



VNIVERSITAT  
DE VALÈNCIA

Estudio de la vía visual mediante tomografía de coherencia óptica y resonancia magnética cerebral y medular para la formulación y validación de modelos predictivos de la discromatopsia y la discapacidad clínica en pacientes de esclerosis múltiple.

Presentada por:

Antonio Barreiro González

Dirigida por:

Dr. Bonaventura Casanova Estruch

Dr. Enrique España Gregori

Valencia, septiembre 2020





# VNIVERSITATIS VALÈNCIAE

Estudio de la vía visual mediante tomografía de coherencia óptica y resonancia magnética cerebral y medular para la formulación y validación de modelos predictivos de la discromatopsia y la discapacidad clínica en pacientes de esclerosis múltiple.

Presentada por:

Antonio Barreiro González

Dirigida por:

Dr. Bonaventura Casanova Estruch

Dr. Enrique España Gregori

Valencia, septiembre 2020



UNIVERSITAT DE VALÈNCIA  
FACULTAT DE MEDICINA I ODONTOLOGIA  
DEPARTAMENT DE CIRURGIA

Estudio de la vía visual mediante tomografía de coherencia óptica y resonancia magnética cerebral y medular para la formulación y validación de modelos predictivos de la discromatopsia y la discapacidad clínica en pacientes de esclerosis múltiple.

Presentada por:

Antonio Barreiro González

Licenciado en Medicina

Especialista en Oftalmología

Dirigida por:

Dr. Bonaventura Casanova Estruch

Dr. Enrique España Gregori



D. BONAVENTURA CASANOVA ESTRUCH, Doctor en Medicina y Cirugía, facultativo especialista en Neurología y responsable de la Unidad Mixta de Esclerosis Múltiple y Neuroregeneración del Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia, profesor asociado del Departamento de Medicina de la Universidad de Valencia.

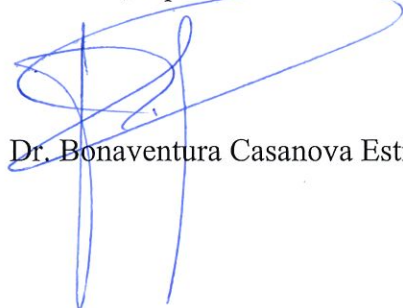
D. ENRIQUE ESPAÑA GREGORI, Doctor en Medicina y Cirugía, Jefe de Servicio de Oftalmología del Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia, profesor asociado del Departamento de Cirugía de la Universidad de Valencia.

Certifican:

Que D. ANTONIO BARREIRO GONZÁLEZ, licenciado en Medicina y especialista en Oftalmología, ha realizado bajo su dirección en el Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia, el trabajo “Estudio de la vía visual mediante tomografía de coherencia óptica y resonancia magnética cerebral y medular para la formulación y validación de modelos predictivos de la discromatopsia y la discapacidad clínica en pacientes de esclerosis múltiple ” que se presenta en esta memoria para optar al grado de Doctor en Medicina.

Y para que conste a todos los efectos, firmamos la presente en

Valencia, septiembre de 2020.



Dr. Bonaventura Casanova Estruch



Dr. Enrique España Gregori





A mi familia

*“Las dificultades preparan a personas comunes para destinos extraordinarios”*

C.S.Lewis



Llegados a este punto de la redacción de mi tesis doctoral resulta inevitable echar la vista atrás y expresar mi agradecimiento a todos aquellos que han intervenido para que pueda poner fin a este proyecto.

En primer lugar, a mis directores de tesis, el Dr. Bonaventura Casanova Estruch y el Dr. Enrique España Gregori, por sus consejos y orientaciones durante estos años, por ser un ejemplo de profesionalidad y buen hacer.

A los compañeros de la Unidad Mixta de Esclerosis Múltiple y Neuroregeneración del servicio de neurología del Hospital Universitario y Politécnico La Fe, en especial a Sara Carratalà por su colaboración y tiempo dedicado.

A Maite Sanz, por el asesoramiento estadístico y su ayuda rápida, constante y eficaz.

A los pacientes que han participado en el estudio y a sus familiares, puesto que su participación desinteresada ha hecho posible que esta tesis doctoral sea una realidad.

A mis maestros, a los maestros de mis maestros. A todos aquellos que durante mis años académicos y de formación habéis compartido conmigo vuestros dos bienes más preciados: vuestro tiempo y vuestro conocimiento.

Y por supuesto, a mi familia. Por todo y por siempre.



## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>RESUMEN .....</b>	<b>15</b>
<b>SIGLAS Y ABREVIATURAS .....</b>	<b>23</b>
<b>LISTADO DE FIGURAS Y TABLAS .....</b>	<b>29</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>35</b>
<b>1. ESCLEROSIS MÚLTIPLE.....</b>	<b>37</b>
1.1. PATOGÉNESIS E HISTORIA NATURAL DE LA ENFERMEDAD.....	39
1.2. ESCALAS CLÍNICAS DE DISCAPACIDAD.....	43
1.3. MARCADORES DE PROGRESIÓN DE LA DISCAPACIDAD .....	44
1.3.1. Marcadores de neuroimagen .....	44
1.3.2. Técnicas de neuroimagen.....	48
1.3.3. Marcadores biológicos .....	53
1.4. LIMITACIONES Y FUTURAS PERSPECTIVAS.....	54
<b>2. LA VÍA VISUAL COMO MODELO NEUROFTALMOLÓGICO.....</b>	<b>55</b>
2.1. ANATOMÍA DE LA VÍA VISUAL.....	55
2.2. ALTERACIONES DE LA VÍA VISUAL AFERENTE EN LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE.....	58
2.2.1. Neuritis óptica.....	58
2.2.2. Periflebitis retiniana.....	59
2.2.3. Edema macular microquístico .....	60
2.2.4. Uveítis.....	61
2.2.5. Alteraciones de la vía visual retroquiasmática .....	61
2.3. TOMOGRAFÍA DE COHERENCIA ÓPTICA.....	61
2.3.1. Aplicación clínica en neuroftalmología.....	63
<b>JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....</b>	<b>71</b>
<b>1. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>73</b>
<b>2. HIPÓTESIS.....</b>	<b>74</b>
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>75</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODO .....</b>	<b>77</b>
<b>1. DISEÑO DEL ESTUDIO.....</b>	<b>79</b>
<b>2. GRUPO DE ESTUDIO .....</b>	<b>79</b>
2.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	79
2.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN .....	79

<b>3. METODOLOGÍA Y PROTOCOLO EXPLORATORIO .....</b>	<b>81</b>
3.1. VISIÓN CROMÁTICA.....	83
3.2. TOMOGRAFÍA DE COHERENCIA ÓPTICA.....	84
3.3. RESONANCIA MAGNÉTICA .....	85
<b>4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....</b>	<b>86</b>
4.1. DETALLE DE CONSTRUCCIÓN DEL MODELO DE REGRESIÓN ORDINAL PARA EDSS .....	88
4.2. DETALLE DE CONSTRUCCIÓN DEL MODELO DE REGRESIÓN LINEAL PARA CCI .....	89
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>91</b>
<b>1. CORRELACIONES RM-OCT .....</b>	<b>93</b>
1.1. INFLUENCIA DE LA HISTORIA DE NO EN LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS, NEURORRADIOLÓGICAS Y OFTALMOLÓGICAS .....	93
1.2. CORRELACIONES RM-OCT DE LOS OJOS SIN HISTORIA DE NO .....	97
1.3. CORRELACIONES RM-OCT DE LOS OJOS CON HISTORIA DE NO .....	99
<b>2. RESULTADOS DE LOS MODELOS PREDICTIVOS.....</b>	<b>101</b>
2.1. MODELO DE DISCROMATOPSIA .....	103
2.2. MODELO DE DISCAPACIDAD.....	108
<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>117</b>
<b>1. DISCUSIÓN ACERCA DE LAS CORRELACIONES RM-OCT .....</b>	<b>119</b>
<b>2. DISCUSIÓN ACERCA DE LOS MODELOS PREDICTIVOS.....</b>	<b>121</b>
2.1. MODELO DE DISCROMATOPSIA .....	121
2.2. MODELO DE DISCAPACIDAD.....	123
<b>3. LIMITACIONES.....</b>	<b>127</b>
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>131</b>
OBJETIVO PRINCIPAL .....	133
OBJETIVOS SECUNDARIOS .....	133
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>135</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>161</b>
ANEXO 1- HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE .....	163
ANEXO 2- CONSENTIMIENTO INFORMADO POR ESCRITO.....	166
ANEXO 3- PRODUCCIÓN CIENTÍFICA DE LA TESIS DOCTORAL .....	167

## RESUMEN





**OBJETIVOS:** Estudiar la correlación entre valores de tomografía de coherencia óptica (OCT, *Optical Coherence Tomography*) peripapilar y macular con volumetrías cerebrales y espinales determinadas a partir de imágenes de resonancia magnética (RM), teniendo en cuenta el tipo de esclerosis múltiple (EM) y el antecedente de neuritis óptica (NO). Formular y validar modelos matemáticos para la predicción de la discromatopsia y de la discapacidad a partir de marcadores clínicos y paraclínicos.

**MATERIAL Y MÉTODO:** Estudio observacional, analítico y transversal de 92 pacientes de la Unidad Mixta de EM y Neuroregeneración del Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia. De cada paciente se recogieron los siguientes datos clínicos: edad en el momento de la exploración (años), sexo, duración de la enfermedad (años), historia farmacológica de tratamientos modificadores de la enfermedad (clasificados como de 1º o 2º línea), antecedente de NO, discapacidad medida a través de la escala expandida de discapacidad (EDSS, *Expanded Disability Status Scale*) y tipo de enfermedad (forma remitente recurrente (EMRR), primaria progresiva (EMPP) o secundaria progresiva (EMSP)).

Además, cada participante fue valorado neurorradiológicamente (RM cerebral y espinal), mediante OCT (peripapilar y macular) y mediante el test de Farnsworth D-15. Los datos de imagen neurorradiológica y oftalmológica, la valoración de la discapacidad y la valoración de la visión cromática se realizaron con un intervalo de tiempo menor a 3 meses entre exploraciones.

Para el estudio de las correlaciones entre valores de OCT y RM se utilizaron modelos de regresión lineal multivariables ajustados por edad, sexo y duración de la enfermedad, teniendo en cuenta el antecedente de NO y el fenotipo de enfermedad (EMRR o EMP).

Para la formulación de un modelo de discromatopsia y otro de discapacidad, se utilizaron las variables de los ojos sin NO, utilizando 50 pacientes sin diferenciar entre fenotipos de enfermedad. En dicha formulación se utilizaron las variables clínicas y paraclínicas que guardaban una relación estadísticamente significativa ( $p \leq 0,05$ ) con el logaritmo del *Colour Confusion Index* (log CCI) y la EDSS, formulando un modelo de regresión lineal y otro de regresión ordinal. La validación de dichos modelos se llevó a cabo con los 14 participantes restantes.

RESULTADOS: El antecedente de NO se asocia estadísticamente con un menor volumen cerebeloso, un menor grosor de la capa de fibras nerviosas de la retina peripapilar (CFNRp), de la capa de células ganglionares (CCG), y de la capa plexiforme interna (CPI), mientras que dicho antecedente se asocia estadísticamente con un engrosamiento de la capa nuclear interna (CNI).

El volumen espinal cervical se correlaciona con el sector nasal de la CFNRp de los ojos con antecedente de NO, independientemente del tipo de enfermedad y en el grupo de EMRR; mientras que se correlaciona con el haz papilomacular, la CCG y la CPI en ojos sin antecedente de NO independientemente del tipo de enfermedad.

No se registró la presencia de edema macular microquístico en la CNI, correlacionándose dicha capa macular de manera inversa con la atrofia cerebral (BPF, *Brain Parenchymal Fraction*) y con el volumen cerebeloso en los ojos de pacientes diagnosticados de EMP sin antecedente de NO.

El log CCI se correlaciona inversamente con la CFNRp, la CCG, el BPF y el volumen espinal, mientras que se asocia de manera directa con la edad del paciente, la duración de la enfermedad y la EDSS.

El valor de EDSS se correlaciona inversamente con el volumen espinal, la CCG y la CPI, mientras que se correlaciona de manera directa con la edad del paciente.

CONCLUSIONES: Los datos obtenidos a través del examen estructural y funcional visual se correlacionan con diferentes compartimentos del sistema nervioso central, incluso sin un nexo anatómico o funcional, lo que permite utilizarlos como marcadores subrogados del componente neurodegenerativo e inflamatorio de la enfermedad.

La discromatopsia y la discapacidad en pacientes de EM pueden calcularse con los modelos formulados y validados a través de otras variables clínicas y paraclínicas ampliamente utilizadas en la investigación y asistencia clínica de dicha enfermedad.

**OBJECTIUS:** Estudiar la correlació entre valors de tomografia de coherència òptica (OCT, *Optical Coherence Tomography*) peripapil·lar i macular amb volumetries cerebrals i espinals determinades a partir d'imatges de ressonància magnètica (RM), tenint en compte el tipus d'esclerosi múltiple (EM) i l'antecedent de neuritis òptica (NO). Formular i validar models matemàtics per a la predicció de la discromatòpsia i de la discapacitat a partir de marcadors clínics i paraclínics.

