

## Conventional and diffusion-weighted MRI in progressive multifocal leukoencephalopathy: new elements for identification and follow-up

### *RMN convenzionale e diffusion-weighted nella leucoencefalopatia progressiva multifocale: nuovi elementi per l'identificazione ed il follow-up*

S. da Pozzo<sup>1</sup> • R. Manara<sup>2</sup> • S. Tonello<sup>3</sup> • C. Carollo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Radiology, <sup>2</sup>Neuroradiology, <sup>3</sup>Neurology, Faculty of Medicine, Padova University, Italy  
Correspondence to: S. da Pozzo, Istituto di Radiologia, Via Giustiniani 5, I-35128 Padova, Italy, e-mail: spoxius@libero.it

Received: 24 February 2006 / Accepted: 28 June 2006 / Published online: 11 October 2006

#### Abstract

**Purpose.** Progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) is a serious disorder that primarily affects individuals with a suppressed immune system. Few semiological elements help clearly distinguish PML from other diseases included in the differential diagnosis. Moreover, the clinical course of disease may be chronic or rapidly progressive, with different magnetic resonance imaging (MRI) patterns. The purpose of this study was to confirm the diagnostic value of conventional MRI sequences combined with diffusion-weighted imaging (DWI) in PML to identify those patients with worst prognosis.

**Materials and methods.** We used both conventional MRI sequences and DWI to monitor four male patients aged between 40 and 50 years affected by PML. In two patients, the disease rapidly led to death whereas the other two patients presented a chronic course.

**Results.** Conventional MRI sequences enable detection of the extension of white matter lesions. DWI permits more accurate differentiation of the disease progression front, which exhibits low signal intensity in apparent diffusion coefficient (ADC) maps, from the central gliotic area of demyelination, characterised by high ADC values. Patients with rapidly evolving PML have a clear progression front on DWI, which seems to be very tenuous, if not absent, during the quiescent phases of the disease.

**Conclusions.** The addition of DWI sequences to conventional MRI seems to be a valid method for accurately diagnosing PML and establishing the degree of disease progression.

**Key words** Progressive multifocal leukoencephalopathy • Diffusion-weighted magnetic resonance imaging

#### Riassunto

**Obiettivo.** La leucoencefalopatia progressiva multifocale (PML) è una grave patologia che coinvolge solitamente pazienti immunocompromessi. Pochi sono gli elementi semeiologici che permettono di distinguerla da altre patologie con cui entra in diagnosi differenziale. Inoltre la malattia può presentare un decorso cronico o rapidamente progressivo, con aspetti semeiologici di RMN diversi. Lo scopo dello studio si propone di confermare la validità diagnostica delle sequenze convenzionali associate all'imaging DW nella PML, con l'identificazione dei pazienti con prognosi peggiore.

**Materiali e metodi.** Abbiamo sottoposto quattro pazienti affetti da PML, di sesso maschile e con età compresa tra i 40 e i 50 anni, a controlli RM con sequenze convenzionali e con sequenze pesate in diffusione: in due casi la malattia ha causato in breve tempo l'exitus, mentre negli altri 2 ha avuto un decorso cronico.

**Risultati.** Con le sequenze convenzionali è possibile riconoscere le lesioni della sostanza bianca. Le sequenze pesate in diffusione permettono più accuratamente di differenziare il fronte di progressione della malattia che appare ipointenso nelle mappe ADC, dalla porzione centrale di demielinizzazione con riparazione gliotica (elevati valori ADC). I pazienti con PML rapidamente progressiva mostrano un evidente fronte di accrescimento delle lesioni in DW, che sembra molto tenue, se non assente, durante le fasi silenziose della malattia.

**Conclusioni.** Le sequenze convenzionali associate alle nuove sequenze pesate in diffusione sembrano in grado di porre diagnosi di PML e di fornire indicazioni sul grado di progressione della malattia.

**Parole chiave** Leucoencefalopatia multifocale progressiva • Risonanza magnetica diffusion-weighted

## Introduction

Immunosuppressed patients often present with neurological disorders [1] due to opportunistic and neoplastic diseases, the differential diagnosis of which is based not only on neuroimaging examinations but also on cerebrospinal fluid (CSF) and blood tests, response to treatment and lesion progression over time. Among these disorders, progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) is caused by the reactivation of human polyomavirus JC (JCV), which remains latent in the organism and becomes pathogenic and aggressive in conditions of serious iatrogenic immunodeficiency – as in leukaemia and lymphoma – or of immunodepression mediated by other pathogens influencing the immune system directly – as in patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). JCV selectively affects oligodendrocytes, causing their cytolysis and consequent demyelination [2]. The clinical presentation of PML is usually characterised by a progressive decline in mental status (cognitive function) often associated with neurological focal, motor and visual deficits (homonymous hemianopsia).

