualidad (Dell'Ácqua et al., 2007; Tournier et al., 2007, 2008). Dentro del modelo CSD, la señal de difusión se asume como la convolución de la función de distribución de la orientación de fibras (*fiber orientation distribution function, fODF*) y la *fibre response*.

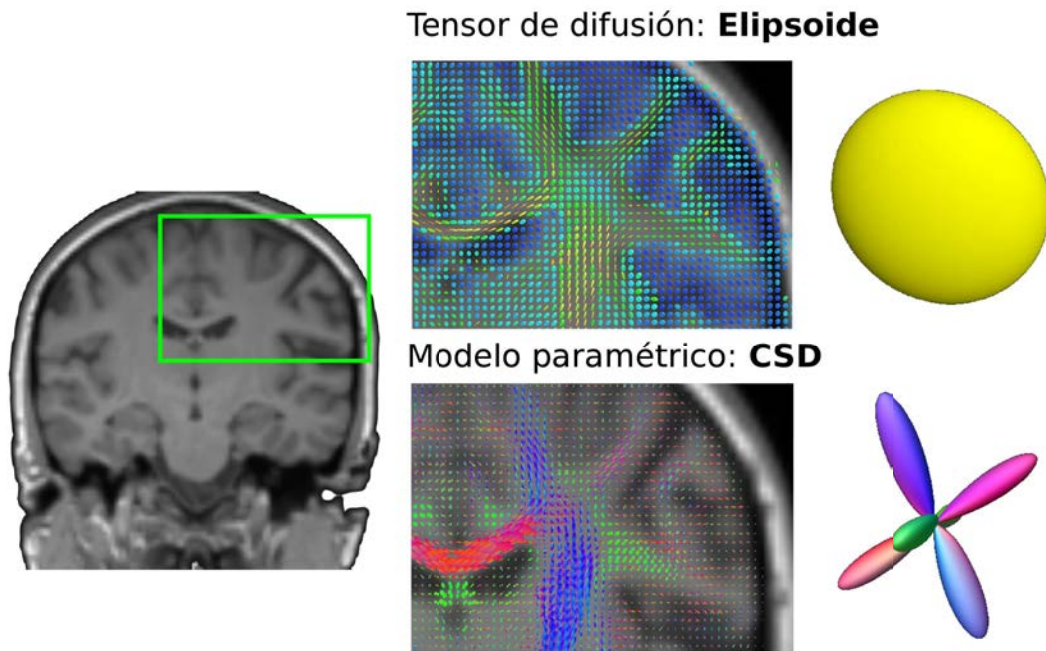


Figura 3.13: Región de arquitectura compleja con muchas fibras que se cruzan entre ellas. El modelo gaussiano de tractografía por DTI no es sensible a la presencia de múltiples direcciones de fibra dentro de un único vóxel. La fODF es una medida capaz de aportar una mayor información en el cruce de fibras.

La CSD permite revertir este proceso y deconvolucionar la señal medida con la *fibre response* con el fin de obtener fODF. La solución es lineal y utiliza SH

(Anderson, 2005; Healy et al., 1998) para parametrizar la señal y la función de *fibre response*. Una ventaja clara sobre las técnicas no-paramétricas es que el resultado de CSD es una estimación directa de la fODF. La utilización del CSD incorporó términos de regularización para producir un resultado sin presencia de picos no deseados debido al ruido y la eliminación de máximos locales negativos en la fODF, manteniendo la alta resolución angular (Assemlal et al., 2011; Tournier et al., 2007). Esta implementación posterior permitió obtener una mayor precisión y exactitud en la estimación del fODF con valores de b relativamente bajos, pudiendo mejorar notablemente la reconstrucción en regiones de alto contenido de cruce de fibras con secuencias habituales de la práctica clínica.

3.2.2.4. Limitaciones de la tractografía por modelos avanzados

A pesar del salto cualitativo al emplear modelos avanzados para identificar las diferentes fibras en un único vóxel, la aparición de *streamlines* anatómicamente aberrantes es muy significativa en algoritmos de mayor complejidad. La organización de los axones contenidos en el vóxel puede ser más compleja que un simple cruce de fibras, y por tanto, los *streamlines* reconstruidos mediante técnicas avanzadas pueden ser imprecisos y propensos a errores (Jbabdi y Johansen-Berg, 2011). Por ejemplo, una colección de axones que se encorven en un vóxel creará un patrón de difusión que puede no ser fácilmente distinguible mediante fODF. Además, es fácil imaginar situaciones aún más complejas, en las que todas las configuraciones (dispersión, flexión y fibras entrelazadas) se producen en un mismo vóxel. Esta complejidad en la estructura de las fibras hace que los algoritmos de reconstrucción fallen y presenten numerosos falsos positivos (Campbell et al., 2014).

Recientemente se han desarrollado nuevos métodos basándose en la información obtenida de la imagen estructural para reducir las imprecisiones propias de la tractografía. Uno de los más utilizados es la tractografía restringida anatómica (Smith et al., 2012), que permite generar *streamlines* biológicamente más realistas respecto a la anatomía subyacente a partir de restricciones basadas en un conocimiento anatómico. Sin embargo, a pesar de la notable mejora en la técnica de reconstrucción (Girard et al., 2014; Smith et al., 2012), el problema de *streamlines* no correspondientes a la verdadera anatomía cerebral persiste.

Para validar los resultados tractográficos en el cerebro humano es necesario compararlos con un atlas representativo contenido en un sistema de coordenadas común (Figura 3.14) (Catani y Thiebaut de Schotten, 2008) y que haya sido obtenido con técnicas histológicas o similares. Sin embargo, esta metodología de validación en estudios tractográficos ha sido rara vez utilizada (Azadbakht et al., 2015; Clatworthy et al., 2010; Knösche et al., 2015). Asegurar la correspondencia anatómica a través de los atlas ayudará a conocer y tratar de reducir las imprecisiones propias de la tractografía (Gouttard et al., 2012).

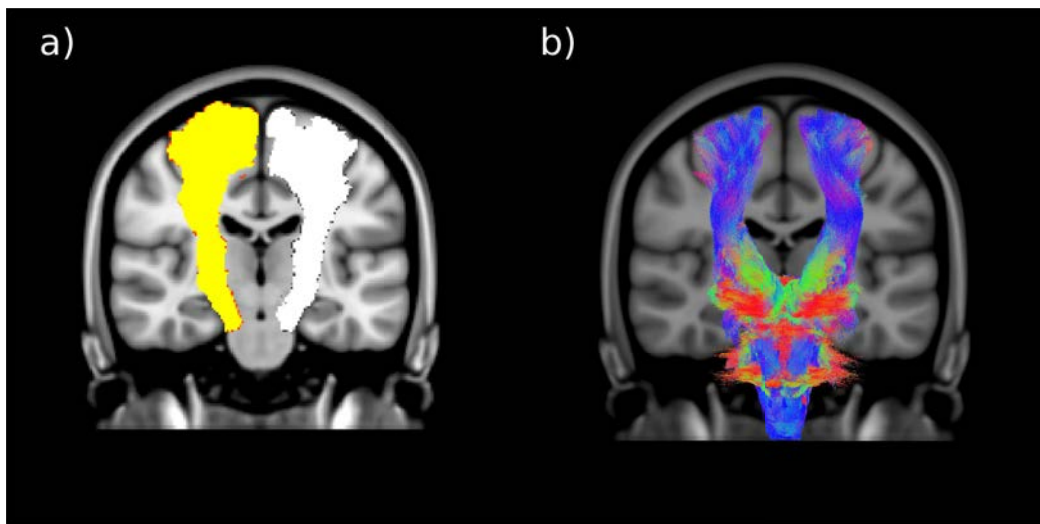


Figura 3.14: Tracto corticoespinal en el espacio común a) Atlas creado por el Laboratorio anatómico de la universidad Johns Hopkins. b) Reconstrucción mediante técnicas tractográficas.

3.3. Conectividad cerebral

Uno de los desafíos más grandes para los neurocientíficos en esta última década es descifrar la intrincada red de conexiones cerebrales que permite la comunicación entre diferentes sistemas o conjunto de neuronas. El sistema nervioso se organiza mediante una red o circuito conectado por un conjunto de vías formadas por miles de haces de axones que permiten la transmisión de la información en direcciones específicas. Muchas de estas conexiones de distinta procedencia convergen o divergen en regiones interconectadas estructural y funcionalmente.

Para llevar a cabo el procesamiento y el flujo de la información es necesaria la cooperación e integración de distintas áreas especializadas. De esta forma, el cerebro es capaz de ejecutar tareas complejas, llevando a cabo simultáneamente varios procesos de diferente funcionalidad y complejidad. Esta dicotomía basada en la segregación e integración funcional confiere al cerebro la particularidad de generar muchos procesos conjuntos empleando múltiples subsistemas simultáneos a través de pocos recursos (Behrens y Sporns, 2012).

Esta capacidad de integrar áreas funcionales segregadas en el cerebro depende de la organización estructural. Trazar todas las trayectorias posibles que emergen de las distintas regiones mediante técnicas de dRM ha permitido caracterizar la organización jerárquica de la red cerebral “in vivo” (Rubinov y Sporns, 2010).

3.3.1. Representación y análisis

El análisis de los conectomas ⁵, por medio de los nodos (regiones de SG cerebral) y aristas (fibras de SB) que componen la red (Amaral y Ottino, 2004), nos permite caracterizar las conexiones anatómicas entre estructuras cerebrales basándose en la información contenida en la dRM. Sin embargo, su utilidad dependerá del marco propuesto y de la metodología utilizada (Tournier et al., 2012). De esta manera, utilizar una metodología óptima y tener en posesión imágenes de buena calidad es imprescindible para la obtención de conectomas más precisos y verosímiles.

3.3.1.1. Nodos

La subdivisión de la SG cerebral en nodos que forman la red cerebral es una tarea compleja, ya que no hay un acuerdo sobre la mejor manera de definir las regiones corticales y subcorticales que componen el cerebro. Muchos estudios utilizan atlas anatómicos específicos (Desikan et al., 2006; Fischl et al., 2004; Klein y Tourville, 2012), pero, el estudio de la relación con las funciones cerebrales superiores requiere de otros nodos que integren estructura y funcionalidad al mismo tiempo (Diez et al., 2015; Glasser et al., 2016). De esta forma, la definición

^{5*} *conectoma: diagrama de conexiones de SB entre todas las áreas corticales y subcorticales del cerebro a escala macroscópica*

de los nodos que forman la red es de vital importancia para la interpretación de la conectividad cerebral que se pretende estudiar y condiciona el conjunto de aristas que los une.

3.3.1.2. Aristas

Las aristas que unen los nodos de la red se obtienen por medio de la tractografía y pueden ser estimadas como una medida de evidencia de conexión (tractografía probabilística) o como el número de conexiones que une los diferentes nodos (tractografía determinista y tractografía probabilística). Desafortunadamente, los *streamlines* individuales no representan axones reales y su estimación varía dependiendo de la complejidad del algoritmo de reconstrucción (Tournier et al., 2012). Una de las mayores limitaciones es pues, la obtención de datos cuantitativos verosímiles sobre la microestructura de las fibras de SB. A pesar del creciente desarrollo de algoritmos más eficientes, la estimación de las características del tejido neuronal subyacente (número y densidad de fibras) presenta numerosos obstáculos en la actualidad (Daducci et al., 2016). Como consecuencia, las aristas han sido evaluadas mediante otras medidas adicionales como las derivadas de DTI (Irimia et al., 2012b). A pesar de las limitaciones propias del tensor de difusión para la reconstrucción en la tractografía, el modelo del tensor es respaldado en numerosos estudios (Batalle et al., 2012; Bohlken et al., 2016; Shu et al., 2011; van den Heuvel y Sporns, 2011) debido a la sensibilidad en el fenómeno patológico subyacente (Wandell, 2016).

3.3.2. Teoría de grafos y visualización

Es posible utilizar la teoría de grafos para estudiar la organización y la estructura de la conectividad cerebral (Rubinov y Sporns, 2010; Sporns et al., 2005). La teoría de grafos se utilizaba previamente en el campo de las matemáticas para caracterizar las propiedades típicas de las redes, sin embargo, demostró ser una herramienta sensible para detectar alteraciones en las patologías cerebrales al proporcionar aspectos de la estructura local y global de las conexiones de SB (Reijneveld et al., 2007; Stam et al., 2007). Estudios recientes, basados en la teoría de grafos, demuestran que el cerebro no puede ser considerado simplemente como

una gran red en la que todos los nodos y aristas están interconectados, sino más bien una colección jerárquica de redes de ámbito local que cooperan paralelamente y son capaces de optimizar la información por medio de diferentes módulos locales (principio conocido como *small-world*) (Bassett y Bullmore, 2006).

La teoría de grafos ha posibilitado, pues, examinar la estructura global y local de la red cerebral mediante el empleo de un marco teórico por medio de los siguientes índices (Figura 3.15):

- **Fortaleza del nodo**

Es el número total de aristas que conectan con cada nodo. Esta medida aporta información sobre los nodos altamente conectados que constituyen un núcleo denominado *hub*.

- **Eficiencia global/local**

Es el promedio de caminos más cortos que permiten integrar los diferentes subsistemas de la red.

- **Longitud del camino más corto**

Aporta información sobre el grado de proximidad entre nodos pudiendo integrar de forma más eficiente la información entre diferentes subsistemas.

- **Grado de clusterización**

Explica el grado de conexión existente entre los nodos cercanos indicando el nivel de conexión local de la red.

- **Centralidad**

El nivel de centralidad indica cuántas de las vías más cortas existentes dentro de la red pasan por un nodo específico. Si un nodo tiene un nivel alto de centralidad lo señala como un posible *hub* en el conjunto de la red.

- **Modularidad**

La modularidad de un grafo describe el grado en el que grupos de nodos del sistema están conectados entre ellos, lo cual indica la formación de subsistemas dentro de la red.

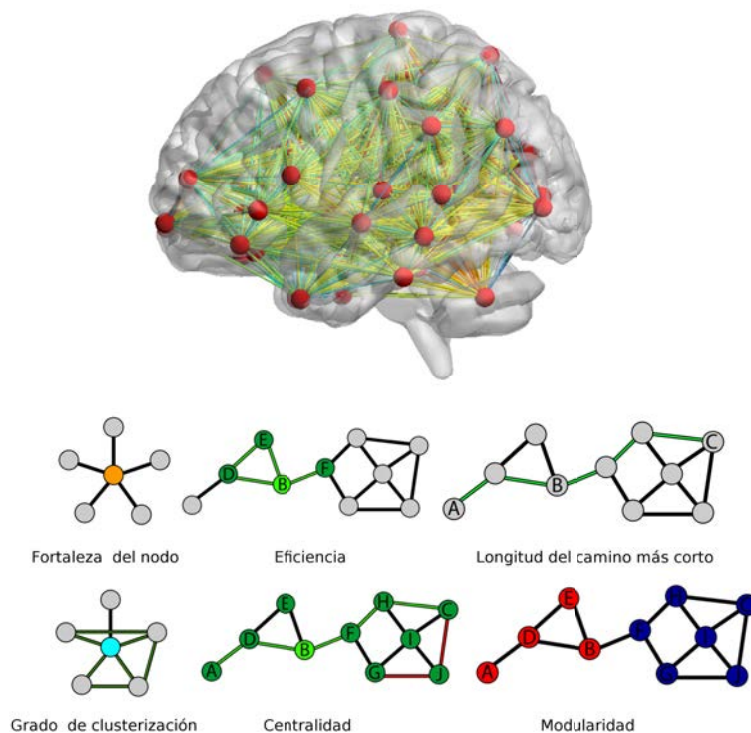


Figura 3.15: Teoría de grafos. Índices para el estudio de la conectividad estructural.

El análisis de grafos permite alcanzar una representación gráfica de la red cerebral (Figura 3.16a). Sin embargo, almacenar esta información geométrica es poco eficiente y el uso de matrices complementarias a las características del grafo se ha impuesto para el análisis de las redes. La estructura de matrices de adyacencia ⁶ es única para cada grafo y asocia cada fila y cada columna a los nodos del sistema, siendo los elementos que la componen el número o la información contenida de las aristas (Figura 3.16b). Actualmente, se han diseñado numerosos métodos para poder integrar toda la información contenida de la conectividad estructural cerebral a través de distintas herramientas de visualización. Una de las representaciones esquemáticas más novedosas es el conectograma (Irimia et al., 2012a), que permite representar la estructura cerebral de forma circular (Figura 3.16c). Este diseño incorpora todos los nodos del sistema alrededor de un círculo, y en el centro del círculo, se ilustra la fortaleza de las conexiones a través del número de líneas interconectadas.

^{6*} *Matriz de adyacencia: Es una matriz cuadrada, simétrica y con una diagonal formada por ceros*

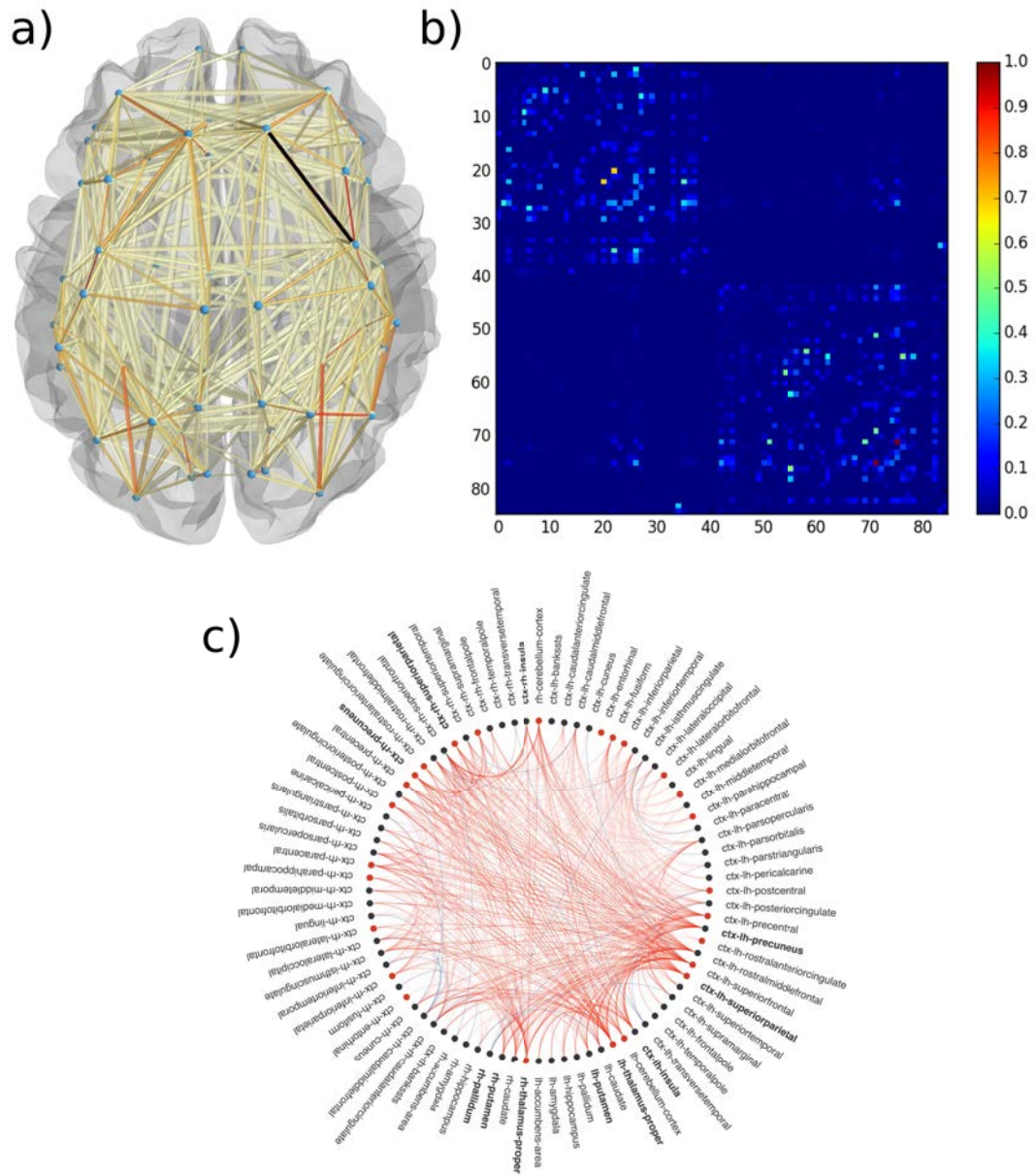


Figura 3.16: Representación esquemática de la conectividad estructural mediante: a) una gráfica de nodos y aristas. Figura creada con BrainNet Viewer (<http://www.nitrc.org/projects/bnv/>) b) una matriz de adyacencia. Los elementos fueron normalizados entre un rango de $[0,1]$ c) un conectograma. Figura creada con la librería Bokeh para python (<http://bokeh.pydata.org/en/latest/>) (Martínez-Heras et al., 2015).

3.3.3. La conectividad estructural y conducta

El desarrollo de las técnicas de neuroimagen ha permitido estudiar la relación entre cerebro y conducta. De este modo, disciplinas científicas, como la neurociencia cognitiva, tienen como objetivo el estudio del sustrato biológico y fisiológico de la conducta.

A diferencia de nuestro genoma, que se haya fijado desde el momento de la concepción, el conectoma cambia a lo largo de toda la vida a través de vivencias y aprendizajes. No sabemos a ciencia cierta cómo se produce este cambio pero existen evidencias científicas que ponen de manifiesto nuestra capacidad para modelar nuestro conectoma. Lejos de ser un sistema estático de elementos interconectados, el conectoma cerebral es un órgano dinámico que se desarrolla y cambia continuamente en respuesta a las demandas del entorno y nos hace individuos únicos y diferentes (Seung, 2010).

El cerebro es capaz de introducir cambios mediante el aprendizaje y la memoria implicando una gran diversidad de estructuras cerebrales diferenciadas anatómicamente y funcionalmente. En base al principio de Hebb (Clark, 1950) esta capacidad de adaptación o plasticidad cerebral confiere al conectoma una cualidad única que le permite fortalecer o debilitar sus conexiones según sus necesidades. Siguiendo este principio, el aprendizaje y entrenamiento de tareas cognitivas conllevaría a fortalecer la conectividad entre estructuras cerebrales implicadas en los procesos cognitivos. Estos mecanismos de plasticidad están mediados por la teoría de la reserva cognitiva y cerebral (Sporns, 2011).

Actualmente la RM funcional es una de las técnicas más utilizadas en la neurociencia cognitiva, ya que proporciona información cuantitativa y cualitativa de las relaciones entre cerebro y conducta (Rosazza y Minati, 2011). La RM funcional permite estudiar “in situ” las regiones que se activan al realizar una tarea o en situación de reposo (*default mode*) (Raichle et al., 2001)⁷. Sin embargo, la resolución espacial de la RM funcional es muy baja y no aporta información sobre cómo las diferentes áreas cerebrales se comunican entre sí anatómicamente. Estas regiones interconectadas funcionalmente de manera sincronizada no tienen en cuenta la anatomía cerebral subyacente, es por ello, que la integración de la

⁷* *Default mode network (DMN): red formada por una serie de regiones que se activan simultáneamente durante el estado de reposo*

información a través de las conexiones estructurales es objeto de estudio en la actualidad.

3.4. Esclerosis Múltiple

La esclerosis múltiple (EM) es una patología inflamatoria y neurodegenerativa crónica que afecta al SNC (Calabresi, 2004) y es una de las causas más importantes de discapacidad tanto física como cognitiva en adultos jóvenes. Las causas de la enfermedad son desconocidas aunque diversos factores ambientales y genéticos parecen explicar gran parte de la epidemiología y la patogenia de la enfermedad (Koch et al., 2013).

Una de las características más comunes de la EM es la presencia de lesiones en el SNC. Si bien las lesiones típicas se presentan en la SB, existen lesiones localizadas en regiones de SG cortical y subcortical. Además, fuera de las lesiones focales también existe un daño microestructural en la SB o SG de apariencia normal. El daño producido por las lesiones y la afectación microestructural difusa son los principales componentes que explican la presencia de atrofia cerebral (Steenwijk et al., 2014) y se asocian de forma moderada con el grado de discapacidad física y cognitiva en los pacientes (Filippi et al., 2010).

La EM es una enfermedad muy heterogénea, tanto en su presentación como en su evolución y respuesta al tratamiento. La primera fase se caracteriza por episodios de inflamación transitoria en forma de brotes de disfunción neurológica. Tras los episodios existe una recuperación o mejoría de las funciones neurológicas asociada al proceso de remielinización de las lesiones (Lassmann et al., 2012). Sin embargo, este proceso de recuperación puede ser incompleto, contribuyendo a la presencia de una discapacidad residual (Hirst et al., 2008) que va principalmente asociada al grado de daño axonal. En una fase más tardía, el paciente tiende a acumular discapacidad de forma progresiva. En este periodo predominan los fenómenos de neurodegeneración sobre la inflamación.

Se distinguen varios subtipos de EM según la evolución de la enfermedad:

- **EM remitente-recurrente (EMRR)**

Es la forma más habitual de presentación de la enfermedad ($\approx 80\%$). Los pa-

cientes presentan brotes de forma impredecible con una recuperación parcial o total de los síntomas. La enfermedad puede estar inactiva largos períodos de tiempo (Inusah et al., 2010), aunque el número de brotes es muy variable de un paciente al otro.

- **EM primaria progresiva (EMPP)**

Es menos frecuente y sólo afecta al 10% de los pacientes con EM. Los pacientes presentan una discapacidad progresiva desde el inicio de la enfermedad, aunque en algunos casos pueden existir brotes concomitantes (EM recurrente progresiva). Sus particulares manifestaciones clínicas y fisiopatológicas la hace un subtipo de enfermedad distinta a las formas recurrentes (Antel et al., 2012).

- **EM secundaria progresiva (EMSP)**

La discapacidad empeora de forma sostenida independientemente de los brotes y suele presentarse tras años de evolución (Compston et al., 2008). Puede desencadenarse después de una fase remitente-recurrente ($\approx 25\%$) y se considera una forma avanzada de la EM.

Recientemente se ha actualizado la clasificación de los fenotipos (Jacques, 2015) y aquellos pacientes con un síndrome clínico aislado que presentan un primer brote de la enfermedad se consideran como un subgrupo diferenciado de EMRR. La nueva clasificación en EM progresiva incluye las formas EMSP y EMPP. La enfermedad se considera inactiva si no hay cambios clínicos ni radiológicos o de progresión y no existe un empeoramiento neurológico.

Las manifestaciones neurológicas de la enfermedad pueden diferir, ya que dependen de la localización de los episodios inflamatorios en el SNC y el predominio del daño axonal. Así, los pacientes pueden presentar déficits en las funciones visuales, sensitivas, motoras y cognitivas.

3.4.1. Disfunción cognitiva

La disfunción cognitiva en la EM puede estar presente desde etapas iniciales de la enfermedad pudiendo ocasionar problemas para el funcionamiento personal, social y laboral de los pacientes (Rao et al., 1991; Richardson et al., 1997).

El deterioro cognitivo tiene una prevalencia aproximada del 40 % al 65 % de los pacientes con EM (Benedict et al., 2006; Hoffmann et al., 2007). A pesar que las funciones cognitivas afectadas son muy variables en cada caso, los déficits cognitivos más frecuentes son los relacionados con la atención, las funciones ejecutivas, la memoria episódica, la memoria de trabajo y la velocidad de procesamiento de la información (Patti, 2009). El deterioro cognitivo puede presentar diversa gravedad entre los distintos subtipos de EM (Huijbregts et al., 2004).

3.4.1.1. Evaluación neuropsicológica

Para realizar el cribaje de la disfunción cognitiva en la EM se emplean herramientas neuropsicológicas capaces de detectar de forma precoz el declive cognitivo (Aupperle et al., 2002; Boringa et al., 2001; Sepulcre et al., 2006). Una de las principales baterías utilizadas es la Batería Neuropsicológica Repetitiva Breve de Rao (*Brain Repeatable Battery-Neuropsychology*, BRB-N) que evalúa ciertos dominios cognitivos:

- **Atención y velocidad del procesamiento de la información**

Tanto la atención como la velocidad del procesamiento de la información son dominios cognitivos relevantes. El BRB-N incluye el *Symbol Digit Modalities Test (SDMT)* donde el paciente debe sustituir una serie de símbolos por números durante un corto período de tiempo de forma oral. Asimismo, el *SDMT* también es sensible a los déficits de memoria de trabajo.

- **Aprendizaje y memoria episódica**

El aprendizaje y la memoria episódica se refieren a la capacidad de recordar eventos y experiencias personales contextualizables en tiempo y espacio. La información verbal se evalúa a través del *Selective Reminding Test*, en el que se debe recordar una lista de 12 palabras simples sin relación entre ellas, y la memoria visual a través del *Spatial Recall Test*. La evaluación de la memoria visual consiste en una lámina cuadrículada (matriz 6x6) formada por diez círculos negros presentados en determinadas casillas que el paciente tiene que reproducir 3 veces consecutivas. Ambos test evalúan tanto la memoria inmediata como al cabo de 15 minutos (recuerdo diferido).

- **Funciones ejecutivas y memoria de trabajo**

La memoria de trabajo es la capacidad de mantener y manipular información durante un periodo corto de tiempo. Depende de funciones cognitivas como la atención y la velocidad de procesamiento de la información, siendo una de las alteraciones cognitivas más comunes en la EM (Chiaravalloti y DeLuca, 2008). El *Paced Auditory Serial Addition Test (PASAT)* consiste en la presentación oral de una serie de 60 números (del 1 al 9), en los que el paciente tiene que sumar los dos últimos números presentados en un intervalo de tiempo. Esta herramienta forma parte de otras baterías neuropsicológicas utilizadas en la evaluación de la EM, como la *Multiple Sclerosis Functional Composite*. El BRB-N también evalúa la fluencia verbal semántica mediante la producción de palabras dentro de una categoría de manera espontánea a través de la prueba *World List Generation (WLG)*.

Estas medidas neuropsicológicas diseñadas para la detección del deterioro cognitivo tienen como principal ventaja la brevedad (30-45 min toda la BRB-N) y la facilidad en la aplicación práctica. Además, alcanzan una sensibilidad del 71 % y una especificidad del 94 % (Sepulcre et al., 2006) siendo uno de los métodos de referencia para el cribaje de la disfunción cognitiva (Camp et al., 2005). Sin embargo, existen factores relacionados con la enfermedad que influyen notablemente en el rendimiento cognitivo del paciente (fatiga, trastorno anímico, dificultad en el lenguaje oral, estrés...) que dificultan una correcta evaluación de la BRB-N (Krupp y Elkins, 2000).

Las puntuaciones obtenidas de la administración de los tests cognitivos (o neuropsicológicos) pueden ser expresadas mediante puntuaciones *Z-score* que indican el número de desviaciones estándares que difieren respecto a una puntuación media de referencia (Cutter et al., 1999). La aplicación del *Z-score* tiene como principal ventaja que tiende a seguir una distribución normal que facilita el estudio estadístico. Por contra, su utilización es poco frecuente y las poblaciones de referencia pueden alterar los valores del *Z-score*.

3.4.2. La resonancia magnética en la esclerosis múltiple

La RM convencional ha demostrado ser una técnica esencial para el diagnóstico de la EM. La detección de lesiones de SB forma parte del diagnóstico y mo-

nitorización habitual de la evolución de la enfermedad (Filippi et al., 2010). Sin embargo, la baja especificidad a la patología subyacente de las lesiones y la baja sensibilidad al daño del tejido de apariencia normal hacen que su capacidad para explicar la discapacidad de los pacientes sea baja y que su utilidad para predecir la evolución de la enfermedad sea limitada (Barkhof, 2002). A pesar de la débil caracterización del sustrato lesional por RM convencional, la detección de lesiones permite establecer un diagnóstico diferencial. Las lesiones muestran una predisposición en localizarse en determinadas zonas anatómicas (SB periventricular y yuxtacortical, cuerpo calloso, regiones infratentoriales y vía visual) y en presentar una mayor carga lesional en regiones frontales y parietales (Lazeron et al., 2005) (Figura 3.17).