**MATERIAL I MÈTODE:** Estudi observacional, analític i transversal de 92 pacients de la Unitat Mixta d'EM i Neuroregeneració de l'Hospital Universitari i Politècnic La Fe de València. De cada pacient es recolliren les següents dades clíniques: edat en el moment de l'exploració (anys), sexe, duració de la malaltia (anys), història farmacològica de tractaments modificadors de la malaltia (classificats com de 1º o 2º línia), antecedent de NO, discapacitat mesurada amb l'escala expandida de discapacitat (EDSS, *Expanded Disability Status Scale*) i tipus de malaltia (forma remitent recurrent (EMRR), primària progressiva (EMPP) o secundària progressiva (EMSP)).

A més a més, cada participant fou valorat neurorradiològicament (RM cerebral i espinal), amb OCT (peripapil·lar i macular) i amb el test de Farnsworth D-15. Les dades d'imatge neurorradiològica i oftalmològica, la valoració de la discapacitat i la valoració de la visió cromàtica es realitzaren amb un interval de temps menor a 3 mesos entre exploracions.

Per a l'estudi de les correlacions entre valors d'OCT i RM s'utilitzaren models de regressió lineal multivariable ajustats per l'edat, sexe i duració de la malaltia, tenint en compte l'antecedent de NO i el fenotipus de malaltia (EMRR o EMP).

Per a la formulació d'un model de discromatòpsia i un altre de discapacitat, s'utilitzaren les variables dels ulls sense NO, utilitzant 50 pacients sense diferenciar entre fenotipus de malaltia. En aquesta formulació s'utilitzaren les variables clíniques i paraclíniques que guardaven una relació estadísticament significativa ( $p \leq 0,05$ ) amb el logaritme del *Colour Confusion Index* (log CCI) i l'EDSS, formulant un model de regressió lineal i un altre de regressió ordinal. La validació d'aquests models es dugué a terme amb els 14 participants restants.

RESULTATS: L'antecedent de NO s'associa estadísticament amb un menor volum cerebel·lós, un menor gruix de la capa de fibres nervioses de la retina peripapil·lar (CFNRp), de la capa de cèl·lules ganglionars (CCG) i de la capa plexiforme interna (CPI), mentre que aquest antecedent s'associa estadísticament amb un engrossiment de la capa nuclear interna (CNI). El volum espinal cervical es correlaciona amb el sector nasal de la CFNRp dels ulls amb antecedent de NO, independentment del tipus de malaltia i en el grup d'EMRR; mentre que es correlaciona amb el feix papil·lomacular, la CCG i la CPI en ulls sense antecedent de NO independentment del tipus de malaltia. No es registrà la presència d'edema macular microquístic en la CNI, correlacionant-se aquesta capa macular de manera inversa amb l'atròfia cerebral (BPF, *Brain Parenchymal Fraction*) i amb el volum cerebel·lós en els ulls de pacients diagnosticats d'EMP sense antecedent de NO.

El log CCI es correlaciona inversament amb la CFNRp, la CCG, el BPF i el volum espinal, mentre que s'associa de manera directa amb l'edat del pacient, la duració de la malaltia i la EDSS.

El valor d'EDSS es correlaciona inversament amb el volum espinal i la CCG, mentre que es correlaciona de manera directa amb l'edat del pacient.

CONCLUSIONS: Les dades obtingudes a través de l'examen estructural i funcional visual es correlacionen amb diferents compartiments del sistema nerviós central, fins i tot sense un nexa anatòmic i funcional, el que permet utilitzar-los com marcadors subrogats del component neurodegeneratiu i inflamatori de la malaltia.

La discromatòpsia i la discapacitat en pacients d'EM poden calcular-se amb els models formulats i validats a través d'altres variables clíniques i paraclíniques àmpliament utilitzades en la investigació i assistència clínica d'aquesta malaltia.

**OBJECTIVES:** To study multiple sclerosis (MS) peripapillary and macular optical coherence tomography (OCT) correlations with brain and spinal cord volumes determined from magnetic resonance imaging (MRI), taking into account MS type and history of optic neuritis (ON). To formulate and validate mathematical models for the prediction of dyschromatopsia and disability from clinical and paraclinical markers.

**MATERIAL AND METHODS:** Observational, analytical and cross-sectional study of 92 patients of the Mixed Unit of MS and Neuroregeneration of the University and Polytechnic Hospital La Fe of Valencia.

The following clinical data were collected for each patient: age at the time of the exploration (years), sex, disease duration (years), pharmacological history of disease-modifying treatments (classified as 1<sup>st</sup> or 2<sup>nd</sup> line), history of ON, disability measured through the Expanded Disability Status Scale (EDSS) and disease type (relapsing remitting (RRMS), secondary progressive (SPMS) or primary progressive (PPMS)).

In addition, each participant was assessed neuroradiologically (brain and spinal cord MRI), by OCT (peripapillary and macular) and by the Farnsworth D-15 test. Neuroradiological and ophthalmological imaging data, disability and chromatic vision assessment were performed with a time interval of less than 3 months.

Correlations between OCT and MRI values were studied through multivariable linear regression models adjusted for age, sex and disease duration, taking into account history of ON and disease phenotype (RRMS or PMS).

Dyschromatopsia and disability mathematical model formulation was carried out with non-ON eyes, using 50 patients without differentiating between disease phenotypes. Clinical and paraclinical variables with statistically significant association ( $p \leq 0,05$ ) with the logarithm of the *Colour Confusion Index* (log CCI) and the EDSS were used to formulate a linear regression model and an ordinal regression model, respectively. Validation of these models was carried out with the remaining 14 participants.

RESULTS: History of ON is statistically associated with lower cerebellar volume, thinner peripapillary retinal nerve fibre layer (pRNFL), thinner ganglion cell layer (GCL) and thinner inner plexiform layer (IPL), while history of ON is statistically associated with a thickening of the inner nuclear layer (INL).

Cervical spinal cord volume correlates with pRNFL nasal sector of the eyes with history of ON, regardless of the disease type, and in RRMS eyes group; while it correlates with papillomacular bundle, GCL and IPL in non-ON eyes regardless of the disease type.

The presence of microcystic macular edema in the INL was not observed. This macular layer was inversely correlated with brain atrophy (BPF, *Brain Parenchymal Fraction*) and cerebellar volume in PMS eyes without history of ON.

CCI log is inversely correlated with pRNFL, GCL, BPF and spinal cord volume, while it is directly associated with patient's age, disease duration and EDSS.

EDSS correlates inversely with spinal volume and GCL, while it is directly correlated with patient's age.

CONCLUSIONS: Data obtained through structural and functional visual examination are correlated with different compartments of the central nervous system, even without an anatomical or functional link, which allows them to be used as subrogated markers of the neurodegenerative and inflammatory components of the disease.

Dyschromatopsia and disability in MS patients can be calculated with the formulated and validated models through other clinical and paraclinical variables widely used in MS investigation and clinical assistance.

## **SIGLAS Y ABREVIATURAS**





9HPT: prueba de los 9 palitos (*9 Hole-Peg Test*)  
A: test estadístico ANOVA  
ART: *Automatic Real-time Tracking*  
BHE: barrera hematoencefálica  
BOC: bandas oligoclonales  
BPF: volumen cerebral (*Brain Parenchymal Fraction*)  
CCG: capa de células ganglionares  
CCI: índice de confusión del color (*Colour Confusion Index*)  
CFNR(p): capa de fibras nerviosas de la retina (peripapilar)  
CHI3L1: *Chitinasa 3-like-1*  
CI: índice de confusión (*Confusion Index*)  
CIS: síndrome clínico aislado (*Clinically Isolated Syndrome*)  
CNE: capa nuclear externa  
CNI: capa nuclear interna  
CPE: capa plexiforme externa  
CPI: capa plexiforme interna  
CSA: área transversal (*Cross-Sectional Area*)  
DE: desviación estándar  
DM: diabetes mellitus  
DMT: tratamiento modificador de la enfermedad (*Disease Modifying Treatment*)  
DP: test de la diferencia de proporciones  
DPAR: defecto pupilar aferente relativo  
DTI: imagen de tensor de difusión (*Diffusion Tensor Imaging*)  
EDSS: escala expandida de discapacidad (*Expanded Disability Status Scale*)  
EM: esclerosis múltiple  
EMM: edema macular microquístico  
EMP: esclerosis múltiple progresiva (en nuestro trabajo incluye EMPP+EMSP)  
EMPP: esclerosis múltiple primaria progresiva  
EMPR: esclerosis múltiple progresiva recurrente  
EMRR: esclerosis múltiple remitente recurrente  
EMSP: esclerosis múltiple secundaria progresiva  
EPR: epitelio pigmentario de la retina  
ETDRS: *Early Treatment Diabetic Retinopathy Study*  
FA: anisotropía fraccional (*Fractional Anisotropy*)

fMRI: imagen de resonancia magnética funcional (*functional Magnetic Resonance Imaging*)

FMRIB: imagen de resonancia magnética funcional cerebral (*Functional Magnetic Resonance Imaging of the Brain*)

FSL: *FMRIB Software Library*

Gd: gadolinio

gl: grados de libertad

HPM: haz papilomacular

HTA: hipertensión arterial

IC: intervalo de confianza

Ig: inmunoglobulina

LCR: líquido cefalorraquídeo

M: test de la mediana

MAGNIMS: *MAGNetic resonance Imaging in Multiple Sclerosis*

MD: difusividad media (*Mean Diffusivity*)

MSA: esclerosis múltiple (con OCT) anormal (*Multiple Sclerosis Abnormal*)

MSFC: (escala) funcional compuesta de la esclerosis múltiple (*Multiple Sclerosis Functional Composite*)

MSN: esclerosis múltiple normal (*Multiple Sclerosis Normal*)

MTI: imagen por transferencia de magnetización (*Magnetization Transfer Imaging*)

MTP: (esclerosis múltiple con) adelgazamiento macular predominante (*Macular Thinning Predominant*)

MTR: ratio de transferencia de magnetización (*Magnetization Transfer Ratio*)

N: nasal

NF-H: neurofilamentos de cadena pesada (*NeuroFilament-Heavy*)

NF-L: neurofilamentos de cadena ligera (*NeuroFilament-Light*)

NGL: núcleo geniculado lateral

NI: nasal inferior

NO: neuritis óptica

NS: nasal superior

OCT(p): Tomografía de coherencia óptica (peripapilar) (*Optical Coherence Tomography*)

OD: ojo derecho

OI: ojo izquierdo

ONTT: *Optic Nerve Treatment Trial*

PASAT-3: prueba de adición auditiva serial estimulada en 3 segundos (*Paced Auditory Serial Addition Test 3*)

PET: tomografía por emisión de positrones (*Positron Emission Tomography*)

PEV: potenciales evocados visuales

Q: cuartil

RIS: síndrome radiológico aislado (*Radiologically Isolated Syndrome*)

RM: resonancia magnética

S: rho de Spearman

SD-OCT: tomografía de coherencia óptica de dominio espectral (*Spectral Domain-Optical Coherence Tomography*)

SB: sustancia blanca

SBAN: sustancia blanca aparentemente normal

SG: sustancia gris

SI: índice de selectividad (*Selectivity Index*)

SIENAX: evaluación estructural de imagen usando atrofia normalizada (*Structural Image Evaluation using Normalisation of Atrophy*)

Sig: nivel de significación estadístico

SNC: sistema nervioso central

SPM: *Statistical Parameter Mapping*

T: temporal

T25W: prueba de los 25 pasos (*Timed 25-Foot Walk*)

TCDS: puntuación total de la diferencia del color (*Total Colour Difference Score*)

TE: tiempo de eco

TES: puntuación total del error (*Total Error Score*)

TI: temporal inferior

TR: tiempo de repetición

TS: temporal superior

UCCA: área cervical alta (*Upper Cervical Cord Area*)

VBM: *Voxel-Based Morphometry*



## **LISTADO DE FIGURAS Y TABLAS**



Figura 1- Lesiones cerebrales y espinales de pacientes de EM de la Unidad Mixta de EM y Neuroregeneración del Hospital Universitario y Politécnico La Fe.

Figura 2- Patogénesis e historia natural de la enfermedad (evolución clínica de las formas RIS, CIS, EMRR, EMSP).

Figura 3- Patogénesis e historia natural de la enfermedad (evolución clínica de la forma EMPP).

Figura 4- Vía visual y eferencias de las células ganglionares.

Figura 5- Periflebitis retiniana.

Figura 6- OCT macular de uno de los pacientes de EM de la Unidad Mixta de EM y Neuroregeneración del Hospital Universitario y Politécnico La Fe.

Figura 7- Correlación histología – OCT de retina.

Figura 8- Ilustración esquemática explicativa de los diferentes fenotipos de EM según OCT.

Figura 9- La vía visual como modelo de estudio para la degeneración neuronal transináptica en la EM.