Cerebral magnetic resonance imaging (MRI) permits a noninvasive study of the brain and accurately reveals multifocal lesions of the white matter, which are hypointense on T1-weighted sequences and hyperintense on T2, often located in the grey/white interface with involvement of U-fibres [3]. The most affected area is the semioval centre although the posterior cranial fossa is involved in about one third of all cases [4]. The lesions appear to be relatively homogeneous on conventional sequences, usually do not present mass effect and rarely react to contrast media. In particular, reaction to contrast agents – at the lesion margins – seems to be related to improvement in the patient's immunocompetence and the presence of mass effect to particularly aggressive forms [5].

Neuropathological studies have identified areas with different stages of white matter demyelination in the same lesion. Older lesions and the central portion of more recent ones are characterised by almost total breakdown of the myelin sheath and axonal damage, with an increase in extracellular space. Other studies [6] have recently discovered some interesting peculiarities of PML lesions in diffusion-weighted sequences: although homogeneous on T1 and T2, these lesions are characterised by different signal intensity on diffusion-weighted sequences and different apparent diffusion coefficient (ADC) values.

The aim of this paper is to illustrate the differences between gliotic and necrotic components and active disease elements in order to help establish the diagnosis and assess disease progression in response to treatment.

## Materials and methods

We examined four men aged between 40 and 50 years affected by PML with identification by polymerase chain reaction (PCR) of JCV sequences in CSF. In two patients, (DL and TP), the disease rapidly led to death while the other two patients (CM and AD) presented a chronic course and are

## Introduzione

*Pazienti immunocompromessi presentano spesso disturbi neurologici [1] dovuti ad malattie opportunistiche o neoplastiche la cui diagnosi differenziale è affidata, oltre che alla neuroimmagine, anche ad esami laboratoristici del liquor e del sangue, alla risposta alle terapie e alla evoluzione nel tempo delle lesioni. Fra queste malattie la PML è legata alla riattivazione di un virus JC che, ubiquitario nell'organismo, diventa patogeno ed aggressivo in condizioni di grave immunodepressione iatrogena, come nelle leucemie e nei linfomi, o mediata da altri agenti patogeni che agiscono direttamente sul sistema immunitario, come nei pazienti AIDS. Il virus JC colpisce selettivamente gli oligodendrociti causando la citolisi con conseguente perdita di mielina [2]. La presentazione clinica è caratterizzata da un declino progressivo delle funzioni cognitive spesso associato a deficit neurologici focali motori o visivi (emianopsia omonima).*

*La RM cerebrale permette lo studio non invasivo dell'encefalo riconoscendo con elevata sensibilità lesioni multifocali della sostanza bianca che appaiono ipointense nelle sequenze T1 pesate, iperintense in T2, spesso localizzate a livello dell'interfaccia fra sostanza grigia e bianca con coinvolgimento delle fibre ad U [3]. Le aree più colpite sono i centri semiovali anche se in circa un terzo dei casi viene coinvolta la fossa cranica posteriore [4]. Tali lesioni appaiono relativamente omogenee nelle sequenze convenzionali, non presentano usualmente effetto massa e raramente reagiscono al MdC. In particolare, la risposta al mezzo di contrasto ai margini delle lesioni sembra in relazione al miglioramento della immunocompetenza del soggetto mentre la presenza di effetto massa sembra essere correlata a forme particolarmente aggressive [5].*

*Studi neuropatologici hanno evidenziato all'interno della stessa lesione aree con differenti stadi di demielinizzazione della sostanza bianca. Le lesioni più datate così come la porzione centrale delle lesioni recenti sembrano caratterizzate da una quasi totale perdita di mielina e da un danno assonale con allargamento degli spazi extracellulari. Recentemente alcuni autori [6] hanno rilevato alcune specificità delle sequenze pesate in diffusione nell'analisi delle lesioni della PML evidenziando come esse, pur apparendo omogenee in T1 e T2, siano invece caratterizzate da diverse intensità di segnale nella sequenza pesata in diffusione e da diversi valori di ADC.*

*Lo scopo di questo studio è di sottolineare le differenze fra componenti gliotiche o necrotiche e componenti in fase attiva di malattia al fine di aiutare a porre diagnosi e per valutare la progressione della malattia in risposta alle terapie effettuate.*

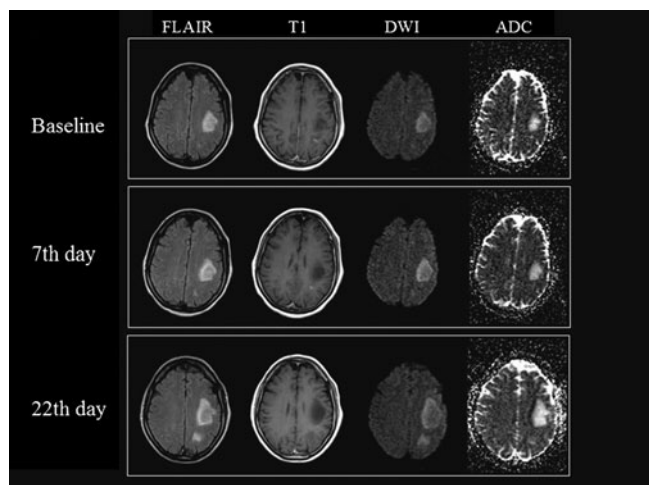
## Materiali e metodi

*Sono stati esaminati 4 pazienti, tutti di sesso maschile, con età compresa tra 40 e 50 anni, affetti da PML e con identificazione nel liquor cerebrospinale delle sequenze del JCV. In due pazienti (D.L. e T.P.) la patologia ha rapidamente cau-*