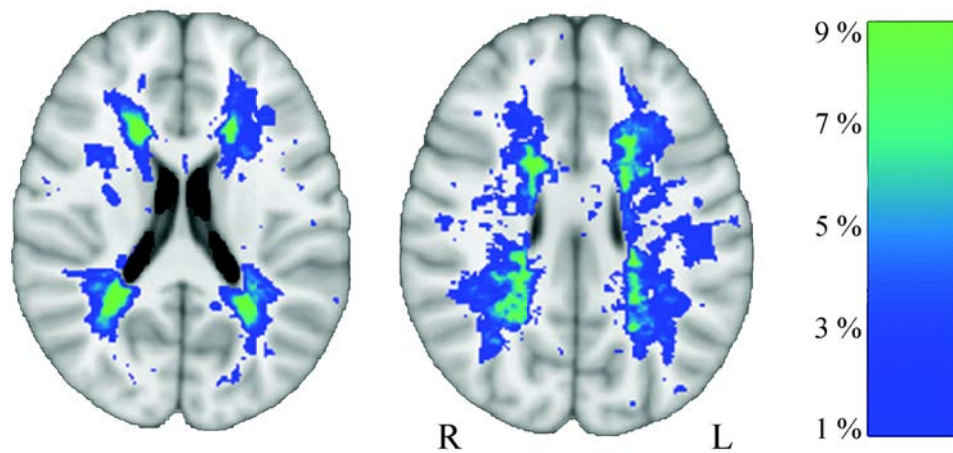


Figura 3.17: Mapa de probabilidad de lesiones. Lesiones segmentadas en secuencias T1 y alineadas a un espacio común.

La presentación de las lesiones en diferentes secuencias de RM convencional ha demostrado ser de gran utilidad en el estudio de la enfermedad y en el análisis del posible efecto de nuevos tratamientos. Para las lesiones hiperintensas visibles en T2, la presencia de la lesión es independiente al sustrato patológico o a la fase evolutiva. En cambio, las lesiones en T1 reflejan un sustrato patológico diferente en función si la lesión es crónica o activa. Los agujeros negros (*black holes*) reflejan la presencia de un daño axonal crónico (van Walderveen et al., 1998), mientras que la administración de Gadolinio en la secuencia T1 es sensible a detectar lesiones con actividad inflamatoria (Kappos et al., 1999). Las lesiones captantes de Gadolinio predicen una peor evolución de la enfermedad a corto plazo y el

desarrollo de una mayor atrofia cerebral (Leist et al., 2001; Llufriu et al., 2010). Sin embargo, no son buenos predictores de la progresión de la discapacidad (Kappos et al., 1999).

El estudio progresivo de la atrofia cerebral mediante RM en pacientes con EM ha supuesto un marcador de interés para el desarrollo de nuevas terapias y ha demostrado ser una medida más fiable de discapacidad y deterioro cognitivo a nivel grupal que las obtenidas a partir del volumen lesional (Jacobsen et al., 2014; Zivadinov et al., 2016). Los pacientes con EM muestran una mayor pérdida de masa cerebral al año en comparación con los sujetos sanos (Bermel y Bakshi, 2006), entre 0,5-1,3% para pacientes con EM y 0,1-0,3% para sujetos sanos. No existe una relación directa entre el volumen lesional y el decremento del tejido cerebral sino que el daño difuso en la SB y SG contribuye al desarrollo de la atrofia del SNC (Jasperse et al., 2007; Kalkers et al., 2002).

Diversos estudios han centrado su interés en observar la relación existente entre atrofia cerebral y discapacidad (von Gumberz et al., 2016). Para ello, han utilizado en numerosos casos la medida de atrofia global, sin embargo, esta medida no ha sido capaz de establecer una relación directa con las alteraciones cognitivas (Filippi et al., 2010). Por otro lado, estudios centrados en medidas de atrofia regionales han permitido obtener resultados más prometedores en relación con la disfunción cognitiva (Benedict et al., 2013; Grassiot et al., 2009; Llufriu et al., 2012), demostrando que la evolución de la discapacidad y la atrofia es más sensible en el estudio de regiones específicas.

3.4.2.1. Técnicas por resonancia magnética no convencional: Secuencias de difusión

El uso extendido de los criterios de McDonald (McDonald et al., 2001) y Polman (Polman et al., 2011) basados en la presencia y localización de lesiones focales facilita el diagnóstico en la EM pero no aporta medidas cuantitativas e interpretables del daño difuso de la enfermedad. Además, la presencia de lesiones es un signo poco específico que no refleja la amplia variedad de procesos patológicos que incluyen: edema, desmielinización, inflamación, daño axonal, gliosis o remielinización (Filippi et al., 2012, 2010). La existencia de nuevas modalidades de imagen, como la dRM, ha significado un avance importantísimo para aportar

información más allá de la presencia de lesiones y ha permitido obtener datos cuantitativos y patológicamente más específicos.

La dRM ofrece información sobre el tamaño, morfología, integridad y geometría de la SB. Este importante avance ha permitido detectar cambios macroestructurales desde fases iniciales de la enfermedad y medidas específicas que correlacionan con el grado de discapacidad. Las lesiones en la EM presentan un aumento de señal en la dRM como consecuencia de la cantidad del agua libre. Esta destrucción tisular muestra alteraciones en los índices del tensor de difusión como la disminución de la FA y el aumento de la MD, que reflejan cambios histopatológicos significativos en el proceso desmielinizante (Filippi y Inglese, 2001) (Hannoun et al., 2012). Numerosos estudios han mostrado también una reducción de la FA en el tejido de apariencia normal en fases iniciales de la enfermedad, mostrando una alteración no visible en la RM convencional (Llufriu et al., 2014).

A pesar de este prometedor avance, las medidas de dRM como marcador de la integridad microestructural no está exenta de dificultades (Jones, 2010). El análisis basado en vóxel (*Voxel-Based Analysis*, VBA) ⁸ para la detección de diferencias en los parámetros de DTI presenta dificultades en pacientes con EM debido a la presencia de lesiones y a la dificultad en la interpretación de los resultados (Davatzikos, 2004; Wang et al., 2014).

Debido a las limitaciones derivadas de la VBA, en los últimos años la medición de la integridad tisular sobre los mapas de FA se ha basado principalmente en el uso de una herramienta especializada, el *Tract-Based Spatial Statistics* (TBSS, <http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/TBSS>) (Smith et al., 2006). El TBSS mejora la sensibilidad y la interpretación de los resultados utilizando una representación de los haces de fibras de SB comunes a todos los sujetos del estudio (Figura 3.18). Estos tractos son representados por una línea que recorre el centro del tracto de la SB o esqueleto, y asigna los valores de mayor FA perpendiculares a la estructura de este esqueleto tractográfico. Finalmente, el análisis estadístico se realiza vóxel a vóxel mediante los datos de cada FA proyectados al esqueleto tractográfico común.

^{8*} VBA: técnica para el análisis en neuroimagen que permite la comparación de los índices de difusión entre grupos de sujetos en un espacio común utilizando una aproximación estadística paramétrica

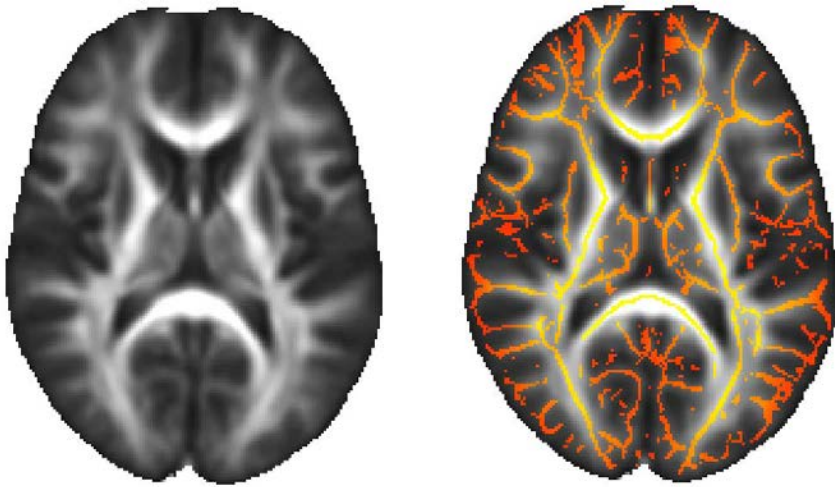


Figura 3.18: TBSS. Imagen promedio de la FA y la creación de los tractos principales de SB contenidos en el mapa FA.

Aunque la herramienta TBSS asegura la correspondencia entre vóxeles de distintos individuos mediante la creación de un esqueleto representativo de la muestra, algo que no logra VBA, zonas muy extensas de la SB son ignoradas del análisis. Además, al utilizar para la construcción del esqueleto únicamente valores máximos de FA, regiones con cruce de fibras son mal asignadas y regiones con presencia de lesiones son excluidas (Bach et al., 2014).

A pesar de las limitaciones de las herramientas VBA y TBSS, numerosos estudios han utilizado estas aproximaciones para mapear el deterioro cognitivo en la EM. Estos estudios han descrito una relación significativa entre este tipo de alteración y el deterioro cognitivo (Llufriu et al., 2014). Una de las regiones más frecuentemente estudiadas es el cuerpo calloso, ya que hay evidencias que las alteraciones que presenta esta estructura pueden estar asociadas con la presencia de discapacidad física y cognitiva (Llufriu et al., 2012). Otras regiones que presentan un daño difuso y evidencian el empeoramiento específico de diferentes dominios cognitivos son las regiones corticotalámicas (Bisecco et al., 2015).

3.4.2.2. Radiaciones ópticas

Una de las regiones más frecuentemente afectadas en EM es la vía visual. Muchos de los pacientes con EM presentan alteraciones visuales en el transcurso de la enfermedad que pueden ser causadas por lesiones en diferentes puntos de la vía visual (Gabilondo et al., 2014).

La comunicación de ambos ojos al cerebro se realiza mediante los nervios ópticos a través de los axones de las células ganglionares de la retina hasta llegar al quiasma óptico, donde se organiza toda la información procedente de cada ojo. En el quiasma óptico se entrecruzan parcialmente las fibras axónicas de los nervios ópticos y proyectan los tractos ópticos, con la información de cada hemirretina, al hemisferio contralateral. Después de recorrer el tracto óptico, alcanza el núcleo geniculado lateral (NGL). Este núcleo se sitúa en el tálamo, en ambos hemisferios, y recibe toda la información proveniente de la vía visual anterior (compuesta por el globo ocular, el nervio óptico, el quiasma y el tracto óptico). Para finalizar, el NGL se conecta con la corteza visual primaria (V1) a través de las radiaciones ópticas (RO) por medio de dos haces de fibras, uno para cada hemisferio cerebral. Las RO se originan en el NGL y se dividen en dos formaciones claramente definidas por la direccionalidad de las fibras: las fibras pertenecientes al asa de Meyer que discurren de manera lateral e inferior al asta temporal ventricular, y las fibras anteroposteriores que se dirigen directamente a V1 (Figura 3.19).

Las RO presenta una estructura compleja por su morfología, debido a la fuerte curvatura del asa de Meyer, y su gran extensión. La reconstrucción mediante técnicas tractográficas presenta grandes desafíos debido al cambio brusco de la dirección en la curvatura de Meyer y la presencia de numerosos cruces de fibras a lo largo de la vía (Sherbondy et al., 2008). Estos obstáculos han ocasionado que las reconstrucciones de las RO fueran imprecisas respecto al conocimiento anatómico y carecieran de una metodología fiable y robusta (Clatworthy et al., 2010; Hofer et al., 2010; Sherbondy et al., 2008; Winston et al., 2011).

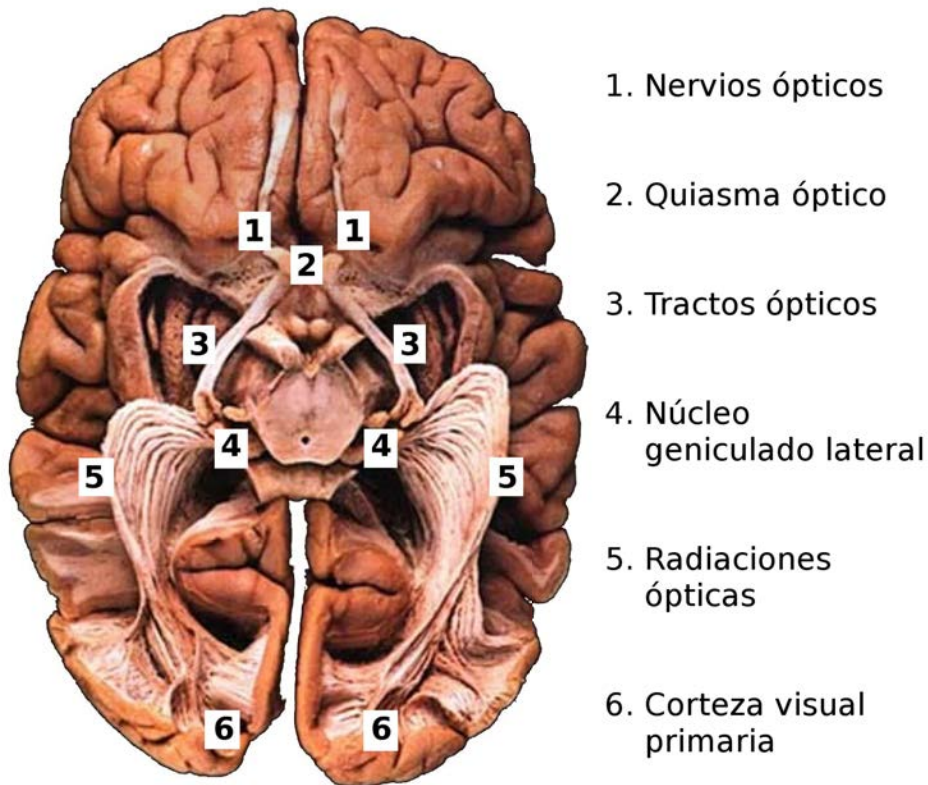


Figura 3.19: Sistema visual. Vía óptica mediante el sistema de disección con el método Kingler. Figura adaptada de (Sherbondy et al., 2008).

3.4.2.3. Evaluación de la disfunción cognitiva a través de la conectividad cerebral

El desarrollo de herramientas que permiten representar los cambios en la estructura y función cerebral de los pacientes con EM ha supuesto un importante avance para el conocimiento de la fisiopatología de la enfermedad. En concreto, estas nuevas herramientas se han utilizado con el fin de entender las bases de la discapacidad cognitiva presente en la EM. Estudios recientes han demostrado que las manifestaciones clínicas de los pacientes con EM, particularmente las relacionadas con el rendimiento cognitivo, no se deben simplemente a la destrucción del tejido cerebral (atrofia), sino también al complejo equilibrio presente entre el daño tisular y la capacidad de reparación o reorganización del tejido cerebral (Rocca et al., 2016).

La utilización de la RM funcional ha posibilitado conocer el papel tan rele-

vante que juega la reorganización funcional en la disfunción cognitiva en etapas clínicas tempranas de la enfermedad (Audoin et al., 2003; Rocca et al., 2015). Así, se ha podido observar un patrón alterado de activación durante la ejecución de tareas cognitivas en regiones frontocorticales y otras regiones relacionadas con un predominio de presencia de lesiones, en pacientes con deterioro cognitivo leve o sin alteraciones cognitivas respecto a los sujetos sanos. Estos cambios funcionales en áreas cerebrales específicas sugieren la presencia de mecanismos adaptativos capaces de contribuir al mantenimiento de funciones cognitivas relacionadas con la memoria de trabajo, atención y funciones ejecutivas (Rocca et al., 2014). Estos mecanismos compensatorios se observan en pacientes con EM en forma de un aumento de los recursos cognitivos necesarios para la realización de la tarea. A pesar de los numerosos estudios que refuerzan estos mecanismos de adaptación, otros estudios parecen conducir a otras posibles causas. Por ejemplo, la DMN muestra resultados contradictorios ya que el aumento y la disminución de la actividad de la red, se asocian en ambos casos a un peor rendimiento cognitivo (Louapre et al., 2014; Zhou et al., 2014). Estos resultados sugieren que el incremento de actividad cortical no siempre se debe a un efecto beneficioso, pudiendo representar en muchos casos el propio deterioro cognitivo. Por esa razón, se sugiere que la presencia de mecanismos de desconexión⁹ junto con el agotado o debilitado proceso de reorganización cerebral podría acabar desencadenando el trastorno cognitivo cuando el daño estructural progresa (Figura 3.20) (Rocca et al., 2015; Schoonheim et al., 2015).

Otros estudios se han centrado en establecer una relación entre los déficits cognitivos y estructuras cerebrales determinadas. Es conocido que la atrofia en los núcleos del tálamo se asocia al deterioro cognitivo (Schoonheim et al., 2012), además de mostrar una disminución en la conectividad en la RM funcional en regiones prefrontales durante la ejecución del *PASAT* (Ranjeva et al., 2006). Sorprendentemente, otros estudios de la DMN muestran un crecimiento en la conectividad del tálamo con áreas frontales en pacientes con discapacidad cognitiva (Schoonheim et al., 2015; Tona et al., 2014). De un modo similar, los resultados de conectividad del hipocampo y su asociación con los déficits cognitivos no han resultado concluyentes (Hulst et al., 2015; Roosendaal et al., 2010).

^{9*} *mecanismos relacionados con lesiones focales y daño microestructural en SB*

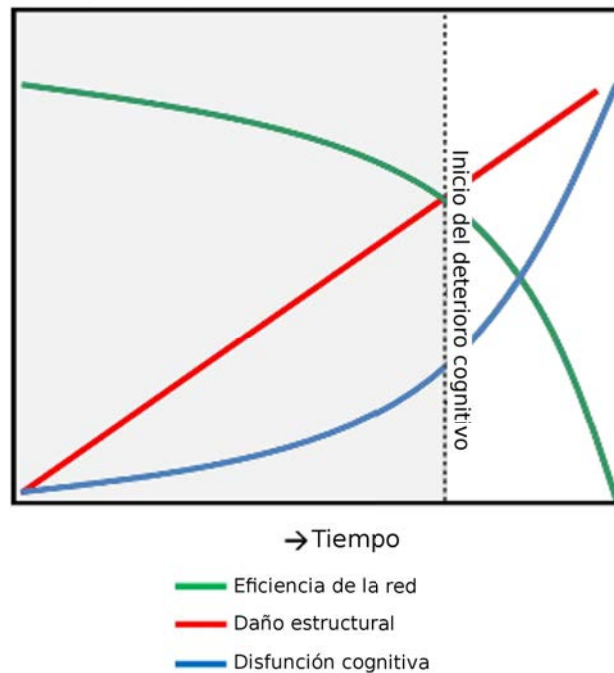


Figura 3.20: Colapso de la red cerebral. En las primeras etapas de la EM, el daño estructural es bajo, con una eficiencia de la red relativamente alta. A medida que el daño estructural se acumula con el tiempo, los niveles de eficiencia de la red disminuyen induciendo a un colapso de la red después de superar un umbral crítico. Después de esto, la red es incapaz de funcionar con normalidad y el deterioro cognitivo se desarrolla. Figura adaptada de (Schoonheim et al., 2015).

Así pues, la controversia de los cambios funcionales originados por la disfunción cognitiva sigue sin resolverse. Estos mecanismos reguladores con capacidad para cambiar la organización cerebral no permiten concluir que sean unos efectos beneficiosos o perjudiciales para la habilidad cognitiva del paciente. Por esta razón, el estudio de la conectividad estructural como herramienta complementaria para relacionar alteraciones de la patología subyacente y la disfunción cognitiva es muy relevante. Actualmente, numerosos indicios apuntan que los principales condicionantes del deterioro cognitivo en EM son los mecanismos de desconexión relacionados con las lesiones focales y con el daño microestructural presente en conexiones específicas de SB (Llufriu et al., 2014; Preziosa et al., 2016). Asimismo, el análisis de la conectividad mediante el empleo de la teoría de grafos puede proporcionar información relevante para conocer como la topología de la red cerebral se relaciona con la discapacidad. Muy pocos estudios previos se han centrado en el análisis de la conectividad estructural en la EM, probablemente por el grado de dificultad en la implementación de técnicas tractográficas, que puede aumentar

en presencia de lesiones focales de SB. Estos estudios han sugerido que existe una reducción de la eficiencia de la red cerebral al progresar la enfermedad (Shu et al., 2011). Sin embargo, se desconoce cuál es la relación entre la disfunción cognitiva en la EM y los cambios en la conectividad estructural evaluados mediante tractografía y el análisis de grafos.

Capítulo 4

Hipótesis

La técnica de imagen sensible a la difusión permite la reconstrucción de fibras de sustancia blanca en el cerebro sano y patológico y la obtención de datos cuantitativos y patológicamente más específicos que a través de las técnicas de imagen convencional. Se ha sugerido que los modelos avanzados en tractografía mejoran la reconstrucción de las conexiones de la sustancia blanca. Sin embargo, la complejidad en la estructura de las fibras hace que los algoritmos fallen y existan numerosos falsos positivos. El empleo de una metodología robusta es esencial para generar información verosímil acerca de los cambios globales y regionales del tejido cerebral y sus conexiones en la esclerosis múltiple.

Las hipótesis planteadas son las siguientes:

1. El uso de máscaras de exclusión anatómica ayudará a disminuir la presencia de *streamlines* no correspondientes a la verdadera anatomía del tracto. La aplicación de esta metodología en las radiaciones ópticas, uno de los tractos más complejos por su morfología, podría ayudar a aumentar la precisión y la exactitud en la reconstrucción tractográfica.
2. Los pacientes con esclerosis múltiple presentan frecuentemente lesiones focales y daño microestructural en las radiaciones ópticas. El empleo de modelos avanzados de tractografía y la exclusión de *streamlines* aberrantes con máscaras de exclusión anatómica podría mejorar la reconstrucción de las radiaciones ópticas a pesar de la presencia de un daño tisular a lo largo de la vía.

3. La aplicación de la metodología desarrollada para la reconstrucción de las radiaciones ópticas permitiría mejorar la tractografía cerebral y el análisis de la conectividad estructural.
4. Los pacientes con esclerosis múltiple presentan alteraciones en la conectividad estructural que podrían estar relacionadas con el rendimiento en atención y funciones ejecutivas.

Capítulo 5

Objetivos

1. Obtener una reconstrucción de las radiaciones ópticas por tractografía con una precisión anatómica comparable al estudio histológico, mediante la aplicación de mejoras técnicas en el procesamiento de imágenes por difusión en una cohorte de voluntarios sanos.
2. Evaluar la precisión y exactitud de la reconstrucción de las radiaciones ópticas por tractografía con las mejoras técnicas desarrolladas en pacientes con esclerosis múltiple.
3. Aplicar las mejoras metodológicas en tractografía al estudio de la conectividad cerebral estructural y evaluar su reproducibilidad mediante los valores de anisotropía.
4. Determinar la presencia de alteraciones en la conectividad cerebral estructural en pacientes con esclerosis múltiple e identificar aquellas redes involucradas en el rendimiento de la atención y las funciones ejecutivas.

Capítulo 6

Resultados

6.1. Artículo 1:

Improved framework for tractography reconstruction of the optic radiation

Eloy Martínez-Heras; Federico Varriano; Vesna Prckovska; Carlos Laredo; Magi Andorra; Elena H. Martínez-Lapiscina; Anna Calvo; Erika Lampert; Pablo Viloslada; Albert Saiz; Alberto Prats-Galino; Sara Llufríu. PLoS One, 2015, Vol. 10, num. 9. Accepted date: 12/08/2015. IF: 3.23.

RESEARCH ARTICLE

Improved Framework for Tractography Reconstruction of the Optic Radiation

Eloy Martínez-Heras¹, Federico Varriano², Vesna Prčkovska¹, Carlos Laredo³, Magí Andorrà¹, Elena H. Martínez-Lapiscina¹, Anna Calvo⁴, Erika Lampert¹, Pablo Villoslada¹, Albert Saiz¹, Alberto Prats-Galino², Sara Llufriu¹*

1 Center of Neuroimmunology, Service of Neurology, Hospital Clinic and Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi I Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain, **2** Laboratory of Surgical NeuroAnatomy (LSNA), Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain, **3** Comprehensive Stroke Center, Department of Neuroscience, Hospital Clinic and Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi I Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain, **4** Medical Imaging Platform, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi I Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain

* SLLUFRIU@clinic.ub.es



CrossMark
click for updates

OPEN ACCESS

Citation: Martínez-Heras E, Varriano F, Prčkovska V, Laredo C, Andorrà M, Martínez-Lapiscina EH, et al. (2015) Improved Framework for Tractography Reconstruction of the Optic Radiation. *PLoS ONE* 10(9): e0137064. doi:10.1371/journal.pone.0137064

Editor: Christophe Lenglet, University of Minnesota, UNITED STATES

Received: December 16, 2014

Accepted: August 12, 2015

Published: September 16, 2015

Copyright: © 2015 Martínez-Heras et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: Image datasets will be available after acceptance at <http://www.neuroimmunologybcn.org/projects>.

Funding: This work was partially funded by a donation from the Asociación Esclerosis Múltiple Isla de Menorca (AEMIM, <http://www.esclerosismultiple.com/>) to AS. It was also funded by the FP7 Marie Curie Intra-European Fellowship, project acronym: ConnectMS, project number: 328060 to VP. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Abstract

The optic radiation (OR) is one of the major components of the visual system and a key structure at risk in white matter diseases such as multiple sclerosis (MS). However, it is challenging to perform track reconstruction of the OR using diffusion MRI due to a sharp change of direction in the Meyer's loop and the presence of kissing and crossing fibers along the pathway. As such, we aimed to provide a highly precise and reproducible framework for tracking the OR from thalamic and visual cortex masks. The framework combined the generation of probabilistic streamlines by high order fiber orientation distributions estimated with constrained spherical deconvolution and an automatic post-processing based on anatomical exclusion criteria (AEC) to compensate for the presence of anatomically implausible streamlines. Specifically, those ending in the contralateral hemisphere, cerebrospinal fluid or grey matter outside the visual cortex were automatically excluded. We applied the framework to two distinct high angular resolution diffusion-weighted imaging (HARDI) acquisition protocols on one cohort, comprised of ten healthy volunteers and five MS patients. The OR was successfully delineated in both HARDI acquisitions in the healthy volunteers and MS patients. Quantitative evaluation of the OR position was done by comparing the results with histological reference data. Compared with histological mask, the OR reconstruction into a template (OR-TCT) was highly precise (percentage of voxels within the OR-TCT correctly defined as OR), ranging from 0.71 to 0.83. The sensitivity (percentage of voxels in histological reference mask correctly defined as OR in OR-TCT) ranged from 0.65 to 0.81 and the accuracy (measured by F1 score) was 0.73 to 0.77 in healthy volunteers. When AEC was not applied the precision and accuracy decreased. The absolute agreement between both HARDI datasets measured by the intraclass correlation coefficient was 0.73. This improved framework allowed us to reconstruct the OR with high reliability and accuracy independently of the acquisition parameters. Moreover, the reconstruction was possible even in

Competing Interests: EMH, FV, VP, CL, MA, EHM, AC, EL, APG, and SL have declared that no competing interests exist. P. Villoslada received compensation for advisory from Roche, Novartis and Bionure Incorporation. AS received compensation for advisory and speaking from Bayer-Schering, Merck-Serono, Biogen-Idec, Sanofi-Aventis, Teva Pharmaceutical Industries Ltd and Novartis. This does not alter the authors' adherence to PLOS ONE policies on sharing data and materials. Dr. Pablo Villoslada, coauthor of the paper, is a PLOS ONE Editorial Board member. This does not alter the authors' adherence to PLOS ONE editorial policies and criteria.

the presence of tissue damage due to MS. This framework could also be applied to other tracts with complex configuration.

Introduction

Diffusion-weighted imaging (DWI) is a magnetic resonance imaging (MRI) modality that measures the amount and directionality of water molecule diffusion within tissue [1]. From DWI, the direction of maximal diffusivity along axonal fibers can be estimated for each voxel. This information enables the reconstruction of the architectural configuration of white matter (WM) trajectories between regions of interest (ROIs) through fiber tractography [2]. Detailed tractography studies have created virtual anatomic atlases of WM connections in the human brain [3, 4] that agree with results from dissection and tracer studies [5, 6]. However, fiber tracking has several limitations that may affect the reliability and reproducibility of outcomes resulting from different approaches. First, the image resolution in diffusion MRI (dMRI) is usually several orders of magnitude higher than the actual axons size, so each voxel contains information from hundreds of thousands of axon fibers [7]. Moreover, the presence of crossing fibers, highly curved or diverging fiber bundles, might affect the directionality of each fiber bundle within the voxel [8]. The selection and positioning of the specific seed ROIs used to perform the tractography may lead to considerable variability in the results [9]. In addition, several tractography algorithms are available; the two main distinguishing factors relate to how WM fiber tracts are modeled within a voxel and how the tracts are reconstructed [10]. Deterministic streamline tractography is primarily based upon streamline algorithms in which the local tract direction is defined by the major eigenvector of the diffusion tensor and can produce anatomically faithful reconstructions of WM fascicles. However, in general, branching will not be represented and this approach may be less effective in regions where considerable fiber crossing is present and curvature is high [11]. Probabilistic tractography algorithms based on a fiber orientation density function provide information about the confidence that one can assign to a reconstructed trajectory and can indicate the occurrence of branching [12]. The high-order tractography model, constrained spherical deconvolution (CSD), is advisable for performing a robust tractography [13]. Deterministic tractography can also be estimated from the fiber orientation distribution (FOD) and obtain robust tracking in the presence of crossing fibers. However, deterministic tractography with high order models is prone to missing existing streamlines [14]. The use of high order integration over fiber orientation distributions (iFOD2) [15] derived from CSD could improve tracking in regions containing complex fiber architecture [16]. Unfortunately, probabilistic fiber tracking frequently generates anatomically implausible streamlines. New methods based on anatomical information from whole-brain tractography, such as anatomically-constrained tractography (ACT) [17], have been developed to provide a more biologically accurate reconstruction through dynamic thresholding strategy. However, this method does not resolve the problem of false positives and systematic errors in the tractography. For that reason, we propose the use of post-processing based on anatomical exclusion criteria (AEC) to define the final tracking results and exclude aberrant streamlines.

The optic radiation (OR) is one of the major components of the human visual system. It links the lateral geniculate nucleus (LGN) with the visual cortex and is one of the most difficult tracts to reconstruct with dMRI-based methods [18] due to a sharp change of direction in the Meyer's loop and the presence of kissing and crossing fibers along the pathway [19]. The topography of the OR is evident in histological sections [20], however, the reconstruction of

the OR in vivo suffers from inaccuracy and different levels of success have been reported [21, 22]. Variability in the results may derive from a lack of consistency in the selection of the seed regions and tractography algorithms (deterministic and probabilistic) used for fiber tractography [23, 24] as well as in the selection or exclusion of streamlines representing the OR [25]. To reconstruct the OR through tractography some authors have placed a waypoint seed distal to the Meyer's loop in order to map the rapidly curving anterior fibers [26–29] while few studies have been able to obtain the OR from LGN seeds [19, 30, 31]. Although most techniques succeeded in representing the simplest anterior-posterior streamlines of the OR, aberrant fibers were eliminated by visual inspection [32] or by looking at the anatomical plausibility of the highest scoring pathways [33]. These approaches can induce biases in the position, shape, size and length of the streamline distribution [34] and do not ensure the representation of the most reliable pathway based on neuroanatomical knowledge.