Figura 10- Flujo de candidatos voluntarios para formar parte del estudio.

Figura 11- Test de Farnsworth D-15.

Figura 12- Histograma de frecuencias EDSS.

Figura 13- Diagrama de cajas comparando el volumen cerebeloso ( $\text{mm}^3$ ) según antecedente de NO.

Figura 14- Diagrama de cajas comparando el volumen de sustancia gris total ( $\text{mm}^3$ ) según antecedente de NO.

Figura 15- Diagrama de cajas comparando el grosor promedio de CFNRp ( $\mu\text{m}$ , superior izquierda), del HPM ( $\mu\text{m}$ , superior derecha) y el volumen de CCG ( $\text{mm}^3$ , inferior izquierda) y de la CNI ( $\text{mm}^3$ , inferior derecha) según el antecedente de NO.

Figura 16- Gráfico de dispersión simple con ajuste de línea de log CCI por BPF.

Figura 17- Gráfico de dispersión simple con ajuste de línea de log CCI por volumen espinal ( $\text{mm}^3$ ).

Figura 18- Gráfico de dispersión simple con ajuste de línea de log CCI por edad (años).

Figura 19- Gráfico de dispersión simple con ajuste de línea de log CCI por CCG ( $\mu\text{m}$ ).

Figura 20- Gráfico de dispersión simple con ajuste de línea de log CCI por duración de la enfermedad (años).

Figura 21- Gráfica sobre la validación del modelo log (CCI).

Figura 22- Gráfico de dispersión simple con ajuste de línea de EDSS por volumen espinal ( $\text{mm}^3$ ).

Figura 23- Gráfico de dispersión simple con ajuste de línea de EDSS por edad (años).

Figura 24- Gráfico de dispersión simple con ajuste de línea de EDSS por CCG ( $\mu\text{m}$ ).



- Tabla 1- Estadística descriptiva de las características clínicas y neurológicas.
- Tabla 2- Estadística descriptiva de las características de OCT.
- Tabla 3- Correlaciones entre parámetros de RM y OCT de ojos sin historia de NO.
- Tabla 4- Correlaciones entre parámetros de RM y OCT de ojos con historia de NO.
- Tabla 5- Estadística descriptiva de las características clínicas y neurorradiológicas.
- Tabla 6- Estadística descriptiva de las características oftalmológicas cuantitativas.
- Tabla 7- Estadística descriptiva de las características oftalmológicas cualitativas.
- Tabla 8- Correlaciones de las variables clínicas, neurorradiológicas y de OCT con log (CCI).
- Tabla 9- Estimación de los parámetros.
- Tabla 10- Prueba de Ómnibus.
- Tabla 11- Bondad de ajuste.
- Tabla 12- Correlaciones de las variables clínicas, neurorradiológicas y de OCT con EDSS.
- Tabla 13- Estimación de los parámetros.
- Tabla 14- Información de ajuste de los modelos.
- Tabla 15- Bondad de ajuste.
- Tabla 16- Test de pseudo- $R^2$ .
- Tabla 17- Simulación del modelo matemático.



# INTRODUCCIÓN



# 1. Esclerosis múltiple

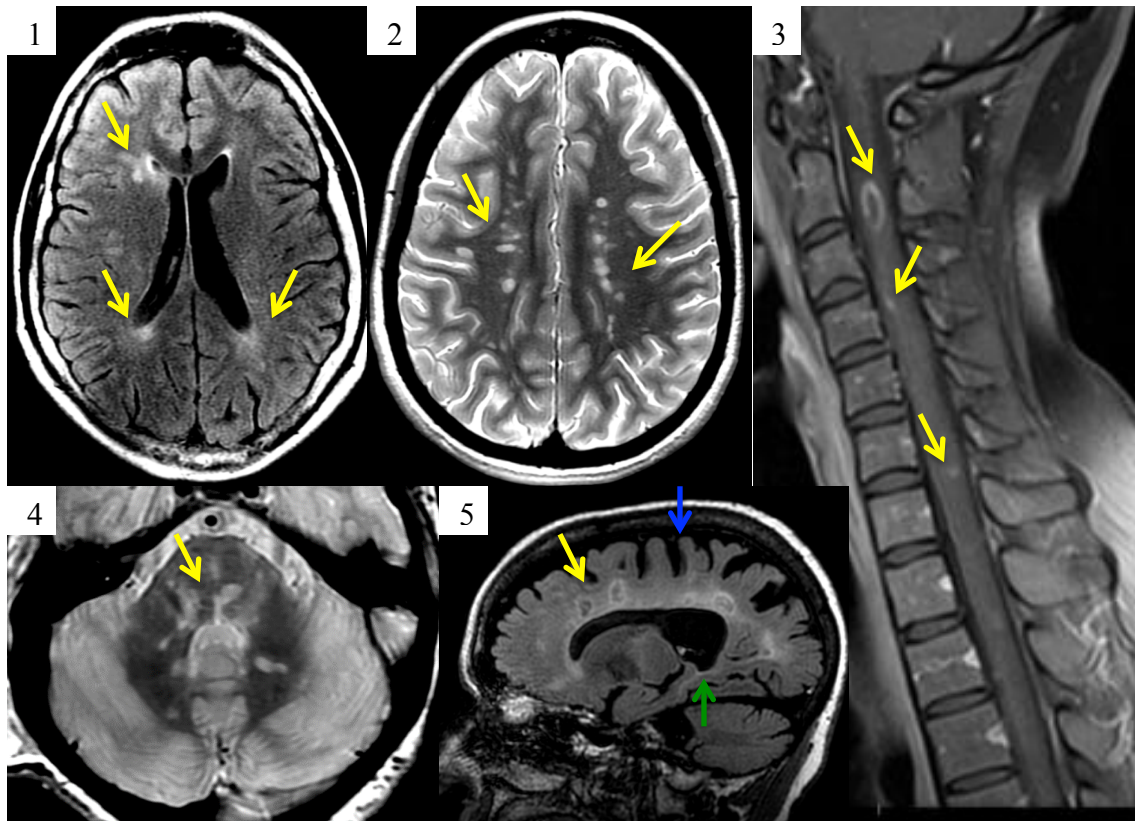
La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad degenerativa crónica del sistema nervioso central (SNC) de etiología desconocida y patogenia inmunomediada, en la que interaccionan factores genéticos (1) y ambientales (2), considerándose el prototipo de las enfermedades desmielinizantes (3).

La distribución global de la EM puede generalizarse como incrementada con la distancia norte-sur desde el ecuador. La prevalencia en Europa se sitúa entre 10 y 188 casos por 100000 habitantes, siendo la incidencia anual media de 4 por cada 100000 habitantes (4, 5). Se considera una de las principales causas de enfermedad en adultos jóvenes, siendo en muchos países la principal causa de discapacidad neurológica no traumática en este grupo poblacional (6).

La EM se considerada una enfermedad de patogenia autoinmune en la que células T CD4 específicas frente a antígenos del SNC desencadenan una respuesta autoinmune en individuos con susceptibilidad genética con células T autorreactivas (7). El sello distintivo de la enfermedad es la formación de placas caracterizadas por un infiltrado linfocitario de predominio T CD8 de localización perivenular en la sustancia blanca (SB) cerebral y medular, lo que representa un proceso en el que se produce la alteración de la barrera hematoencefálica (BHE), inflamación, desmielinización, remielinización, depleción de oligodendrocitos y astrocitosis, así como degeneración neuronal y axonal, derivando todo ello en el bloqueo de la conducción axonal que sustenta las manifestaciones clínicas. El orden y secuencia de todos estos procesos, aún se desconoce por completo (3).

El diagnóstico de la enfermedad es fundamentalmente clínico, apoyado por pruebas de laboratorio y de imagen, que muestran que la enfermedad (focos de desmielinización) ha afectado a más de una localización del SNC (diseminación en el espacio) y en más de una ocasión (diseminación en el tiempo) (3).

Para demostrar diseminación en el tiempo se requiere la aparición de al menos una nueva lesión hiperintensa en T2 o una nueva lesión captante de gadolinio (Gd) en T1 en una RM de seguimiento, respecto a la RM basal, independientemente de cuándo se realice; o la presencia simultánea de lesiones captantes de Gd y lesiones no captantes en cualquier momento (figura 1).



**Figura 1.** Lesiones (flechas amarillas) cerebrales y espinales de pacientes de EM de la Unidad Mixta de EM y Neuroregeneración del Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Los cortes axiales de las imágenes de RM cerebral muestran lesiones periventriculares (1) y corticales (2) e infratentoriales (4). En el caso de los cortes sagitales de las imágenes de RM se observan lesiones espinales (3) y periventriculares (5). En esta última imagen, llama la atención la marcada atrofia cerebral manifiesta por el aumento de surcos cerebrales (flecha azul) y aumento del volumen ventricular (flecha verde).

La demostración de la diseminación en el espacio se basa en la presencia de al menos una lesión en T2 en al menos 2 de las 4 áreas siguientes del SNC: periventricular, yuxtacortical, infratentorial y médula espinal.

Estos criterios de diseminación en el tiempo y en el espacio están basados en los redactados por el grupo de Montalbán (8) y Swanton (9) respectivamente. La revisión de los criterios diagnósticos de McDonald de 2017 (10) se aplica principalmente en aquellos pacientes que debutan como un síndrome clínico aislado (CIS, *clinically isolated syndrome*) típico. En ellos, se ha considerado incluir a las lesiones sintomáticas (espinales y de tronco cerebral) para confirmar la diseminación en el espacio, y la detección de bandas oligoclonales (BOC) en líquido cefalorraquídeo (LCR) como criterio de diseminación en el tiempo, con la finalidad de conseguir un diagnóstico más precoz de la enfermedad, lo que ha demostrado mejorar el pronóstico de la misma.

Para el diagnóstico de EM primaria progresiva (EMPP) se requiere al menos un año de clínica neurológica sugestiva de enfermedad desmielinizante progresiva (generalmente determinado retrospectivamente) más 2 de los 3 criterios siguientes: evidencia de diseminación en el espacio basada en al menos una lesión en T2 en un área característica (periventricular, yuxtacortical o infratentorial), dos o más lesiones espinales hiperintensas en T2, y la presencia de BOC específicas en LCR (10).

### **1.1. Patogénesis e historia natural de la enfermedad.**

El uso clínico tan extendido de la RM implica hallazgos incidentales sugestivos de EM que se identifican en personas asintomáticas clínicamente, lo que se conoce como síndrome radiológico aislado (RIS, *radiologically isolated syndrome*). Un tercio de pacientes con RIS desarrollarán síntomas clínicos de EM en 5 años de seguimiento (forma remitente o progresiva). No hay criterios diagnósticos aceptados para el RIS, pero los criterios de Okuda de 2009 (11), se utilizan en investigación y en la práctica clínica (12).

Se denomina CIS a un episodio clínico monofásico con síntomas informados por el paciente y hallazgos objetivos que reflejan un evento desmielinizante inflamatorio en el SNC, que se desarrolla de forma aguda o subaguda, con una duración de al menos 24 horas, con o sin recuperación, y en ausencia de fiebre o infección; similar a una recaída típica de la EM (ataque o exacerbación) pero en un paciente que no se sabe que tiene EM. Por lo tanto, si el paciente es diagnosticado posteriormente de EM (20-85% de las ocasiones) (13), el CIS es el primer brote del paciente. Sin embargo, y de acuerdo con los criterios del grupo MAGNIMS (*MAGNetic resonance Imaging in Multiple Sclerosis*) de 2016 (14) y la revisión de 2017 de los criterios diagnósticos de la EM de McDonald (10), el estudio de la actividad de la enfermedad mediante RM en un CIS puede cumplir los criterios diagnóstico de EM de diseminación en espacio y tiempo, sin la necesidad de un segundo brote clínico.

Los nuevos episodios ocurren de manera errática. En general, la frecuencia de los brotes desciende con la evolución de la enfermedad, de forma que su frecuencia tiende a ser mayor durante los primeros 3-4 años de su inicio; inversamente, sin embargo, el riesgo de una recuperación incompleta aumenta con la duración de la enfermedad (3).

Dos hipótesis opuestas se han sugerido para explicar los mecanismos que desencadenan el inicio de la fase inflamatoria. La hipótesis más plausible ("*outside-in model*") es la de

la activación periférica de células T reactivas a antígenos del SNC por diferentes mecanismos (como la activación policlonal y el mimetismo molecular que provoca reactividad cruzada). La liberación de citocinas proinflamatorias facilitaría la diapédesis de células inflamatorias al SNC, debido al aumento de la expresión de moléculas de adhesión endoteliales y la alteración de la BHE y de la homeostasis glial (15).

Otra hipótesis apuesta por la activación primaria de la microglía y la consecuente amplificación de la respuesta inmune. En esta segunda hipótesis (*"inside-out model"*) un defecto primario de los oligodendrocitos (por ejemplo, una mutación genética o la reactivación de un agente infeccioso quiescente en estas células) llevaría a la muerte espontánea del oligodendrocito y a la consecuente activación de la microglía, liberándose antígenos a zonas externas al SNC (por ejemplo, mediante el LCR), siendo procesados y despertando una reacción autoinmunitaria que reclutaría células inmunes al SNC (15).