still alive. All patients were examined with a 1.0T Polaris MR system (Marconi Picker Medical System) using sagittal and axial T1 spin echo sequences [434/12/2 (TR/TE/excitation)], axial dual echo fast spin echo sequences (FSE, ETL=4) [3,473/20 and 120/2 (TR/TE/excitation)] and axial fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR) fast spin echo sequences (FSE, ETL=8) [2,100/6,000/80/1 (TI/TR/TE/excitation)]. The study protocol included axial single-shot echoplanar diffusion images [5,871/99/1 (TR/TE/excitation)], FOV=24 cm, matrix 128×128, b-value of 0 and 1,000 s/(mm)<sup>2</sup> in each cardinal plane.

#### Case 1

DL, a 53-year-old man treated in 1989 for chronic lymphatic leukaemia (CLL) with chemotherapy (fludarabine + cyclophosphamide) and splenic radiotherapy, presented in February 2004 with slowly progressive motor deficits in the right upper limb and language disorder with onset 1 week previously. Neurological examination identified moderate right sensorimotor hemisindrome, right homonymous hemianopsia and aphasia. The electroencephalogram (EEG) showed signs of bitemporal distress. Laboratory tests were essentially normal, with serologic negativity for infections; PCR on CSF was negative for JCV. Computed tomography (CT) revealed multiple subcortical areas of low intensity with no reaction to the contrast agent. The patient underwent contrast-enhanced brain MRI. This revealed multiple nonenhancing frontoparietal and temporooccipital lesions of the white matter of the semioval centre with minimal cortical involvement (Fig. 1). The patient's condition progressively worsened, and follow-



**Fig. 1** Fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR), T1-weighted, and diffusion-weighted (DW) images and apparent diffusion coefficient (ADC) maps from the first examination and subsequent follow-up studies at 7 and 22 days, showing the progressive enlargement of the left frontoparietal juxtacortical lesion and its extension margin – with low signal intensity on the ADC maps – on the medial portion of the lesion.

**Fig. 1** Immagini FLAIR, T1w, DWI e mappe ADC del primo esame e dei successivi controlli a 7 e 22 giorni, che rendono manifesto il progressivo incremento dimensionale della lesione iuxtacorticale fronto-parietale sinistra ed il margine di accrescimento – con bassa intensità di segnale nelle mappe ADC – sulla parte mediale della lesione.

*sato l'exitus, mentre gli altri 2 pazienti (C.M e A.D) hanno presentato un decorso cronico e sono tutt'ora in vita. Tutti i pazienti sono stati esaminati mediante uno scanner Marconi Picker Medical System 1,0 T Polaris con sequenze sagittali ed assiali T1 spin echo (434/12/2 [TR/TE/excitation]), axial dual echo fast spin echo (FSE, ETL=4) (3473/20 and 120/2 [TR/TE/excitation]), axial fluid attenuated inversion recovery (FLAIR) fast spin echo (FSE, ETL=8) (2100/6000/80/1 [TI/TR/TE/excitation]). Il protocollo di studio ha incluso sequenze assiali single-shot echo-planar diffusion images (5871/99/1 [TR/TE/excitation]), FOV=24 cm, matrix 128×128, b-value of 0 and 1000 s/(mm)<sup>2</sup> in ciascun piano cardinale.*

#### Caso 1

*D.L., maschio di 53 anni, trattato nell'89 per LLC con chemioterapia (fludarabina+ciclofosfamida) e con terapia radiante splenica, presentava nel Febbraio 2004, impaccio motorio lentamente ingravescente all'arto superiore destro e disturbo della parola da una settimana. L'esame neurologico evidenziava sfumata emisindrome sensitivo-motoria destra, emianopsia omonima destra e note di afasia. All'EEG erano presenti segni di sofferenza bitemporale. Gli indici laboratoristici erano sostanzialmente nella norma con negatività sierologica per infezioni; l'esame del liquor tramite PCR è negativo per ricerca di JC virus. La TAC evidenzia multiple aree ipodense sottocorticali areagenti al mezzo di contrasto. Il paziente viene sottoposto a RM cerebrale con Mdc che evidenzia multiple lesioni in sede fronto-parietale e temporo-occipitale della sostanza bianca dei centri semiovali, areagenti al contrasto, con minimo coinvolgimento corticale (Fig. 1). Il paziente è progressivamente peggiorato e successivi controlli RM condotti dopo 7 e 24 gg rispetto al primo esame confermano una progressione delle lesioni senza comparsa di contrast enhancement; un successivo controllo liquorale tramite PCR evidenzia positività per JC virus. Il paziente rifiutò ulteriori controlli e andò incontro ad exitus 2 mesi dopo.*