The OR can be damaged in diseases such as multiple sclerosis (MS). The visual pathway can be used to evaluate the interplay of different mechanisms of damage in MS such as inflammation (lesions and normal appearing WM), demyelination and axonal damage and also particular mechanisms such as trans-synaptic degeneration [35–38]. The presence of lesions with low fractional anisotropy can erroneously terminate the tracking algorithm from conventional DTI-tractography or cause a deviation of the streamlines at the level of the lesions [39]. As such, an accurate and reproducible reconstruction of the OR and other tracts is essential to evaluate the consequences of WM damage in MS or other neurological diseases, and for surgery planning [24].

The purpose of this article is to introduce an improved tractography framework to reconstruct the OR using the thalamus and visual cortex as seed and target masks that combines probabilistic streamline fiber tracking by iFOD2 and automatic post-processing based on AEC. We aim to demonstrate its precision, accuracy and reproducibility in two different single-shell high angular resolution diffusion-weighted imaging (HARDI) datasets from healthy volunteers and explore its applicability in the presence of tissue damage caused by MS.

Materials and Methods

Material and Imaging

Ten healthy volunteers and five patients with MS were recruited for this study. The included healthy volunteers [3 male and 7 female, mean (SD) age 30 (\pm 8) years] did not have any known neurological or psychiatric diseases. The MS patients [2 male and 3 female, mean (SD) age 35 (\pm 9) years] were recruited from the MS Unit at the Hospital Clinic in Barcelona. The Ethics Committee of Hospital Clinic of Barcelona approved the study and a signed consent form was obtained from all the participants.

MRI data acquisition

MRI images were acquired on a 3T Magnetom Trio (Siemens, Erlangen, Germany) scanner, using a thirty-two channel phased-array head coil. One 3D T1-weighted structural and two different DWI sequences were acquired in the same scanning session. The 3D-structural image was a T1-weighted MPRAGE sequence with the following acquisition parameters: TR: 2050 ms, TE: 2.41 ms TI: 1050 ms, flip angle: 9° , 192 contiguous sagittal slices with $0.86 \times 0.86 \times 0.9 \text{ mm}^3$ voxel size, 256×256 matrix size. Two HARDI datasets were acquired, HARDI A: TR/TE, 16600/110 ms; acquisition matrix, 154×154 ; 100 contiguous axial slices; 1.5 mm isotropic voxel size; b value, 1500 s/mm^2 ; 16 minutes acquisition time and HARDI B: TR/TE, 6200/84 ms; acquisition matrix, 96×96 ; 55 contiguous axial slices; 2.5 mm isotropic voxel size; b value, 1000 s/mm^2 ; 4 minutes acquisition time. Both HARDI datasets used the same 60 numbers of

gradient directions [40] and a single baseline image acquired at 0 s/mm^2 . Parallel imaging was applied with a geometric reduction factor of 2 to reduce the distortion caused by susceptibility differences at tissue interfaces. In addition, a 2D field map sequence was acquired to correct geometric distortions of the DWI caused by susceptibility differences between air-bone or air-tissue interfaces. The field map was obtained at two different echo times ($TE_1 = 4.92 \text{ ms}$ and $TE_2 = 7.38 \text{ ms}$) and in the same slice prescription, slice thickness and field of view as both HARDI datasets.

Construction and inspection of seed and target masks

The 3D-structural image served as an anatomical landmark to obtain GM ROIs in each hemisphere. The parcellation scheme from Freesurfer (FS) software [41] was used as a first approximation to outline the thalamus and visual cortex that were going to serve as the seed and target masks, respectively. In patients, the 3D-structural image was also used to manually create a lesion mask with the ITK-SNAP toolkit [42]. Afterwards, an automated lesion filling was applied to the 3D-structural image to improve segmentation and registration steps in patients [43]. The seed and target masks were then further inspected and corrected by an experienced neuroanatomist using AMIRA 5.1 software (Mercury Computer Systems, Berlin, Germany) to reduce inaccuracies and limitations of the parcellation algorithm. The thalamus seed mask used in this study corresponds to the Thalamus-Proper parcellation in the Desikan-Killiany Atlas while the visual cortex target mask was obtained by merging the pericalcarine, cuneus, lateraloccipital, lingual and precuneus parcellations. As the LGN was not properly parcellated in the thalamus-proper ROI, we manually selected and included this nucleus in the seed mask.

Proposed framework to reconstruct the OR

The schematic diagram of the framework is presented in Fig 1. Initially, we performed standard preprocessing of the DWIs that included geometric distortion correction for echo planar images (EPI) with fieldmap images and head motion correction. Fieldmap-based unwarping of the EPI was done using PRELUDE to unwrap the phase and FUGUE to compute the distortion by means of FMRIB Software Library (FSL, <http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl>) [44]. After applying eddy current corrections we rotated the gradient vectors in both HARDI datasets in order to compensate for head motion. This was followed by the registration of the structural images to the corresponding HARDI dataset using the Boundary-Based-Registration method [45]. Probabilistic tractography from seed to target masks was performed in each hemisphere using the MRtrix3 package (<https://github.com/jdtournier/mrtrix3>) [46]. A set of 100,000 streamlines was generated from the seed mask in only one direction and stopped as soon as it entered the target mask. The default step size, curvature and FOD amplitude threshold (0.1) were used. We applied probabilistic streamline fiber tracking by iFOD2 derived from CSD with a maximum harmonic order of 8 [47, 48], and used FreeSurfer tissue segmentations for ACT. Anatomically unrealistic streamlines were present in the final tracking results. To correct for this problem, we automatically applied AEC to the results. We first converted the tract file into a track density image at native resolution based on the map of the fraction of tracks that enter each voxel. We set a threshold of 1% of the maximum value included in the track density image [32, 49] and selected the biggest cluster in order to get a temporary tract. The temporary tract file retained plausible streamlines that connected the seed mask to the target mask and removed streamlines of low confidence, i.e. false positives. Second, we applied a binary exclusion mask to the temporary tract file comprised of the cerebrospinal fluid (CSF), whole contralateral hemisphere and ipsilateral GM regions that did not include the seed and target masks. As a result, any streamline crossing the midline or reaching cortical and subcortical GM regions

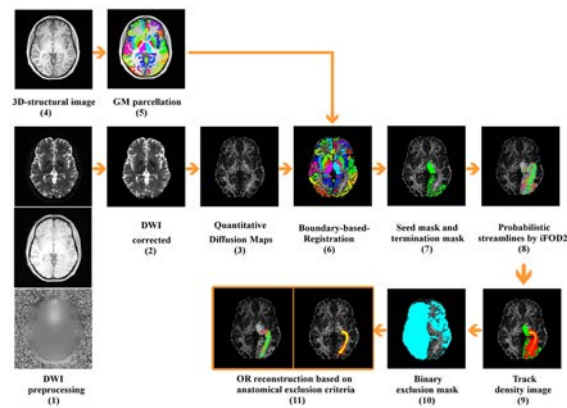


Fig 1. Tractography reconstruction framework of the optic radiations. (1) Standard preprocessing of the DWIs including Echo Planar Imaging distortion correction, eddy current distortion correction and head motion correction. (2) Distortion correction of the DWI. (3) Quantitative diffusion fractional anisotropy (FA) mapping. (4-5) Subcortical segmentation and cortical parcellation from FS of the 3D-structural image. (6) Registration of the structural images to the corresponding DWI sequence. (7) Seed and target masks. (8) Probabilistic streamline fiber tracking by high order integration over fiber orientation distributions (iFOD2) derived from constrained spherical deconvolution (CSD) with a maximum harmonic order of 8 and use of ACT during tracking. (9) Conversion of the tract file into a track density image. (10) Exclusion mask comprising CSF, whole contralateral hemisphere and ipsilateral GM regions. (11) Final optic radiation reconstruction in track density image and 3D tract file.

doi:10.1371/journal.pone.0137064.g001

outside the seed and target masks were excluded. Next, we converted the tract file back into a track density image and the resulting images were scaled to a range of [0–1] [50] to enable the comparison between individual samples. In patients with MS we overlaid the lesion mask obtained with ITKsnap on the reconstructed OR to identify how many patients presented lesions at that level.

In order to compare our framework with conventional DTI-tractography, we performed the same pre-processing and applied deterministic fiber tracking based on the fiber assignment by continuous tracking (FACT) [51] method in the healthy volunteers with the same seed and target mask. This fiber tracking was done with MRtrix3 software using the default setting parameters and an FA threshold of 0.1.

Qualitative and quantitative evaluation of the method

Visual inspection of the OR resulting from streamlines in both HARDI datasets was performed by a neuroanatomy specialist to evaluate concordance in morphology and position with the known anatomical description of this pathway [52]. Quantitative evaluation of the OR position was done by comparing the results with histological reference data of the OR [20, 53]. The OR obtained in each HARDI dataset was converted into a template (tractography-constructed template, OR-TCT) (S1 File). To do so, each individual track density image was aligned to the highest resolution sequence (HARDI A) and was normalized into a standardized space (Montreal Neurological Institute, MNI152) and then averaged. The histological reference data was edited to exclude GM and CSF regions from the MNI152 structural template image in order to preserve only WM regions. It was then converted to a binary mask to incorporate the

information of all the subjects included in the histological atlas. The sensitivity, precision, specificity and F-measure of our method were calculated in each HARDI dataset to assess the similarities between the OR-TCT and the histological reference data.

Sensitivity was measured as the proportion of voxels within the reference mask that were correctly defined as OR in the OR-TCT.

$$\text{Sensitivity} = \frac{\text{True positives}}{(\text{True positives} + \text{False negatives})} \quad (1)$$

Specificity was the proportion of voxels outside the reference mask that were correctly classified as non-OR voxels in the OR-TCT.

$$\text{Specificity} = \frac{\text{True negatives}}{(\text{True negatives} + \text{False positives})} \quad (2)$$

Precision was calculated as the proportion of voxels within the OR-TCT that were correctly defined as OR.

$$\text{Precision} = \frac{\text{True positives}}{(\text{True positives} + \text{False positives})} \quad (3)$$

We included the F1 score, a measure of the tests accuracy, in order to estimate the weighted harmonic mean of precision and sensitivity.

$$F_1 = 2 \cdot \frac{\text{Precision} \cdot \text{Sensitivity}}{(\text{Precision} + \text{Sensitivity})} \quad (4)$$

We also performed a quantitative evaluation of the OR in the absence of the AEC. In order to evaluate the reproducibility of the OR reconstruction we compared the results obtained from the two different HARDI datasets in each subject. The agreement in OR volume was evaluated with Bland-Altman plots [54] and the intraclass correlation coefficient (ICC). Considering the well-recognized anatomical differences between left hemisphere (lh) and right hemisphere (rh) [55], we merged comparison from lh and rh into the same analysis. We used SPSS v.18 to construct the Bland-Altman plots and calculate the ICC.

Results

The proposed framework reconstructed OR fiber tracking in both HARDI datasets in all the healthy volunteers included in the study. The results were visually concordant with the anatomical description of the streamlines (Fig 2b). The resulting fiber trajectories emerged from the posterior part of the thalamus, including the LGN. A portion of the streamlines looped anterior and laterally around the temporal horn of the lateral ventricle forming the Meyer's loop, where it sharply turned in a posterior direction, while another portion followed a more direct trajectory. The streamlines then followed the curvature of the ventricular atrium and reached the visual cortex. On the contrary, the application of conventional DTI-tractography was unable to solve the complex configuration in the Meyer's loop, generated unrealistic streamlines and in some cases was unable to even produce an OR reconstruction in two subjects (see Fig 3). Moreover, the results were largely dependent upon the sequence used, with worse reconstruction obtained with HARDI B.

In patients with MS, the OR were also accurately reconstructed with the proposed framework (Fig 4c) although all the subjects presented lesions within the tracts (Fig 4a).

The framework provided good anatomical correspondence between the OR-TCT and the histological reference data in healthy volunteers (see Fig 5). The sensitivity, precision,

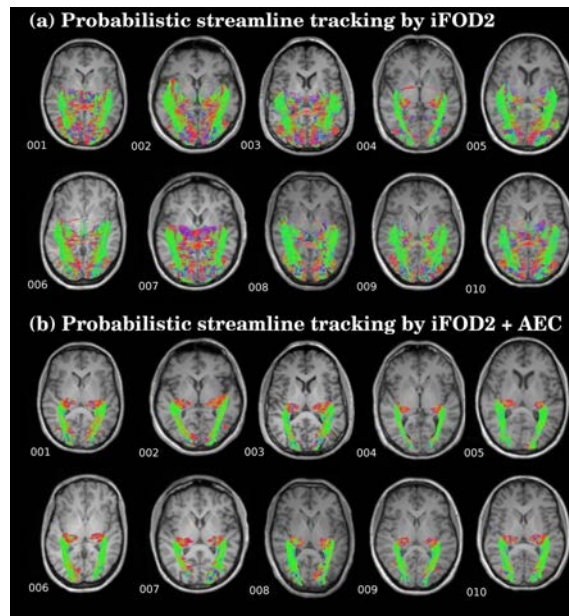


Fig 2. Streamlines of the reconstructed OR in ten healthy subjects: (a) Probabilistic streamlines fiber tracking by iFOD2. (b) Probabilistic streamlines fiber tracking by high order integration over fiber orientation distributions (iFOD2) adding the anatomical exclusion criteria (AEC).

doi:10.1371/journal.pone.0137064.g002

specificity and F-measure results are shown in [Table 1](#). The results demonstrate a good match between the OR-TCT in both HARDI datasets and the histological reference mask. Precision ranged from 0.71 to 0.83 depending on the HARDI dataset or hemisphere explored (false positive from 17 to 29%, while accuracy ranged from 0.73 to 0.76. In the HARDI A dataset, with smaller voxel size, the sensitivity was lower than HARDI B while the precision was higher ([Table 1](#)). The application of AEC also increased the precision and accuracy ranges in MS patients ([S1 Table](#)).

When AEC was not applied, streamlines not concordant with prior anatomical knowledge appeared in all subjects (Figs [2a](#) and [4b](#)) and the accuracy of the OR compared to the histological mask decreased (range from 0.25 to 0.33) while sensitivity was very high (range from 0.99 to 1.0) due to the overestimation of WM streamlines with false positives ([Table 1](#)); false positive in non-AEC ranged from 80 to 86% ([S2 Table](#)).

Bland-Altman plots showed good agreement between the OR tracking obtained in both HARDI datasets for all subjects ([Fig 6](#)). We did not detect any outliers, suggesting that the technique is reproducible. The OR was bigger in HARDI B, where voxel size is larger, than in HARDI A ([Table 1](#)) but we did not detect a systematic bias between both images. The ICC measuring the absolute agreement was 0.73 (95% confidence interval: 0.50 to 0.86, $p < 0.001$).

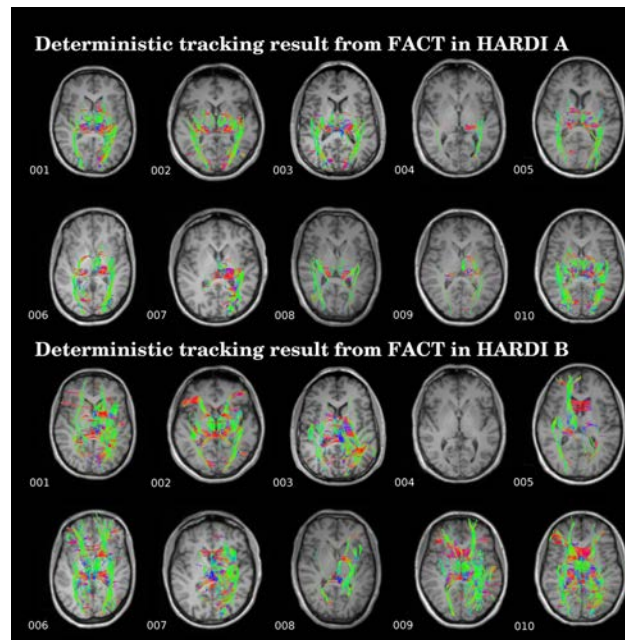


Fig 3. Deterministic DTI tractography based on fiber assignment by continuous tracking (FACT) in ten healthy subjects in two HARDI datasets.

doi:10.1371/journal.pone.0137064.g003

Discussion

We present an improved tractography framework that combines the use of available software packages to reconstruct the OR from thalamus and visual cortex masks with the automatic exclusion of aberrant streamlines through anatomical criteria. Contrary to conventional DTI-tractography this methodology enabled the reconstruction of the whole OR in high concordance with anatomical knowledge and high accuracy in comparison with the histological reference data. In patients with MS, the OR was obtained in all cases even though there were lesions in these areas. Furthermore, this technique was applied in two different HARDI datasets and the resulting OR fiber tracks were comparable, suggesting good reliability of the approach. Our framework used high order probabilistic streamlines derived from CSD and automatic post-processing based on AEC. The AEC steps included the application of a threshold and the selection of the maximally connected volume to retain plausible OR reconstructed streamlines that connect the seed to the target mask. Most widely used methods are based on the application of a threshold to eliminate low probability connections not corresponding to the OR. Another method, ACT, uses information from high-resolution images to decrease the presence of anatomically implausible streamlines generated on fiber tracking. Despite the application of

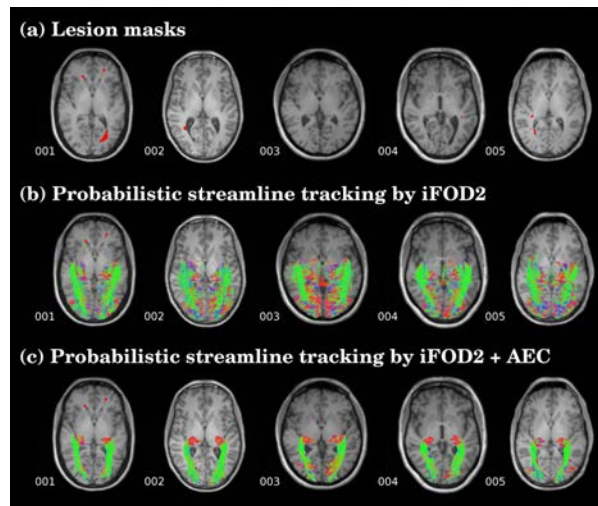


Fig 4. Streamlines of the reconstructed OR in five patients with multiple sclerosis: (a) Lesion masks is shown in red. (b) Probabilistic streamlines fiber tracking by iFOD2. (c) Probabilistic streamlines fiber tracking by high order integration over fiber orientation distributions (iFOD2) adding the anatomical exclusion criteria (AEC).

doi:10.1371/journal.pone.0137064.g004

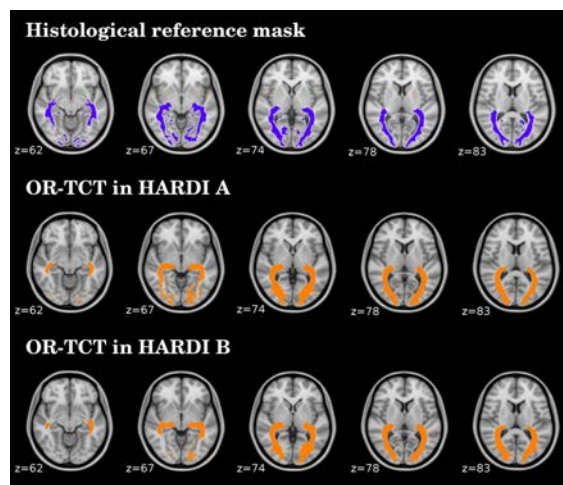


Fig 5. Anatomical correspondence between the histological reference mask (in blue color) and tractography-constructed templates (OR-TCT) from both HARDI datasets (in orange color).

doi:10.1371/journal.pone.0137064.g005

Table 1. Comparison between tractography results and histological reference data in healthy volunteers.

| | | OR-TCT (iFOD2) | | OR-TCT (iFOD2 + AEC) | | reference mask ^a |
|---|----|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------------|
| | | HARDI A ^b | HARDI B ^c | HARDI A ^b | HARDI B ^c | Histological |
| Tract volume (cm ³), mean (±SD) | lh | 44.87 (±7.69) | 52.38 (±14.46) | 12.25 (±2.73) | 16.81 (±4.89) | 18.4 (±2.1) |
| | rh | 41.69 (±8.00) | 43.37 (±11.03) | 12.01 (±2.03) | 14.99 (±3.52) | 18.4 (±1.3) |
| Sensitivity | lh | 0.99 | 0.99 | 0.71 | 0.81 | - |
| | rh | 0.99 | 1.00 | 0.65 | 0.70 | - |
| Precision | lh | 0.18 | 0.14 | 0.83 | 0.71 | - |
| | rh | 0.20 | 0.17 | 0.83 | 0.79 | - |
| Specificity | lh | 0.92 | 0.90 | 1.00 | 0.99 | - |
| | rh | 0.93 | 0.92 | 1.00 | 1.00 | - |
| F-measure | lh | 0.30 | 0.25 | 0.77 | 0.76 | - |
| | rh | 0.33 | 0.29 | 0.73 | 0.74 | - |

^aVolumes in the histological reference mask were obtained from Clatworthy et al., 2010.

^bHARDI A: 1.5 mm isotropic voxel size; b-value, 1500 s/mm²

^cHARDI B: 2.5 mm isotropic voxel size; b-value, 1000 s/mm²

Abbreviations:

AEC: automatic post-processing based on anatomical exclusion criteria.

iFOD: high order integration over fiber orientation distributions.

lh: left hemisphere.

OR-TCT: optic radiation tractography-constructed template.

rh: right hemisphere.

doi:10.1371/journal.pone.0137064.t001

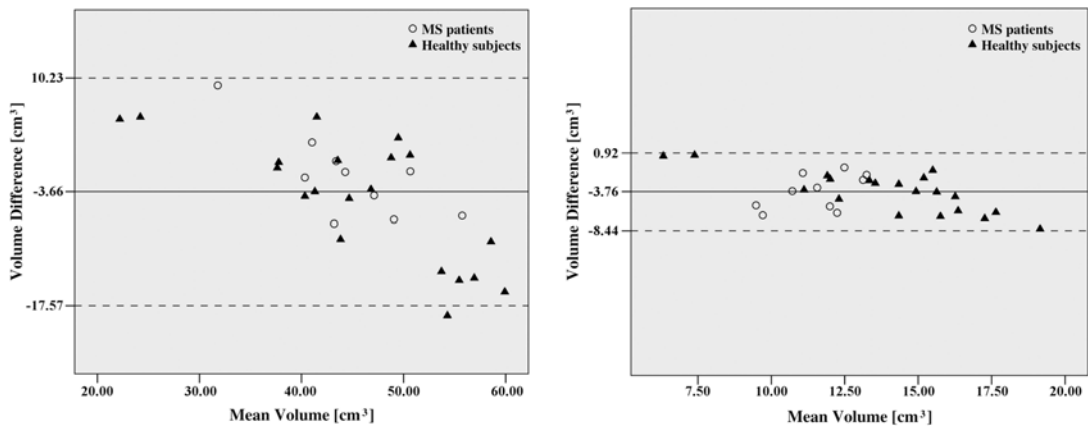


Fig 6. Bland-Altman plots comparing the mean volume of OR in both HARDI datasets. Left panel corresponds to non-AEC and right panel corresponds to results with AEC method. The volume of optic radiation in each subject is the mean of both hemispheres. Most observed differences between the OR volumes in the two sequences are within mean ± 1.96 SD. Middle line indicate mean differences and dashed lines are limits of agreement, defined as mean difference plus (upper line) and minus (lower line) 1.96 SD of differences.

doi:10.1371/journal.pone.0137064.g006

ACT we observed a large number of false positives streamlines projecting to areas outside the visual cortex (Fig 2a). The use of the top 1% track density threshold in AEC steps was found to be the most convenient to preserve sensitivity and precision by largely reducing false positives voxels (from more than 60% to 17%) rather than increase false negatives (from 3% to 40%) (S3 Table). Besides, we applied exclusion masks based on anatomical criteria in order to exclude non OR tracks. This was done by excluding streamlines ending in other GM regions apart from the seeds and target masks, as well as CSF and contralateral hemisphere voxels, that did not match with the classical description of the OR anatomy. With the application of AEC steps the accuracy of the streamlines improved in both healthy volunteers and MS patients.

We were able to reconstruct the whole OR, including the Meyer's loop, using only a seed and a target masks that corresponded to the initial and the final part of the tract (the thalamus and the visual cortex, respectively). In comparison with previous reports, we did not require the use of waypoints in the Meyer's loop to reconstruct the part of the tract with higher curvature. The decision to use the whole thalamus as a seed region was made in light of experimental evidence showing that the visual pathway in primates not only connects the LGN with the calcarine cortex but also includes some projections from the pulvinar nuclei in the posterior thalamus [56]. We manually delineated the thalamus to include the LGN, which tended to be systematically missing with FS segmentation [57]. The visual cortex target mask was built by taking the original primary visual cortex FS parcellation (pericalcarine) and merging the surrounding visual association areas (cuneus, lateraloccipital, lingual and precuneus) in order to ensure the inclusion of extrastriate projections of the OR described in humans [58].

To validate the anatomical correspondence of our results in healthy subjects, we created a template of our OR (OR-TCT) and compared it with a histological reference mask, which serves as a gold standard. The comparison of the OR-TCT with histological reference data shows the biological reliability of the tractography framework but also presents some drawbacks that limit the comparison: the histological reference data is based on myelin-stained histological serial sections of 10 human brains and includes the LGNs and the striate GM areas, increasing the size of the template. Since we assume that meaningful tracts only propagate through WM, we excluded GM regions from the histological reference mask when calculating the precision and sensitivity. As such, the differences in precision and sensitivity between both techniques arise not only from the limitation of the tractography algorithm but also from the effect of unavoidable distortions specific to fixation, cutting, staining and mounting of the histological samples. Nevertheless, the accuracy of the results in both HARDI datasets suggested that our OR-TCT matched well with the histological reference data in location and extent (see Fig 5).

Our study has several strengths. First, the proposed framework was used in different sequences with similar results, demonstrating good reproducibility. We compared the volume of the OR in two HARDI datasets that differ in voxel size and b-value. The results were consistent in both sequences although they presented differences in terms of absolute volume, with higher volumes in the sequence with larger voxel size. Those differences can be related to variations in partial volume effects, contrast in the angular domain and signal-to-noise ratio derived from the different spatial resolutions and b-values [59]. Second, the OR was reconstructed in all MS patients, even in the presence of lesions and microstructural damage. Although the number of patients included was low, the technique appears to be capable of generating a reliable reconstruction of the OR. This can be very useful in the evaluation of the consequences of global and local damage and could be applied to other neurological diseases or for neurosurgical procedures.

However, there are some limitations in the proposed methodology inherent to the technique. First of all, the method is dependent on the seed and target masks positioning, which is the only operator-dependent step and can influence the tractography results. In order to decrease the

probability of bias, the ROIs should be properly segmented to obtain reliable and reproducible positioning. In our study, the automatic segmentation from FS was not suitable so we decided to correct the seed and target masks manually to ensure an accurate reconstruction based on neuro-anatomical knowledge. However, our framework is intended to be used with any selected seed and target masks. Second, this methodology was only evaluated in specific HARDI datasets; therefore, it would be of interest to assess the reliability of OR tracking in higher resolution sequences such as multi-shell HARDI and diffusion spectrum imaging (DSI). Third, the inclusion of the AEC method reduces the sensitivity. This is due in part to exclusion of the most anterior extent of the Meyer's loop streamlines where fibers projecting to the putamen and temporal cortex, not corresponding to the OR, have been described [60]. Despite the decrease in sensitivity, the AEC method increased the precision and accuracy, obtaining an OR reconstruction similar to the histological atlas. Finally, we didn't analyze the presence of damage of the OR in MS patients because our aim was to introduce a reliable tractography methodology. Further clinical studies with higher number of subjects allowing the analysis of changes in MS patients and longitudinal evaluations to assess the reproducibility of the technique are advisable.

Conclusion

We present a framework for tractography reconstruction that was able to reconstruct the OR with high accuracy and reliability by combining high order probabilistic fiber tracking derived from CSD and automatic post-processing based on anatomical exclusion criteria. Moreover, this technique was applied to different HARDI datasets with equivalent results. Finally, despite the presence of WM damage, it was possible to reconstruct the OR in patients with MS. This framework could be used to accurately represent other tracts with complex configuration and in pathologies affecting the WM.

Supporting Information

S1 File. OR-TCT. Optic radiation tractography-constructed template in both HARDI datasets. The OR obtained in each HARDI dataset was converted into a template. To do so, each individual track density image was aligned to the highest resolution sequence (HARDI A) and was normalized into MNI152 space at 1mm. The "S1 File" is composed by the OR reconstruction in both HARDI datasets in binarized masks.

(ZIP)

S1 Table. Comparison between tractography results and histological reference data in MS patients.

(PDF)

S2 Table. Comparison between the application or not of the AEC method.

(PDF)

S3 Table. Comparison between the application or not of the top 1% track density threshold in AEC steps.

(PDF)

Acknowledgments

We would like to thank the Medical Imaging Platform at Institut d'Investigacions Biomediques August Pi I Sunyer (IDIBAPS) for the support in image acquisition. The authors thank César Garrido and Dr. Núria Bargalló for their contribution to the design of the acquisition protocol. Vesna Prckovska is a recipient of the FP7 Marie Curie Intra-European Fellowship.

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: EMH VP MA APG SL. Performed the experiments: EMH FV VP CL MA EHM AC APG SL. Analyzed the data: EMH AC FV VP CL MA EHM PV AS APG SL. Contributed reagents/materials/analysis tools: CL MA EHM PV AS. Wrote the paper: EMH FV VP CL MA EHM AC PV EL AS APG SL.