La EMRR es la forma más común, afectando al 85-90% de enfermos, y se caracteriza por brotes, ataques, recaídas o exacerbaciones seguidos de periodos de remisión (el tiempo entre 2 brotes no debe de ser inferior al mes, presentándose en muchas ocasiones con distintos síntomas) (16). Esta forma de enfermedad típicamente afecta a mujeres jóvenes (media de 30 años de edad). Tras 15-25 años, aproximadamente en un 50% de pacientes los brotes se sustituyen por una fase de progresión continua de la enfermedad en la que se va acumulando la discapacidad. Se trata de la forma secundaria progresiva (EMSP) (17). A día de hoy no existe ningún criterio clínico, de imagen, inmunológico o patológico que determine la transición de una forma EMRR a EMSP. Se trata de una transición gradual y de un diagnóstico retrospectivo en su mayor parte (18).

Sin embargo, el inicio de EMPP se caracteriza por síntomas progresivos, normalmente una paraparesia asimétrica de duración de meses a años (12). La forma EMPP supone un 10-15% del total de pacientes, iniciándose los síntomas a mayor edad que la forma EMRR (aproximadamente alrededor de los 40 años), sin registrarse diferencias entre sexos (17). Actualmente, se postula que las diferencias clínicas, de imagen y patológicas entre EMPP y EMSP son más relativas que absolutas (18, 19).

La nueva visión de las formas progresivas de enfermedad aún reconoce una forma progresiva desde el inicio (EMPP) y una forma progresiva tras un inicio RR (EMSP) pero añade dos calificativos: presencia o ausencia de recurrencias clínicas o nuevas lesiones en RM (activa o no activa respectivamente, definido por la presencia de lesiones que quedan realzadas por Gd en T1 o la aparición de nuevas lesiones en T2 o

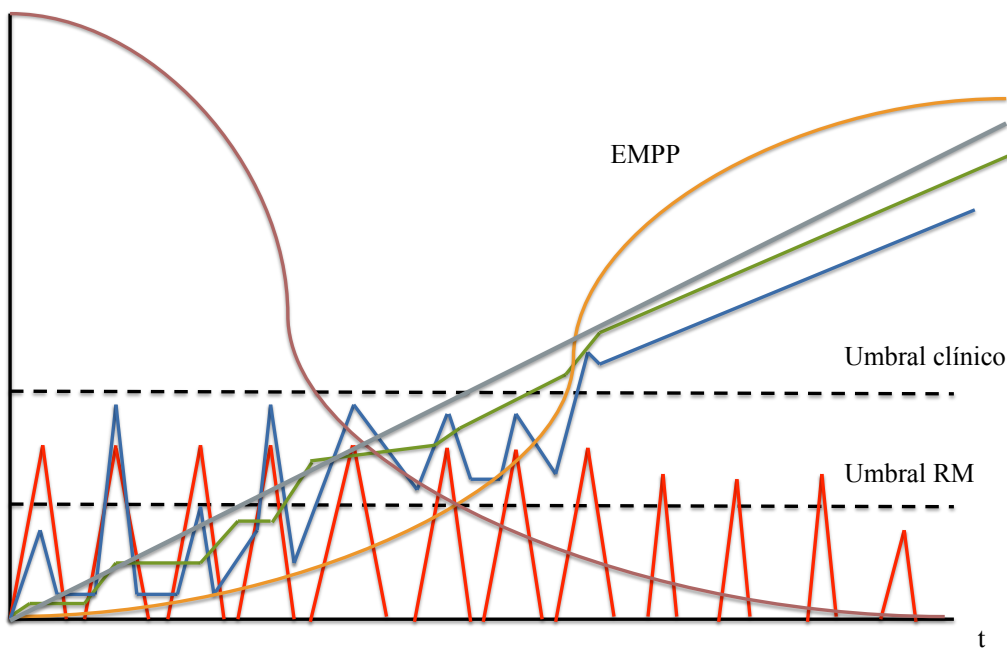
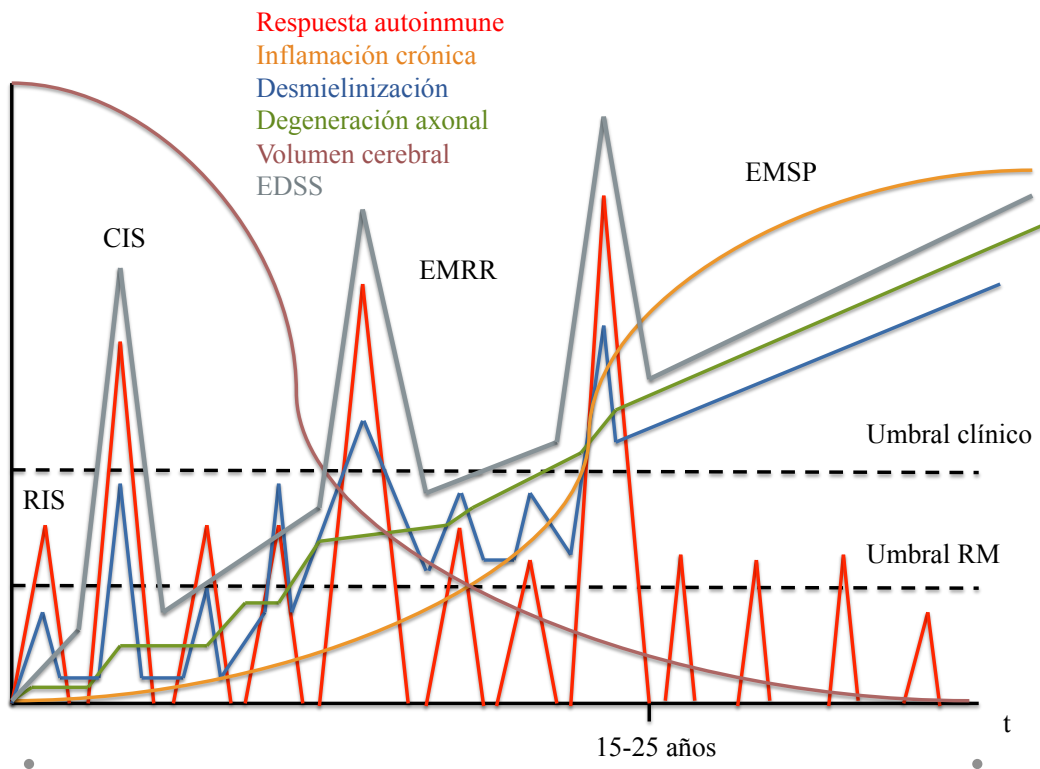


un aumento de las mismas en T2), y la presencia o ausencia de un empeoramiento insidioso e irreversible de la función neurológica independientemente de las recurrencias (con progresión o sin progresión, respectivamente) (18, 19). La inclusión de la actividad como factor modificador del curso clínico de los diferentes fenotipos de la enfermedad permite la eliminación de la categoría progresiva recurrente (EMPR), de manera que un paciente con una forma EMPP que tiene un brote (y por tanto antes diagnosticado de la forma EMPR) sería considerado como EMPP activa. Por otra parte, un paciente con EMPP sin brotes ni actividad en RM sería considerado una forma EMPP no activa (18).

Dos mecanismos inmunopatogénicos se han descrito para las fases progresivas de la enfermedad. El modelo de neurodegeneración primaria postula que el daño de la unidad axón-glía acaba provocando degeneración axonal. Este daño podría ser el resultado de un pobre soporte trófico, la disfunción metabólica mitocondrial (que provocaría hipoxia histotóxica) y la alteración en la eliminación de mediadores citotóxicos (como especies reactivas de oxígeno, glutamato y hierro) derivados del daño de oligodendrocitos preexistentes y de la pérdida de mielina. Por otra parte, la desregulación y redistribución de canales iónicos en la membrana plasmática de la neurona en respuesta a la inflamación, supone una respuesta adaptativa insuficiente que perpetúa el daño neuroaxonal. La degeneración axonal secundaria llevaría a la activación de las células de la microglía (15, 19).

Por otra parte, el modelo de la inflamación compartimentada sugiere que la progresión es consecuencia de la inflamación mantenida a nivel del SNC que provoca la activación persistente de la microglía. Evidencia histológica de esta inflamación mantenida del SNC es la detección de folículos linfoides B menígeos y la detección de citocinas proinflamatorias en el LCR en formas progresivas de enfermedad, lo que perpetúa en el tiempo el daño nervioso. La activación de la microglía provocaría la degeneración axonal debido a la liberación de mediadores citotóxicos, cuyos efectos se verían potenciados por el daño tisular preexistente (17). En realidad, ambos modelos pueden coexistir sinérgicamente, provocando la degeneración axonal y la consecuente pérdida neuronal (15, 19).

De esta manera, se postula que inflamación y neurodegeneración coexisten desde el principio de la enfermedad. Mientras que en estadios tempranos, patogénicamente dominan las lesiones focales inflamatorias, la disrupción de la BHE, la desmielinización y la transección aguda axonal; a medida que pasa el tiempo, prevalece la afectación difusa patológica en la SB aparentemente normal (SBAN) y en la sustancia gris (SG) en la que la activación de la microglía y la neurodegeneración son más prominentes (17, 19, 20).



**Figura 2** (superior) y **3** (inferior). **Patogénesis e historia natural de la enfermedad.** La imagen superior muestra la evolución clínica de las formas RIS, CIS, EMRR y EMSP, mientras que la figura inferior muestra la evolución clínica de la forma EMPP. Modificado de Kotelnikova E et al. *Dynamics and heterogeneity of brain damage in multiple sclerosis. PLoS Comput Biol.* 2017;13(10):e1005757.

Por ello ha cambiado la perspectiva de la enfermedad, entendiéndola no sólo como una entidad puramente inflamatoria, sino que existe una perspectiva más amplia en la que la inflamación expone una susceptibilidad neurodegenerativa intrínseca del paciente que se traduce desde el inicio de la enfermedad en la vulnerabilidad de los axones al daño acumulativo y a la consecuente progresión de la discapacidad (21, 22).

Hoy día se dispone de fármacos modificadores de la enfermedad (DMT, *disease modifying treatments*) con un perfil predominantemente anti-inflamatorio, habiendo mostrado efectos beneficiosos disminuyendo el número de brotes, y por tanto siendo especialmente útiles en los primeros estadios de la enfermedad. Sin embargo, el progreso de la enfermedad independiente de los brotes o de las lesiones activas en RM, hace que estos fármacos tengan una menor efectividad (23, 24).

Dado que en la actualidad no disponemos de arsenal terapéutico para controlar la fase progresiva de la enfermedad en ausencia de actividad, es necesario investigar sobre la neurodegeneración que subyace, con la finalidad de conocer mejor su fisiopatología y la existencia de marcadores subrogados de progresión de discapacidad, lo que permitirá identificar dianas terapéuticas para actuar de manera temprana sobre la discapacidad irreversible con una finalidad neuroprotectora y/o regeneradora.

## **1.2. Escalas clínicas de discapacidad**

En 1983 (25), Kutzke publicó una versión ampliada de la *Disability Status Scale* (26), la escala expandida de discapacidad (EDSS, *Expanded Disability Status Scale*) siendo actualmente la escala más aceptada entre clínicos e investigadores para la medición de la discapacidad (27). Se trata de una escala ordinal con rango del 0 (examen normal) al 10 (muerte debida a EM) con intervalos de 0,5 puntos a partir de 1, cuya puntuación se obtiene mediante la valoración de ocho subescalas (sistemas funcionales) destinadas a cuantificar los resultados de la anamnesis y la exploración neurológicas. Algunos puntos clave en dicha escala es la transición al valor de 4 (camina sin ayuda ni descanso 500 m, discapacidad moderada, ya no es capaz de correr) o de 6 (necesidad de apoyo para deambular). Clínicamente se ha utilizado el aumento progresivo de la discapacidad

neurológica acompañado de un incremento de 0,5 puntos durante un año en ausencia de brotes para definir el paso a la fase progresiva de la enfermedad, alcanzando un EDSS de 3-4 (22).

Otra escala utilizada para valorar la discapacidad es la escala funcional compuesta de la esclerosis múltiple (MSFC, *Multiple Sclerosis Functional Composite*) que es una escala cuantitativa continua más sensible que la EDSS en la detección de cambios clínicos, y que contiene medidas de tres dimensiones clínicas: la función de los miembros inferiores a través del T25W (*Timed-25-foot Walk*), la función de los miembros superiores a través del 9HPT (*9-Hole Peg Test*) y la función cognitiva a través del PASAT-3 (*Paced Auditory Serial Addition Test*) (19, 27).

### **1.3. Marcadores de progresión de la discapacidad**

#### **1.3.1. Marcadores de neuroimagen**

Clásicamente se han descrito como factores de neuroimagen asociados a un peor pronóstico en el momento del diagnóstico de la enfermedad: el número y volumen elevado de lesiones en T2, la presencia de lesiones con realce de Gd o la presencia de lesiones infratentoriales y/o espinales (28). A continuación se detallan otros marcadores de neuroimagen que ofrecen información adicional reflejando la evolución dinámica de la neurodegeneración de la enfermedad.