#### Caso 2

*T.P., maschio di 55 anni, a seguito di un incidente in cui investì con lo scooter un pedone proveniente da sinistra, veniva condotto al PS per uno stato di agitazione conseguente all'episodio. Fu quindi trattato con ansiolitici e dimesso. Nelle settimane successive si verificò una progressiva riduzione del visus con riscontro di emianopsia omonima sinistra ad una visita oculistica. Circa 2 settimane dopo veniva eseguita una prima RMN cerebrale che evidenziava lesioni della sostanza bianca temporo-occipitale destra ed occipitale sinistra, areagenti al mezzo di contrasto. Il paziente venne ricoverato nel dipartimento di Neurologia. L'obiettività neurologica all'ingresso evidenziava: parziale disorientamento S/T, anosognosia, deficit di attenzione, comprensione, denominazione, ripetizione, memoria, calcolo, ragionamento astratto e tendenza alla confabulazione ed alla perseverazione. Una TAC cerebrale dimostrò una vasta lesione ipodensa sottocorticale in regione temporo-parieto-occipitale*

up MRI performed 7 and 22 days after the first examination confirmed lesion progression, without contrast enhancement; subsequent CSF PCR was positive for JCV. The patient refused further examination and died 2 months later.

#### Case 2

TP, a 55-year-old man, was accompanied to the emergency room in a state of agitation after knocking down a pedestrian proceeding from the left while aboard his moped. He was treated with anxiolytics and discharged. In the following weeks, he noticed a progressive decline in eyesight, and ophthalmologic examination revealed left homonymous hemianopsia. Approximately 2 weeks later, an outpatient brain MRI was performed, disclosing lesions in the right occipital-temporal and left occipital white matter that did not react to contrast medium. The patient was admitted to the neurology department. Neurological examination performed on admission showed partial S/T disorientation; anosognosia, cognitive impairment with deficits in attention, comprehension, denomination, repetition, memorisation, calculation, abstract reasoning and a tendency to confabulate and perseverate. Brain CT revealed an extensive hypodense lesion in the right temporoparietooccipital subcortical region and, less markedly, in the left occipital region. Biohumoral tests showed moderate pancytopenia [white blood cell count (WCC)  $2.70 \times 10^9/l$  (nv 4.4–11), neutrophils 33%, red blood cell count (RCC)  $3.19 \times 10^{12}/l$  (nv 4.5–5.9), haemoglobin (Hb) 103g/l (nv 140–175), haematocrit (Ht) 32% (nv 41–50), platelets (PLT)  $139 \times 10^9/l$  (nv 150–450)], with an increase in erythrocyte sedimentation rate (ESR) [80 mm/h (nv 2–28)] and normal fibrinogen, C-reactive protein (CRP) and a-2 globulin values. Bone biopsy proved positive for non-Hodgkin's lymphoma. A follow-up brain MRI performed roughly 1 month after the previous one showed an increase in lesion dimensions, which had extended to the right parietal and insular-frontal and left temporal regions. These lesions presented an inhomogeneous diffusion signal with decreased ADC values in the periphery, compatible with PML (Fig. 2). The patient underwent lumbar puncture, which proved positive for JCV. The patient rapidly deteriorated and died 1 month later.

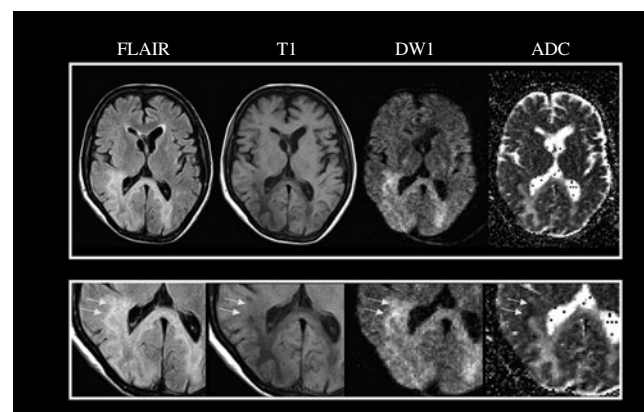
#### Case 3

CM, a 42-year-old man admitted to hospital due to dimmed eyesight lasting about 15 min with inability to distinguish surrounding objects, reported having experienced progressive decline in eyesight over the previous 2 months. Neurological examination revealed a marked decline in eyesight bilaterally, with no other focal neurological deficits. Biochemical tests showed leukopenia with plastytopenia, alterations in liver function indices and protein electrophoresis, suggestive of an inflammatory state. In view of a selective fall in CD4 lymphocytes (approximately 90) and a diminished CD4/CD8 ratio (01), human immunodeficiency virus (HIV)-acquired immunodeficiency syndrome associated with chronic hepatitis C virus (HCV)-related hepatopathy was suspected and diagnosed. A CT scan disclosed multiple hypodense lesions involving the subcortical white matter in the right frontoparietal