References

1. Basser PJ, Mattiello J, LeBihan D. MR diffusion tensor spectroscopy and imaging. *Biophysical journal*. 1994 Jan; 66(1):259–67. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1275686&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> doi: 10.1016/S0006-3495(94)80775-1 PMID: 8130344
2. Basser PJ, Pajevic S, Pierpaoli C, Duda J, Aldroubi A. In vivo fiber tractography using DT-MRI data. *Magnetic resonance in medicine: official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*. 2000 Oct; 44(4):625–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11025519> doi: 10.1002/1522-2594(200010)44:4%3C625::AID-MRM17%3E3.0.CO;2-O
3. Hua K, Zhang J, Wakana S, Jiang H, Li X, Reich DS, et al. Tract probability maps in stereotaxic spaces: analyses of white matter anatomy and tract-specific quantification. *NeuroImage*. 2008 Jan; 39(1):336–47. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2724595&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> doi: 10.1016/j.neuroimage.2007.07.053 PMID: 17931890
4. Mori S, Oishi K, Faria AV. White matter atlases based on diffusion tensor imaging. *Current opinion in neurology*. 2009 Aug; 22(4):362–9. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2883814&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> doi: 10.1097/WCO.0b013e32832d954b PMID: 19571751
5. Lawes INC, Barrick TR, Murugam V, Spierings N, Evans DR, Song M, et al. Atlas-based segmentation of white matter tracts of the human brain using diffusion tensor tractography and comparison with classical dissection. *NeuroImage*. 2008 Jan; 39(1):62–79. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17919935> doi: 10.1016/j.neuroimage.2007.06.041 PMID: 17919935
6. Thiebaut de Schotten M, Fyfe DH, Bizzi A, Dell'Acqua F, Allin M, Walshe M, et al. Atlasing location, asymmetry and inter-subject variability of white matter tracts in the human brain with MR diffusion tractography. *NeuroImage*. 2011 Jan; 54(1):49–59. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20682348> doi: 10.1016/j.neuroimage.2010.07.055 PMID: 20682348
7. Craddock RC, Jbabdi S, Yan CG, Vogelstein JT, Castellanos FX, Di Martino A, et al. Imaging human connectomes at the macroscale. *Nature methods*. 2013 Jun; 10(6):524–39. Available from: <http://www.nature.com/nmeth/journal/v10/n6/full/nmeth.2482.html?message-global=remove> doi: 10.1038/nmeth.2482 PMID: 23722212
8. Tuch DS, Reese TG, Wiegell MR, Makris N, Belliveau JW, Wedeen VJ. High angular resolution diffusion imaging reveals intravoxel white matter fiber heterogeneity. *Magnetic resonance in medicine: official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*. 2002 Oct; 48(4):577–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12353272> doi: 10.1002/mrm.10268
9. Jones DK. *Diffusion MRI: Theory, Methods, and Applications*. 2010; Available from: http://books.google.es/books/about/Diffusion_MRI_Theory_Methods_and_Applica.html?id=dbZCMePD52AC&pgis=1
10. Bastiani M, Shah NJ, Goebel R, Roebroeck A. Human cortical connectome reconstruction from diffusion weighted MRI: the effect of tractography algorithm. *NeuroImage*. 2012 Sep; 62(3):1732–49. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22699045> doi: 10.1016/j.neuroimage.2012.06.002 PMID: 22699045
11. Lazar M, Weinstein DM, Tsuruda JS, Hasan KM, Arfanakis K, Meyerand ME, et al. White matter tractography using diffusion tensor deflection. *Human brain mapping*. 2003 Apr; 18(4):306–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12632468> doi: 10.1002/hbm.10102 PMID: 12632468
12. Behrens TEJ, Berg HJ, Jbabdi S, Rushworth MFS, Woolrich MW. Probabilistic diffusion tractography with multiple fibre orientations: What can we gain? *NeuroImage*. 2007 Jan; 34(1):144–55. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17070705> doi: 10.1016/j.neuroimage.2006.09.018 PMID: 17070705
13. Farquharson S, Tournier JD, Calamante F, Fabinji G, Schneider-Kolsky M, Jackson GD, et al. White matter fiber tractography: why we need to move beyond DTI. *Journal of Neurosurgery*. 2013 Jun; 118(6):1367–1377. Available from: http://thejns.org/doi/abs/10.3171/2013.2.JNS121294?url_ver=Z39.88-

- 2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%3dpubmed doi: [10.3171/2013.2.JNS121294](https://doi.org/10.3171/2013.2.JNS121294) PMID: [23540269](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23540269/)
14. Schreiber J, Riffert T, Anwander A, Knösche TR. Plausibility Tracking: a method to evaluate anatomical connectivity and microstructural properties along fiber pathways. *NeuroImage*. 2014 Apr; 90:163–78. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1053811914000068> doi: [10.1016/j.neuroimage.2014.01.002](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2014.01.002) PMID: [24418503](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24418503/)
 15. Tournier JD, and A Connelly FC. Improved probabilistic streamlines tractography by 2 nd order integration over fibre orientation distributions. *ISMRM*. 2010; Available from: <http://www.mendeley.com/catalog/improved-probabilistic-streamlines-tractography-2-nd-order-integration-fibre-orientation-distributio/>
 16. Jeurissen B, Leemans A, Jones DK, Tournier JD, Sijbers J. Probabilistic fiber tracking using the residual bootstrap with constrained spherical deconvolution. *Human brain mapping*. 2011 Mar; 32(3):461–79. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21319270> doi: [10.1002/hbm.21032](https://doi.org/10.1002/hbm.21032) PMID: [21319270](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21319270/)
 17. Smith RE, Tournier JD, Calamante F, Connelly A. Anatomically-constrained tractography: improved diffusion MRI streamlines tractography through effective use of anatomical information. *NeuroImage*. 2012 Sep; 62(3):1924–38. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1053811912005824> doi: [10.1016/j.neuroimage.2012.06.005](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2012.06.005) PMID: [22705374](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22705374/)
 18. Wu W, Rigolo L, O'Donnell LJ, Norton I, Shriver S, Golby AJ. Visual pathway study using in vivo diffusion tensor imaging tractography to complement classic anatomy. *Neurosurgery*. 2012 Mar; 70(1 Suppl Operative):145–56; discussion 156. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3236807&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> doi: [10.1227/NEU.0b013e31822efcae](https://doi.org/10.1227/NEU.0b013e31822efcae) PMID: [21808220](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21808220/)
 19. Sherbondy AJ, Dougherty RF, Napel S, Wandell BA. Identifying the human optic radiation using diffusion imaging and fiber tractography. *Journal of vision*. 2008 Jan; 8(10):12.1–11. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2759943&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> doi: [10.1167/8.10.12](https://doi.org/10.1167/8.10.12)
 20. Bürgel U, Schormann T, Schleicher A, Zilles K. Mapping of histologically identified long fiber tracts in human cerebral hemispheres to the MRI volume of a reference brain: position and spatial variability of the optic radiation. *NeuroImage*. 1999 Nov; 10(5):489–99. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10547327> doi: [10.1006/nimg.1999.0497](https://doi.org/10.1006/nimg.1999.0497) PMID: [10547327](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10547327/)
 21. Catani M, Jones DK, Donato R, Ffytche DH. Occipito-temporal connections in the human brain. *Brain: a journal of neurology*. 2003 Sep; 126(Pt 9):2093–107. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12821517> doi: [10.1093/brain/awg203](https://doi.org/10.1093/brain/awg203)
 22. Mandelstam SA. Challenges of the anatomy and diffusion tensor tractography of the Meyer loop. *AJNR American journal of neuroradiology*. 2012 Aug; 33(7):1204–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22422189> doi: [10.3174/ajnr.A2652](https://doi.org/10.3174/ajnr.A2652) PMID: [22422189](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22422189/)
 23. Lilja Y, Ljungberg M, Starck G, Malmgren K, Rydenhag B, Nilsson DT. Visualizing Meyer's loop: A comparison of deterministic and probabilistic tractography. *Epilepsy research*. 2014 Mar; 108(3):481–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24559840> doi: [10.1016/j.eplepsyres.2014.01.017](https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2014.01.017) PMID: [24559840](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24559840/)
 24. Lilja Y, Nilsson DT. Strengths and limitations of tractography methods to identify the optic radiation for epilepsy surgery. *Quantitative imaging in medicine and surgery*. 2015 Apr; 5(2):288–99. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4379318&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> doi: [10.3978/j.issn.2223-4292.2015.01.08](https://doi.org/10.3978/j.issn.2223-4292.2015.01.08) PMID: [25853086](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25853086/)
 25. Benjamin CFA, Singh JM, Prabhu SP, Warfield SK. Optimization of tractography of the optic radiations. *Human brain mapping*. 2014 Feb; 35(2):683–697. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4083652&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> doi: [10.1002/hbm.22204](https://doi.org/10.1002/hbm.22204) PMID: [23225566](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23225566/)
 26. Clatworthy PL, Williams GB, Acosta-Cabronero J, Jones SP, Harding SG, Johansen-Berg H, et al. Probabilistic tractography of the optic radiations—an automated method and anatomical validation. *NeuroImage*. 2010 Feb; 49(3):2001–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19900564> doi: [10.1016/j.neuroimage.2009.10.083](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.10.083) PMID: [19900564](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19900564/)
 27. Hofer S, Karaus A, Frahm J. Reconstruction and dissection of the entire human visual pathway using diffusion tensor MRI. *Frontiers in neuroanatomy*. 2010 Jan; 4:15. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2859811&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> doi: [10.3389/fnana.2010.00015](https://doi.org/10.3389/fnana.2010.00015) PMID: [20428499](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20428499/)
 28. Winston GP, Mancini L, Stretton J, Ashmore J, Symms MR, Duncan JS, et al. Diffusion tensor imaging tractography of the optic radiation for epilepsy surgical planning: a comparison of two methods. *Epilepsy research*. 2011 Nov; 97(1-2):124–32. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/>

- [articlerender.fcgi?artid=3223565&tool=pmcentrez&rendertype=abstract](#) doi: [10.1016/j.eplepsyres.2011.07.019](#) PMID: [21885257](#)
29. Yogarajah M, Focke NK, Bonelli S, Cercignani M, Acheson J, Parker GJM, et al. Defining Meyer's loop-temporal lobe resections, visual field deficits and diffusion tensor tractography. *Brain: a journal of neurology*. 2009 Jun; 132(Pt 6):1656–68. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2685925&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> doi: [10.1093/brain/awp114](#)
 30. Kolbe S, Bajraszewski C, Chapman C, Nguyen T, Mitchell P, Paine M, et al. Diffusion tensor imaging of the optic radiations after optic neuritis. *Human brain mapping*. 2012 Sep; 33(9):2047–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21915943> doi: [10.1002/hbm.21343](#) PMID: [21915943](#)
 31. Hodaie M, Quan J, Chen DQ. In vivo visualization of cranial nerve pathways in humans using diffusion-based tractography. *Neurosurgery*. 2010 Apr; 66(4):788–95; discussion 795–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20305498> doi: [10.1227/01.NEU.0000367613.09324.DA](#) PMID: [20305498](#)
 32. Sherbondy AJ, Dougherty RF, Ben-Shachar M, Napel S, Wandell BA. ConTrack: Finding the most likely pathways between brain regions using diffusion tractography. *Journal of Vision*. 2008 Jul; 8(9):15–15. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2696074&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> doi: [10.1167/8.9.15](#) PMID: [18831651](#)
 33. Tax CMW, Duits R, Vilanova A, ter Haar Romeny BM, Hofman P, Wagner L, et al. Evaluating contextual processing in diffusion MRI: application to optic radiation reconstruction for epilepsy surgery. *PLoS one*. 2014 Jan; 9(7):e101524. Available from: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0101524> doi: [10.1371/journal.pone.0101524](#) PMID: [25077946](#)
 34. Girard G, Whittingstall K, Deriche R, Descoteaux M. Towards quantitative connectivity analysis: reducing tractography biases. *NeuroImage*. 2014 May; 98C:266–278. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24816531> doi: [10.1016/j.neuroimage.2014.04.074](#)
 35. Gabilondo In, Martínez-Lapiscina EH, Martínez-Heras E, Fraga-Pumar E, Llufríu S, Ortiz S, et al. Trans-synaptic axonal degeneration in the visual pathway in multiple sclerosis. *Annals of neurology*. 2014 Jan; 75(1):98–107. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24114885> doi: [10.1002/ana.24030](#) PMID: [24114885](#)
 36. Llufríu S, Martínez-Heras E, Fortea J, Blanco Y, Berenguer J, Gabilondo In, et al. Cognitive functions in multiple sclerosis: impact of gray matter integrity. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)*. 2014 Apr; 20(4):424–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24005025> doi: [10.1177/1352458513503722](#)
 37. Rocca MA, Mesaros S, Preziosa P, Pagani E, Stosic-Opincal T, Dujmovic-Basuroski I, et al. Wallerian and trans-synaptic degeneration contribute to optic radiation damage in multiple sclerosis: a diffusion tensor MRI study. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)*. 2013 Oct; 19(12):1610–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23572238> doi: [10.1177/1352458513485146](#)
 38. Martínez-Lapiscina EH, Ortiz-Pérez S, Fraga-Pumar E, Martínez-Heras E, Gabilondo In, Llufríu S, et al. Colour vision impairment is associated with disease severity in multiple sclerosis. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)*. 2014 Jan; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24399824>
 39. Pagani E, Filippi M, Rocca MA, Horsfield MA. A method for obtaining tract-specific diffusion tensor MRI measurements in the presence of disease: application to patients with clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis. *NeuroImage*. 2005 May; 26(1):258–65. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15862226> doi: [10.1016/j.neuroimage.2005.01.008](#) PMID: [15862226](#)
 40. Jones DK, Leemans A. Diffusion tensor imaging. *Methods in molecular biology (Clifton, NJ)*. 2011 Jan; 711:127–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21279600> doi: [10.1007/978-1-61737-992-5_6](#)
 41. Desikan RS, Ségonne F, Fischl B, Quinn BT, Dickerson BC, Blacker D, et al. An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. *NeuroImage*. 2006 Jul; 31(3):968–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16530430> doi: [10.1016/j.neuroimage.2006.01.021](#) PMID: [16530430](#)
 42. Yushkevich PA, Piven J, Hazlett HC, Smith RG, Ho S, Gee JC, et al. User-guided 3D active contour segmentation of anatomical structures: significantly improved efficiency and reliability. *NeuroImage*. 2006 Jul; 31(3):1116–28. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16545965> doi: [10.1016/j.neuroimage.2006.01.015](#) PMID: [16545965](#)
 43. Sdika M, Pelletier D. Nonrigid registration of multiple sclerosis brain images using lesion inpainting for morphometry or lesion mapping. *Human brain mapping*. 2009 Apr; 30(4):1060–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18412131> doi: [10.1002/hbm.20566](#) PMID: [18412131](#)
 44. Jenkinson M. Fast, automated, N-dimensional phase-unwrapping algorithm. *Magnetic Resonance in Medicine*. 2003 Jan; 49(1):193–197. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12509838> doi: [10.1002/mrm.10354](#) PMID: [12509838](#)

45. Greve DN, Fischl B. Accurate and robust brain image alignment using boundary-based registration. *NeuroImage*. 2009 Oct; 48(1):63–72. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2733527&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> doi: [10.1016/j.neuroimage.2009.06.060](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.06.060) PMID: [19573611](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19573611/)
46. Tournier JD, Calamante F, Connelly A. MRtrix: Diffusion tractography in crossing fiber regions. *International Journal of Imaging Systems and Technology*. 2012 Mar; 22(1):53–66. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/ima.22005> doi: [10.1002/ima.22005](https://doi.org/10.1002/ima.22005)
47. Alexander DC, Barker GJ, Arridge SR. Detection and modeling of non-Gaussian apparent diffusion coefficient profiles in human brain data. *Magnetic resonance in medicine: official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*. 2002 Aug; 48(2):331–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12210942> doi: [10.1002/mrm.10209](https://doi.org/10.1002/mrm.10209)
48. Descoteaux M, Deriche R, Knösche TR, Anwander A. Deterministic and probabilistic tractography based on complex fibre orientation distributions. *IEEE transactions on medical imaging*. 2009 Feb; 28(2):269–86. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19188114> doi: [10.1109/TMI.2008.2004424](https://doi.org/10.1109/TMI.2008.2004424) PMID: [19188114](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19188114/)
49. Dayan M, Munoz M, Jentschke S, Chadwick MJ, Cooper JM, Riney K, et al. Optic radiation structure and anatomy in the normally developing brain determined using diffusion MRI and tractography. *Brain Structure and Function*. 2013 Oct; 220(1):291–306. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4286633&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> doi: [10.1007/s00429-013-0655-y](https://doi.org/10.1007/s00429-013-0655-y) PMID: [24170375](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24170375/)
50. Klein E, Moeller K, Glauche V, Weiller C, Willmes K. Processing pathways in mental arithmetic—evidence from probabilistic fiber tracking. *PLoS one*. 2013 Jan; 8(1):e55455. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3559478&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> doi: [10.1371/journal.pone.0055455](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055455)
51. Mori S, Crain BJ, Chacko VP, van Zijl PC. Three-dimensional tracking of axonal projections in the brain by magnetic resonance imaging. *Annals of neurology*. 1999 Feb; 45(2):265–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9989633> doi: [10.1002/1531-8249\(199902\)45:2%3C265::AID-ANA21%3E3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/1531-8249(199902)45:2%3C265::AID-ANA21%3E3.0.CO;2-3) PMID: [9989633](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9989633/)
52. Fernández-Miranda JC, Rhoton AL, Alvarez-Linera J, Kakizawa Y, Choi C, de Oliveira EP. Three-dimensional microsurgical and tractographic anatomy of the white matter of the human brain. *Neurosurgery*. 2008 Jun; 62(Suppl 3):989–1026; discussion 1026–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18695585> PMID: [18695585](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18695585/)
53. Bürgel U, Amunts K, Hoemke L, Mohlberg H, Gilsbach JM, Zilles K. White matter fiber tracts of the human brain: three-dimensional mapping at microscopic resolution, topography and intersubject variability. *NeuroImage*. 2006 Feb; 29(4):1092–105. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16236527> doi: [10.1016/j.neuroimage.2005.08.040](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2005.08.040) PMID: [16236527](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16236527/)
54. Altman DG, Bland JM. *Measurement in Medicine: The Analysis of Method Comparison Studies*. The Statistician. 1983 Sep; 32(3):307. Available from: <http://www.jstor.org/stable/2987937?origin=crossref> doi: [10.2307/2987937](https://doi.org/10.2307/2987937)
55. Kovalev VA, Kruggel F, von Cramon DY. Gender and age effects in structural brain asymmetry as measured by MRI texture analysis. *NeuroImage*. 2003 Jul; 19(3):895–905. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12880818> doi: [10.1016/S1053-8119\(03\)00140-X](https://doi.org/10.1016/S1053-8119(03)00140-X) PMID: [12880818](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12880818/)
56. Markov NT, Misery P, Falchier A, Lamy C, Vezoli J, Quilodran R, et al. Weight consistency specifies regularities of macaque cortical networks. *Cerebral cortex (New York, NY)*. 2011 Jun; 21(6):1254–72. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3097985&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
57. Smith RE, Tournier JD, Calamante F, Connelly A. The effects of SIFT on the reproducibility and biological accuracy of the structural connectome. *NeuroImage*. 2015 Jan; 104:253–65. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25312774> doi: [10.1016/j.neuroimage.2014.10.004](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2014.10.004) PMID: [25312774](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25312774/)
58. Alvarez I, Schwarzkopf DS, Clark CA. Extrastriate projections in human optic radiation revealed by fMRI-informed tractography. *Brain structure & function*. 2014 Jun; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24903826>
59. Kim M, Ronen I, Ugurbil K, Kim DS. Spatial resolution dependence of DTI tractography in human occipito-callosal region. *NeuroImage*. 2006 Sep; 32(3):1243–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16861009> doi: [10.1016/j.neuroimage.2006.06.006](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.06.006) PMID: [16861009](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16861009/)
60. Goga C, Türe U. The anatomy of Meyer's loop revisited: changing the anatomical paradigm of the temporal loop based on evidence from fiber microdissection. *Journal of neurosurgery*. 2015 Jan; p. 1–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25635481> doi: [10.1227/NEU.0000000000000574](https://doi.org/10.1227/NEU.0000000000000574)

Supporting Information

| | OR-TCT (iFOD2) | | OR-TCT (FOD2 + AEC) | | reference mask ^a | |
|---|----------------------|----------------------|------------------------|----------------------|-----------------------------|--|
| | HARDI A ^b | HARDI B ^c | HARDI A ^b | HARDI B ^c | | |
| Tract volume (cm^3), mean ($\pm SD$) | lh | 45.83 (± 5.41) | 48.13 (± 7.83) | 10.00 (± 2.42) | 13.60 (± 0.81) | Histological 18.4 (± 2.1) 18.4 (± 1.3) |
| | rh | 41.69 (± 3.68) | 42.99 (± 9.53) | 9.39 (± 1.91) | 13.26 (± 1.53) | |
| Sensitivity | lh | 0.98 | 0.98 | 0.66 | 0.60 | - |
| | rh | 0.98 | 0.98 | 0.56 | 0.57 | |
| Precision | lh | 0.21 | 0.20 | 0.62 | 0.54 | - |
| | rh | 0.24 | 0.22 | 0.60 | 0.57 | |
| Specificity | lh | 0.94 | 0.93 | 0.99 | 0.99 | - |
| | rh | 0.94 | 0.94 | 0.99 | 0.99 | |
| F-measure | lh | 0.35 | 0.33 | 0.64 | 0.57 | - |
| | rh | 0.38 | 0.35 | 0.58 | 0.55 | |

^aVolumes in the histological reference mask were obtained from Clatworthy et al., 2010.

^bHARDI A: 1.5 mm isotropic voxel size; b-value, 1500 s/mm²

^cHARDI B: 2.5 mm isotropic voxel size; b-value, 1000 s/mm²

Abbreviations:

AEC: automatic post-processing based on anatomical exclusion criteria.

iFOD: high order integration over fiber orientation distributions.

lh: left hemisphere.

OR-TCT: optic radiation tractography-constructed template.

rh: right hemisphere.

S1 Table. Comparison between tractography results and histological reference data in MS patients.

| | OR-TCT (iFOD2) | | OR-TCT (iFOD2 + AEC) | |
|--------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | HARDI A ^a | HARDI B ^b | HARDI A ^a | HARDI B ^b |
| False positive (%) | lh | 85.57 | 16.69 | 28.95 |
| | rh | 82.70 | 17.21 | 21.22 |
| False negative (%) | lh | 0.11 | 34.25 | 16.64 |
| | rh | 0.08 | 44.51 | 33.19 |

^aHARDI A: 1.5 mm isotropic voxel size; b-value, 1500 s/mm²

^bHARDI B: 2.5 mm isotropic voxel size; b-value, 1000 s/mm²

Abbreviations:

AEC: automatic post-processing based on anatomical exclusion criteria.

iFOD: high order integration over fiber orientation distributions.

lh: left hemisphere.

OR-TCT: optic radiation tractography-constructed template.

rh: right hemisphere.

S2 Table. Comparison between the application or not of the AEC method.

| | FP | TP | FN | TN | VOL | SENS | PREC | SPEC | F-MEASURE |
|--|-------------------|-------|----------------|---------|-------|------|------|------|-----------|
| OR-TCT + AEC without threshold (lh) | 55479 (66.72%) | 27667 | 2461 (2.9%) | 1737370 | 83146 | 0.92 | 0.33 | 0.97 | 0.49 |
| OR-TCT + AEC without threshold (rh) | 50823 (63.76%) | 28881 | 2780 (3.5%) | 1740493 | 79704 | 0.91 | 0.36 | 0.97 | 0.52 |
| OR-TCT + AEC 1% threshold (lh) | 4278 (16.7%) | 21350 | 8778 (34%) | 1805218 | 25628 | 0.71 | 0.83 | 1 | 0.77 |
| OR-TCT + AEC 1% threshold (rh) | 4279 (17.2%) | 20591 | 11070 (44%) | 1803684 | 24870 | 0.65 | 0.83 | 1 | 0.73 |

Number of voxels and percentage (%) are shown.

Abbreviations:

AEC: automatic post-processing based on anatomical exclusion criteria.

FN: False negatives.

FP: False positives.

lh: left hemisphere.

rh: right hemisphere.

TN: True negatives.

TP: True positives.

OR-TCT: optic radiation tractography-constructed template.

S3 Table. Comparison between the application or not of the top 1% track density threshold in AEC steps.

6.2. Artículo 2:

Structural networks involved in attention and executive functions in multiple sclerosis

Sara Llufríu and Eloy Martínez-Heras; Elisabeth Solana; Nuria Sola-Valls; María Sepulveda; Yolanda Blanco; Elena H. Martínez-Lapiscina; Magi Andorra; Pablo Villoslada; Alberto Prats Galino; Albert Saiz. *Neuroimage: Clinical*, 2016, Vol.13, pp. 288-296. Accepted date: 26/11/2016. IF: 3.86.



Structural networks involved in attention and executive functions in multiple sclerosis



Sara Llufríu^{a,*}, Eloy Martínez-Heras^{a,1}, Elisabeth Solana^a, Nuria Sola-Valls^a, Maria Sepulveda^a, Yolanda Blanco^a, Elena H. Martínez-Lapiscina^a, Magi Andorra^a, Pablo Villoslada^a, Alberto Prats-Galino^b, Albert Saiz^a

^aCenter of Neuroimmunology, Laboratory of Advanced Imaging in Neuroimmunological Diseases, Hospital Clinic Barcelona, Institut d'Investigacions Biomediques August Pi i Sunyer (IDIBAPS) and Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain

^bLaboratory of Surgical NeuroAnatomy (LSNA), Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 13 June 2016

Received in revised form 22 November 2016

Accepted 26 November 2016

Available online 05 December 2016

Keywords:

MRI

Connectivity

Tractography

Graph analysis

Multiple sclerosis

Cognition

ABSTRACT

Attention and executive deficits are disabling symptoms in multiple sclerosis (MS) that have been related to disconnection mechanisms. We aimed to investigate changes in structural connectivity in MS and their association with attention and executive performance applying an improved framework that combines high order probabilistic tractography and anatomical exclusion criteria postprocessing. We compared graph theory metrics of structural networks and fractional anisotropy (FA) of white matter (WM) connections or edges between 72 MS subjects and 38 healthy volunteers (HV) and assessed their correlation with cognition. Patients displayed decreased network transitivity, global efficiency and increased path length compared with HV ($p < 0.05$, corrected). Also, nodal strength was decreased in 26 of 84 gray matter regions. The distribution of nodes with stronger connections or hubs of the network was similar among groups except for the right pallidum and left insula, which became hubs in patients. MS subjects presented reduced edge FA widespread in the network, while FA was increased in 24 connections ($p < 0.05$, corrected). Decreased integrity of frontoparietal networks, deep gray nuclei and insula correlated with worse attention and executive performance (r between 0.38 and 0.55, $p < 0.05$, corrected). Contrarily, higher strength in the right transverse temporal cortex and increased FA of several connections (mainly from cingulate, frontal and occipital cortices) were associated with worse functioning (r between -0.40 and -0.47 , $p < 0.05$ corrected). In conclusion, structural brain connectivity is disturbed in MS due to widespread impairment of WM connections and gray matter structures. The increased edge connectivity suggests the presence of reorganization mechanisms at the structural level. Importantly, attention and executive performance relates to frontoparietal networks, deep gray nuclei and insula. These results support the relevance of network integrity to maintain optimal cognitive skills.

© 2016 Published by Elsevier Inc. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. Introduction

Cognitive dysfunction is present in 40%–70% of patients with multiple sclerosis (MS) (Amato et al., 2010) predominantly affecting attention and executive functions, information processing speed and episodic memory (Rocca et al., 2015). Attention and executive functions are critical cognitive domains to successfully carry out daily life activities and social functioning. The Paced Auditory Serial Addition Test (PASAT) and the Symbol Digit Modalities Test (SDMT) are sensitive tools to examine different components of attention, executive functions

and information processing speed and are widely used in neuropsychological evaluation of patients with MS (Boringa et al., 2001; Cutter et al., 1999). Cognitive dysfunction in MS has been associated with disconnection mechanisms related to focal lesions and diffuse microstructural damage in strategic white matter (WM) tracts involved in cognitive performance, in addition to gray matter (GM) impairment (Bozzali et al., 2013; Calabrese et al., 2009; Harrison et al., 2015; Llufríu et al., 2014; Preziosa et al., 2016). Moreover, brain functional modifications in task-based studies seem to drive compensatory mechanisms at the earliest stages of disease, when structural damage is low, with increased cortical recruitment probably contributing to the maintenance of a normal level of cognitive performance. In later phases, those changes are lost or exhausted leading to cognitive dysfunction (Rocca et al., 2015).

Recently, graph theoretical approaches have been applied to the characterization of complex networks in the brain (He et al., 2009;

* Corresponding author at: Hospital Clinic Barcelona, Calle Villarroel 170, CP 08036 Barcelona, Spain.

E-mail address: slufríu@clinic.cat (S. Llufríu).

¹ These authors contributed equally to this work (co-first authors).

Rocca et al., 2016; Sporns et al., 2005). Functional reports have shown varying patterns of connectivity, with increased or decreased connectivity in MS subjects with cognitive impairment (Schoonheim et al., 2015). All in all, the controversy of those changes as being beneficial or maladaptive is still unsolved. In addition, structural connectivity through diffusion tensor imaging (DTI) tractography showed a reduction of network efficiency from early stages of disease that correlated with physical disability (Li et al., 2013; Shu et al., 2011). DTI-based fiber tractography have promoted the development of structural connectivity techniques, which define and quantify anatomical links between remote GM regions by WM fiber pathways (Guye et al., 2010). However, it presents a set of challenges to be overcome (Jones, 2010) as most methods result in systematically unreliable and anatomically misleading information that can be particularly serious in the presence of lesions such as in MS (Farquharson et al., 2013). High order probabilistic tractography based on second order integration over fiber orientation distributions (iFOD2) estimated with constrained spherical deconvolution (CSD) is able to improve accuracy in fiber tracking (Tournier and Connelly, 2010) but has not been widely adopted in structural connectivity analyses. Albeit, tractography generates biologically unrealistic streamlines that can be reduced by the application of an anatomical exclusion criteria (AEC) postprocessing. AEC removes streamlines of low confidence and excludes pathways reaching GM areas outside the seeds masks, reducing the amount of anatomically implausible streamlines and increasing tractography reliability in healthy volunteers (HV) and in patients with MS (Martínez-Heras et al., 2015).

The relevance of several features of the MS pathology, such as demyelination and axonal injury and repair, and their influence on cognition are still unknown. In this way, the characterization of the brain structural network has the potential to improve our understanding of the pathophysiology of MS and its clinical manifestations. In this study, we aimed to investigate changes in structural connectivity in patients with MS and their association with attention and executive functioning applying an improved framework for tractography reconstruction by combining iFOD2 and automatic postprocessing based on AEC (Martínez-Heras et al., 2015). We hypothesized that the disruption of the structural network connectivity contributes to cognitive difficulties characteristics of this disease, especially in attention and executive functions. In order to study our hypothesis, we evaluated the changes in whole brain graph theory metrics, WM connections (edges) and GM regions (nodes) and their correlation with cognition in a set of MS subjects. Moreover, we assessed the reproducibility (Bonilha et al., 2015) of the structural networks from 15 HV in order to evaluate the reliability of our framework.

2. Material and methods

2.1. Participants

MS participants were consecutively recruited from the MS Unit at the Hospital Clinic of Barcelona and they had to be free from relapses in the last 30 days. Other inclusion criteria were as follows: (a) aged between 18 and 65 years; (b) an Expanded Disability Status Scale (EDSS) (Kurtzke, 1983) of 6.0 or lower; and (c) have no significant medical illness that could interfere with cognitive functioning. We included 72 subjects with relapsing-remitting or secondary-progressive MS according to 2010 McDonald criteria (Polman et al., 2011) and 38 HV without previous or present history of neurological or psychiatric dysfunction. HV were recruited from the outpatient facility of the Neurology department via advertisements. The Ethics Committee of the Hospital Clinic of Barcelona approved the study and all participants signed an informed consent.

2.2. Cognitive evaluation

Cognitive function was assessed with PASAT and SDMT in MS participants. Three second-PASAT is a mental simple calculation test involving

attention, auditory working memory, and information processing speed (Gronwall, 1977), while SDMT is a symbol-number substitution test designed to assess information processing speed and visual attention (Smith, 1968). Cognitive evaluations were performed by a neuropsychologist (ES) blinded to MRI and other clinical data. Test z-scores were derived from normative data obtained from a published healthy cohort and were stratified by age and education (Sepulcre et al., 2006). z-Scores were calculated for each test (zPASAT and zSDMT) and a mean attentional-executive domain z-score (zAttention) was obtained (Sepulcre et al., 2006).

2.3. MRI data acquisition

MRI images were acquired on a 3 T Magnetom Trio (SIEMENS, Erlangen, Germany) scanner, using a thirty-two channel phased-array head coil and included 3D Magnetization Prepared Rapid Acquisition Gradient Echo (MPRAGE) structural and diffusion weighted imaging (DWI) sequences. The 3D-structural image had the following acquisition parameters: TR, 1800 ms; TE, 3.01 ms; TI, 900 ms; 240 contiguous sagittal slices with 0.94 mm isotropic voxel size; 256 × 256 matrix size. The DWI was a High Angular Resolution Diffusion Imaging (HARDI) sequence with TR/TE, 14,800/103 ms; 100 contiguous axial slices; 1.5 mm isotropic voxel size; 154 × 154 matrix size; b value, 1000 s/mm²; 60 diffusion encoding directions and a single baseline image acquired at 0 s/mm².

Parallel imaging was applied with a geometric reduction factor of 2 to reduce the distortion caused by susceptibility differences at tissue interfaces. In addition, a fieldmap sequence (TE1, 4.92 ms and TE2, 7.38 ms, with the same slice prescription, slice thickness and field of view as the HARDI sequence) was acquired to correct geometric distortions of the DWI.

In order to assess the reproducibility of the tractography framework, 5 HV underwent a second MRI acquisition on the same day (intra-session reproducibility) and 10 HV on different days (inter-session reproducibility).