#### **Atrofia cerebral en resonancia magnética**

La atrofia cerebral en pacientes de EM es de 0,5-1% al año, lo que representa un valor claramente superior a la población normal (0,1-0,3% al año) (29) y que refleja la actividad global de la enfermedad desde su comienzo (30, 31).

La medida del volumen cerebral mediante RM se puede calcular de una forma relativamente sencilla a partir de la obtención de imágenes ponderadas en T1 a las que se les aplica programas automáticos de segmentación que delimitan el contorno del parénquima encefálico y extraen el volumen ventricular; obteniendo datos cuantitativos, precisos y reproducibles del volumen del parénquima encefálico (32).

Existen limitaciones para usar la atrofia cerebral como medida de la enfermedad. Por un lado, aunque las neuronas y los axones forman gran parte del parénquima cerebral, otros componentes (mielina, glía y vasos sanguíneos) también contribuyen a ello. Por otra parte, la astrocitosis reactiva es un fenómeno que podría enmascarar la detección de atrofia cerebral en la EM, como consecuencia del aumento de volumen cerebral que produce. Del mismo modo, el grado de atrofia puede verse sesgado por fluctuaciones en la concentración de agua atribuibles tanto a las lesiones activas como al efecto anti edema y antiinflamatorio de determinados tratamientos (corticoides y DMT) (32).

Las medidas de atrofia utilizadas pueden ser estimaciones del volumen cerebral total, diferenciando SG y SB, o diferenciando distintas regiones cerebrales. Al igual que la SB, la SG se afecta tempranamente por la enfermedad (33, 34), y su medición (tanto cortical como subcortical) refleja un mayor grado de atrofia con el tiempo; guardando relación con el grado de discapacidad (35, 36) y con el déficit cognitivo (35, 37-39) como demuestra la afectación hipocampal y talámica precoz. De esta manera, se ha encontrado un gradiente de atrofia de la SG que se acentúa con la evolución de la enfermedad en RIS, CIS, EMRR y EMSP, mientras que la atrofia de la SB parece ser relativamente constante con el curso de la enfermedad (40, 41). Por ello podemos decir que actualmente la atrofia de la SG es un predictor de discapacidad mayor que la carga lesional en la SB o la atrofia de la SB (42).

### **Atrofia espinal en resonancia magnética**

La tasa de atrofia medular es mayor que la cerebral (1,78% versus 0,5% al año) (43). La mayor parte de lesiones espinales se localizan en la periferia cervical (59%) y torácica (T7-12; 20%) (43), limitándose a 1-2 segmentos espinales (44) y con tendencia a la colocalización, es decir, la afectación cervical aumenta el riesgo de presentar afectación torácica (45). Se trata de uno de los mayores predictores de discapacidad, existiendo una mayor limitación de la neuroplasticidad en comparación con la afectación cerebral (40). La discapacidad motora se atribuye normalmente a la afectación espinal, particularmente común en las formas progresivas de enfermedad. Estudios histológicos han demostrado desmielinización de los cordones en la SB espinal, afectación de la SG central, así como afectación a nivel de SBAN (46). Cabe señalar que la carga lesional medular (cuantificada por número de lesiones (47, 48) o segmentos vertebrales afectados (49)) y la atrofia espinal son relativamente independientes. De esta manera, se puede

decir que la atrofia espinal es consecuencia de la destrucción de tejido espinal en las lesiones focales, pero sobre todo, es consecuencia del daño tisular difuso y de la pérdida neuronal secundaria a la degeneración walleriana (32, 50).

El estudio por RM resulta más complicado que a nivel cerebral, puesto que algunos factores hacen de la médula espinal una región difícil de valorar, como una baja resolución espacial o artefactos condicionados por movimientos fisiológicos como el ritmo cardíaco o la respiración (40). A pesar de tratarse de un buen biomarcador del curso clínico de la enfermedad o de la eficacia de los DMT, a no ser que se registren hallazgos espinales en la exploración neurológica, no se realiza la RM espinal de rutina (18).

En general, la correlación entre atrofia espinal y discapacidad es mayor que cualquier otra medida por RM, teniendo especial relevancia en las formas progresivas (51). Mientras que en la forma EMRR la afectación espinal se caracteriza por lesiones focales, en pacientes diagnosticados de EMSP la alteración espinal es extensa y confluyente. Por otra parte, la presencia de lesiones difusas son características de la forma EMPP (42).

### **Afectación cortical y folículos linfoides**

Se pueden diferenciar distintos patrones de lesión cortical (52). Generalmente las lesiones corticales en la EM suelen ser más frecuentes en el hipocampo y en el lóbulo temporal y frontal (particularmente córtex motor y cingulado). Estas lesiones progresan de manera independiente a las lesiones desmielinizantes de la SB, y su presencia se asocia con mayor atrofia histológica local, un curso clínico más severo y una progresión de la discapacidad mayor (principalmente relacionado con la función cognitiva) (29) (53).

Las lesiones corticales difieren histopatológicamente de la clásica placa desmielinizante de la SB, de manera que presentan un menor infiltrado inflamatorio, cuerpos neuronales apoptóticos y transección de proyecciones neuronales (54). Además, la disrupción de la BHE es menos probable en la formación de lesiones corticales, por lo que su identificación mediante métodos de RM convencional es más difícil (55).

El infiltrado inflamatorio B meníngeo es un mecanismo patogénico en la inflamación y neurodegeneración cortical. Esta inflamación leptomeníngea puede presentarse como un infiltrado desorganizado de células inmunológicas en las meninges de pacientes EMRR

y EMPP, o como la formación de folículos linfoides ectópicos bien organizados descritos postmortem en cerebros de pacientes EMSP (hasta en un 40% en este último grupo de pacientes). Su presencia se asocia con una forma más agresiva de enfermedad, una desmielinización cortical más extensa y mayor neurodegeneración (53).

### **Depósito del hierro**

El daño oxidativo se ve amplificado por la presencia de cationes divalentes como el hierro ( $\text{Fe}^{2+}$ ), que fisiológicamente se acumula en la mielina, en los oligodendrocitos y la microglía en su forma férrica ( $\text{Fe}^{3+}$ ) unido a la ferritina. Debido al daño de las estructuras mielínicas y de los oligodendrocitos, se libera hierro al espacio extracelular donde se reduce a  $\text{Fe}^{2+}$  aumentando el daño oxidativo. El hierro liberado es captado por la microglía y macrófagos, acumulándose en los márgenes de las lesiones desmielinizantes y en el espacio perivascular, lo que puede ser monitorizado mediante RM tanto a nivel global como regional (56).

De esta manera, áreas cerebrales con un alto contenido en hierro en condiciones normales como los ganglios basales, el tálamo o el hipotálamo muestran un mayor proceso de neurodegeneración difusa y atrofia incluso en estadios tempranos de la enfermedad (56), presentando un grado de inflamación intermedio entre las lesiones corticales con un bajo grado de inflamación y las lesiones activas de la SB (57).

### **Hipoperfusión cerebral**

El flujo sanguíneo cerebral es una medida de perfusión que puede registrarse regionalmente con la finalidad de identificar áreas cerebrales metabólicas activas. En la EM, se ha publicado una disminución del flujo sanguíneo cerebral de manera temprana e independiente del curso clínico de la enfermedad, pudiendo registrarse dichos cambios en la SG y la SBAN (58, 59) y correlacionando dicho flujo con medidas de discapacidad (60).

El mecanismo fisiopatológico que subyace a esta hipoperfusión cerebral y su implicación no son completamente conocidos. Se postula que la sobreexpresión de la endotelina-1 es consecuencia de la activación de los astrocitos en lesiones focales, liberándose dicho agente vasoespástico a la circulación cerebral (61). De esta manera se

especula que la hipoperfusión cerebral podría preceder o inducir el proceso neurodegenerativo (62).

### **1.3.2. Técnicas de neuroimagen**

#### **Resonancia magnética convencional**

Existe una reconocida disociación clínico-radiológica en la EM (63), consecuencia tanto de las limitaciones que presentan las escalas de discapacidad clínica, como de las impuestas por la propia técnica de RM convencional, insensible para capturar algunos componentes etiopatogénicos de la enfermedad (como la neurodegeneración difusa) o por las dificultades para la evaluación de estructuras del SNC como la médula espinal.

Ya en los primeros estudios de RM se puso en evidencia que la actividad por RM era mayor que la actividad clínica, de manera que desde un punto de vista estadístico, unas 10-15 nuevas lesiones cerebrales tienen lugar por cada brote clínico (40). Sin embargo, el hecho de que el número de lesiones en T2 y su topografía correlacionen parcialmente con la discapacidad, apuntan a la necesidad de valorar la influencia que tienen otros factores como la afectación de la SG o de la SBAN tanto a nivel cerebral como espinal (64).

De esta manera, se han desarrollado nuevas técnicas no convencionales que permiten detallar la estructura patogénica, alcanzo un detalle microestructural que correlaciona mejor con la discapacidad clínica presentada por el paciente (65).

#### **Tensor de difusión en resonancia magnética**

La técnica de tensor de difusión en RM (DTI, *Diffusion Tensor Imaging*) es una forma específica de difusión por RM que permite rastrear moléculas a través de tejidos biológicos. En un medio libre de barreras, las moléculas de agua tienen un movimiento esperado igual en todas las direcciones. Sin embargo, en el SNC los axones se organizan en haces paralelos de fibras nerviosas rodeados de una vaina de mielina, lo que provoca un patrón de difusión interna que no es aleatorio, sino que es muy favorable para seguir el eje direccional principal, lo que permite realizar reconstrucciones de las conexiones estructurales cerebrales (tractografía). La información derivada de esta técnica se resume en dos parámetros: la difusividad media (MD, *Mean Diffusivity*) que representa la tasa de difusión molecular aleatoria (y cuyo



incremento refleja destrucción tisular), y la anisotropía fraccional (FA, *Fractional Anisotropy*) que informa sobre la direccionalidad de la difusión de las moléculas de agua (reflejando por tanto la integridad axonal) (66).

De esta manera, por ejemplo, la SBAN presenta un incremento de la MD y una reducción de la FA, lo que apunta a una reducción en la integridad de las fibras mielínicas (67, 68). Del mismo modo, también se ha estudiado los cambios de difusión presentados por la SG en formas tempranas de enfermedad (CIS) lo cual podría explicarse por cambios microestructurales tempranos y no solamente por la inflamación (69, 70), incluso antes de registrarse cambios volumétricos o atrofia con técnicas de neuroimagen convencionales (71).

En relación a la médula cervical, los parámetros de DTI se han correlacionado con la fuerza flexora de la cadera y la sensación vibratoria (72), mientras que la tractografía del haz corticoespinal ha demostrado guardar relación con la discapacidad (73).

### **Resonancia magnética funcional**

La RM funcional (fMRI, *functional Magnetic Resonance Imaging*) detecta actividad cerebral midiendo cambios en el flujo sanguíneo cerebral, puesto que la perfusión regional y la activación neuronal están acopladas. Los mapas de actividad neuronal dependen del nivel de oxigenación en sangre registrados, ya que la activación cerebral trae consigo un incremento en el consumo de oxígeno y el consecuente descenso del ratio oxihemoglobina/desoxihemoglobina. En respuesta a dicho descenso, se produce un aumento del flujo sanguíneo cerebral local con la finalidad de incrementar el porcentaje de oxihemoglobina. Este flujo compensatorio se registra en las secuencias T2 por las diferencias paramagnéticas entre ambas isoformas de hemoglobina, pudiendo mapearse las áreas cerebrales activadas (74).

El estudio de la activación cortical para una determinada tarea (motora, cognitiva) o estímulo mediante fMRI, ha demostrado un incremento de las zonas activadas en la EM para poder mantener un nivel funcional óptimo, ya desde estadios incipientes (75) y en comparación con controles sanos (76, 77), lo que se entiende como un mecanismo de plasticidad cerebral compensatorio. Dicho mecanismo ha sido descrito incluso en estado de reposo (estando el paciente despierto, consciente y sin realizar ninguna actividad específica ni tener que responder frente a ningún estímulo concreto), observándose en pacientes CIS y EMRR tempranas (menos de 2 años de evolución) un incremento en la

conectividad funcional de las redes neuronales en comparación con controles sanos, mientras que en formas avanzadas de la enfermedad disminuye esta conectividad hasta ser inferior a los respectivos controles, lo que representa una fase de agotamiento de los mecanismos compensatorios y la consecuente aparición de discapacidad (78, 79).