destra e meno marcata in regione occipitale sinistra. Gli esami ematochimici evidenziavano una modesta pancitopenia: WCC  $2,70 \times 10^9/l$  (vn 4,4–11), neutrofili 33%, GR  $3,19 \times 10^{12}/l$  (vn 4,5–5,9), Hb 103 g/l (vn 140–175), Ht 32% (vn 41–50), PLT  $139 \times 10^9/l$  (vn 150–450), con un incremento della VES 80 mm/h (vn 2–28), fibrinogeno, PCR, a-2 globuline nella norma. La biopsia ossea risultò positiva per linfoma non-Hodgkin. Una RMN di controllo eseguita ad un mese dimostrò un ingrandimento delle lesioni che si estendevano ora alle regioni parietale ed insulo-frontale destre e alla temporale dell'altro lato. Queste lesioni presentavano una disomogeneità di segnale in DWI con ridotti valori nelle mappe ADC ai margini, compatibile con PML (Fig. 2). La puntura lombare risultò positiva per il JCV. In seguito, un rapido deterioramento causò il decesso un mese dopo.

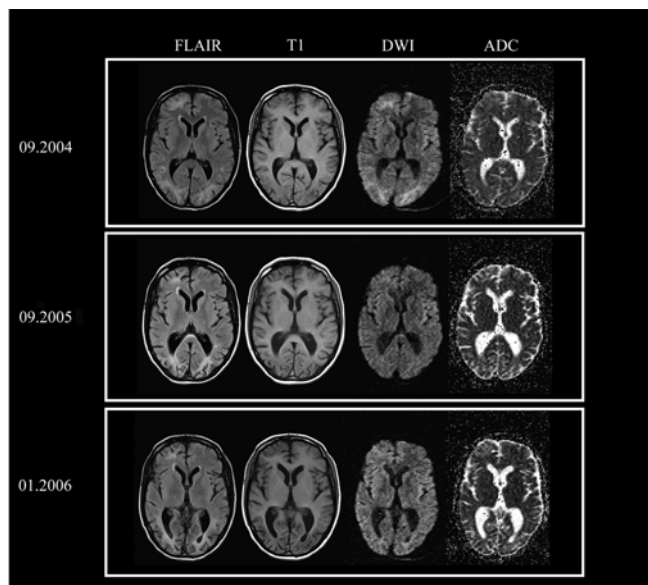
#### Caso 3

C.M., maschio di 42 anni, ricoverato per episodio di offuscamento del visus della durata di 15 minuti circa con incapacità di distinguere gli oggetti intorno a sé; il paziente riferiva da circa due mesi un progressivo calo del visus. Un esame neurologico evidenziava un marcato calo del visus bilateralmente, in assenza di altri deficit neurologici focali. Gli esami ematochimici mostravano una leucopenia con piastrinopenia ed alterazione degli indici di funzionalità epatica ed elettroforesi proteica, compatibile con stato infiammatorio. Alla luce di un calo selettivo dei linfociti CD4 (circa 90) con ridotto rapporto CD4/CD8 (01) venne fatta sospettata e quindi confermata la diagnosi di sindrome da immunodeficienza acquisita da HIV con epatopatia cronica HCV correlata. La TAC ha evidenziato multiple ipodensità interessanti la sostanza bianca sottocorticale in sede frontoparietale de-



**Fig. 2** Patient 2: magnetic resonance imaging (MRI) follow-up. Fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR), T1-weighted and diffusion-weighted (DW) images and apparent diffusion coefficient (ADC) maps show an area (arrows) of reduced ADC values in the anterior portion of the right occipitotemporal lesion, consistent with active progression front not seen in the previous examination (not shown).

**Fig. 2** Paziente 2: RMN di follow up; immagini FLAIR, T1w, DWI e mappe ADC che evidenziano un'area (freccie) con ridotti valori ADC nella porzione anteriore della lesione temporo-occipitale destra, indicativa di un fronte di crescita della malattia non evidente nel precedente esame (non riportato).



**Fig. 3** Patient 3: fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR), T1-weighted and diffusion-weighted (DW) images and apparent diffusion coefficient (ADC) maps from the first examination and follow-up studies at 12 and 16 months; the multiple lesions of the subcortical white matter do not show significant progression margins, and the images demonstrate slight brain atrophy.