2.4. Reconstruction of structural networks

2.4.1. Anatomical parcellation

Cortex was parcellated in 3D-structural image with Freesurfer (FS) software V5.3.0 (<http://freesurfer.net/>) in 34 regions per hemisphere with the Desikan-Killiany atlas (Desikan et al., 2006). Subcortical GM regions (8 per hemisphere) were segmented with FIRST tool (Patenaude et al., 2011) as it is more reliable for these structures than FS segmentation (Morey et al., 2010). Whole GM volume was calculated in each subject. Additionally, a manual mask of WM lesions delineated with the ITK-SNAP V3.4 toolkit (<http://www.itksnap.org/pmwiki/pmwiki.php>) on the 3D-structural image was used for lesion inpainting to improve segmentation and registration steps in MS participants (Sdika and Pelletier, 2009).

2.4.2. Whole brain tractography

The schematic diagram of the framework is shown in Fig. 1. Standard preprocessing of the DWIs included geometric distortion correction for echo planar images (EPI) with fieldmap images and head motion correction. Fieldmap-based unwarping of the EPI was done with PRELUDE to unwrap the phase and FUGUE to compute the distortion by means of FMRIB Software Library (FSL V5.0, <http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/>). We evaluated data quality from each participant by visual inspection of the DWIs. Besides, we calculated head motion through DTI Motion tool (<https://github.com/Woutervdbos/DTI-Motion>) and did not find any significant difference in absolute and relative movement parameters between HV and MS participants (Supplementary material, Fig. S1). After the application of eddy current correction, the gradient vectors of the DWIs were rotated to compensate head motion. The 84

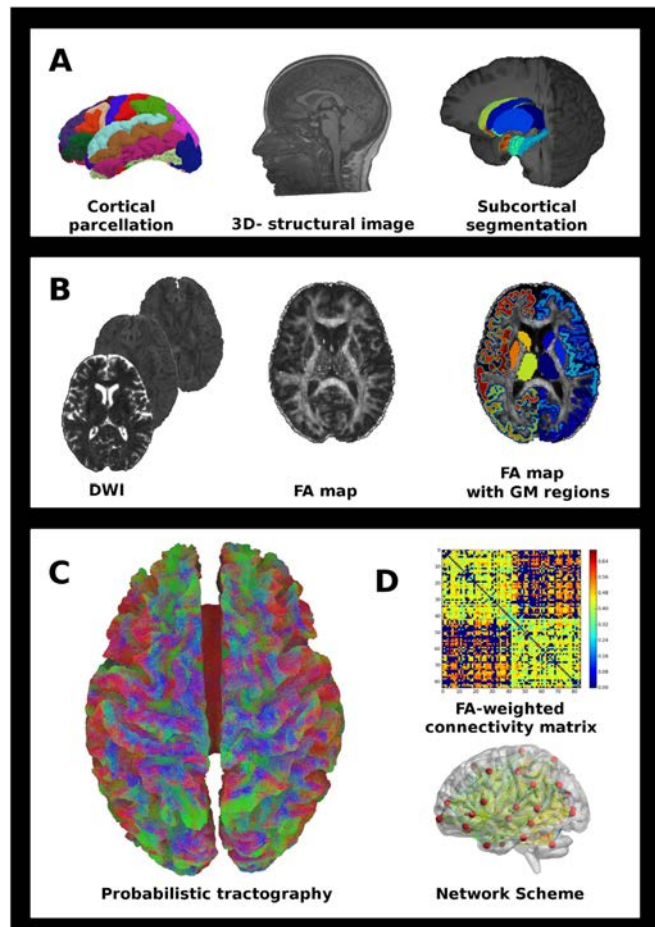


Fig. 1. Structural connectivity framework. A) Nodes parcellation: FreeSurfer and FIRST tools were used to segment the cortex and the subcortical GM areas from the 3D-structural image. B) DWI processing: FA maps were obtained through standard preprocessing of DWI. Then, subcortical and cortical parcellations were registered to FA maps. C) Diffusion tractography: Probabilistic streamline fiber tracking by iFOD2 including anatomical exclusion criteria postprocessing. D) Structural network reconstruction: Connections were assembled into FA-weighted connectivity matrices. Network scheme included 84 cortical and subcortical GM nodes and FA edges linking pairs of nodes. Several graph theory metrics were computed from the resulting matrices. FA: fractional anisotropy; DWI: diffusion weighted images; iFOD2: second order integration over fiber orientation distributions; GM: gray matter.

segmented regions in GM were then registered to undistorted EPI (Greve and Fischl, 2009) and used as nodes in the network setup.

The estimation of the diffusion signal response function for each voxel was done to capture the underlying fiber orientations distribution (FOD). The MRtrix3 package (<http://www.mrtrix.org/>) was used to perform probabilistic fiber tracking by iFOD2. A set of 3 million streamlines in the brain were generated by seeding the whole brain mask. The default step size (0.75), curvature (45°) and FOD amplitude threshold (0.1) were used. Then, the 5-tissue type segmented images (5TT) were provided to the anatomically-constrained tractography (ACT) tool, which improves tractography reconstruction using anatomical information through a dynamic thresholding strategy (Smith et al., 2012). In MS participants, normal appearing WM and lesions mask were considered as WM tissue type in the 5TT format. AEC was applied to every track file from each pair of nodes (3486 specific connections of interest linking 84 GM regions) to reduce the presence of false positive streamlines

(Martínez-Heras et al., 2015). This included the application of a 1% threshold based on track-weights for each connection and the exclusion of any streamline outside the direct link between each pair of nodes.

A neuroanatomist (AP) visually inspected 3 specific fiber tracks connecting pairs of nodes (fusiform and lateral occipital cortices, putamen and superior frontal cortex, thalamus and precentral cortex) to ensure the reconstruction of these tracks and to detect anatomically implausible streamlines. The chosen connections participate in important functional circuits, are well defined anatomically and their reconstruction is challenging (Nieuwenhuys et al., 2008; Schmahmann and Pandya, 2009).

2.5. Network analysis

Brain structural networks were represented by 84×84 weighted connectivity matrices. Connectome matrices represented mean

fractional anisotropy (FA) values along each connection based on tracking results. Graph analysis was used to express local and global connectivity properties of networks (Liu et al., 2012). Whole brain graph theory measures included strength (the sum of all neighboring link weights), transitivity (the ratio of triangles to triplets in the network), global efficiency (the average inverse shortest path length), assortativity (a correlation coefficient between the degrees of all nodes on two opposite ends of a link), clustering coefficient (the fraction of the node's neighbors that are also neighbors of each other) and betweenness centrality (BC, the fraction of all shortest paths in the network that pass through a given node) (Rubinov and Sporns, 2010; Sporns et al., 2005). Moreover, the strength and BC of each node was calculated. Nodes showing higher strength (above 1 standard deviation, SD, of the mean strength of all nodes in each group of participants) were considered hubs of the network (Van den Heuvel and Sporns, 2011). All measures belonging to graph theory were calculated using the Brain Connectivity Toolbox (<https://sites.google.com/site/bctnet/>).

2.6. Statistics

Intra-session and inter-session reproducibility of FA-weighted connectivity matrices was calculated by intra-class correlation coefficients (ICCs) comparing matrices before and after the application of AEC as it is widely used to contrast tractography approaches (Bonilha et al., 2015). Absolute agreement between FA weighted connectivity matrices from two time points was computed through R statistical software (ICC package) (Wolak et al., 2012). The disparity produced by structural segmentation in different time points was avoided by using the same anatomical segmentation.

Student's *t*-test or Chi-square test was used to compare demographic and clinical characteristics between subjects with MS and HV. We also compared whole brain graph theory metrics and FA-weighted connectivity matrices between both groups through Student's *t*-tests with Bonferroni correction for multiple comparisons ($p < 0.008$). Correlations between nodal strength and edge mean FA with cognitive z-scores was computed using the Pearson correlation coefficient. Statistical significance was set at $p < 0.05$. Due to the large number of nodes and edges included, we applied false discovery rate (FDR) correction to all analyses. Statistics were performed with Matlab (V R2013a) and SPSS (V20.0).

3. Results

MS volunteers had a mean (SD) attentional z-score of -0.14 (1.10). Clinical, demographic and cognitive data from subjects are summarized in Table 1. MS subjects and HV were similar in age and gender.

3.1. Assessment of the tractography results

The revised tracks were reconstructed in all subjects. Both in HV and in MS participants, the use of AEC postprocessing removed streamlines containing low values of weights and decreased anatomically unrealistic streamlines in the inspected tracks (see Supplementary material, Figs. S2 and S3).

Intra-session ICCs comparing FA-weighted connectivity matrices before and after AEC postprocessing were evaluated in 5 HVs. Mean (SD) ICCs were 0.77 (0.02) and 0.78 (0.03) respectively, corresponding to an increase of 1.28% in reproducibility.

Mean (SD) inter-session ICCs in 10 HVs were 0.69 (0.07) and 0.74 (0.06) before and after application of AEC, corresponding to an increment of 6.16%. The mean (SD) number of days between the two MRI acquisitions was 53.8 (21.9).

Table 1

Clinical and demographic characteristics of the subjects included in the study.

| | MS patients (n = 72) | Healthy volunteers (n = 38) | p value |
|---------------------------------------|-------------------------|--------------------------------|-------------------|
| Female (N, %) | 47 (65.3) | 21 (55.3) | 0.30 ^a |
| Age (years) | 38.95 (9.55) | 40.01 (11.14) | 0.60 ^b |
| Type of MS: | | | |
| RRMS | 66 (94.5) | n/a | n/a |
| SPMS | 6 (5.5) | | |
| Lesion volume (cm ³) | 5.73 (8.42) | n/a | n/a |
| Gray matter volume (cm ³) | 625.1 (66.7) | 641.7 (68.1) | 0.22 ^b |
| Disease duration, years | 6.54 (7.34) | n/a | n/a |
| Median EDSS score (range) | 2.0 (0–6.0) | n/a | n/a |
| zPASAT score | -0.43 (0.17) | n/a | n/a |
| zSDMT score | 0.14 (1.19) | n/a | n/a |
| zAttention score | -0.14 (1.10) | n/a | n/a |

Continuous variables are given as mean (standard deviation). EDSS = Expanded Disability Status Scale; n/a = not applicable; PASAT = Paced Auditory Serial Addition Test; RRMS = relapsing remitting multiple sclerosis; SDMT = Symbol Digit Modalities Test; SPMS = secondary progressive multiple sclerosis.

^a Chi square test.

^b Student's *t*-test for independent samples.

3.2. Comparison of structural connectivity metrics between MS subjects and healthy volunteers

Patients showed decreased ($p < 0.008$, Bonferroni correction) whole brain transitivity and global efficiency, and increased path length compared to HV (Table 2). These results remained unchanged when we considered only patients with RRMS.

Nine hubs were identified in both groups and included GM midline regions (bilateral precuneus), bilateral superior parietal cortex, right insula and subcortical nuclei including thalamus and putamen. However, in MS subjects, right pallidum and left insula were also classified as hubs (Fig. 2), and increased their relative BC in the brain network of this group (see Supplementary material, Fig. S4).

In patients, 26 of the 84 nodes showed decreased nodal strength ($p < 0.05$, FDR) compared with HV, corresponding to parietal cortex (bilateral inferior parietal, bilateral postcentral, bilateral superior parietal, right supramarginal gyrus and right precuneus), temporal lobe (left fusiform cortex), frontal and prefrontal cortex (left superior frontal, bilateral precentral, right paracentral, bilateral lateral orbitofrontal and left medial orbitofrontal cortex), bilateral thalamus, limbic lobe (bilateral entorhinal, bilateral parahippocampal and bilateral rostral anterior cingulate) and bilateral cerebellar cortex (Fig. 2).

Patients also presented reduction of FA in 793 edges out of 3486 connections, while FA was increased in 24 edges (i.e. right middle frontal cortex with occipital nodes) ($p < 0.05$, FDR) (Fig. 2). Indeed, FA of connections between the right pallidum (new hub in patients) and left isthmus of the cingulate cortex, postcentral and supramarginal cortices was increased in patients ($p < 0.05$, FDR).

Table 2

Whole network graph theory properties.

| | MS patients (n = 72) | Healthy volunteers (n = 38) | p value |
|------------------------|-------------------------|--------------------------------|---------|
| Strength | 22.64 (2.20) | 23.63 (2.24) | 0.028 |
| Transitivity | 0.33 (0.02) | 0.34 (0.02) | 0.001* |
| Global efficiency | 0.36 (0.02) | 0.38 (0.02) | <0.001* |
| Assortativity | -0.02 (0.02) | -0.03 (0.02) | 0.193 |
| Path length | 3.05 (0.17) | 2.92 (0.15) | <0.001* |
| Betweenness centrality | 32.58 (4.55) | 32.47 (5.32) | 0.906 |

Statistics by Student's *t*-test for independent samples. Variables are given as mean (standard deviation).

* Statistical significance at $p < 0.008$ using Bonferroni correction.

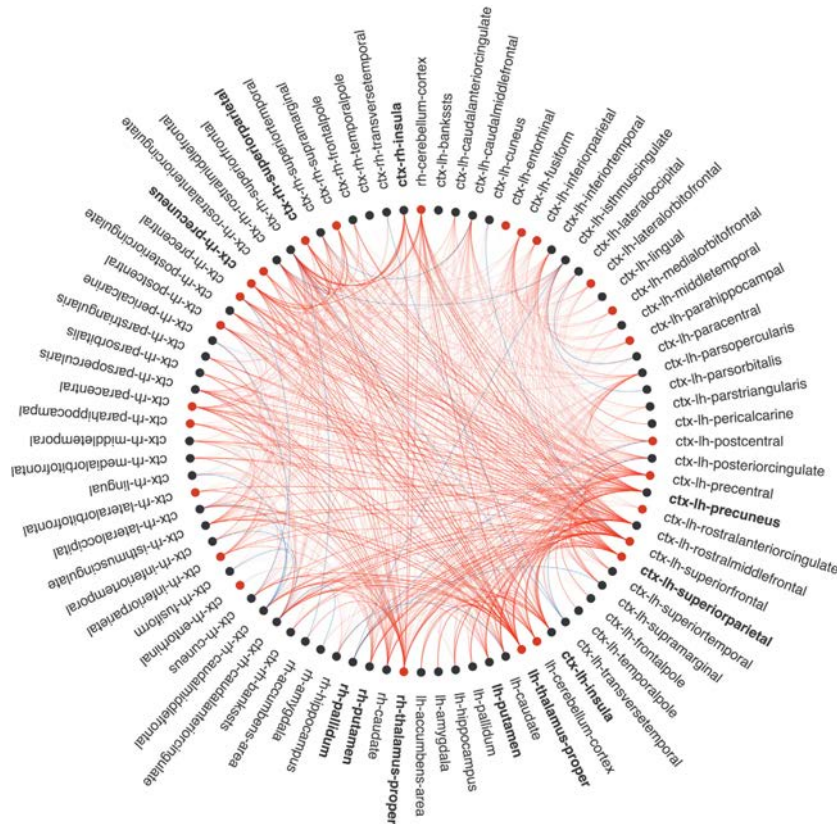


Fig. 2. Group comparison for edge FA and nodal strength. Nodes are located in the corresponding vertices of the circle. Only edges showing significant differences ($p < 0.05$, FDR) between MS participants and healthy volunteers are displayed as lines (reduction of edge FA in patients is colored in red and increase in blue). Also, nodes with significant decrease of strength in MS are colored in red. Hub regions in MS are highlighted in bold. ctx: cortex; lh: left hemisphere; rh: right hemisphere. This connectogram was developed by Bokeh from Python v2.7 (<http://bokeh.pydata.org/en/latest/>). (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

3.3. Correlations between attentional-executive functions and structural connectivity measures

Decreased strength in 4 nodes correlated (r between 0.36 and 0.42, $p < 0.05$, FDR) with worse zAttention including bilateral lateral orbitofrontal, right inferior temporal cortices, and left thalamus (Fig. 3). In addition, increased strength in the right transverse temporal cortex correlated with worse zAttention ($r = -0.35$, $p = 0.04$, FDR). These correlations remained unchanged in the RRMS group (see Supplementary material, Fig. S5). Nodal strength in 7 regions was associated with zPASAT (Fig. 4A) while correlations between nodal properties and zSDMT did not survive FDR correction (Fig. 4B).

We detected significant positive correlations (r between 0.38 and 0.55, $p < 0.05$, FDR) between decreased FA and worse zAttention in 73 connections. On the contrary, increased FA in 6 connections correlated with worse zAttention (r between -0.40 and -0.47 , $p < 0.05$, FDR). Attention and executive functions were mainly associated with edges related to parietal, temporal, prefrontal cortex, limbic lobe, insula and deep gray nuclei (Fig. 3). In the group of RRMS patients, correlations in frontoparietal connections, deep gray nuclei and insula remained significant (r between 0.40 and 0.54: $p < 0.05$, FDR) (see Supplementary material, Fig. S5).

More precisely, 160 connections correlated with zPASAT and 11 with zSDMT ($p < 0.05$, FDR). For PASAT z-score, the majority of correlations were found in the parietal, especially in bilateral precuneus and bilateral inferior parietal cortex, temporal, limbic lobe, deep gray nuclei, prefrontal, occipital cortex and in the insula (Fig. 4A). Most of the correlations were positive except in 17 connections. zSDMT positively correlated mainly with FA of prefrontal and deep gray nuclei edges and negatively correlated for connections between left pallidum and right pericalcarine cortices (Fig. 4B).

4. Discussion

Using improved tractography approaches, this study demonstrates structural connectivity changes in a cohort of MS participants at several levels, both in whole brain graph theory metrics and in GM nodal and WM edge integrity. Likewise, we identify strategic networks where connectivity is critical to preserve attention and executive performance in MS.

Previously, we demonstrated that anatomical information applied to postprocessing could improve reliability in the reconstruction of a specific tract (i.e. optic radiations) (Martínez-Heras et al., 2015). Here, we

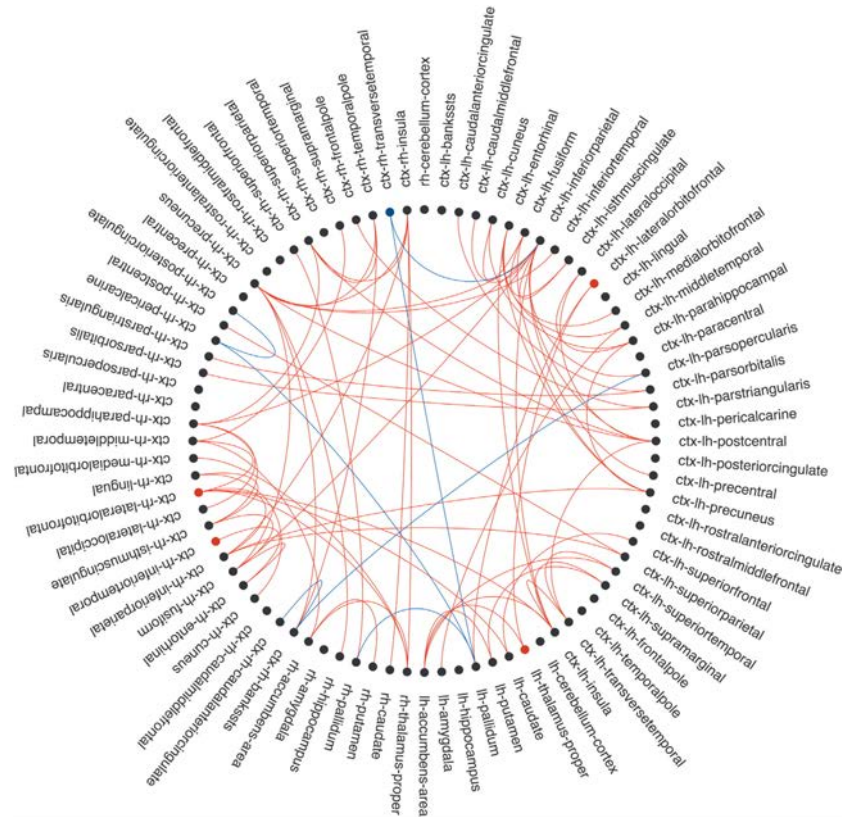


Fig. 3. Correlations between edge FA, nodal strength and zAttention. Nodes are located in the corresponding vertices of the circle. Edges with significant correlations ($p < 0.05$, FDR) between FA and attentional performance are shown as lines (in red for positive and blue for negative). Also, nodes with significant correlations with z-scores are colored (in red for positive and blue for negative correlations). ctx: cortex; lh: left hemisphere; rh: right hemisphere. This connectogram was developed by Bokeh from Python v2.7 (<http://bokeh.pydata.org/en/latest/>). (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

further support the use of this framework in structural connectivity analyses. We found that intra and inter-session ICC reproducibility index in high order probabilistic fiber tracking was high, showing a strong consistency between assessments (Landis and Koch, 1977). In addition, the use of AEC postprocessing was able to further improve the reproducibility and decrease the presence of aberrant streamlines, enhancing the anatomical reliability of the reconstruction (see Supplementary material, Figs. S2 and S3).

Healthy brain networks are characterized by short path lengths (associated with high global efficiency of information transfer), high clustering coefficient (associated with robustness to random error), and a modular community structure (Bullmore and Sporns, 2009). Graph theory studies have revealed the existence of hubs or groups of central nodes highly interconnected with other nodes of the same group and with lower level nodes, forming a rich and diverse community pattern (De Reus et al., 2014; Van den Heuvel and Sporns, 2011). In the present study, network hub distribution was mostly preserved in MS and hubs were found in medial parietal associative cortex, right insula and deep gray nuclei including thalamus. These regions are concordant with those described in healthy populations (Iturria-Medina et al., 2007; Van den Heuvel and Sporns, 2011) and in MS (Rocca et al., 2016; Shu et al., 2011). Nevertheless, we did not find hubs in the prefrontal areas, possibly due to differences in technical approaches of previous

reports (Rocca et al., 2016; Shu et al., 2011). Remarkably, in our MS cohort, right pallidum and left insula became hubs of the network. Pallidum, a structure involved in movement control, showed increased FA connections with GM regions that have been related to somatosensory control (postcentral cortex) and cognition (isthmus of the cingulate and supramarginal cortices). Meanwhile, the insula is implicated in high level cognitive control and attentional processes. These nodes, especially pallidum, became more central and maintained their strength in a globally impaired network. This could reflect reorganization changes and high resilience of these areas to integrity damage. Despite differences in the methodology approach, the increased relevance of pallidum and insula have been described in other neurological and psychiatric diseases such as in early stages of Parkinson's disease (Sang et al., 2015) and schizophrenia (Bassett et al., 2008).

The present study shows decreased structural integration (global efficiency) and segregation impairment (decreased transitivity) in MS participants that worsen the efficiency in global and local transfer of information (Li et al., 2013; Shu et al., 2011). The decrease of WM FA is driven by the presence of focal lesions, but also related to microstructural impairment of normal appearing WM (Klistorner et al., 2015). Importantly, we also found increased FA of some edges connecting subcortical or cortical nodes, compared with HV. Indeed, increment of structural connectivity has been suggested in MS (Li et al., 2013) and related

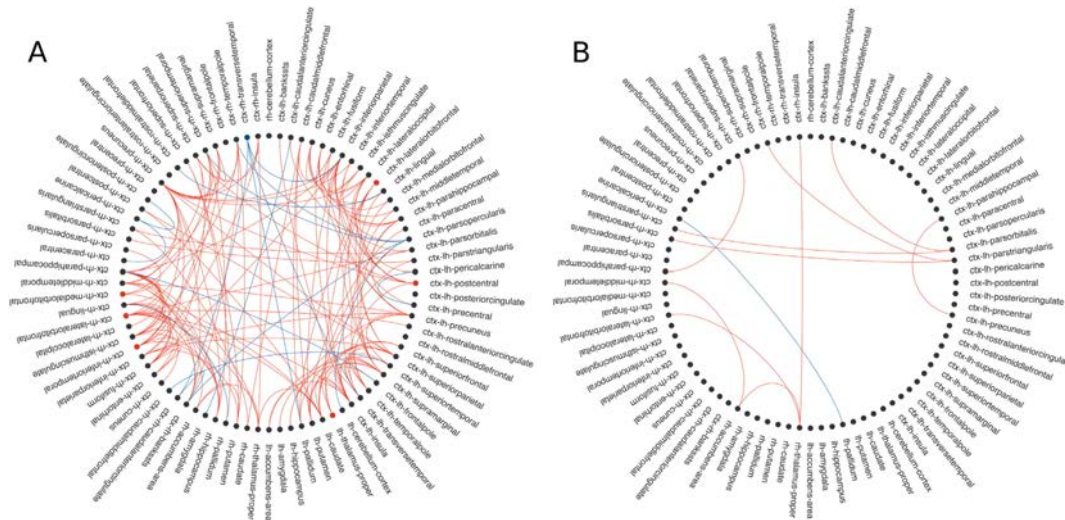


Fig. 4. Correlations between edge FA, nodal strength and A) zPASAT or B) zSDMT scores. Nodes are located in the corresponding vertices of the circle. Edges with significant correlations ($p < 0.05$, FDR) between FA and test performance are shown as lines (in red for positive and blue for negative correlations). Also, nodes with significant correlations with z-scores are colored (in red for positive and blue for negative). ctx: cortex; lh: left hemisphere; rh: right hemisphere. These connectograms were developed by Bokeh from Python v2.7 (<http://bokeh.pydata.org/en/latest/>). (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

with WM lesion load (He et al., 2009). It can be present at early stages of disease (Fleischer et al., 2016), during recovery from relapses (Théaudin et al., 2012) and after a rehabilitation program (Ibrahim et al., 2011) evidencing dynamic variations of WM. Changes in the number of axons, axon diameter, the packing density of fibers, axon branching, axon trajectories, myelination, glial cell increase in number and size could underlie increased FA (Zatorre et al., 2012). However, histological studies are required to make direct links between imaging measures and underlying mechanisms.

The present analysis identifies strategic networks for maintaining attentional and executive functions and highlights the relevance of brain networks integrity in preserving cognition (Baggio et al., 2015; Crossley et al., 2013; Van den Heuvel and Sporns, 2011). In this cohort, we found that attention and executive functioning, mainly depending on PASAT performance, was associated with the structural integrity of the frontoparietal network, deep gray nuclei and insula, involving hub nodes. Both PASAT and SDMT are widely used tools to detect cognitive deterioration in MS (López-Góngora et al., 2015). However, PASAT seems more cognitively demanding and appears to be more sensitive to disease progression in a 5 years follow-up period (Borghi et al., 2016). Our results suggest that PASAT performance relies on the integrity of larger number of brain connections than SDMT (Figs. 3 and 4), and support its suitability to detect cognitive deficits in mildly disabled patients. Loss of integrity in MS prompts brain synchrony reduction and, thus cognitive performance worsening (Arrondo et al., 2009; Dineen et al., 2009; Rocca et al., 2016; Van Schependom et al., 2014), supporting the disconnection theory. Albeit WM burden seems the main driver of correlations between tissue integrity and cognition (Fjell et al., 2011), we cannot exclude that normal intersubject variability in FA influence our results (Dineen et al., 2009).

Functional MRI studies have found increased activity during PASAT performance in MS (Bonnet et al., 2010; Chiaravalloti et al., 2015; Książek-Winiarek et al., 2015; Morgen et al., 2007; Rocca et al., 2016). Indeed, Morgen et al. (2007) found that low PASAT scores correlated with reduction of activation of anterior cingulate cortex, but also with enlarged activation of frontoparietal regions and more widely distributed cortical recruitment as an effort to maintain cognitive functioning.

Similarly, our analysis revealed higher strength in right transverse temporal cortex, an area related to auditory codification stimuli (Audoin et al., 2005; Grasby et al., 1993), and FA increase in several connections (mainly connections from cingulate, frontal and occipital cortices) associated with cognitive performance. Taken together, our results and those from functional studies suggest both structural and functional brain reorganization in response to brain damage. However, the relation between structural and functional changes and disease progression is still controversial. Modifications of the cerebral architecture could be integral mechanisms to maintain optimal network functioning or reflect maladaptive changes promoting clinical dysfunction. Altogether, longitudinal studies are needed to understand the positive or deleterious consequences of brain reorganization (Bonnet et al., 2010).

The current study is not absent of limitations, and some are inherent in structural connectivity analyses in MS. Subjects with MS can present topology alterations of networks related to the spatial distribution of WM lesions that could affect tractography results. The use of high order probabilistic fiber tracking and AEC postprocessing partially resolves this handicap by improving tract reconstruction in the presence of lesions (Bucci et al., 2013; Mormina et al., 2015) and decreasing low confidence and spurious streamlines (Martínez-Heras et al., 2015). Further research on tractography methodology to solve the effect of lesions in tract reconstruction is warranted. Moreover, our cohort is composed by MS subjects with mild cognitive disability (only 10% of them had zAttention 1.5 SD below normative data), which could limit the results related to cognitive impairment but enables the study of structural plasticity changes. Finally, we are aware that our set of MS participants was mainly composed by relapsing remitting subjects; hence our results will mainly apply to this form of the disease.

5. Conclusions

In conclusion, we found that, in MS, structural brain network is less efficient due to widespread impairment of WM connections and GM structures. The observed increased connectivity of some edges suggests the presence of reorganization mechanisms at the structural level. However, further longitudinal studies combining structural and functional

approaches are needed to better understand the consequences of dynamic network changes. Finally, attention and executive performance relates to frontoparietal networks, deep gray nuclei and insula. These results support the relevance of network integrity to maintain optimal cognitive skills.

Supplementary data to this article can be found online at <http://dx.doi.org/10.1016/j.nicl.2016.11.026>.

Acknowledgements

Contract grant sponsor: This work was funded by a Proyecto de Investigación en Salud (FIS 2015. PI15/00587, S.L., A.S.) integrated in the Plan Estatal de Investigación Científica y Técnica de Innovación 2013–2016 and co-funded by the Instituto de Salud Carlos III-Subdirección General de Evaluación and the Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER, "Otra manera de hacer Europa"); Red Española de Esclerosis Múltiple (REEM) (RD16/0015/0002, RD16/0015/0003, RD12/0032/0002, RD12/0060/01–02); TEVA SLU, S.L. is recipient of a Juan Rodes grant from the Instituto de Salud Carlos III. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

We are grateful to Gabriel de Maetz for his support on the preparation of connectome figures and Erika Lampert for the critical review of the manuscript. Also to Cesar Garrido and Nuria Bargallo from the Magnetic Resonance Imaging platform in IDIBAPS for their assistance on the MRI protocol design.