### **Transferencia de magnetización**

La imagen por transferencia de magnetización (MTI, *Magnetization Transfer Imaging*) permite obtener datos relativos al grado de mielinización y de la integridad axonal del SNC a partir del ratio de transferencia de magnetización (MTR, *Magnetization Transfer Ratio*). Se han descrito alteraciones del MTR relacionadas con la desmielinización cortical (80) y la SG profunda (81), publicándose una mayor correlación de la discapacidad clínica con los niveles de MTR de las lesiones en SB y córtex, que con los niveles de MTR de estructuras cerebrales aparentemente normales (82). Estudios longitudinales han demostrado la utilidad de esta modalidad de neuroimagen en la predicción de la discapacidad, siendo predictivos los niveles bajos de MTR tanto de la SBAN (83) como de la SG (84, 85).

En la médula cervical de pacientes de EM sin atrofia medular, se ha demostrado un menor MTR de la SG en comparación con controles, guardando este parámetro correlación con la discapacidad (86). Del mismo modo, se ha descrito una disminución de los valores de MTR en formas tempranas de la enfermedad incluso sin atrofia medular significativa, observándose una disminución más marcada de los valores de MTR con las formas progresivas de la enfermedad (87).

Debido a la variación de los valores de MTR con la desmielinización (disminución del MTR) o la remielinización (aumento del MTR) también se ha propuesto este parámetro como candidato para valorar la eficacia de terapias neuroregeneradoras (88).

### **Tomografía por emisión de positrones**

Mientras que el contraste con Gd identifica los brotes inflamatorios debido a la alteración de la BHE, actualmente se están desarrollando técnicas de tomografía por emisión de positrones (PET, *Positron Emission Tomography*) que permitan identificar in vivo el sustrato patogénico a nivel del SNC y la consecuente neurodegeneración mediante el uso de radioligandos.

La activación crónica de la microglía mediante el uso del trazador  $^{11}\text{C}$ -PK11195 ha sido demostrada a partir del incremento de la captación de dicho ligando no solo en focos de inflamación identificados en RM, sino también en estructuras anatómicas aparentemente normales como la SG cerebral central (89). Estudios posteriores (90) han demostrado la relación entre la captación aumentada del radioligando y la atrofia cerebral en la fase progresiva de la enfermedad, lo cual ha sido confirmado también mediante el uso de radioligandos de segunda generación como el  $^{11}\text{C}$ -PBR28 o el  $^{18}\text{F}$ -PBR111 (91, 92) y su correlación con la discapacidad clínica (93).

Aunque menos estudiado, también se ha demostrado una activación aumentada de los astrocitos mediante el uso de la captación por PET de  $^{11}\text{C}$ -acetato a nivel talámico y de la SB, correlacionándose este parámetro con el número de lesiones T2 y de agujeros negros en T1 (94).

### **Espectroscopia de resonancia magnética**

La espectroscopia de RM permite caracterizar bioquímicamente el funcionamiento del SNC a partir de las mediciones de metabolitos como el N-acetil aspartato, creatinina, colina y mioinositol. Se ha propuesto su uso para monitorizar el daño tisular a nivel lesional y de la SBAN (95), a nivel de la SG cortical (96), así como para monitorizar la discapacidad (97, 98), y por tanto siendo útil en la evaluación de la progresión de la enfermedad.

Otros estudios de espectroscopia se centran en las variaciones de glutamato (99) y ácido  $\gamma$ -aminobutírico (100) con la finalidad de entender los mecanismos bioquímicos que conducen a la degeneración neuroaxonal.

### **Técnicas cuantitativas para el procesamiento de resonancia magnética cerebral**

Se han desarrollado numerosos métodos para el cálculo del volumen cerebral global y regional. El método óptimo debe ser sensible a pequeños cambios de volumen cerebral, reproducible y estable en el tiempo. Las técnicas de análisis de imagen de RM pueden ser manuales (delimitando la superficie de una estructura corte por corte, y por tanto con un mayor consumo de tiempo y con mayor probabilidad de error intraoperador e interoperador) o automáticas (o semiautomáticas, basadas en algoritmos matemáticos

que permiten de manera automática el reconocimiento de diversas estructuras, aunque puedan requerir posterior revisión y corrección por un operador) (29).

Distintos factores fisiológicos (como el estado de hidratación del paciente), estilos de vida (como el hábito tabáquico o alcohólico), factores genéticos (como la expresión de Apolipoproteína E), factores patológicos (como el antecedente diabético o factores de riesgo cardiovasculares) y metodológicos (como los parámetros del escáner) influyen en los datos obtenidos (101). Por otra parte, cabe comentar que la ausencia de estandarización y la diversidad de técnicas para la medición volumétrica dificulta también la comparabilidad de los resultados obtenidos (29).

Dentro del grupo de herramientas para la segmentación automática destacan SPM/VBM (*Statistical Parametric Mapping/Voxel-Based Morphometry*), Freesurfer o SIENAX (*Structural Image Evaluation using Normalisation of Atrophy*, dentro del FSL (*FMRIB Functional Magnetic Resonance Imaging of the Brain Software Library*)) (29).

## **Técnicas cuantitativas para el procesamiento de resonancia magnética espinal**

El nivel más utilizado para medir la atrofia espinal ha sido el disco intervertebral C2-C3, cuantificando la atrofia cervical en dicho nivel a partir de imágenes tridimensionales ponderadas en T1 obtenidas en el plano transversal, con las que se realizan reconstrucciones transversales sobre el segmento cervical en las que se calcula su área (CSA, *Cross-Sectional Area*; o UCCA, *Upper Cervical Cord Area* indistintamente) (32). Por encima de la intumescencia cervical (C4-T1) que da origen al plexo braquial, la médula tiene un tamaño relativamente constante a lo largo de varios segmentos medulares, además de presentar el mayor número de lesiones (51) y un gran espacio subaracnoideo que rodea la médula, lo que facilita una buena señal de contraste para medir el volumen y área espinal (46).

Uno de los métodos publicados es la técnica semiautomática de Losseff et al. (102). En ella, manualmente se circunscribe la médula espinal y el LCR, calculándose de forma automática la intensidad media de señal entre ambas y delineándose el borde de la médula espinal. A partir de aquí se calcula la CSA a nivel del disco intervertebral C2-C3. Posteriormente, Horsfield et al. (103) desarrollaron un método semiautomático activo de detección de la superficie del área espinal, no solo a nivel del disco intervertebral C2-C3, sino también a otros niveles. Otro método semiautomático es

NeuroQLab, un método que segmenta la médula espinal superior reconociendo el espacio que envuelve a la médula utilizando un modelo mixto gaussiano para la segmentación de imágenes (104, 105); o el software JIM, un método basado en la superficie espinal que delinea automáticamente la médula tras el marcaje del centro de su estructura (106). Dentro del grupo de herramientas automáticas para el procesamiento espinal destaca el SCT (*Spinal Cord Toolbox*), que incluye herramientas para la corrección de movimiento y algoritmos de segmentación que permiten la estandarización y automatización en el procesamiento de las imágenes (107).

Por último cabe comentar que se ha intentado calcular la atrofia espinal a partir de imágenes cerebrales (105, 108), obteniendo resultados similares a los obtenidos mediante el procesado de imágenes de RM espinal.

### **1.3.3. Marcadores biológicos**

El marcador biológico clásicamente utilizado ha sido el incremento de la síntesis intratecal de IgG desde un punto de vista cuantitativo (índice IgG, determinado por la relación entre la concentración de IgG en suero y LCR) y cualitativo (BOC IgG y/o IgM). La detección de BOC en LCR se utiliza como criterio diagnóstico (10) y es uno de los factores predictivos para la evolución a EM en los CIS (109, 110). En concreto, las BOC IgM se relacionan con un curso más agresivo de la enfermedad (111).

Los neurofilamentos son filamentos intermedios específicos neuronales, formados por heteropolímeros de bajo (neurofilamentos de cadena ligera, NF-L (*neurofilament-light*)), medio (neurofilamentos de cadena media) o alto (neurofilamentos de cadena pesada, NF-H (*neurofilament-heavy*)) peso molecular. Se ha sugerido que reflejan el daño axonal, puesto que su concentración aumenta en el espacio extracelular con el daño axonal. Mientras que NF-L refleja el daño axonal agudo mediado por mecanismo inflamatorios y se relacionan con la probabilidad de evolución a formas definidas de la enfermedad (112, 113), los niveles de NF-H correlacionan mejor con la progresión de la enfermedad y la neurodegeneración axonal (114, 115).

La proteína chitinasa 3-like-1 (CHI3L1) es otro biomarcador que interviene en la inflamación crónica y la remodelación tisular (116, 117), cuya elevación se relaciona con intervalos cortos de tiempo para la evolución de CIS a EM, la aparición precoz de la discapacidad y una mayor probabilidad de desarrollar afectación cognitiva en el tiempo (113, 118-120).

#### **1.4. Limitaciones y futuras perspectivas**

Nuestro actual conocimiento sobre los mecanismos moleculares y celulares que sustentan la progresión en la EM son limitados, y aunque las técnicas de neuroimagen y los marcadores biológicos actuales permiten un diagnóstico temprano de la enfermedad, se hace necesario la búsqueda de marcadores clínicos que permitan una correcta monitorización de la neurodegeneración y un pronóstico individualizado.

Mientras que el número de lesiones en T2 o la presencia de lesiones captantes de Gd son marcadores de inflamación utilizados en la práctica clínica diaria y en los ensayos clínicos de fármacos DMT, la medida de la atrofia cerebral (y concretamente el volumen de SG) podría tratarse de un biomarcador con suficiente sensibilidad para la monitorización de la neurodegeneración, lo que resulta especialmente importante en las formas progresivas de la enfermedad, caracterizadas por una menor presencia del componente inflamatorio.

Sin embargo, la determinación de volúmenes de estructuras del SNC todavía no es una práctica popularizada en la clínica diaria, puesto que se requiere de un procesamiento y optimización adicional de la imagen de RM (121). Del mismo modo, la rentabilidad actual de las técnicas de RM no convencionales se ve limitada a ensayos clínicos y estudios experimentales, no justificándose su uso para el diagnóstico y seguimiento habitual de los pacientes de EM. Por otra parte, es necesario la estandarización de protocolos de segmentación de neuroimagen, que permitan de una manera automatizada, cuidadosa y reproducible la comparación de resultados entre distintos grupos de investigación, mediante un método de medida común (29).

Finalmente comentar que son necesarios más estudios para poder establecer si las medidas derivadas de la utilización de marcadores de neuroimagen y biológicos, tienen suficiente validez y precisión para la detección temprana y reversible de un proceso de disfunción neuronal que termina en atrofia y muerte celular, así como para el desarrollo de terapias neuroprotectoras y/o regeneradoras que puedan aplicarse en estadios potencialmente reversibles de la disfunción neuronal (42). En concreto, la vía visual puede estudiarse como modelo neurooftalmológico del que se obtienen marcadores de neurodegeneración e inflamación que correlacionan con diferentes compartimentos del SNC.

## 2. La vía visual como modelo neurooftalmológico

### 2.1. Anatomía de la vía visual

La vía visual (figura 4) es un circuito neuronal bien definido que recorre prácticamente todo el cerebro. Es uno de los sistemas que más se afecta en pacientes con EM, demostrando los estudios histopatológicos y de imagen que hay una afectación específica de la vía visual y siendo una de las mayores causas de discapacidad de la enfermedad puesto que la aferencia visual es uno de los mayores *inputs* de información para el ser humano (122, 123).

La vía visual comienza en la retina, compuesta por la retina neural y el epitelio pigmentario de la retina (EPR). La retina neural tiene siete capas características. Del exterior al interior son las siguientes: 1) una capa que contiene los segmentos externos e internos de los fotorreceptores; 2) una capa nuclear externa (CNE), que consta de los núcleos de los fotorreceptores; 3) la capa plexiforme externa (CPE), que consiste en las conexiones sinápticas de los fotorreceptores con las células bipolares y horizontales; 4) la capa nuclear interna (CNI), que contiene los somas de segundo orden y algunas células retinianas de tercer orden, así como los somas de las células de Müller; 5) la capa plexiforme interna (CPI), zona de contacto sináptico de las células bipolares, amacrinas y ganglionares; 6) la capa de células ganglionares (CCG), formada por los somas celulares de las células ganglionares, y 7) la capa de fibras nerviosas de la retina (CFNR), compuesta por los axones de las células ganglionares. Estos axones convergen en el disco óptico para formar el nervio óptico. Las capas 2 a 7 están flanqueadas por un par de membranas limitantes, constituidas por las prolongaciones de células gliales con uniones ocluyentes. La membrana limitante externa está entre las capas 1 y 2, y la membrana limitante interna entre la CFNR y el vítreo.