*Fig. 3* Paziente 3: immagini FLAIR, T1w, DWI e mappe ADC del primo esame e dei successivi controlli a 12 e 16 mesi; le molteplici lesioni della sostanza bianca sottocorticale non mostrano significativi margini di accrescimento e le immagini evidenziano sfumati segni di atrofia cerebrale.

region and occipital region bilaterally. Brain MRI, performed 12 days later, showed multiple areas of altered signal in the juxtacortical region, hypointense on T1 and hyperintense on T2 images, with a “punched-out” appearance due to involvement of U-shaped fibres in the frontooccipital region, with no mass effect and no reaction to contrast medium. Since the findings were highly suggestive of PML, a lumbar puncture was performed and tested positive for JCV. Three brain MRI scans were subsequently performed at intervals of 12 and 16 months showing substantially stable lesions, with a slight increase in CSF spaces due to *ex vacuo* atrophy (Fig. 3). Diffusion-weighted images (DWIs) were of little significance.

#### Case 4

AD, a 55-year-old HIV-positive man with left PML-related hemiplegia, was hospitalised due to onset of recurrent seizures that failed to respond to medication. Neurological examination showed spastic hemiplegia and a central deficit of the seventh left cranial nerve (sequelae). Brain MRI showed extensive signal alteration in the white matter of the semioval centre, with thinning of the corpus callosum. In this case, too, DWIs were of little significance.

## Discussion

Immunosuppression predisposes to the onset of opportunistic infectious diseases of the CNS, such as cytomegalovirus

*stra ed occipitale bilateralmente. La RMN cerebrale eseguita 12 giorni dopo mostrò plurime aree di alterato segnale in sede iuxta-corticale, ipointense in T1 ed iperintense in T2, con aspetto “a stampo” per coinvolgimento delle fibre ad “U” in sede fronto-occipitale, prive di effetto massa ed area-menti al MdC. Essendo il referto fortemente sospetto per PML, veniva eseguita una puntura lombare risultata positiva per la presenza del JC virus nel liquido cerebrospinale. Tre risonanze magnetiche cerebrali vennero eseguite ad intervalli di 12 e 16 mesi, mostrando una sostanziale stabilità delle lesioni, con un lieve incremento degli spazi liquorali da atrofia ex-vacuo (Fig. 3). Le immagini pesate in diffusione risultarono di scarso significato.*

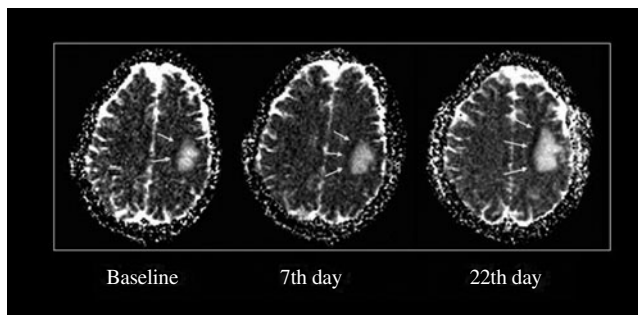
#### Caso 4

*A.D., maschio di 55 anni, HIV positivo con emiplegia sinistra in esiti di PML, venne ricoverato per la comparsa di crisi comiziali subentranti non responsive alla terapia medica. L'esame neurologico evidenziò emiplegia spastica e deficit centrale del VII nervo cranico di sinistra (esiti). La MRI cerebrale evidenziò una diffusa alterazione del segnale nella sostanza bianca del centro semiovale, con assottigliamento del corpo calloso. Anche in questo caso le immagini pesate in diffusione risultarono di scarso significato.*

## Discussione

*Lo stato di immunodepressione predispone all'insorgenza di infezioni opportunistiche del sistema nervoso centrale (SNC), quali l'encefalite da cytomegalovirus, le infezioni da toxoplasma e da JC virus. Tra queste il quadro RM della PML è ben conosciuto, caratterizzato da lesioni della sostanza bianca multifocali, povere di elementi specifici [7–9] tanto che la diagnosi rimane basata sul riconoscimento mediante PCR delle sequenze virali nel liquor.*

*Gli studi neuropatologici identificano all'interno delle lesioni aree con differenti stadi di demielinizzazione della sostanza bianca: le lesioni più datate così come la porzione*



**Fig. 4** Detail of apparent diffusion coefficient (ADC) maps, with arrows indicating the hypointense extension margin of the lesions.

*Fig. 4* Dettaglio delle mappe ADC con frecce indicanti il margine ipointenso di accrescimento delle lesioni.

(CMV) encephalitis, or infections caused by toxoplasmosis and human polyomavirus JC. MRI patterns in PML are widely recognised and reveal multifocal lesions of cerebral white matter, with few specific elements [7–9]. Accordingly, the diagnosis of PML is based on identification by PCR of viral sequences in the CSF.

Neuropathological studies have detected some areas within the lesions with different stages of white matter demyelination: older lesions and the central portion of more recent ones are characterised by almost total breakdown of the myelin sheath and by axonal damage, with an increase in extracellular space; conversely, the most medial portion of lesions consists of oligodendrocytes with nuclear inclusions and partially destroyed myelin, with relative sparing of axons.