References

- Amato, M.P., Portaccio, E., Goretti, B., Zipoli, V., Hakiki, B., Giannini, M., Pastò, L., Razzolini, L., 2010. Cognitive impairment in early stages of multiple sclerosis. *Neurol. Sci.* 31: S211–S214. <http://dx.doi.org/10.1007/s10072-010-0376-4>.
- Arrondo, G., Alegre, M., Sepulcre, J., Iriarte, J., Artieda, J., Villoslada, P., 2009. Abnormalities in brain synchronization are correlated with cognitive impairment in multiple sclerosis. *Mult. Scler.* 15:509–516. <http://dx.doi.org/10.1177/1352458508101321>.
- Audoin, B., Ibarrola, D., Au Duong, M.V., Pelletier, J., Confort-Gouny, S., Malikova, I., Ali-Chérif, A., Cozzone, P.J., Ranjeva, J.P., 2005. Functional MRI study of PASAT in normal subjects. *MAGMA* 18:96–102. <http://dx.doi.org/10.1007/s10334-004-0098-9>.
- Baggio, H.C., Segura, B., Junque, C., de Reus, M.A., Sala-Llonch, R., Van den Heuvel, M.P., 2015. Rich club organization and cognitive performance in healthy older participants. *J. Cogn. Neurosci.* 27:1801–1810. http://dx.doi.org/10.1162/jocn_a.00821.
- Bassett, D.S., Bullmore, E., Verchinski, B.A., Mattay, V.S., Weinberger, D.R., Meyer-Lindenberg, A., 2008. Hierarchical organization of human cortical networks in health and schizophrenia. *J. Neurosci.* 28:9239–9248. <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1929-08.2008>.
- Bonilha, L., Gleichgerrcht, E., Fridriksson, J., 2015. Reproducibility of the structural brain connectome derived from diffusion tensor imaging. *PLoS One* 10, e0135247. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0135247>.
- Bonnet, M.C., Allard, M., Dilharreguy, B., Deloire, M., Petry, K.G., Brochet, B., 2010. Cognitive compensation failure in multiple sclerosis. *Neurology* 75:1241–1248. <http://dx.doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181f612e3>.
- Borghini, M., Carletto, S., Ostacoli, L., Scavelli, F., Pia, L., Pagani, M., Bertolotto, A., Malucchi, S., Signori, A., Cavallo, M., 2016. Decline of neuropsychological abilities in a large sample of patients with multiple sclerosis: a two-year longitudinal study. *Front. Hum. Neurosci.* 10:282. <http://dx.doi.org/10.3389/fnhum.2016.00282>.
- Boringa, J.B., Lazeron, R.H., Reuling, I.E., Adèr, H.J., Pfenning, L., Lindeboom, J., de Sonneville, L.M., Kalkers, N.F., Polman, C.H., 2001. The Brief Repeatable Battery of Neuropsychological tests: normative values allow application in multiple sclerosis clinical practice. *Mult. Scler.* 7:263–267. <http://dx.doi.org/10.1177/135245850100700409>.
- Bozzali, M., Spanò, B., Parker, G.J.M., Giulietti, C., Castelli, M., Basile, B., Rossi, S., Serra, L., Magnani, G., Nacentini, U., Caltagirone, C., Centonze, D., Cercignani, M., 2013. Anatomical brain connectivity can assess cognitive dysfunction in multiple sclerosis. *Mult. Scler.* 19:1161–1168. <http://dx.doi.org/10.1177/1352458512474088>.
- Bucci, M., Mandelli, M.L., Berman, J.I., Amirbekian, B., Nguyen, C., Berger, M.S., Henry, R.G., 2013. Quantifying diffusion MRI tractography of the corticospinal tract in brain tumors with deterministic and probabilistic methods. *NeuroImage. Clin.* 3:361–368. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nicl.2013.08.008>.
- Bullmore, E., Sporns, O., 2009. Complex brain networks: graph theoretical analysis of structural and functional systems. *Nat. Rev. Neurosci.* 10:186–198. <http://dx.doi.org/10.1038/nrn2575>.
- Calabrese, M., Agosta, F., Rinaldi, F., Mattisi, I., Grossi, P., Favaretto, A., Atzori, M., Bernardi, V., Barachino, L., Rinaldi, L., Perini, P., Gallo, P., Filippi, M., 2009. Cortical lesions and atrophy associated with cognitive impairment in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Arch. Neurol.* 66:1144–1150. <http://dx.doi.org/10.1001/archneurol.2009.174>.
- Chiaravalloti, N.D., Genova, H.M., DeLuca, J., 2015. Cognitive rehabilitation in multiple sclerosis: the role of plasticity. *Front. Neurol.* 6:67. <http://dx.doi.org/10.3389/fneur.2015.00067>.
- Crossley, N.A., Mechelli, A., Vértes, P.E., Winton-Brown, T.T., Patel, A.X., Ginestet, C.E., McGuire, P., Bullmore, E.T., 2013. Cognitive relevance of the community structure of the human brain functional coactivation network. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110: 11583–11588. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1220826110>.
- Cutter, G.R., Baier, M.L., Rudick, R.A., Cookfair, D.L., Fischer, J.S., Petkau, J., Syndulko, K., Weinschenker, B.G., Antel, J.P., Confavreux, C., Ellison, G.W., Lublin, F., Miller, A.E., Rao, S.M., Reingold, S., Thompson, A., Willoughby, E., 1999. Development of a multiple sclerosis functional composite as a clinical trial outcome measure. *Brain* 122 (Pt 5): 871–882. <http://dx.doi.org/10.1093/brain/122.5.871>.
- De Reus, M.A., Saenger, V.M., Kahn, R.S., van den Heuvel, M.P., 2014. An edge-centric perspective on the human connectome: link communities in the brain. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B Biol. Sci.* 369. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2013.0527>.
- Desikan, R.S., Ségonne, F., Fischl, B., Quinn, B.T., Dickerson, B.C., Blacker, D., Buckner, R.L., Dale, A.M., Maguire, R.P., Hyman, B.T., Albert, M.S., Killiany, R.J., 2006. An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. *NeuroImage* 31:968–980. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.01.021>.
- Dineen, R.A., Vilisaar, J., Hlinka, J., Bradshaw, C.M., Morgan, P.S., Constantinescu, C.S., Auer, D.P., 2009. Disconnection as a mechanism for cognitive dysfunction in multiple sclerosis. *Brain* 132:239–249. <http://dx.doi.org/10.1093/brain/awn275>.
- Farguharson, S., Tournier, J.-D., Calamante, F., Fabin, G., Schneider-Kolsky, M., Jackson, G.D., Connelly, A., 2013. White matter fiber tractography: why we need to move beyond DTI. *J. Neurosurg.* 118:1367–1377. <http://dx.doi.org/10.3171/2013.2.JNS121294>.
- Fjell, A.M., Westlye, L.T., Amlie, I.K., Walhovd, K.B., 2011. Reduced white matter integrity is related to cognitive instability. *J. Neurosci.* 31:18060–18072. <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4735-11.2011>.
- Fleischer, V., Gröger, A., Koirala, N., Droby, A., Muthuraman, M., Kolber, P., Reuter, E., Meuth, S.G., Zipp, F., Groppa, S., 2016. Increased structural white and grey matter network connectivity compensates for functional decline in early multiple sclerosis. *Mult. Scler.* <http://dx.doi.org/10.1177/1352458516651503>.
- Grasby, P.M., Frith, C.D., Friston, K.J., Bench, C., Frackowiak, R.S., Dolan, R.J., 1993. Functional mapping of brain areas implicated in auditory-verbal memory function. *Brain* 116 (Pt 1):1–20. <http://dx.doi.org/10.1093/brain/116.1.1>.
- Greve, D.N., Fischl, B., 2009. Accurate and robust brain image alignment using boundary-based registration. *NeuroImage* 48:63–72. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.06.060>.
- Gronwall, D.M., 1977. Paced auditory serial-addition task: a measure of recovery from concussion. *Percept. Mot. Skills* 44:367–373. <http://dx.doi.org/10.2466/pms.1977.44.2.367>.
- Guye, M., Bettus, G., Bartolomei, F., Cozzone, P.J., 2010. Graph theoretical analysis of structural and functional connectivity MRI in normal and pathological brain networks. *MAGMA* 23:409–421. <http://dx.doi.org/10.1007/s10334-010-0205-z>.
- Harrison, D.M., Roy, S., Oh, J., Izbudak, I., Pham, D., Courtney, S., Caffo, B., Jones, C.K., van Zijl, P., Calabresi, P.A., 2015. Association of cortical lesion burden on 7-T magnetic resonance imaging with cognition and disability in multiple sclerosis. *JAMA Neurol.* 72: 1004–1012. <http://dx.doi.org/10.1001/jamaneuro.2015.1241>.
- 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* 132:3366–3379. <http://dx.doi.org/10.1093/brain/awp089>.
- Ibrahim, I., Timtera, J., Skoch, A., Jirů, F., Hlustik, P., Martinkova, P., Zvara, K., Rasova, K., 2011. Fractional anisotropy and mean diffusivity in the corpus callosum of patients with multiple sclerosis: the effect of physiotherapy. *Neuroradiology* 53:917–926. <http://dx.doi.org/10.1007/s00234-011-0879-6>.
- Iturría-Medina, Y., Canales-Rodríguez, E.J., Melie-García, L., Valdés-Hernández, P.A., Martínez-Montes, E., Alemán-Gómez, Y., Sánchez-Bornot, J.M., 2007. Characterizing brain anatomical connections using diffusion weighted MRI and graph theory. *NeuroImage* 36:645–660. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2007.02.012>.
- Jones, D.K., 2010. Challenges and limitations of quantifying brain connectivity in vivo with diffusion MRI. *Imaging Med.* 2:341–355. <http://dx.doi.org/10.2217/iim.10.21>.
- Klistorner, A., Vootakuru, N., Wang, C., Yiannikas, C., Graham, S.L., Parratt, J., Garrick, R., Levin, N., Masters, L., Lagopoulos, J., Barnett, M.H., 2015. Decoding diffusivity in multiple sclerosis: analysis of optic radiation lesion and non-lesional white matter. *PLoS One* 10, e0122114. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0122114>.
- Książek-Winiarek, D.J., Szpakowski, P., Glabinski, A., 2015. Neural plasticity in multiple sclerosis: the functional and molecular background. *Neural Plast.* 2015:11. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/307175>.
- Kurtzke, J.F., 1983. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an Expanded Disability Status Scale (EDSS). *Neurology* 33:1444–14452. <http://dx.doi.org/10.1212/WNL.33.11.1444>.
- Landis, J.R., Koch, G.G., 1977. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 33:159–174. <http://dx.doi.org/10.2307/2529310>.
- Li, Y., Jewells, V., Kim, M., Chen, Y., Moon, A., Armao, D., Troiani, L., Markovic-Plese, S., Lin, W., Shen, D., 2013. Diffusion tensor imaging based network analysis detects alterations of neuroconnectivity in patients with clinically early relapsing-remitting multiple sclerosis. *Hum. Brain Mapp.* 34:3376–3391. <http://dx.doi.org/10.1002/hbm.22158>.
- Liu, Y., Duan, Y., He, Y., Wang, J., Xia, M., Yu, C., Dong, H., Ye, J., Butzkueven, H., Li, K., Shu, N., 2012. Altered topological organization of white matter structural networks in patients with neuromyelitis optica. *PLoS One* 7, e48846. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0048846>.
- Llufrú, S., Martínez-Heras, E., Fortea, J., Blanco, Y., Berenguer, J., Gabilondo, I., Ibarretxe-Bilbao, N., Falcon, C., Sepulveda, M., Sola-Valls, N., Bargallo, N., Graus, F., Villoslada, P., Saiz, A., 2014. Cognitive functions in multiple sclerosis: impact of gray matter integrity. *Mult. Scler.* 20:424–432. <http://dx.doi.org/10.1177/1352458513503722>.

- López-Góngora, M., Querol, L., Escartín, A., 2015. A one-year follow-up study of the Symbol Digit Modalities Test (SDMT) and the Paced Auditory Serial Addition Test (PASAT) in relapsing-remitting multiple sclerosis: an appraisal of comparative longitudinal sensitivity. *BMC Neurol.* 15:40. <http://dx.doi.org/10.1186/s12883-015-0296-2>.
- Martínez-Heras, E., Varriano, F., Prčková, V., Laredo, C., Andorrà, M., Martínez-Lapiscina, E.H., Calvo, A., Lampert, E., Villoslada, P., Saiz, A., Prats-Galino, A., Llufrú, S., 2015. Improved framework for tractography reconstruction of the optic radiation. *PLoS One* 10, e0137064. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0137064>.
- Morey, R.A., Selgrade, E.S., Wagner, H.R., Huettel, S.A., Wang, L., McCarthy, G., 2010. Scan-rescan reliability of subcortical brain volumes derived from automated segmentation. *Hum. Brain Mapp.* 31:1751–1762. <http://dx.doi.org/10.1002/hbm.20973>.
- Morgen, K., Sammer, G., Courtney, S.M., Wolters, T., Melchior, H., Blecker, C.R., Oschmann, P., Kaps, M., Vaitl, D., 2007. Distinct mechanisms of altered brain activation in patients with multiple sclerosis. *NeuroImage* 37:937–946. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2007.05.045>.
- Mormina, E., Longo, M., Arrigo, A., Alafaci, C., Tomasello, F., Calamuneri, A., Marino, S., Gaeta, M., Vinci, S.L., Granata, F., 2015. MRI tractography of corticospinal tract and arcuate fasciculus in high-grade gliomas performed by constrained spherical deconvolution: qualitative and quantitative analysis. *AJNR Am. J. Neuroradiol.* 36:1853–1858. <http://dx.doi.org/10.3174/ajnr.A4368>.
- Nieuwenhuis, R., Voogd, J., van Huijzen, C., 2008. *The Human Central Nervous System*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-540-34686-9>.
- Patenaude, B., Smith, S.M., Kennedy, D.N., Jenkinson, M., 2011. A Bayesian model of shape and appearance for subcortical brain segmentation. *NeuroImage* 56:907–922. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.02.046>.
- Polman, C.H., Reingold, S.C., Banwell, B., Clanet, M., Cohen, J.A., Filippi, M., Fujihara, K., Havrdova, E., Hutchinson, M., Kappos, L., Lublin, F.D., Montalban, X., O'Connor, P., Sandberg-Wollheim, M., Thompson, A.J., Waubant, E., Weinstenker, B., Wolinsky, J.S., 2011. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Ann. Neurol.* 69:292–302. <http://dx.doi.org/10.1002/ana.22366>.
- Preziosa, P., Rocca, M.A., Pagani, E., Stromillo, M.L., Enzinger, C., Gallo, A., Hulst, H.E., Atzori, M., Pareto, D., Riccitelli, G.C., Copetti, M., De Stefano, N., Fazekas, F., Bisecco, A., Barkhof, F., Yousry, T.A., Arévalo, M.J., Filippi, M., 2016. Structural MRI correlates of cognitive impairment in patients with multiple sclerosis: a multicenter study. *Hum. Brain Mapp.* 37:1627–1644. <http://dx.doi.org/10.1002/hbm.23125>.
- Rocca, M.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. *Lancet Neurol.* 14:302–317. [http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70250-9](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70250-9).
- Rocca, M.A., Valsasina, P., Meani, A., Falini, A., Comi, G., Filippi, M., 2016. Impaired functional integration in multiple sclerosis: a graph theory study. *Brain Struct. Funct.* 221:115–131. <http://dx.doi.org/10.1007/s00429-014-0896-4>.
- Rubinov, M., Sporns, O., 2010. Complex network measures of brain connectivity: uses and interpretations. *NeuroImage* 52:1059–1069. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.10.003>.
- Sang, L., Zhang, J., Wang, L., Zhang, J., Zhang, Y., Li, P., Wang, J., Qiu, M., 2015. Alteration of brain functional networks in early-stage Parkinson's disease: a resting-state fMRI study. *PLoS One* 10, e0141815. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0141815>.
- Schmahmann, J.D., Pandya, D.N., 2009. *Fiber Pathways of the Brain*. Oxford University Press <http://dx.doi.org/10.1093/acprof:oso/9780195104233.001.0001>.
- Schoonheim, M.M., Meijer, K.A., Geurts, J.J.G., 2015. Network collapse and cognitive impairment in multiple sclerosis. *Front. Neurol.* 6:82. <http://dx.doi.org/10.3389/fneur.2015.00082>.
- Sdika, M., Pelletier, D., 2009. Nonrigid registration of multiple sclerosis brain images using lesion inpainting for morphometry or lesion mapping. *Hum. Brain Mapp.* 30:1060–1067. <http://dx.doi.org/10.1002/hbm.20566>.
- Sepulcre, J., Vanotti, S., Hernández, R., Sandoval, G., Cáceres, F., Garcea, O., Villoslada, P., 2006. Cognitive impairment in patients with multiple sclerosis using the Brief Repeatable Battery-Neuropsychology test. *Mult. Scler.* 12:187–195. <http://dx.doi.org/10.1191/1352458506ms12580a>.
- 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. *Cereb. Cortex* 21:2565–2577. <http://dx.doi.org/10.1093/cercor/bhr039>.
- Smith, A., 1968. *The Symbol-Digit Modalities Test: A Neuropsychological Test of Learning and Other Cerebral Disorders*. *Learn. Disord. Spec. Child Publ.*, pp. 83–91.
- Smith, R.E., Tournier, J.-D., Calamante, F., 2012. Anatomically-constrained tractography: improved diffusion MRI streamlines tractography through effective use of anatomical information. *NeuroImage* 62:1924–1938. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2012.06.005>.
- Sporns, O., Tononi, G., Kötter, R., 2005. The human connectome: a structural description of the human brain. *PLoS Comput. Biol.* 1, e42. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pcbi.0010042>.
- Théaudin, M., Saliou, G., Ducot, B., Deiva, K., Denier, C., Adams, D., Ducreux, D., 2012. Short-term evolution of spinal cord damage in multiple sclerosis: a diffusion tensor MRI study. *Neuroradiology* 54:1171–1178. <http://dx.doi.org/10.1007/s00234-012-1057-1>.
- Tournier, J.-D., and A. Connelly, F.C., 2010. Improved probabilistic streamlines tractography by 2nd order integration over fibre orientation distributions. *ISMRM*.
- Van den Heuvel, M.P., Sporns, O., 2011. Rich-club organization of the human connectome. *J. Neurosci.* 31:15775–15786. <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3539-11.2011>.
- Van Scheependom, J., D'hooghe, M.B., Cleyhens, K., D'hooghe, M., Haelewyck, M.C., De Keyser, J., Nagels, G., 2014. The Symbol Digit Modalities Test as sentinel test for cognitive impairment in multiple sclerosis. *Eur. J. Neurol.* 21:1219–1225. <http://dx.doi.org/10.1111/ene.12463>.
- Wolak, M.E., Fairbairn, D.J., Paulsen, Y.R., 2012. Guidelines for estimating repeatability. *Methods Ecol. Evol.* 3:129–137. <http://dx.doi.org/10.1111/j.2041-210X.2011.00125.x>.
- Zatorre, R.J., Fields, R.D., Johansen-Berg, H., 2012. Plasticity in gray and white: neuroimaging changes in brain structure during learning. *Nat. Neurosci.* 15:528–536. <http://dx.doi.org/10.1038/nn.3045>.

Supporting Information

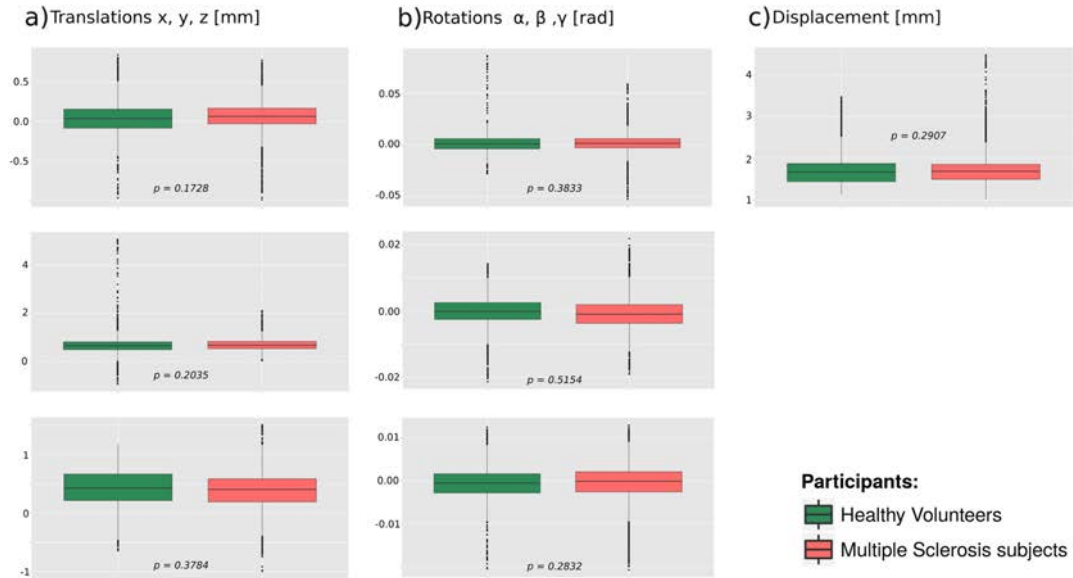
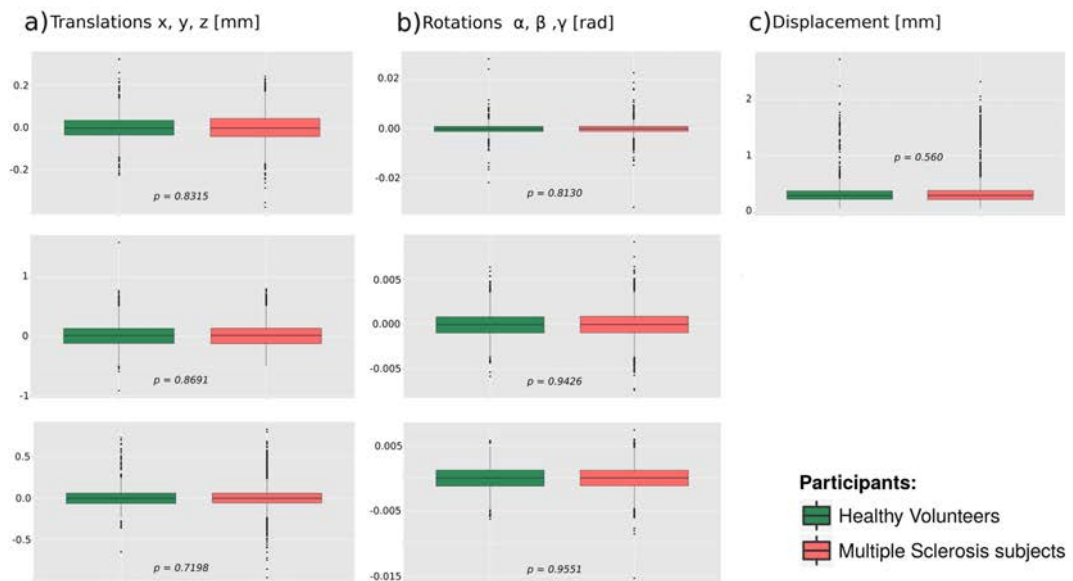
Absolute movement parameters:**Relative movement parameters:**

Fig S1. Box plots of absolute motion values obtained from b0 reference volumes and relative motion values from preceding volumes of diffusion weighted images.

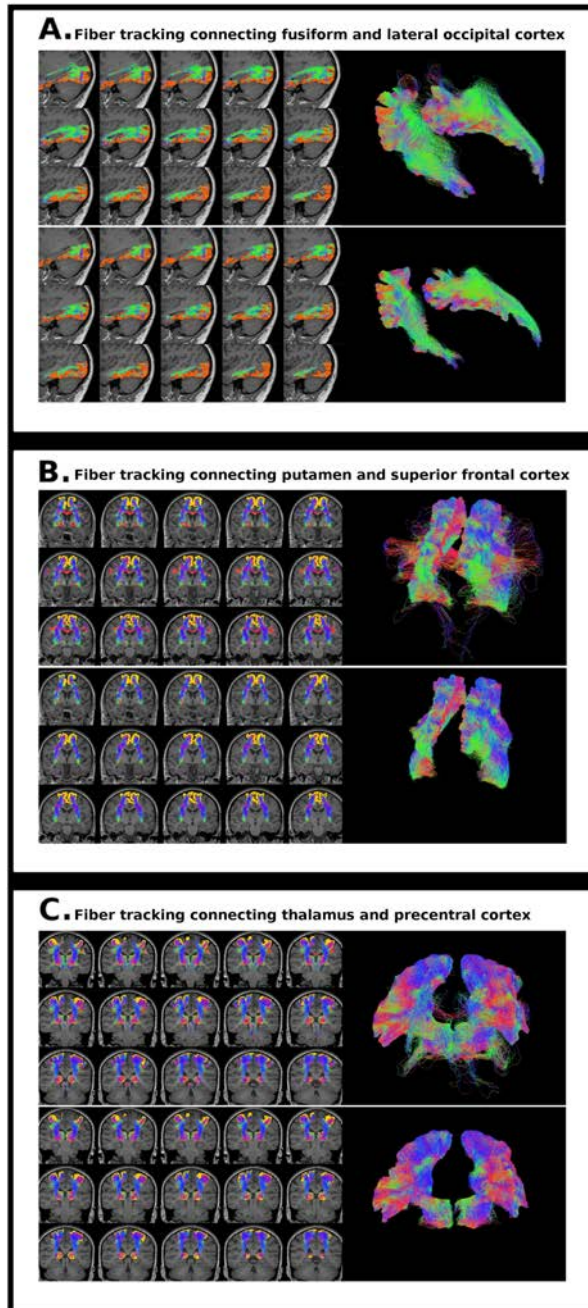


Fig S2. Streamlines of 3 specific fiber tracks connecting pairs of nodes in a healthy volunteer. A) Fusiform and lateral occipital cortices, B) putamen and superior frontal cortex, C) thalamus and precentral cortex. The resulting tractography reconstructions before (upper rows) and after (bottom rows) anatomical exclusion criteria postprocessing are displayed.

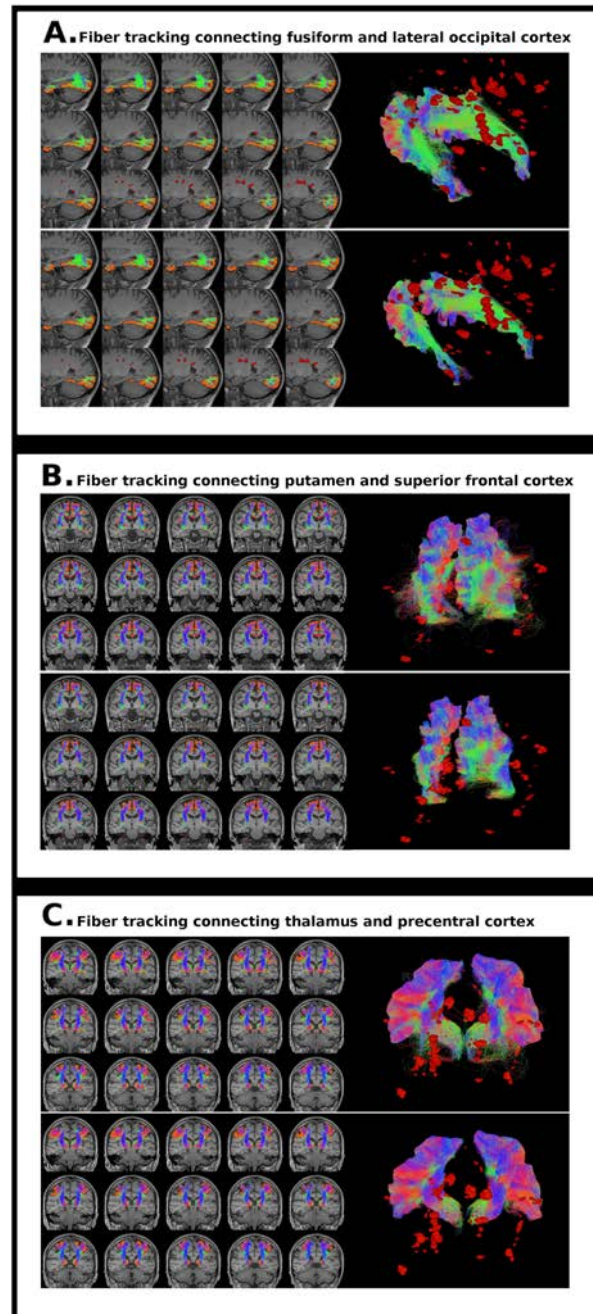


Fig S3. Streamlines of 3 specific fiber tracks connecting pairs of nodes in a subject with MS. A) Fusiform and lateral occipital cortices, B) putamen and superior frontal cortex, C) thalamus and precentral cortex. The resulting tractography reconstructions before (upper rows) and after (bottom rows) anatomical exclusion criteria postprocessing are displayed. Multiple sclerosis lesions are colored in red.

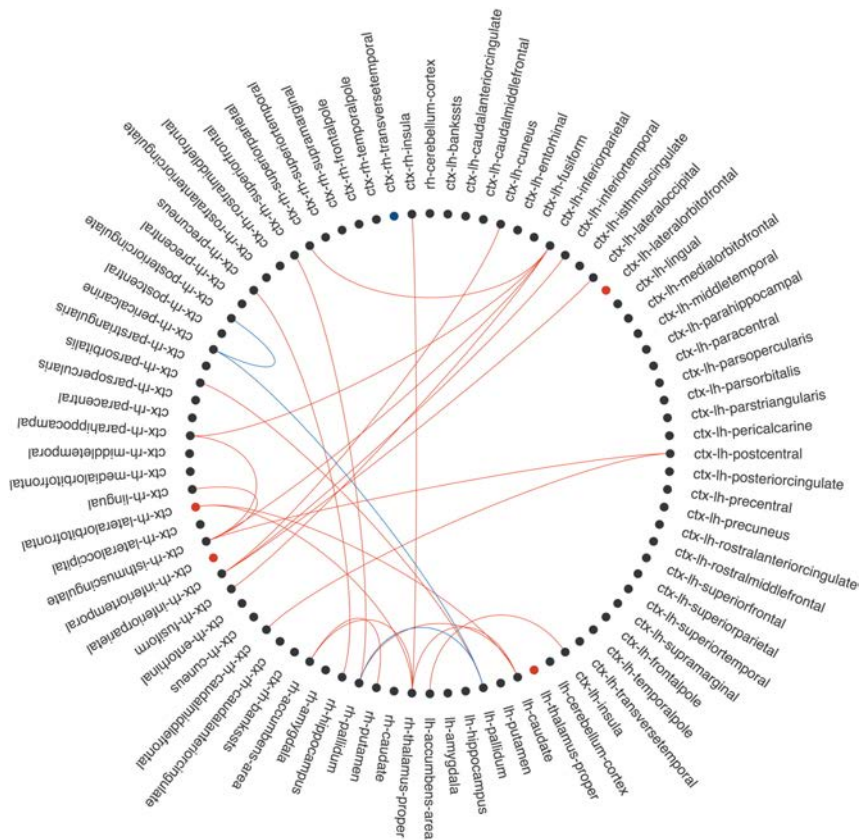


Fig S5. Correlations between edge FA, nodal strength and zAttention in the group of RRMS subjects. Nodes are located in the corresponding vertices of the circle. Edges with significant correlations ($p < 0.05$, FDR) between FA and attentional performance are shown as lines (in red for positive and blue for negative correlations). Also, nodes with significant correlations with z-scores are colored (in red for positive and blue for negative). ctx: cortex; lh: left hemisphere; rh: right hemisphere. This connectogram was developed by Bokeh from Python v2.7 (<http://bokeh.pydata.org/en/latest/>).

Capítulo 7

Discusión

La EM es una enfermedad autoinmune crónica, de etiología desconocida y extremadamente heterogénea desde el punto de vista clínico y evolutivo. La dispersión temporal de brotes y remisiones, combinada con periodos de estabilización y progresión del deterioro neurológico, enmarcan el perfil clínico de la EM. A nivel patológico se caracteriza por la presencia de lesiones focales y daño difuso del SNC, con predominio de la desmielinización, y en menor medida afectación axonal. La RM convencional es capaz de detectar las lesiones focales de la SB y se utiliza de forma rutinaria en el diagnóstico y seguimiento clínico de los pacientes. Sin embargo, no es una herramienta útil para evaluar el pronóstico de la enfermedad y correlaciona de forma pobre con la discapacidad clínica del paciente (Barkhof, 2002). Probablemente, en parte, porque tan solo proporciona medidas globales de daño inespecífico, como la presencia de lesiones en secuencias T2, y no aporta información detallada sobre los cambios fisiopatológicos del tejido. En los últimos años, se han desarrollado nuevas técnicas de RM capaces de obtener datos cuantitativos y patológicamente más específicos. En concreto, la técnica por dRM aporta una información más allá de la presencia de lesiones y permite caracterizar tanto la anatomía subyacente de los tractos de SB, como el daño tisular acontecido.

El objetivo final de la presente tesis fue desarrollar una herramienta de reconstrucción de los tractos de SB que aumentara la fiabilidad de la tractografía, y aplicar dicha metodología al estudio de conectividad cerebral estructural en pacientes con EM. Esto último, con la idea de identificar los cambios en la conec-

tividad debidos a la enfermedad y las posibles consecuencias sobre el rendimiento cognitivo.