Así pues, cada axón que forma parte de la CFNR tiene su origen en una única célula ganglionar, que extendiéndose en dirección al vítreo acaba alcanzando esta capa para confluir a nivel de la papila o disco óptico. El llamado haz papilomacular (HPM) está constituido por los axones que tienen su origen en la misma fovea, y siguen su recorrido hasta el borde temporal del nervio óptico. Atravesada la lámina cribosa, los axones de las células ganglionares se mielinizan y siguen su recorrido hasta sinaptar en su mayoría

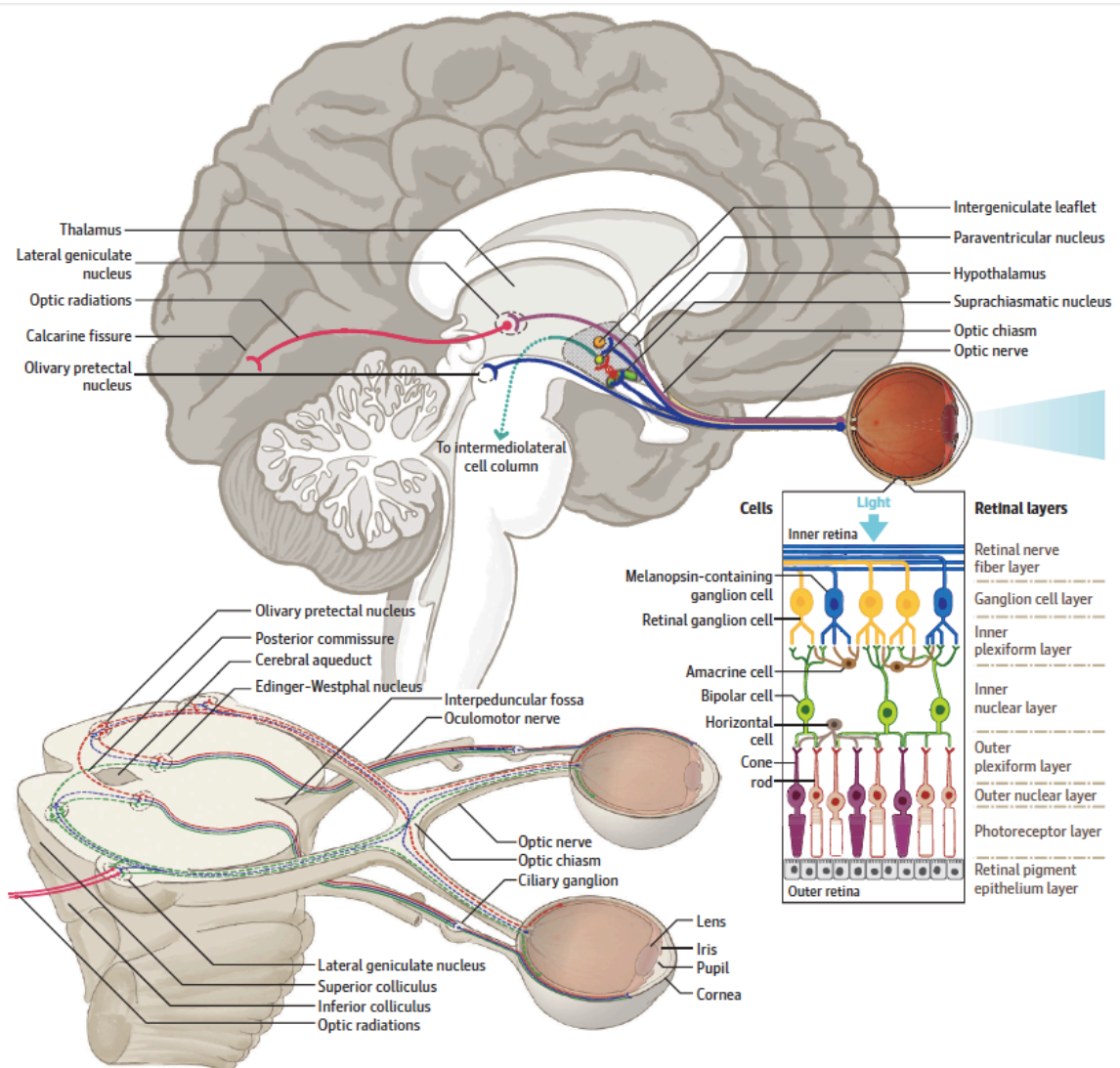
en el núcleo geniculado lateral (NGL). Recubriendo al nervio óptico se encuentra una funda de duramadre y aracnoides que se continúa con la que recubre el cerebro.

Por la descripción que acabamos de realizar, es fácil entender que el examen de la vía visual en general, y de la retina en concreto adquiere un peso cada vez más importante en el contexto de enfermedades neurodegenerativas como la EM, puesto que la retina es una parte del SNC, y de alguna forma, tanto a nivel estructural, molecular (receptores y neurotransmisores) como funcional guarda unos patrones similares a los observados en el resto del SNC. De esta forma se diferencia una organización en capas que agrupa los somas celulares (que representaría la SG), y por otro lado las interconexiones celulares o neuropilo a nivel de las capas plexiformes; así como la presencia de células de soporte o gliales (células de Müller, astrocitos y microglía). Por último, al igual que en el resto del SNC, se distinguen circuitos neuronales bien definidos, el más importante el circuito vertical formado por fotorreceptores → células bipolares → células ganglionares, que se modifica por circuitos horizontales constituidos por células amacrinas y horizontales que modulan las señales eléctricas.

La mayoría de las células ganglionares de la retina envían axones al NGL del tálamo por medio del nervio óptico, el quiasma óptico y la cintilla óptica. En un nivel rostral al tallo hipofisario, en el quiasma óptico, las fibras de la mitad nasal de cada retina se cruzan para entrar en la cintilla óptica contralateral, mientras que las fibras de la mitad temporal siguen por el mismo lado y entran en la cintilla óptica ipsilateral.

Los axones de las células ganglionares de la retina continúan como un haz compacto a partir del quiasma en sentido caudolateral (cintilla óptica), que termina en el NGL del tálamo. Del NGL parten axones a la corteza visual primaria o área 17 de Brodmann ipsilateral como un gran haz de fibras mielínicas conocido como las radiaciones ópticas. Desde el área 17 o V1 se establece conexión con áreas visuales de asociación (V2-5) y otras áreas asociativas cerebrales.





**Figura 4. Vía visual y eferencias de las células ganglionares.** Las células ganglionares de la retina envían axones a diversas zonas del diencefalo y el mesencéfalo. Entre sus destinos están el núcleo supraquiasmático, una región del hipotálamo que controla los ritmos diurnos; los núcleos óptico accesorio y pretectal olivar, que se encargan del reflejo fotomotor pupilar; y el tubérculo cuadrigémino superior (colículo superior), que contribuye a controlar los movimientos oculares e interviene en los denominados reflejos visuales. El tubérculo cuadrigémino superior, a su vez, proyecta al pulvinar, el mayor núcleo del tálamo. El pulvinar recibe fibras del tubérculo cuadrigémino superior, el área pretectal y la corteza visual, y envía información a las áreas asociativas visuales. Extraído de *Meltzer E et al. Retinal architecture and melanopsin-mediated pupillary response characteristics: A putative pathophysiologic signature for the retino-hypothalamic tract in multiple sclerosis. JAMA Neurol. 2017; 74(5): 574-82. Hutchins JB, Corbett JJ. Sistema visual. En: Haines DE. Principios de neurociencia. 2º ed. Barcelona: Elsevier; 2009. p. 303-322.*

## **2.1. Alteraciones de la vía visual aferente en la esclerosis múltiple**

### **2.1.1. Neuritis óptica**

La neuritis óptica (NO) es un término usado para definir una base fisiopatológica de inflamación nerviosa de etiología diversa (124, 125).

La NO se manifiesta clínicamente durante la evolución de la EM según series, desde el 50% (125, 126) hasta el 70% (127, 128) de los casos, siendo en el 15-25% (124-126, 128, 129) de los pacientes uno de los cuadros de presentación de EM. La incidencia de NO en el mundo varía de 0,94-2,18/100000 al año, existiendo una clara prevalencia unilateral (tan sólo el 10% son bilaterales) y femenina (2/3 de los pacientes) que puede variar según la etnia de la que se trate, tratándose de jóvenes (20-40 años) mayoritariamente (128, 129).

El *Optic Neuritis Treatment Trial* (ONTT) es un estudio prospectivo multicéntrico que permanece como referente en el estudio de este trastorno clínico y que proporciona en su mayor parte las bases de nuestro conocimiento acerca de la NO (130, 131).

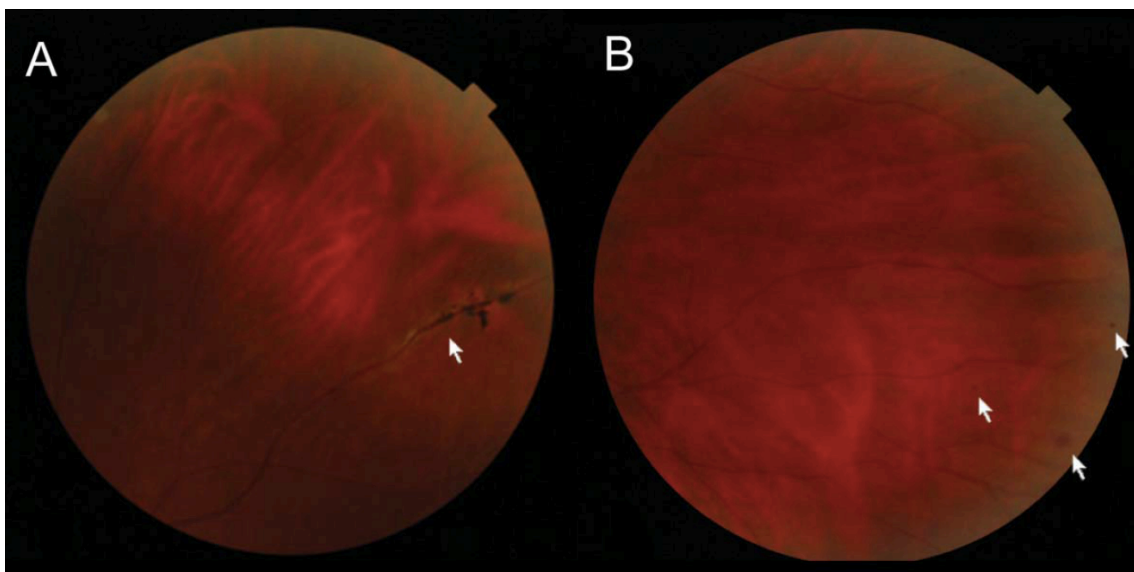
Típicamente la NO se presenta como una pérdida subaguda (horas/días) de visión monocular que raramente se prolonga más allá de 2 semanas y que mejora generalmente dentro del primer mes. Clásicamente se acompaña de dolor (92% de los casos) (129) con los movimientos del ojo que antecede en un par de días a la disminución de visión, con un defecto pupilar aferente relativo (DPAR) o pupila de Marcus-Gunn en el lado afecto, con alteración en la discriminación de los colores (clásicamente en el eje rojo-verde según la regla de Kollner) (132) y de la sensibilidad al contraste, así como afectación campimétrica variable. La disminución de visión puede variar desde mínima (10,5% de pacientes del ONTT tuvieron una agudeza visual de 20/20 o mejor) hasta la completa amaurosis (3,1% en el ONTT) (128, 130).

El fondo de ojo de los pacientes con NO puede presentar un disco óptico normal (neuritis retrobulbar, en 2/3 de los pacientes del ONTT. No obstante, actualmente el examen pupilar con OCT permite la identificación de un edema pupilar subclínico hasta en un 60% de los casos) o edematoso (papilitis, 1/3 de los pacientes del ONTT). La presencia de periflebitis retiniana (envainamiento perivenoso) incrementa el riesgo de conversión a EM en casos de CIS (128) y de severidad en el curso de la enfermedad (133, 134).

Los pacientes a menudo quieren saber el riesgo de desarrollar EM tras un episodio de NO. Comparado con otras formas de presentación de la enfermedad, los pacientes que presentan una NO tienen más probabilidad de tener una enfermedad monofásica que aquellos que presentan un evento desmielinizante en otra parte del SNC (14). El ONTT demostró que un paciente diagnosticado de NO tiene un riesgo del 50% de desarrollar EM en los siguientes 15 años posteriores al brote. Este riesgo se incrementa al 72% en aquellos pacientes con al menos una lesión desmielinizante en RM, y cae al 25% en aquellos que no presentan lesiones (135).

### 2.1.1. Periflebitis retiniana

Diversos autores de la década de 1940, describieron la presencia de periflebitis asociada a EM en el 10-39% de pacientes. La presencia de periflebitis retiniana (figura 5) se caracteriza por exudación perivascular, hemorragias y envainamiento venoso retiniano.