Despite histopathological heterogeneity, MRI signal alterations that characterise PML in conventional sequences seem to show homogeneous low signal intensity on T1-weighted images and hyperintensity on T2-weighted images, irrespective of the lesion's progression and as a consequence of the altered ratio between myelin content and water. Some authors have recently reported that analysis of the evolution of a lesion with diffusion-weighted MRI can supply important new semiological elements [3, 6]. Comparison of MRIs in patients with aggressive disease course shows progressive lesion enlargement, which seems to be essentially characterised by homogeneous hyperintensity on T2 and hypointensity on T1. In these patients, FLAIR images are less homogeneous, as they distinguish the markedly hyperintense lesion margins from the relatively hypointense central area (Figs. 1 and 2). Moreover, rapidly evolving lesions can be detected on DWIs and ADC maps. Comparison of DWI sequences and ADC maps shows different signal behaviour between the lesion centre and the extending margin. In particular, DWI presents some signal features that are similar to FLAIR, i.e. margin hyperintensity and central hypointensity. On ADC maps, signal intensity is elevated in the central area (values:  $1,710 \pm 125$ ) whereas at the lesion margins, it seems to further distinguish the more recent portion (growth margin) – with reduced water diffusibility compatible with cytotoxic oedema (values:  $561 \pm 135$ ) – from less recent portions that have intermediate values ( $940 \pm 135$ ). Besides, in follow-up studies, the growth margin proved to be increasingly recognisable on ADC maps (Figs. 2 and 4). In particular, ADC maps show an elevated signal in the centre of the lesion and low signal intensity at the edge of the lesion's expansion towards the white matter. Bergui et al. [10] correlated lesion stage with DWI/ADC signal and interpreted these findings as both increased water diffusibility in the central areas of glial repair and reduced diffusibility because of cytotoxic oedema within active viral infectious areas. Mader et al. [3] also described this peculiar pattern of development of PML using diffusion tensor imaging (DTI) without, however, considering the relationship between findings obtained with DWI sequences and ADC maps.

Our study confirms signal heterogeneity of lesions on ADC maps: although lacking in neuropathological correlation, close comparison of lesions serially and temporally suggests that the alterations detected on ADC maps strictly

centrale delle lesioni recenti sono caratterizzate da una quasi totale perdita di mielina e da un danno assonale con allargamento degli spazi extracellulari; la parte più mediale delle lesioni invece sembra costituita da oligodendrociti con inclusioni intranucleari e mielina parzialmente distrutta, con relativo risparmio degli assoni.

A dispetto della eterogeneità istopatologica, le alterazioni di segnale RM che caratterizzano la PML nelle sequenze standard appaiono omogeneamente ipointense in T1 ed iperintense in T2 indipendentemente dalla fase evolutiva della lesione, come conseguenza dell'alterato rapporto tra contenuto in mielina e acqua.

Alcuni autori hanno recentemente segnalato che nella PML le sequenze pesate in diffusione possono fornire nuovi ed utili elementi semeiologici [3, 6]. Il confronto delle immagini RM nei pazienti con un decorso aggressivo della malattia evidenzia un progressivo aumento delle dimensioni delle lesioni che risultano sostanzialmente omogeneamente iperintense in T2 ed ipointense in T1. In questi pazienti le immagini FLAIR appaiono meno omogenee differenziando i margini di lesione marcatamente iperintensi da un'area centrale relativamente ipointensa (Figg. 1 e 2). Oltre a ciò, le lesioni caratterizzate da una rapida evolutività sono riconoscibili nelle immagini pesate in diffusione (DWI) e nelle mappe ADC. Il confronto fra le immagini DWI e le mappe ADC evidenzia diverso comportamento di segnale fra parte centrale e margine di accrescimento. In particolare, le immagini DWI presentano caratteristiche di segnale simili alla FLAIR con porzione iperintensa ai margini e debolmente ipointensa nella porzione centrale. Nelle mappe ADC il segnale è elevato nella porzione centrale (valori:  $1710 \pm 125$ ) mentre, in corrispondenza dei margini delle lesioni, sembra ulteriormente differenziare la porzione più recente (margini di accrescimento), caratterizzata da ridotti valori di diffusibilità dell'acqua compatibili con edema citotossico (valori:  $561 \pm 135$ ), da porzioni meno recenti che presentano valori intermedi ( $940 \pm 135$ ). Inoltre, negli studi di follow-up, il margine di accrescimento della lesione risultò sempre più riconoscibile nelle mappe ADC (Figg. 2 e 4). In particolare, le mappe ADC presentano un segnale elevato al centro della lesione e di minore intensità ai margini di accrescimento della lesione rivolti verso la sostanza bianca. Bergui et al. [10] hanno correlato lo stadio della lesione con il segnale in DWI/ADC e hanno interpretato tali reperti come un'aumentata diffusibilità dell'acqua nelle aree centrali di riparazione gliotica e come una ridotta diffusibilità per presenza di edema citotossico nelle aree di infezione attiva del virus. Mader et al. [3] hanno sottolineato questo caratteristico sviluppo della PML, grazie all'utilizzo del tensore (DTI), senza porre però attenzione al confronto tra i risultati ottenuti con le sequenze in diffusione e le mappe ADC.