Los métodos de tractografía son propensos a presentar errores en la reconstrucción en aquellos haces de fibras con morfología compleja. Por esta razón, el objetivo del *primer artículo* fue desarrollar una metodología totalmente automatizada y que fuera capaz de lograr una reconstrucción de fibras de SB, precisa y reproducible, tanto en sujetos sanos como en pacientes con EM. Para ello, seleccionamos las RO, ya que se conoce bien su ubicación y extensión, y tienen la particularidad de presentar un giro pronunciado (curvatura de Meyer) y numerosos cruces de fibras a lo largo de la vía (Benjamin et al., 2014). Estudios previos han intentado, sin gran éxito, obtener una reconstrucción rigurosa de las RO empleando diferentes metodologías. Así, la tractografía por tensor de difusión, uno de los métodos más comúnmente utilizados, no fue capaz de reconstruir *streamlines* con curvatura y presentaba errores en regiones con presencia de más de una trayectoria de fibras (Dayan et al., 2015; Sherbondy et al., 2008; Tax et al., 2014). A fin de lograr la reconstrucción del giro, diversos trabajos incorporaron el uso de más de dos semillas, una de ellas próximas a la curvatura de Meyer (Clatworthy et al., 2010; Hofer et al., 2010; Winston et al., 2011; Yogarajah et al., 2009). No obstante, la falta de consenso al establecer los parámetros asignados al algoritmo de tractografía y la variabilidad de los resultados obtenidos según la localización y el volumen de las semillas había provocado que la mayoría de reconstrucciones de las RO no coincidieran con la descripción anatómica del tracto.

La metodología empleada en este primer artículo, basada en el uso de modelos avanzados de tractografía, permitió resolver la presencia de más de una dirección de fibras dentro de un vóxel, y con ello, lograr la reconstrucción del giro pronunciado (Farquharson et al., 2013; Tournier et al., 2011) a partir de dos únicas semillas: en el tálamo y la corteza visual. Además, el desarrollo de un postproceso basado en criterios de exclusión anatómicos propios de cada sujeto (CEA), permitió disminuir la presencia de *streamlines* anatómicamente inverosímiles (falsos positivos) propios de los modelos avanzados de tractografía (Maier-Hein et al., 2016) y mantener los que con mayor probabilidad forman parte de las RO. Para demostrar la validez de nuestra metodología de reconstrucción, utilizamos tanto un análisis cualitativo como uno cuantitativo. La evaluación neuroanatómica cualitativa confirmó que la reconstrucción de las RO en todos los sujetos sanos

en ambas secuencias HARDI era concordante con la formación y la dirección de la vía, y presentaba un giro pronunciado en el segmento inicial del asa de Meyer. Posteriormente validamos los resultados tractográficos comparándolos con un atlas histológico (Bürgel et al., 2006, 1999). La reconstrucción obtenida tras aplicar el postprocesado basado en CEA presentaba una buena correspondencia con el atlas histológico, incrementando su precisión y exactitud (ver tabla 1 del artículo 1, página 77). Además, los resultados fueron muy similares en las dos secuencias HARDI utilizadas, sugiriendo que la metodología desarrollada puede ser aplicada en secuencias con distinta resolución y valor de b , sin afectar al resultado final.

Nuestros hallazgos mejoran los descritos en el único trabajo previo que había comparado los resultados tractográficos con un atlas histológico (Clatworthy et al., 2010). Los autores concluyeron que existía una buena correspondencia entre ambas técnicas, ya que el ratio de falsos positivos de la tractografía era bajo ($\sim 2\%$). En dicho trabajo se aplicaron distintos umbrales basados en la densidad de fibras que conseguían reducir la presencia de falsos positivos pero su uso provocaba, en contraposición, una disminución exponencial de los valores de sensibilidad y alteraban la anatomía del tracto reconstruido. Seguramente esta disminución, producida por la aplicación de umbrales, fue debida a que la densidad de tractos en la tractografía probabilística depende de la longitud y geometría de la reconstrucción, y no de la verdadera probabilidad de conexión (Jones, 2010). En nuestro caso, el uso de CEA incrementó claramente la precisión y exactitud de la reconstrucción sin necesidad de aplicar umbrales de densidad de tractos arbitrarios.

Al eliminar *stremelines* anatómicamente aberrantes, el valor de sensibilidad disminuyó incrementando el número de falsos negativos. Hay dos factores importantes que pueden influir en esta pérdida de sensibilidad a pesar de no afectar a la extensión y a la estructura final de la reconstrucción. Por un lado, el uso de un atlas histológico como método evaluador de las RO y, por el otro, la eliminación de una parte del límite anterior del asta temporal. Es importante tener en cuenta que la creación del atlas histológico presenta sus propias limitaciones, como la inexactitud de los métodos de fijación utilizados (Goga y Türe, 2015; Simmons y Swanson, 2009) o la presencia de fibras que alcanzaban regiones de SG distintas a las semillas seleccionadas para la tractografía. Además, vale la pena señalar que

la región del tracto de las RO más vulnerable al incremento de falsos negativos corresponde al asta temporal anterior, donde su reconstrucción es muy compleja debido a la curvatura pronunciada y a la presencia de numerosos cruces de fibras en este compartimento (Catani y Thiebaut de Schotten, 2012; Goga y Türe, 2015). Recientemente, se ha publicado un método de reconstrucción que incorpora información anatómica y utiliza semillas adicionales situadas en la parte medial, anterior y lateral de la curvatura de Meyer para maximizar el alcance de la curvatura del asa (Chamberland et al., 2017). Sin embargo, la incorporación de este operador direccional hace que el uso de esta metodología sea exclusivo para la reconstrucción de las RO y no sea aplicable a otros tractos, a diferencia del CEA.

En patologías que presentan un daño de la SB, como la EM, es difícil obtener una reconstrucción tractográfica de las fibras, ya que los algoritmos de seguimiento convencionales se detienen en regiones con bajo FA. Por esta razón, uno de los objetivos del trabajo fue demostrar la precisión y exactitud de la reconstrucción de las RO en pacientes con EM utilizando la metodología desarrollada. A pesar de la presencia de lesiones focales a ese nivel, y probablemente también de daño microestructural del tejido (Llufriu et al., 2014), el método basado en CEA fue capaz de reconstruir las RO en todos los pacientes (ver figura 4 del artículo 1, página 76) mejorando la precisión y exactitud de la tractografía (ver tabla S1 del artículo 1, página 85).

En conclusión, **la metodología desarrollada permite obtener una reconstrucción tractográfica de las RO con una elevada exactitud y precisión tanto en sujetos sanos como en pacientes con EM. De esta forma, es posible contar con información más verosímil sobre el tamaño, morfología, geometría e integridad del tracto tanto en el cerebro sano como el patológico. Además, al tratarse de una metodología automática y basada en la información anatómica propia de cada sujeto, podría aplicarse a la reconstrucción de otros tractos de SB y al estudio de la conectividad cerebral.**

Tras haber desarrollado mejoras en la reconstrucción de las RO, quisimos aplicar la metodología al análisis de la conectividad estructural cerebral y evaluar la reproducibilidad de los valores de conectividad al utilizar el postprocesado basado en CEA. Los objetivos principales del *segundo artículo* fueron identificar

los cambios en la conectividad cerebral en pacientes con EM y su relación con el rendimiento en tareas atencionales y ejecutivas.

En el estudio incluimos pacientes con EM que en su mayoría tenían formas RR de la enfermedad y discapacidad baja. Para la reconstrucción de las conexiones de SB empleamos la misma metodología que la descrita en el primer artículo, excepto por la inclusión de una única semilla que incluye toda la SB. Con el fin de representar toda la red cerebral, utilizamos 84 áreas de SG o nodos, y obtuvimos 3486 conexiones internodales por sujeto. El empleo del método basado en CEA en cada una de las conexiones existentes redujo gran parte de los *streamlines* anatómicamente aberrantes (falsos positivos) generados por el algoritmo tractográfico, incrementando la precisión y exactitud de la reconstrucción (Martínez-Heras et al., 2015). Finalmente, creamos un mapa completo de la conectividad estructural extrayendo todos los valores medios de FA pertenecientes a cada tipo de conexión (ver figura 1 del artículo 2, página 92).

En el primer objetivo del trabajo evaluamos la reproducibilidad de las redes estructurales obtenidas, con el fin de conocer la mejora que aporta la aplicación del método basado en CEA al análisis de la conectividad cerebral. Los resultados que obtuvimos con la nueva metodología fueron sensiblemente superiores. Así, al aplicar el CEA aumentó la reproducibilidad de las matrices de conectividad, cuantificada con el coeficiente de correlación intraclase (CCI). Además, la inspección visual de tres conexiones específicas, fascículo longitudinal inferior y proyecciones fronto-basales, demostraba como la reconstrucción final se asemejaba a la anatomía conocida de dichos tractos (ver figura S2 y S3 del artículo 2, página 101-102). Aunque el CCI aumentó al aplicar el CEA, el porcentaje de mejora no fue muy elevado, probablemente, porque los valores que compara son promedios de FA y la eliminación de *streamlines* anatómicamente incorrectos no modifica sustancialmente dichos promedios (Besseling et al., 2012; Wang et al., 2012). Para poder cuantificar con una mayor exactitud la mejora introducida por el método basado en CEA sería necesario disponer de un atlas de las conexiones de SB concordante con la anatomía subyacente.

En el segundo objetivo del trabajo identificamos los cambios en la conectividad cerebral acontecidos en pacientes con EM. Así, pudimos objetivar que en pacientes con EM había una disminución significativa en los parámetros de transitividad (grado de clusterización) y eficiencia, y un aumento en la longitud del

camino más corto de la red cerebral en comparación con los sujetos sanos (ver tabla 2 del artículo 2, página 93). Nuestros resultados concuerdan con los descritos por (Shu et al., 2011). La disminución en el grado de clusterización, que traduce una segregación de las conexiones entre regiones cerebrales interconectadas, demuestra que existe una disminución de la capacidad de la red para intercambiar y procesar información eficazmente (He et al., 2009). Estas propiedades topológicas de la red evidencian la presencia de daño o desestructuración tisular causada por procesos inflamatorios y desmielinizantes y las dificultades de los pacientes con EM para optimizar recursos (Gabilondo et al., 2014; Kocevar et al., 2016; Llufriu et al., 2012, 2014). Contrariamente, los controles sanos presentaban un patrón de organización de la red cerebral conocido como “mundo pequeño” (*small-world*) que les permite procesar la información local y global de forma más eficiente (Bullmore y Sporns, 2009). Asimismo, los resultados del estudio mostraron que los pacientes con EM presentaban una organización de *hubs* parecida a los controles sanos, sin embargo, otras regiones, como el globo pálido y la ínsula adquirieron este rol por la disminución de la conectividad estructural global en pacientes con EM (ver figura S4 del artículo 2, página 103). Estos hallazgos, podrían reflejar cambios en la reorganización y/o adaptación de la red ante el daño tisular que existe en la EM.

El estudio demostró que los pacientes tenían una menor fuerza de conexión en el 23 % de los nodos y una reducción del FA medio en el 31 % de las conexiones respecto a los sujetos control (ver figura 2 del artículo 2, página 94). Estos resultados evidencian un daño generalizado que va más allá de la presencia de lesiones focales que presentan los pacientes con EM. Estudios basados en la dRM apoyan la presencia de patología axonal y desmielinizante difusa en el tejido cerebral, presente desde fases iniciales de la enfermedad (Llufriu et al., 2014; Shu et al., 2016). Sin embargo, vale la pena señalar que los cambios en FA no se originan únicamente por mecanismos fisiopatológicos, como el daño axonal o los procesos desmielinizantes (Aung et al., 2013), sino también por cambios en la orientación espacial de las fibras (Alba-Ferrara y de Erausquin, 2013). La aplicación de nuevas herramientas de cuantificación basadas en la descomposición de la SB en dos compartimentos, intracelular y extracelular (Alexander et al., 2010; Daducci, 2015; Zhang et al., 2012), podrían ayudar a profundizar en el conocimiento de los cambios fisiopatológicos en la EM. Se ha sugerido que la división de estos dos espacios independientes podría aportar una información más específica acerca de la

microestructura subyacente, como la densidad y el diámetro del axón. Sin embargo, los requerimientos técnicos para la aplicación de estas herramientas son muy exigentes (mayor número de direcciones y aplicación de distintos *b-values*, entre 1000 y 5000 s/mm^2) y aún se desconoce con exactitud qué cambios patológicos pueden estar reflejando realmente (Daducci et al., 2016).

Por otro lado, el 1% de las conexiones, localizadas mayoritariamente en el lóbulo frontal y occipital mostraron un aumento del FA promedio. Este incremento del FA podría estar reflejando mecanismos de reorganización de la SB relacionados con el aumento en el diámetro o densidad de las fibras o de los cambios acontecidos en el proceso de mielinización (Zatorre et al., 2012). Por ejemplo, se ha observado que tras la recuperación de un brote (Théaudin et al., 2012) o la realización de un programa de rehabilitación (Ibrahim et al., 2011) existen cambios estructurales que podrían entenderse como mecanismos compensatorios o de regulación estructural. Estos mecanismos podrían favorecer la adaptación del individuo en un entorno desfavorable como consecuencia de la progresión de la enfermedad. Se sabe, que los procesos de reparación cerebral pueden variar en función de la edad (Pascual-Leone et al., 2011) y de la magnitud del daño tisular acumulado (Rocca et al., 2016) y, por tanto, podrían ser más prominentes en pacientes en fases iniciales de la enfermedad o en formas RR y con baja discapacidad como los incluidos en el presente trabajo.

El tercer y último objetivo del trabajo fue evaluar la relación entre los cambios en la conectividad estructural y el rendimiento en tareas sensibles a la atención y a las funciones ejecutivas, dos dominios cognitivos básicos para asegurar un buen funcionamiento cognitivo y social (Baddeley, 2003; Klingberg, 2010). Pudimos observar una asociación entre la disminución del rendimiento cognitivo y la reducción de la fuerza de las conexiones en diversas regiones nodales, en concreto, en la SG cortical (corteza orbitofrontal bilateral y corteza temporal inferior derecha) y en la subcortical (tálamo izquierdo). Además, nuestros resultados mostraron que las redes más relevantes para el mantenimiento de dichas funciones cognitivas fueron las frontoparietales y aquellas que incluían la ínsula y estructuras de SG subcortical como el tálamo, caudado, putamen y globo pálido (ver figura 3 del artículo 2, página 95). De forma similar, estudios previos relacionaron el número y la localización de lesiones y la atrofia cerebral con el rendimiento cognitivo en estados más avanzados de la enfermedad (Lazeron et al., 2005; Pu-

jol et al., 2001) reforzando la teoría del síndrome de desconexión (Dineen et al., 2009). La asociación entre el rendimiento en atención y funciones ejecutivas y los cambios en las redes estructurales parecen estar mayoritariamente influenciadas por las correlaciones con el *PASAT* (ver figura 4 del artículo 2, página 96). Tanto el *PASAT* como el *SDMT* son capaces de identificar alteraciones cognitivas en pacientes con EM (López-Góngora et al., 2015). Sin embargo, el *PASAT* tiene una mayor implicación de memoria de trabajo que el *SDMT* (GENOVA et al., 2009), y podría ser más sensible para detectar los cambios cognitivos en pacientes con una discapacidad leve (Borghi et al., 2016).

Estudios de RM funcional refuerzan la importancia de dichas regiones durante la ejecución del *PASAT* (Bonnet et al., 2010; Chiaravalloti et al., 2015; Ksiazek-Winiarek et al., 2015; Rocca et al., 2016). En concreto, se ha encontrado que la red frontoparietal incrementa su activación durante la ejecución de dicho test, el cual se ha interpretado como un posible mecanismo para contribuir al mantenimiento del rendimiento cognitivo (Morgen et al., 2007). Estos resultados sugieren una paradoja entre estructura y función cerebral (Rocca et al., 2012). Nuestros resultados también muestran una relación entre rendimiento cognitivo y el aumento de FA en algunas conexiones situadas principalmente en el córtex cingulado y en la corteza frontal y occipital. Estos cambios apoyan la presencia de mecanismos de reorganización cerebral capaces de contribuir al mantenimiento de funciones cognitivas a pesar de la existencia de daño difuso generalizado en los pacientes con EM (Chiaravalloti et al., 2015; Fleischer et al., 2016; Rocca et al., 2016). De forma similar, estudios de RM funcional también han descrito la presencia de estos mecanismos que permiten reclutar un mayor número de áreas cerebrales compensatorias para atenuar las alteraciones clínicas y mantener un rendimiento óptimo (Ernst et al., 2016; Filippi et al., 2012). No obstante, tanto el incremento de FA (Llufriu et al., 2017) como el de la actividad funcional (Fai-vre et al., 2012) también podrían reflejar una falta de capacidad para acceder a recursos necesarios para llevar a cabo una correcta capacidad cognitiva. El agotamiento de estos mecanismos de reorganización cerebral pueden ser precursores del trastorno cognitivo (Chiaravalloti et al., 2015; Schoonheim et al., 2015).

En conclusión, en este segundo artículo demostramos **la existencia de daño difuso generalizado de la red cerebral en pacientes con EM y la presencia de fenómenos de desconexión en regiones frontoparietales, SG**

subcortical e ínsula que se relacionan con el rendimiento en atención y funciones ejecutivas. Por otra parte, nuestros resultados aportan aspectos novedosos como la identificación de mecanismos de reestructuración cerebral a través del aumento de FA en las vías de SB. Las redes que hemos identificado como relevantes en el rendimiento cognitivo pueden llegar a utilizarse como diana para definir la progresión de la enfermedad y evaluar los efectos de una intervención terapéutica sobre las capacidades cognitivas.

Futuros estudios que combinen el análisis de la RM funcional con los cambios estructurales a lo largo de la evolución de la enfermedad ayudarán a comprender cuál es la relación entre los mecanismos de reorganización cerebral y la discapacidad en la EM. Estos estudios podrían identificar nuevos mecanismos de plasticidad en fases iniciales y explicar cómo cambian durante la progresión de la enfermedad. En fases iniciales de la enfermedad es cuando los mecanismos de compensación cerebral se encuentran más activos y por tanto, el beneficio de los programas de rehabilitación y de estimulación cerebral no invasiva podrían ser más eficientes (Filippi et al., 2012; Hulst et al., 2016). La evidencia del efecto beneficioso de la rehabilitación cognitiva mediante mecanismos de reserva cognitiva ha sido descrito en la enfermedad de Alzheimer con anterioridad (Stern, 2012). A pesar de estos datos, los fenómenos que subyacen a la plasticidad cerebral, y cómo difieren entre individuos, son todavía desconocidos, convirtiéndose en uno de los retos que presenta la neurociencia en la actualidad.

Las futuras líneas de trabajo que pretendemos llevar a cabo como continuación de esta tesis se centrarán en analizar los cambios funcionales y estructurales a lo largo de la enfermedad, así como, el impacto de la rehabilitación sobre la disfunción cognitiva y la plasticidad en fases iniciales y avanzadas de la EM con el fin de identificar biomarcadores en RM relevantes sobre la progresión en la discapacidad. El desarrollo técnico en la reconstrucción de los tractos de la SB y el estudio de la conectividad cerebral mediante tractografía y análisis de grafos, que han sido la base de esta tesis, nos permitirá ahondar en los mecanismos de desconexión y plasticidad cerebral en la EM en futuros estudios.

Capítulo 8

Conclusiones

1. La aplicación de modelos avanzados de tractografía y de criterios de exclusión anatómicos permite mejorar la reconstrucción de las radiaciones ópticas frente a un atlas histológico, alcanzando niveles de precisión de 0,83 y de exactitud volumétrica de 0,77.
2. La aplicación del método propuesto permite reconstruir las radiaciones ópticas en pacientes con esclerosis múltiple incluso en presencia de lesiones y aumentar la precisión (0,62) y exactitud volumétrica (0,64) de la tractografía.
3. La técnica de tractografía desarrollada para la reconstrucción de las radiaciones ópticas puede ser aplicada a todo el cerebro para el estudio de la conectividad estructural cerebral. El uso de criterios de exclusión anatómicos disminuye la presencia de *streamlines* aberrantes e incrementa la reproducibilidad de las matrices de conectividad.
4. Los pacientes con esclerosis múltiple presentan alteraciones en la conectividad cerebral estructural debido al daño difuso de sustancia blanca y sustancia gris. La disminución en la integridad de redes frontoparietales, conexiones insulares y sustancia gris subcortical se asocian con el rendimiento en atención y funciones ejecutivas en pacientes con esclerosis múltiple. Por otro lado, el incremento de conectividad en algunas conexiones apoya la existencia de mecanismos de reorganización cerebral estructural.

Bibliografía

- L M Alba-Ferrara y Gabriel A de Erausquin. What does anisotropy measure? Insights from increased and decreased anisotropy in selective fiber tracts in schizophrenia. *Frontiers in integrative neuroscience*, 7:9, 2013. doi:10.3389/fnint.2013.00009.
- A L Alexander, K M Hasan, y M Lazar. Analysis of partial volume effects in diffusion-tensor MRI. *Magnetic resonance in medicine*, 45(5):770–780, 2001. doi:10.1002/mrm.1105.
- A L Alexander, J E Lee, y M Lazar. Diffusion tensor imaging of the brain. *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 4(3):316–329, 2007. doi:10.1016/j.nurt.2007.05.011.
- D C Alexander, P L Hubbard, y M G Hall. Orientationally invariant indices of axon diameter and density from diffusion MRI. *NeuroImage*, 52(4):1374–1389, 2010. doi:10.1016/j.neuroimage.2010.05.043.
- L A N Amaral y J M Ottino. Complex networks. *The European Physical Journal B - Condensed Matter*, 38(2):147–162, 2004. doi:10.1140/epjb/e2004-00110-5.
- A W Anderson. Measurement of fiber orientation distributions using high angular resolution diffusion imaging. *Magnetic resonance in medicine*, 54(5):1194–1206, 2005. doi:10.1002/mrm.20667.
- J Antel, S Antel, y Z Caramanos. Primary progressive multiple sclerosis: part of the MS disease spectrum or separate disease entity? *Acta neuropathologica*, 123(5):627–638, 2012. doi:10.1007/s00401-012-0953-0.
- H E Assemlal, D Tschumperlé, y L Brun. Recent advances in diffusion MRI modeling: Angular and radial reconstruction. *Medical image analysis*, 15(4):369–396, 2011. doi:10.1016/j.media.2011.02.002.
- B Audoin, D Ibarrola, y J P Ranjeva. Compensatory cortical activation observed by fMRI during a cognitive task at the earliest stage of multiple sclerosis. *Human Brain Mapping*, 20(2):51–58, 2003. doi:10.1002/hbm.10128.

- W Y Aung, S Mar, y T L Benzinger. Diffusion tensor MRI as a biomarker in axonal and myelin damage. *Imaging in medicine*, 5(5):427–440, 2013. doi:10.2217/iim.13.49.
- R L Aupperle, W W Beatty, y F de N A P Shelton. Three screening batteries to detect cognitive impairment in multiple sclerosis. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)*, 8(5):382–389, 2002.
- H Azadbakht, L M Parkes, y H A Haroon. Validation of High-Resolution Tractography Against In Vivo Tracing in the Macaque Visual Cortex. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 25(11):4299–4309, 2015. doi:10.1093/cercor/bhu326.
- M Bach, F B Laun, y A Leemans. Methodological considerations on tract-based spatial statistics (TBSS). *NeuroImage*, 100:358–369, 2014. doi:10.1016/j.neuroimage.2014.06.021.
- A Baddeley. Working memory: looking back and looking forward. *Nature Reviews Neuroscience*, 4(10):829–839, 2003. doi:10.1038/nrn1201.
- M M Bahn. Comparison of scalar measures used in magnetic resonance diffusion tensor imaging. *Journal of magnetic resonance (San Diego, Calif. : 1997)*, 139(1):1–7, 1999. doi:10.1006/jmre.1999.1752.
- F Barkhof. The clinico-radiological paradox in multiple sclerosis revisited. *Current opinion in neurology*, 15(3):239–245, 2002.
- P J Basser, J Mattiello, y D LeBihan. MR diffusion tensor spectroscopy and imaging. *Biophysical journal*, 66(1):259–267, 1994. doi:10.1016/S0006-3495(94)80775-1.
- P J Basser, S Pajevic, y C Pierpaoli. In vivo fiber tractography using DT-MRI data. *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 44(4):625–632, 2000.
- P J Basser y C Pierpaoli. Microstructural and physiological features of tissues elucidated by quantitative-diffusion-tensor MRI. *Journal of magnetic resonance. Series B*, 111(3):209–219, 1996. doi:10.1016/j.jmr.2011.09.022.
- D S Bassett y E Bullmore. Small-world brain networks. *The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry*, 12(6):512–523, 2006. doi:10.1177/1073858406293182.
- D Batalle, E Eixarch, y F Figueras. Altered small-world topology of structural brain networks in infants with intrauterine growth restriction and its association with later neurodevelopmental outcome. *NeuroImage*, 60(2):1352–1366, 2012. doi:10.1016/j.neuroimage.2012.01.059.

- C Beaulieu. The basis of anisotropic water diffusion in the nervous system - a technical review. *NMR in biomedicine*, 15(7-8):435–455, 2002.
- T E Behrens y O Sporns. Human connectomics. *Current Opinion in Neurobiology*, 22(1):144–153, 2012. doi:10.1016/j.conb.2011.08.005.
- T E J Behrens, H J Berg, y S Jbabdi. Probabilistic diffusion tractography with multiple fibre orientations: What can we gain? *NeuroImage*, 34(1):144–155, 2007. doi:10.1016/j.neuroimage.2006.09.018.
- R H Benedict, H E Hulst, y N Bergsland. Clinical significance of atrophy and white matter mean diffusivity within the thalamus of multiple sclerosis patients. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)*, 19(11):1478–1484, 2013. doi:10.1177/1352458513478675.
- R H B Benedict, D Cookfair, y R Gavett. Validity of the minimal assessment of cognitive function in multiple sclerosis (MACFIMS). *Journal of the International Neuropsychological Society : JINS*, 12(4):549–558, 2006.
- C F A Benjamin, J M Singh, y S P Prabhu. Optimization of tractography of the optic radiations. *Human Brain Mapping*, 35(2):683–697, 2014. doi:10.1002/hbm.22204.
- R A Bermel y R Bakshi. The measurement and clinical relevance of brain atrophy in multiple sclerosis. *The Lancet. Neurology*, 5(2):158–170, 2006. doi:10.1016/S1474-4422(06)70349-0.
- R M H Besseling, J F A Jansen, y G M Overvliet. Tract Specific Reproducibility of Tractography Based Morphology and Diffusion Metrics. *PLoS ONE*, 7(4):e34125, 2012. doi:10.1371/journal.pone.0034125.
- A Bisecco, M A Rocca, y E Pagani. Connectivity-based parcellation of the thalamus in multiple sclerosis and its implications for cognitive impairment: A multicenter study. *Human brain mapping*, 36(7):2809–2825, 2015. doi:10.1002/hbm.22809.
- M M Bohlken, R M Brouwer, y R C W Mandl. Structural Brain Connectivity as a Genetic Marker for Schizophrenia. *JAMA Psychiatry*, 73(1):11, 2016. doi:10.1001/jamapsychiatry.2015.1925.
- M C Bonnet, M Allard, y B Dilharreguy. Cognitive compensation failure in multiple sclerosis. *Neurology*, 75(14):1241–1248, 2010.
- M Borghi, S Carletto, y L Ostacoli. Decline of Neuropsychological Abilities in a Large Sample of Patients with Multiple Sclerosis: A Two-Year Longitudinal Study. *Frontiers in Human Neuroscience*, 10:282, 2016. doi:10.3389/fnhum.2016.00282.

- J B Boringa, R H Lazeron, y I E Reuling. The Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Tests: normative values allow application in multiple sclerosis clinical practice. *Multiple Sclerosis*, 7(4):263–267, 2001. doi:10.1177/135245850100700409.
- E Bullmore y O Sporns. Complex brain networks: graph theoretical analysis of structural and functional systems. *Nature reviews. Neuroscience*, 10(3):186–198, 2009. doi:10.1038/nrn2575.
- U Bürgel, K Amunts, y L Hoemke. White matter fiber tracts of the human brain: three-dimensional mapping at microscopic resolution, topography and intersubject variability. *NeuroImage*, 29(4):1092–1105, 2006.
- U Bürgel, T Schormann, y A Schleicher. Mapping of histologically identified long fiber tracts in human cerebral hemispheres to the MRI volume of a reference brain: position and spatial variability of the optic radiation. *NeuroImage*, 10(5):489–499, 1999.
- P A Calabresi. Diagnosis and management of multiple sclerosis. *American family physician*, 70(10):1935–1944, 2004. doi:10.1016/j.ejrad.2008.02.044.
- S J Camp, V L Stevenson, y A J Thompson. A longitudinal study of cognition in primary progressive multiple sclerosis. *Brain : a journal of neurology*, 128(Pt 12):2891–2898, 2005. doi:10.1093/brain/awh602.
- J S W Campbell, P MomayyezSiahkal, y P Savadjiev. Beyond Crossing Fibers: Bootstrap Probabilistic Tractography Using Complex Subvoxel Fiber Geometries. *Frontiers in Neurology*, 5:216, 2014. doi:10.3389/fneur.2014.00216.
- J S W Campbell, K Siddiqi, y V V Rymar. Flow-based fiber tracking with diffusion tensor and q-ball data: Validation and comparison to principal diffusion direction techniques. *NeuroImage*, 27(4):725–736, 2005.
- M Catani y M Thiebaut de Schotten. A diffusion tensor imaging tractography atlas for virtual in vivo dissections. *Cortex; a journal devoted to the study of the nervous system and behavior*, 44(8):1105–1132, 2008. doi:10.1016/j.cortex.2008.05.004.
- M Catani y M Thiebaut de Schotten. *Atlas of Human Brain Connections*. Oxford University Press, 2012. doi:10.1093/med/9780199541164.001.0001.
- M Chamberland, B Scherrer, y S P Prabhu. Active delineation of Meyer’s loop using oriented priors through MAGNETic tractography (MAGNET). *Human brain mapping*, 38(1):509–527, 2017. doi:10.1002/hbm.23399.
- N D Chiaravalloti y J DeLuca. Cognitive impairment in multiple sclerosis. *The Lancet. Neurology*, 7(12):1139–1151, 2008.

- N D Chiaravalloti, H M Genova, y J DeLuca. Cognitive rehabilitation in multiple sclerosis: the role of plasticity. *Frontiers in neurology*, 6(April):67, 2015. doi:10.3389/fneur.2015.00067.
- K H Cho, C H Yeh, y J D Tournier. Evaluation of the accuracy and angular resolution of q-ball imaging. *NeuroImage*, 42(1):262–271, 2008.
- G Clark. The organization of behavior: A neuropsychological theory. D. O. Hebb. *The Journal of Comparative Neurology*, 93(3):459–460, 1950. doi:10.1002/cne.900930310.
- P L Clatworthy, G B Williams, y J Acosta-Cabronero. Probabilistic tractography of the optic radiations—an automated method and anatomical validation. *NeuroImage*, 49(3):2001–2012, 2010. doi:10.1016/j.neuroimage.2009.10.083.
- A Compston, A Coles, y D Compston. Multiple sclerosis. *Lancet (London, England)*, 372(9648):1502–1517, 2008. doi:10.1016/S0140-6736(08)61620-7.
- G R Cutter, M L Baier, y R A Rudick. Development of a multiple sclerosis functional composite as a clinical trial outcome measure. *Brain : a journal of neurology*, 122:871–882, 1999. doi:10.1093/brain/122.5.871.
- A Daducci. COMMIT: Convex optimization modeling for microstructure informed tractography. *IEEE transactions on medical imaging*, 34(1):246–257, 2015. doi:10.1109/TMI.2014.2352414.
- A Daducci, A Dal Palu, y M Descoteaux. Microstructure Informed Tractography: Pitfalls and Open Challenges. *Frontiers in Neuroscience*, 10:247, 2016. doi:10.3389/fnins.2016.00247.
- C Davatzikos. Why voxel-based morphometric analysis should be used with great caution when characterizing group differences. *NeuroImage*, 23(1):17–20, 2004. doi:10.1016/j.neuroimage.2004.05.010.
- M Dayan, M Munoz, y S Jentschke. Optic radiation structure and anatomy in the normally developing brain determined using diffusion MRI and tractography. *Brain structure & function*, 220(1):291–306, 2015. doi:10.1007/s00429-013-0655-y.
- F Dell’Ácqua, G Rizzo, y P Scifo. A model-based deconvolution approach to solve fiber crossing in diffusion-weighted MR imaging. *IEEE transactions on bio-medical engineering*, 54(3):462–472, 2007. doi:10.1109/TBME.2006.888830.
- M Descoteaux, E Angelino, y S Fitzgibbons. Regularized, fast, and robust analytical Q-ball imaging. *Magnetic resonance in medicine*, 58(3):497–510, 2007. doi:10.1002/mrm.21277.