Il nostro studio conferma l'eterogeneità di segnale delle lesioni nelle mappe ADC: il confronto seriato e temporalmente ravvicinato delle lesioni, sebbene privo di correlato neuropatologico, sembra dimostrare che le alterazioni rilevate nelle mappe ADC corrispondono strettamente alla maturità delle lesioni. In particolare, dalle immagini appare evidente che le aree di accrescimento delle lesioni, inizial-

correspond to lesion maturity. In particular, the areas of lesion extension, initially characterised by a low ADC signal (cytotoxic oedema) will evolve at subsequent examinations into high ADC signal areas typical of vasogenic oedema and glial repair, and new cytolysis regions will emerge peripherally to the previous ones. These DWI features, which characterise the acute stages of the disease, were not detectable in patients 3 and 4, whose lesions progressed very little over time, with a prevalence of atrophic degeneration. In these cases, the progression front was probably too tenuous, if not absent, and could not, therefore, be detected on MRI.

Our results highlight the importance of all information provided by DWI and related ADC maps and, together with previous findings, introduce new, early semiological and neuroradiological elements that are specific for this disease.

## Conclusions

Diffusion-weighted sequences add new semiological elements in the neuroradiological diagnosis of PML and seem to correctly identify disease progression, which is not otherwise detectable on conventional sequences. Further studies are needed to assess the clinical impact and reliability of these new elements in evaluating response to treatment in future clinical and pharmacological trials.

*mente caratterizzate da basso segnale ADC (edema citotossico) evolvono, nei successivi controlli, ad aree ad alto segnale ADC tipico dell'edema vasogenico e della riparazione gliotica e che nuove aree di citolisi si aggiungono perifericamente alle precedenti. Questi aspetti nelle sequenze in diffusione, che caratterizzano le fasi acute della malattia, non sembrano essere evidenti nei pazienti 3 e 4, in cui le lesioni presentano una lenta evolutività, con prevalenza di aspetti degenerativo-atrofici. In questi casi il fronte di accrescimento è troppo sfumato, se non assente, è quindi non apprezzabile nelle immagini RMN.*

*I nostri risultati confermano l'importanza delle informazioni ottenibili con la sequenza pesata in diffusione e le relative mappe ADC e, assieme alle segnalazioni già presenti in letteratura, introducono un elemento semeiologico neuroradiologico nuovo, precoce e specifico di questa patologia.*

## Conclusioni

*Le sequenze pesate in diffusione aggiungono nuovi elementi semeiologici nella diagnosi neuroradiologica di PML e sembrano in grado di riconoscere il fronte di progressione della malattia altrimenti non apprezzabile nelle sequenze convenzionali. Ulteriori studi sono necessari per valutare l'impatto clinico e l'affidabilità di questi nuovi elementi nel valutare la risposta a terapie in eventuali trial clinico-farmacologici.*

## References/Bibliografia

1. Brooks B, Walker D (1984) Progressive multifocal leukoencephalopathy. *Neurol Clin* 2:299–313
2. Berger JR, Major EO (1999) Progressive multifocal leukoencephalopathy. *Semin Neurol* 19:193–200
3. Mader I, Herrlinger U (2003) Progressive multifocal leukoencephalopathy: analysis of lesion development with diffusion-weighted MRI. *Neuroradiol* 45:717–721
4. Whiteman ML, Post MJ, Berger JR et al (1993) Progressive multifocal leukoencephalopathy in 47 HIV-seropositive patients: neuroimaging with clinical and pathologic correlation. *Radiology* 187:233–240
5. Arbusow V, Strupp M, Pfister HW et al (2000) Contrast enhancement in progressive multifocal leukoencephalopathy: a predictive factor for long term survival. *J Neurol* 247:306–308
6. Ohta K, Obara K (2001) Lesion extension detected by diffusion-weighted magnetic resonance imaging in PML. *J Neurol* 248:809–811
7. Mark A, Atlas S (1989) Progressive multifocal leukoencephalopathy in patients with AIDS: appearance on MR images. *Radiology* 173:517–520
8. Guilleux MH, Steiner RE, Young IR (1986) MR imaging in progressive multifocal leukoencephalopathy. *AJNR* 7:1033–1035
9. Levy JD, Cottingham KL, Campbell RJ et al (1986) Progressive multifocal leukoencephalopathy and magnetic resonance imaging. *Ann Neurol* 19:399–401
10. Bergui M, Bradac GB, Oguz KK et al (2004) Progressive multifocal leukoencephalopathy: diffusion-weighted imaging and pathological correlations. *Neuroradiol* 46:22–25