- R S Desikan, F Ségonne, y B Fischl. An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. 2006.
- I Diez, P Bonifazi, y I Escudero. A novel brain partition highlights the modular skeleton shared by structure and function. *Scientific Reports*, 5:10532, 2015. doi:10.1038/srep10532.
- R A Dineen, J Vilisaar, y J Hlinka. Disconnection as a mechanism for cognitive dysfunction in multiple sclerosis. *Brain : a journal of neurology*, 132(Pt 1):239–249, 2009. doi:10.1093/brain/awn275.
- A Einstein. Über die von der molekularkinetischen Theorie der Wärme geforderte Bewegung von in ruhenden Flüssigkeiten suspendierten Teilchen. *Annalen der Physik*, 322(8):549–560, 1905. doi:10.1002/andp.19053220806.
- A Ernst, M Sourty, y D Roquet. Benefits from an autobiographical memory facilitation programme in relapsing-remitting multiple sclerosis patients: a clinical and neuroimaging study. *Neuropsychological Rehabilitation*, págs. 1–21, 2016. doi:10.1080/09602011.2016.1240697.
- A Faivre, A Rico, y W Zaaraoui. Assessing brain connectivity at rest is clinically relevant in early multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal*, 18(9):1251–1258, 2012. doi:10.1177/1352458511435930.
- S Farquharson, J D Tournier, y F Calamante. White matter fiber tractography: why we need to move beyond DTI. *Journal of neurosurgery*, 118(6):1367–1377, 2013. doi:10.3171/2013.2.JNS121294.
- M Filippi y M Inglese. Overview of diffusion-weighted magnetic resonance studies in multiple sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences*, 186:S37–S43, 2001. doi:10.1016/S0022-510X(01)00489-0.
- M Filippi, M A Rocca, y F Barkhof. Association between pathological and MRI findings in multiple sclerosis. *The Lancet. Neurology*, 11(4):349–360, 2012.
- M Filippi, M A Rocca, y R H B Benedict. The contribution of MRI in assessing cognitive impairment in multiple sclerosis. *Neurology*, 75(23):2121–2128, 2010. doi:10.1212/WNL.0b013e318200d768.
- B Fischl, A van der Kouwe, y C Destrieux. Automatically Parcellating the Human Cerebral Cortex. *Cerebral Cortex*, 14(1):11–22, 2004. doi:10.1093/cercor/bhg087.
- V Fleischer, A Gröger, y N Koirala. Increased structural white and grey matter network connectivity compensates for functional decline in early multiple sclerosis. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)*, 2016. doi:10.1177/1352458516651503.

- O Friman y C F Westin. Uncertainty in white matter fiber tractography. *Medical image computing and computer-assisted intervention : MICCAI ... International Conference on Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention*, 8(Pt 1):107–114, 2005.
- I Gabilondo, E H Martínez-Lapiscina, y E Martínez-Heras. Trans-synaptic axonal degeneration in the visual pathway in multiple sclerosis. *Annals of neurology*, 75(1):98–107, 2014. doi:10.1002/ana.24030.
- D Gallichan, J Scholz, y A Bartsch. Addressing a systematic vibration artifact in diffusion-weighted MRI. *Human brain mapping*, 31(2):193–202, 2010. doi:10.1002/hbm.20856.
- H M GENOVA, F G. HILLARY, y G WYLIE. Examination of processing speed deficits in multiple sclerosis using functional magnetic resonance imaging. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 15(03):383, 2009. doi:10.1017/S1355617709090535.
- G Girard, K Whittingstall, y R Deriche. Towards quantitative connectivity analysis: reducing tractography biases. *NeuroImage*, 98:266–278, 2014. doi:10.1016/j.neuroimage.2014.04.074.
- M F Glasser, T S Coalson, y E C Robinson. A multi-modal parcellation of human cerebral cortex. *Nature*, 2016. doi:10.1038/nature18933.
- C Goga y U Türe. The anatomy of Meyer’s loop revisited: changing the anatomical paradigm of the temporal loop based on evidence from fiber microdissection. *Journal of neurosurgery*, págs. 1–10, 2015. ISSN 1933-0693. doi:10.3171/2014.12.JNS14281.
- S Gouttard, C B Goodlett, y M Kubicki. Measures for Validation of DTI Tractography. *Proceedings of SPIE—the International Society for Optical Engineering*, 8314, 2012. doi:10.1117/12.911546.
- B Grassiot, B Desgranges, y F Eustache. Quantification and clinical relevance of brain atrophy in multiple sclerosis: a review. *Journal of neurology*, 256(9):1397–1412, 2009. doi:10.1007/s00415-009-5108-4.
- P Hagmann, L Jonasson, y P Maeder. Understanding diffusion MR imaging techniques: from scalar diffusion-weighted imaging to diffusion tensor imaging and beyond. *Radiographics : a review publication of the Radiological Society of North America, Inc*, 26 Suppl 1:S205–223, 2006. doi:10.1148/rg.26si065510.
- S Hannoun, M Bagory, y F Durand-Dubief. Correlation of diffusion and metabolic alterations in different clinical forms of multiple sclerosis. *PloS one*, 7(3):e32525, 2012. doi:10.1371/journal.pone.0032525.

- K M Hasan, P J Basser, y D L Parker. Analytical computation of the eigenvalues and eigenvectors in DT-MRI. *Journal of magnetic resonance (San Diego, Calif. : 1997)*, 152(1):41–47, 2001. doi:10.1006/jmre.2001.2400.
- Y He, A Dagher, y Z Chen. Impaired small-world efficiency in structural cortical networks in multiple sclerosis associated with white matter lesion load. *Brain : a journal of neurology*, 132(Pt 12):3366–3379, 2009. doi:10.1093/brain/awp089.
- D M Healy, H Hendriks, y P T Kim. Spherical Deconvolution. *Journal of Multivariate Analysis*, 67(1):1–22, 1998.
- C Hirst, G Ingram, y O Pearson. Contribution of relapses to disability in multiple sclerosis. *Journal of neurology*, 255(2):280–287, 2008.
- S Hofer, A Karaus, y J Frahm. Reconstruction and dissection of the entire human visual pathway using diffusion tensor MRI. *Frontiers in neuroanatomy*, 4:15, 2010. doi:10.3389/fnana.2010.00015.
- S Hoffmann, M Tittgemeyer, y D Y von Cramon. Cognitive impairment in multiple sclerosis. *Current opinion in neurology*, 20(3):275–280, 2007. doi:10.1097/WCO.0b013e32810c8e87.
- S C J Huijbregts, N F Kalkers, y L M J de Sonneville. Differences in cognitive impairment of relapsing remitting, secondary, and primary progressive MS. *Neurology*, 63(2):335–339, 2004.
- H E Hulst, T Goldschmidt, y M A Nitsche. rTMS affects working memory performance, brain activation and functional connectivity in patients with multiple sclerosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, págs. jnnp-2016-314224, 2016. doi:10.1136/jnnp-2016-314224.
- H E Hulst, M M Schoonheim, y Q Van Geest. Memory impairment in multiple sclerosis: Relevance of hippocampal activation and hippocampal connectivity. *Multiple Sclerosis Journal*, 21(13):1705–1712, 2015. doi:10.1177/1352458514567727.
- I Ibrahim, J Tintera, y A Skoch. Fractional anisotropy and mean diffusivity in the corpus callosum of patients with multiple sclerosis: the effect of physiotherapy. *Neuroradiology*, 53(11):917–926, 2011. doi:10.1007/s00234-011-0879-6.
- S Inusah, M P Sormani, y S S Cofield. Assessing changes in relapse rates in multiple sclerosis. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)*, 16(12):1414–1421, 2010.
- A Irimia, M C Chambers, y C M Torgerson. Circular representation of human cortical networks for subject and population-level connectomic visualization. *NeuroImage*, 60(2):1340–1351, 2012a.

- A Irimia, M C Chambers, y C M Torgerson. Patient-Tailored Connectomics Visualization for the Assessment of White Matter Atrophy in Traumatic Brain Injury. *Frontiers in Neurology*, 3:10, 2012b.
- C Jacobsen, J Hagemeyer, y K M Myhr. Brain atrophy and disability progression in multiple sclerosis patients: a 10-year follow-up study. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 85(10):1109–1115, 2014. doi:10.1136/jnnp-2013-306906.
- F H Jacques. Defining the clinical course of multiple sclerosis: the 2013 revisions. *Neurology*, 84(9):963, 2015. doi:10.1212/01.wnl.0000462309.76486.c5.
- B Jasperse, A Minneboo, y V de Groot. Determinants of cerebral atrophy rate at the time of diagnosis of multiple sclerosis. *Archives of neurology*, 64(2):190–194, 2007. doi:10.1001/archneur.64.2.190.
- S Jbabdi y H Johansen-Berg. Tractography: where do we go from here? *Brain connectivity*, 1(3):169–183, 2011.
- B J Jellison, A S Field, y J Medow. Diffusion Tensor Imaging of Cerebral White Matter: A Pictorial Review of Physics, Fiber Tract Anatomy, and Tumor Imaging Patterns. *AJNR Am. J. Neuroradiol.*, 25(3):356–369, 2004.
- M Jenkinson. Fast, automated, N-dimensional phase-unwrapping algorithm. *Magnetic Resonance in Medicine*, 49(1):193–197, 2003.
- B Jeurissen. *Improved analysis of brain connectivity using high angular resolution diffusion MRI*. Tesis Doctoral, 2012.
- B Jeurissen, A Leemans, y J D Tournier. Investigating the prevalence of complex fiber configurations in white matter tissue with diffusion magnetic resonance imaging. *Human brain mapping*, 34(11):2747–2766, 2013.
- D K Jones. The effect of gradient sampling schemes on measures derived from diffusion tensor MRI: a Monte Carlo study. *Magnetic resonance in medicine*, 51(4):807–815, 2004.
- D K Jones. Challenges and limitations of quantifying brain connectivity in vivo with diffusion MRI. *Imaging in Medicine*, 2(3):341–355, 2010. doi:10.2217/iim.10.21.
- N F Kalkers, H Vrenken, y B M J Uitdehaag. Brain atrophy in multiple sclerosis: impact of lesions and of damage of whole brain tissue. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)*, 8(5):410–414, 2002. doi:10.1191/1352458502ms833oa.

- L Kappos, D Moeri, y E W Radue. Predictive value of gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging for relapse rate and changes in disability or impairment in multiple sclerosis: a meta-analysis. Gadolinium MRI Meta-analysis Group. *Lancet (London, England)*, 353(9157):964–969, 1999. doi:10.1016/S0140-6736(98)03053-0.
- M Kinoshita, K Yamada, y N Hashimoto. Fiber-tracking does not accurately estimate size of fiber bundle in pathological condition: initial neurosurgical experience using neuronavigation and subcortical white matter stimulation. *NeuroImage*, 25(2):424–429, 2005.
- A Klein y J Tourville. 101 Labeled Brain Images and a Consistent Human Cortical Labeling Protocol. *Frontiers in Neuroscience*, 6:171, 2012.
- T Klingberg. Training and plasticity of working memory. *Trends in Cognitive Sciences*, 14(7):317–324, 2010. doi:10.1016/j.tics.2010.05.002.
- T R Knösche, A Anwander, y M Liptrot. Validation of tractography: Comparison with manganese tracing. *Human brain mapping*, 36(10):4116–4134, 2015. doi:10.1002/hbm.22902.
- G Kocevar, C Stamile, y S Hannoun. Graph Theory-Based Brain Connectivity for Automatic Classification of Multiple Sclerosis Clinical Courses. *Frontiers in neuroscience*, 10:478, 2016. doi:10.3389/fnins.2016.00478.
- M W Koch, L M Metz, y O Kovalchuk. Epigenetic changes in patients with multiple sclerosis. *Nature reviews. Neurology*, 9(1):35–43, 2013.
- L B Krupp y L E Elkins. Fatigue and declines in cognitive functioning in multiple sclerosis. *Neurology*, 55(7):934–939, 2000.
- D J Ksiazek-Winiarek, P Szpakowski, y A Glabinski. Neural Plasticity in Multiple Sclerosis: The Functional and Molecular Background. *Neural plasticity*, 2015:11, 2015. doi:10.1155/2015/307175.
- H Lassmann, J van Horssen, y D Mahad. Progressive multiple sclerosis: pathology and pathogenesis. *Nature reviews. Neurology*, 8(11):647–656, 2012.
- R H C Lazeron, J B Boringa, y M Schouten. Brain atrophy and lesion load as explaining parameters for cognitive impairment in multiple sclerosis. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)*, 11(5):524–531, 2005. doi:10.1191/1352458505ms1201oa.
- D Le Bihan, E Breton, y D Lallemand. MR imaging of intravoxel incoherent motions: application to diffusion and perfusion in neurologic disorders. *Radiology*, 161(2):401–407, 1986.

- D Le Bihan, J F Mangin, y C Poupon. Diffusion tensor imaging: concepts and applications. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*, 13(4):534–546, 2001.
- T P Leist, M I Gobbi, y J A Frank. Enhancing magnetic resonance imaging lesions and cerebral atrophy in patients with relapsing multiple sclerosis. *Archives of neurology*, 58(1):57–60, 2001. doi:10.1001/archneur.58.1.57.
- S Llufríu, Y Blanco, y E Martínez-Heras. Influence of corpus callosum damage on cognition and physical disability in multiple sclerosis: a multimodal study. *PloS one*, 7(5):e37167, 2012. doi:10.1371/journal.pone.0037167.
- S Llufríu, E Martínez-Heras, y J Fortea. Cognitive functions in multiple sclerosis: impact of gray matter integrity. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)*, 20(4):424–432, 2014. doi:10.1177/1352458513503722.
- S Llufríu, E Martínez-Heras, y E Solana. Structural networks involved in attention and executive functions in multiple sclerosis. *NeuroImage: Clinical*, 13:288–296, 2017. doi:10.1016/j.nicl.2016.11.026.
- S Llufríu, T Pujol, y Y Blanco. T2 hypointense rims and ring-enhancing lesions in MS. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)*, 16(11):1317–1325, 2010. doi:10.1177/1352458510377905.
- M López-Góngora, L Querol, y A Escartín. A one-year follow-up study of the Symbol Digit Modalities Test (SDMT) and the Paced Auditory Serial Addition Test (PASAT) in relapsing-remitting multiple sclerosis: an appraisal of comparative longitudinal sensitivity. *BMC Neurology*, 15(1):40, 2015. doi:10.1186/s12883-015-0296-2.
- C Louapre, V Perlberg, y D García-Lorenzo. Brain networks disconnection in early multiple sclerosis cognitive deficits: an anatomofunctional study. *Human brain mapping*, 35(9):4706–4717, 2014. doi:10.1002/hbm.22505.
- K Maier-Hein, Peter Neher, y J C Houde. Tractography-based connectomes are dominated by false-positive connections. *bioRxiv*, 2016. doi:10.1101/084137.
- P Mansfield y I L Pykett. Biological and medical imaging by NMR. *Journal of Magnetic Resonance (1969)*, 29(2):355–373, 1978.
- D S Margulies, J Böttger, y A Watanabe. Visualizing the human connectome. *NeuroImage*, 80:445–461, 2013.
- E Martínez-Heras, F Varriano, y V Prčková. Improved Framework for Tractography Reconstruction of the Optic Radiation. *PloS one*, 10(9):e0137064, 2015. doi:10.1371/journal.pone.0137064.

- W I McDonald, A Compston, y G Edan. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Annals of neurology*, 50(1):121–127, 2001.
- K Morgen, G Sammer, y S M Courtney. Distinct mechanisms of altered brain activation in patients with multiple sclerosis. *NeuroImage*, 37(3):937–946, 2007. doi:10.1016/j.neuroimage.2007.05.045.
- S Mori, B J Crain, y V P Chacko. Three-dimensional tracking of axonal projections in the brain by magnetic resonance imaging. *Annals of neurology*, 45(2):265–269, 1999.
- M E Moseley, Y Cohen, y J Kucharczyk. Diffusion-weighted MR imaging of anisotropic water diffusion in cat central nervous system. *Radiology*, 176(2):439–445, 1990.
- A Pascual-Leone, C Freitas, y L Oberman. Characterizing brain cortical plasticity and network dynamics across the age-span in health and disease with TMS-EEG and TMS-fMRI. *Brain topography*, 24(3-4):302–315, 2011. doi:10.1007/s10548-011-0196-8.
- F Patti. Cognitive impairment in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis*, 15(1):2–8, 2009. doi:10.1177/1352458508096684.
- C Pierpaoli, A Barnett, y S Pajevic. Water diffusion changes in Wallerian degeneration and their dependence on white matter architecture. *NeuroImage*, 13(6 Pt 1):1174–1185, 2001.
- C H Polman, S C Reingold, y B Banwell. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Annals of neurology*, 69(2):292–302, 2011. doi:10.1002/ana.22366.
- P Preziosa, M A Rocca, y E Pagani. Structural MRI correlates of cognitive impairment in patients with multiple sclerosis: A Multicenter Study. *Human brain mapping*, 37(4):1627–1644, 2016. doi:10.1002/hbm.23125.
- J Pujol, P Vendrell, y J Deus. The effect of medial frontal and posterior parietal demyelinating lesions on stroop interference. *NeuroImage*, 13(1):68–75, 2001. doi:10.1006/nimg.2000.0662.
- D Purves. *Neuroscience*. Sinauer, 2008.
- M E Raichle, A M MacLeod, y A Z Snyder. A default mode of brain function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(2):676–682, 2001.

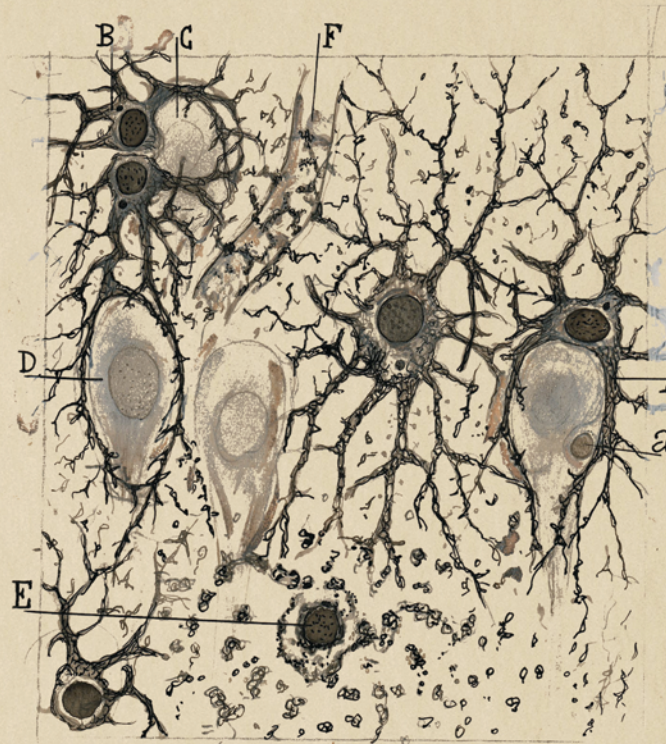
- J P Ranjeva, B Audoin, y M V Au Duong. Structural and functional surrogates of cognitive impairment at the very early stage of multiple sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences*, 245(1-2):161–167, 2006. doi:10.1016/j.jns.2005.09.019.
- S M Rao, G J Leo, y L Ellington. Cognitive dysfunction in multiple sclerosis. II. Impact on employment and social functioning. *Neurology*, 41(5):692–696, 1991. doi:10.1212/WNL.41.5.692.
- T G Reese, O Heid, y R M Weisskoff. Reduction of eddy-current-induced distortion in diffusion MRI using a twice-refocused spin echo. *Magnetic resonance in medicine*, 49(1):177–182, 2003.
- J C Reijneveld, S C Ponten, y H W Berendse. The application of graph theoretical analysis to complex networks in the brain. *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, 118(11):2317–2331, 2007.
- J T Richardson, A Robinson, y I Robinson. Cognition and multiple sclerosis: a historical analysis of medical perceptions. *Journal of the history of the neurosciences*, 6(3):302–319, 1997. doi:10.1080/09647049709525716.
- M A Rocca, M P Amato, y N De Stefano. Clinical and imaging assessment of cognitive dysfunction in multiple sclerosis. *The Lancet. Neurology*, 14(3):302–317, 2015. doi:10.1016/S1474-4422(14)70250-9.
- M A Rocca, P Valsasina, y H E Hulst. Functional correlates of cognitive dysfunction in multiple sclerosis: A multicenter fMRI Study. *Human brain mapping*, 35(12):5799–5814, 2014. doi:10.1002/hbm.22586.
- M A Rocca, P Valsasina, y V Martinelli. Large-scale neuronal network dysfunction in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Neurology*, 79(14):1449–1457, 2012. doi:10.1212/WNL.0b013e31826d5f10.
- M A Rocca, P Valsasina, y A Meani. Impaired functional integration in multiple sclerosis: a graph theory study. *Brain structure & function*, 221(1):115–131, 2016. doi:10.1007/s00429-014-0896-4.
- S D Roosendaal, H E Hulst, y H Vrenken. Structural and Functional Hippocampal Changes in Multiple Sclerosis Patients with Intact Memory Function. *Radiology*, 255(2):595–604, 2010. doi:10.1148/radiol.10091433.
- C Rosazza y L Minati. Resting-state brain networks: literature review and clinical applications. *Neurological Sciences*, 32(5):773–785, 2011.
- M Rubinov y O Sporns. Complex network measures of brain connectivity: Uses and interpretations. *NeuroImage*, 52(3):1059–1069, 2010.

- M M Schoonheim, K A Meijer, y J J G Geurts. Network collapse and cognitive impairment in multiple sclerosis. *Frontiers in neurology*, 6:82, 2015. doi:10.3389/fneur.2015.00082.
- M M Schoonheim, V Popescu, y F C Rueda Lopes. Subcortical atrophy and cognition: Sex effects in multiple sclerosis. *Neurology*, 79(17):1754–1761, 2012. doi:10.1212/WNL.0b013e3182703f46.
- J Sepulcre, S Vanotti, y R Hernández. Cognitive impairment in patients with multiple sclerosis using the Brief Repeatable Battery-Neuropsychology test. *Multiple Sclerosis*, 12(2):187–195, 2006. doi:10.1191/1352458506ms1258oa.
- S Seung. Sebastian Seung: I am my connectome — Talk Video — TED.com. 2010.
- A J Sherbondy, R F Dougherty, y S Napel. Identifying the human optic radiation using diffusion imaging and fiber tractography. *Journal of vision*, 8(10):1–11, 2008. doi:10.1167/8.10.12.
- N Shu, Y Duan, y M Xia. Disrupted topological organization of structural and functional brain connectomes in clinically isolated syndrome and multiple sclerosis. *Scientific Reports*, 6:29383, 2016. doi:10.1038/srep29383.
- N Shu, Y Liu, y K Li. Diffusion tensor tractography reveals disrupted topological efficiency in white matter structural networks in multiple sclerosis. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 21(11):2565–2577, 2011. doi:10.1093/cercor/bhr039.
- D M Simmons y L W Swanson. Comparing histological data from different brains: sources of error and strategies for minimizing them. *Brain research reviews*, 60(2):349–367, 2009. doi:10.1016/j.brainresrev.2009.02.002.
- R E Smith, J D Tournier, y F Calamante. Anatomically-constrained tractography: improved diffusion MRI streamlines tractography through effective use of anatomical information. *NeuroImage*, 62(3):1924–1938, 2012. doi:10.1016/j.neuroimage.2012.06.005.
- S M Smith, M Jenkinson, y H Johansen-Berg. Tract-based spatial statistics: voxelwise analysis of multi-subject diffusion data. *NeuroImage*, 31(4):1487–1505, 2006. doi:10.1016/j.neuroimage.2006.02.024.
- O Sporns. *Networks of the brain*. MIT Press, 2011.
- O Sporns, G Tononi, y R Kötter. The human connectome: A structural description of the human brain. *PLoS computational biology*, 1(4):e42, 2005. doi:10.1371/journal.pcbi.0010042.

- C J Stam, J C Reijneveld, y O Sporns. Graph theoretical analysis of complex networks in the brain. *Nonlinear Biomedical Physics*, 1(1):3, 2007.
- M D Steenwijk, M Daams, y P J W Pouwels. What explains gray matter atrophy in long-standing multiple sclerosis? *Radiology*, 272(3):832–842, 2014. doi:10.1148/radiol.14132708.
- E O Stejskal y J E Tanner. Spin Diffusion Measurements : Spin Echoes in the Presence of a Time Dependent Field Gradient. *The Journal of Chemical Physics*, 42:288–292, 1965.
- Y Stern. Cognitive reserve in ageing and Alzheimer’s disease. *The Lancet Neurology*, 11(11):1006–1012, 2012. doi:10.1016/S1474-4422(12)70191-6.
- C M W Tax, R Duits, y A Vilanova. Evaluating contextual processing in diffusion MRI: application to optic radiation reconstruction for epilepsy surgery. *PloS one*, 9(7):e101524, 2014. doi:10.1371/journal.pone.0101524.
- M Théaudin, G Saliou, y B Ducot. Short-term evolution of spinal cord damage in multiple sclerosis: a diffusion tensor MRI study. *Neuroradiology*, 54(10):1171–1178, 2012. doi:10.1007/s00234-012-1057-1.
- F Tona, N Petsas, y E Sbardella. Multiple Sclerosis: Altered Thalamic Resting-State Functional Connectivity and Its Effect on Cognitive Function. *Radiology*, 271(3):814–821, 2014. doi:10.1148/radiol.14131688.
- J D Tournier, F Calamante, y A Connelly. Robust determination of the fibre orientation distribution in diffusion MRI: non-negativity constrained super-resolved spherical deconvolution. *NeuroImage*, 35(4):1459–1472, 2007.
- J D Tournier, F Calamante, y A Connelly. MRtrix: Diffusion tractography in crossing fiber regions. *International Journal of Imaging Systems and Technology*, 22(1):53–66, 2012. doi:10.1002/ima.22005.
- J D Tournier, F Calamante, y D G Gadian. Direct estimation of the fiber orientation density function from diffusion-weighted MRI data using spherical deconvolution. *NeuroImage*, 23(3):1176–1185, 2004. doi:10.1016/j.neuroimage.2004.07.037.
- J D Tournier, S Mori, y A Leemans. Diffusion tensor imaging and beyond. *Magnetic Resonance in Medicine*, 65(6):1532–1556, 2011. doi:10.1002/mrm.22924.
- J D Tournier, C H Yeh, y F Calamante. Resolving crossing fibres using constrained spherical deconvolution: validation using diffusion-weighted imaging phantom data. *NeuroImage*, 42(2):617–625, 2008.
- D S Tuch. Q-ball imaging. *Magnetic resonance in medicine*, 52(6):1358–1372, 2004.

- D S Tuch, T G Reese, y M R Wiegell. High angular resolution diffusion imaging reveals intravoxel white matter fiber heterogeneity. *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 48(4):577–582, 2002. doi:10.1002/mrm.10268.
- D S Tuch, T G Reese, y M R Wiegell. Diffusion MRI of complex neural architecture. *Neuron*, 40(5):885–895, 2003.
- M P van den Heuvel y O Sporns. Rich-Club Organization of the Human Connectome. *Journal of Neuroscience*, 31(44):15775–15786, 2011. doi:10.1523/JNEUROSCI.3539-11.2011.
- M A van Walderveen, W Kamphorst, y P Scheltens. Histopathologic correlate of hypointense lesions on T1-weighted spin-echo MRI in multiple sclerosis. *Neurology*, 50(5):1282–1288, 1998. doi:10.1212/WNL.50.5.1282.
- J von Gumberz, M Mahmoudi, y K Young. Short-term MRI measurements as predictors of EDSS progression in relapsing-remitting multiple sclerosis: grey matter atrophy but not lesions are predictive in a real-life setting. *PeerJ*, 4:e2442, 2016. doi:10.7717/peerj.2442.
- B A Wandell. Clarifying Human White Matter. *Annual Review of Neuroscience*, 39(1):103–128, 2016. doi:10.1146/annurev-neuro-070815-013815.
- J Wang, B Nie, y H Zhu. Factors affecting the voxel-based analysis of diffusion tensor imaging. *Chinese Science Bulletin*, 59(31):4077–4085, 2014. doi:10.1007/s11434-014-0551-8.
- J Y Wang, H Abdi, y K Bakhadirov. A comprehensive reliability assessment of quantitative diffusion tensor tractography. *NeuroImage*, 60(2):1127–1138, 2012. doi:10.1016/j.neuroimage.2011.12.062.
- V J Wedeen, P Hagmann, y W Y I Tseng. Mapping complex tissue architecture with diffusion spectrum magnetic resonance imaging. *Magnetic resonance in medicine*, 54(6):1377–1386, 2005.
- C A M Wheeler-Kingshott y M Cercignani. About “axial and radial” diffusivities. *Magnetic resonance in medicine*, 61(5):1255–1260, 2009.
- G P Winston, L Mancini, y J Stretton. Diffusion tensor imaging tractography of the optic radiation for epilepsy surgical planning: a comparison of two methods. *Epilepsy research*, 97(1-2):124–132, 2011. doi:10.1016/j.epilepsyres.2011.07.019.
- M Yogarajah, N K Focke, y S Bonelli. Defining Meyer’s loop-temporal lobe resections, visual field deficits and diffusion tensor tractography. *Brain : a journal of neurology*, 132(Pt 6):1656–1668, 2009. doi:10.1093/brain/awp114.

- R J Zatorre, R D Fields, y H Johansen-Berg. Plasticity in gray and white: neuroimaging changes in brain structure during learning. *Nature Neuroscience*, 15(4):528–536, 2012. doi:10.1038/nn.3045.
- H Zhang, T Schneider, y C A Wheeler-Kingshott. NODDI: Practical in vivo neurite orientation dispersion and density imaging of the human brain. *NeuroImage*, 61(4):1000–1016, 2012. doi:10.1016/j.neuroimage.2012.03.072.
- F Zhou, Y Zhuang, y H Gong. Altered inter-subregion connectivity of the default mode network in relapsing remitting multiple sclerosis: a functional and structural connectivity study. *PloS one*, 9(7):e101198, 2014.
- R Zivadinov, D Hojnacki, y N Bergsland. Effect of natalizumab on brain atrophy and disability progression in multiple sclerosis patients over 5 years. *European journal of neurology*, 23(6):1101–1109, 2016. doi:10.1111/ene.12992.



Cortesía Instituto Cajal del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid ©2017 CSIC

"Es preciso sacudir enérgicamente el bosque de las neuronas cerebrales adormecidas; es menester hacerlas vibrar con la emoción de lo nuevo e infundirles nobles y elevadas inquietudes"

Santiago Ramon y Cajal



UNIVERSITAT DE BARCELONA