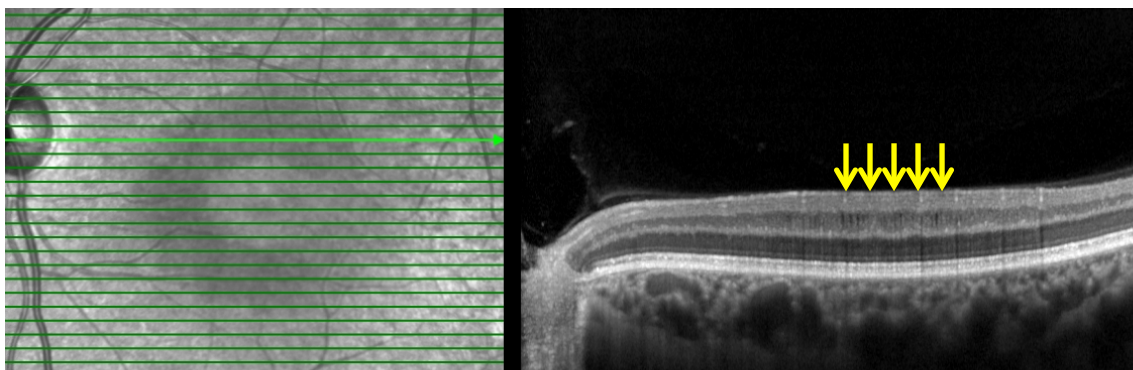


**Figura 5. Periflebitis retiniana.** (A) Se observa el envainamiento blanquecino vascular próximo a una zona de pigmento, probablemente residual tras la inflamación anterior del mismo vaso (flecha blanca). (B) Zona de periflebitis retiniana activa, observándose pequeñas hemorragias redondeadas en periferia media retiniana (flechas blancas). Extraído de *Ortiz-Pérez S et al. Retinal periphlebitis is associated with multiple sclerosis severity. Neurology 2013; 81(10): 877-81.*

Se ha descrito la correlación entre el envainamiento perivenoso y la progresiva discapacidad neurológica; por lo que la presencia de periflebitis retiniana puede servir de biomarcador de la enfermedad relacionándose su presencia con un curso más activo de la enfermedad (134). Por otra parte, la presencia de periflebitis retiniana y retinitis en áreas libres de mielina y oligodendrocitos cuestionan la patogénesis de este tipo de respuesta inflamatoria ocular en los pacientes de EM (136).

### 2.2.3. Edema macular microquístico

Descrito por Gelfand et al (137) recientemente, se ha observado gracias a los nuevos dispositivos de OCT de alta resolución un nuevo tipo de edema macular asociado (aunque no específico) (138) a la EM conocido como edema macular microquístico (EMM, figura 6) en 4,7% de pacientes sin historia previa de diabetes mellitus (DM), uveítis ni cualquier otra enfermedad retiniana que pueda justificarlo (139), que consiste en la formación de microquistes a nivel de la CNI de la mácula.



**Figura 6.** OCT macular de uno de los pacientes de EM de la Unidad Mixta de EM y Neuroregeneración del Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Se observa EMM (flechas amarillas), localizándose los microquistes como espacios hiporreflexivos a nivel de la CNI macular. El paciente no pertenece al grupo de voluntarios del presente trabajo de investigación.

En un primer momento, se consideró su asociación con la EM como parte de los mecanismos degenerativos de la enfermedad, concepto apoyado por la presencia del EMM en casos de EM con mayor discapacidad, menor agudeza visual y presencia de NO previa. Sin embargo, la observación de este tipo de alteración en ojos de pacientes de EM sin el antecedente de NO, e incluso en el contexto de otros trastornos, ha hecho que recientemente aumente el número de autores que lo consideran como una

maculopatía por degeneración retrógrada tras daño del nervio óptico que ocasiona rotura de la barrera hematorretiniana, activación de la microglía o alteración de la fisiología de las células de Müller, independientemente del desencadenante (127, 138). En cualquier caso, su presencia se relaciona con un incremento de la severidad de la EM (140).

#### **2.2.4. Uveítis**

La incidencia de uveítis (especialmente la intermedia) se presenta del 1-3% de los pacientes con EM, lo que supone una incidencia 10 veces mayor que la población general (139, 141).

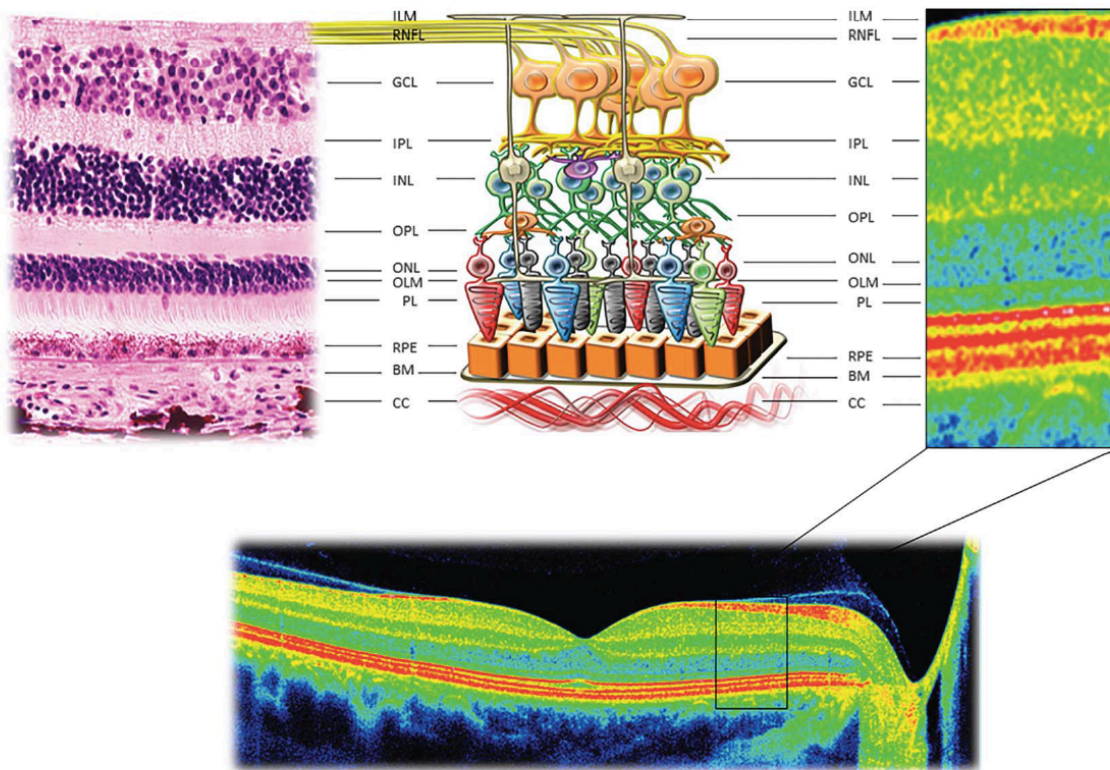
#### **2.2.5. Alteraciones de la vía visual retroquiasmática**

La desmielinización en la vía visual posterior puede cursar con disminución de visión que debe tratarse con corticoides iv en caso de tratarse de un brote de la enfermedad (129).

### **2.3. Tomografía de coherencia óptica**

La OCT es una prueba no invasiva, rápida y coste-efectiva, que ofrece imágenes de la retina y el disco óptico con una definición casi histológica, permitiendo realizar mediciones con una resolución de micras (142).

Aunque el detalle que pueda ofrecer la OCT sea equiparable al histológico (figura 7), no es el mismo puesto que cuando observamos una preparación histológica de un tejido como la retina, sometemos la muestra a diferentes alcoholes y cada una de las diferentes capas de la retina se engrosa o se reduce en función de la afinidad que tenga por los alcoholes utilizados. Sin embargo, con la OCT lo que medimos es reflectividad, por lo que si superponemos imagen histológica y corte tomográfico, los espesores de las diferentes capas de la retina son diferentes, al ser diferentes las técnicas de imagen.



**Figura 7. Correlación histología (izquierda) – OCT (derecha e inferior) de retina.** Se observa a la izquierda una sección histológica (Hematoxilina-Eosina) de retina humana, en el centro un dibujo esquemático de la composición celular de la retina humana, y a la derecha se observa el detalle de la OCT de retina (inferior). Se indican las capas que componen la retina. Extraído de *Galetta S et al. Acute optic neuritis: Unmet clinical needs and model for new therapies. Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm 2015; 2(4): e135.*

La retina es el tejido oftalmológico más utilizado hasta la fecha como modelo de neurodegeneración y neuroprotección, puesto que los cambios que se producen resultan principalmente del daño axonal ya que estos axones de las células ganglionares se mielinizan posterior a la lámina cribosa para formar el nervio óptico. Por ello sirve para entender los cambios patológicos que se producen a nivel neuronal y axonal en la EM (143). La pérdida axonal, en contraste con la desmielinización, es irreversible y por lo tanto es una importante causa de discapacidad sostenida (135). Aunque nos centraremos en la retina y el nervio óptico y su estudio mediante OCT, cabe comentar que otro tejido ocular utilizado para demostrar esta pérdida axonal es la córnea, publicándose una disminución de la longitud y densidad del plexo nervioso corneal mediante microscopia confocal, así como una mayor densidad de células dendríticas en pacientes con EM (144).

### 2.3.1. Aplicación clínica en neurooftalmología

Tras un episodio de NO se produce la inflamación de la CFNRp. En el caso de una NO se produce un edema que puede registrarse con OCT en el momento del episodio (135). La inflamación se resuelve generalmente en los siguientes 3 meses, y se acompaña de un adelgazamiento que continúa hasta los 7-12 meses, pero que es más prominente en los 6 primeros meses, por lo que a partir del sexto mes la medida de la CFNRp puede ser predictivo de la discapacidad visual y neurológica (por ejemplo, curso más agresivo de la enfermedad o una conversión temprana de CIS a EM) (135, 145). Se ha demostrado que este adelgazamiento guarda relación con otros parámetros de la función visual (agudeza visual de bajo contraste, sensibilidad al contraste, campo visual, visión cromática y potenciales evocados visuales (PEV)), lo que apoya su relevancia funcional (146, 147). No obstante, la degeneración temprana de las células ganglionares medida mediante OCT macular en las semanas siguientes a un episodio de NO puede utilizarse como factor predictivo de discapacidad (148).

El adelgazamiento que sigue al episodio de NO se sabe que resulta de la pérdida axonal por el daño inflamatorio desmielinizante, disminuyendo la CFNR en un rango de 5 a 40  $\mu\text{m}$  (pérdida media de 10-20  $\mu\text{m}$ ) (149). En el caso del complejo CCG-CPI se ha demostrado que el adelgazamiento es mayor en el primer mes, transcurriendo la mayor pérdida celular en el intervalo de los 3 primeros meses tras el brote de NO (150, 151). De hecho, un estudio reciente demuestra que una disminución superior a 4,5  $\mu\text{m}$  del grosor CCG+CPI tras un mes del episodio de NO, predice una disminución de sensibilidad al contraste a los 6 meses; mientras que la disminución superior a 7  $\mu\text{m}$  predice alteraciones campimétricas y cromáticas (147).

Sin embargo, se conoce que se produce una disminución de grosor de CFNR en ojos sin historia de NO (el análisis post-mortem de pacientes con EM demuestra que en el 94-99% de los casos se encuentran lesiones en nervio óptico, aún sin el antecedente de NO) (152). Para poder explicar estos hallazgos, una posibilidad es la existencia de episodios “subclínicos” de inflamación que no resulten en déficits inmediatamente evidentes para los pacientes (146). Otra posibilidad postula un proceso neurodegenerativo en el seno de la SB y más concretamente para el modelo visual, de la SG aparentemente normal (153), mientras que otra posibilidad apuesta por el fenómeno de degeneración transináptica asociada a lesiones localizadas a distancia en la vía visual (147), demostrado en el seguimiento longitudinal de pacientes una disminución de 2  $\mu\text{m}/\text{año}$

de la CFNRp (127, 135, 146) en comparación con los 0,2  $\mu\text{m}/\text{año}$  de los sujetos controles (17), siendo el adelgazamiento en el caso de la CCG-CPI de 0,5  $\mu\text{m}/\text{año}$  en enfermos de EM (154). En cualquier caso, la capacidad de detectar esta atrofia subclínica resulta más fácil mediante OCT a nivel ocular que mediante RM a nivel sistémico, especialmente en aquellos ojos sin antecedente de NO (146).

Aunque la pérdida axonal se produzca de manera difusa a nivel peripapilar, el cuadrante temporal suele ser el más afectado (con una disminución del grosor del 25-34%) y de manera más temprana (2 meses) lo que refleja la afectación predominante del HPM (127, 135, 155). Por ello, no es de extrañar que este adelgazamiento de CFNRp se haya relacionado con el grosor CCG+CPI macular, siendo este último un parámetro adicional para la monitorización neurooftalmológica de estos pacientes, al tratarse de un biomarcador del daño neuroaxonal (142, 146, 156). Además, se ha demostrado la superioridad de la diferencia inter-ojo de la CCG-CPI respecto a la diferencia inter-ojo de la CFNRp para la detección de NO subclínicas (sensibilidad: 68%-96% y 71%-73% respectivamente; especificidad: 77% y 65% respectivamente) (157, 158). En concreto, Nolan-Kenney et al. (157) encontraron que una diferencia inter-ojos de 4  $\mu\text{m}$  del grosor CCG-CPI es sugestivo de NO unilateral.

Por otra parte, el grosor CCG-CPI no se ve artefactado por el edema en episodios de NO, a diferencia del grosor de CFNRp (156). La distribución de las células ganglionares en la mácula es más regular y tiene menos variabilidad interindividual que la CFNRp, ligada a las variaciones anatómicas del disco óptico, con una excelente reproducibilidad y, por tanto, con una menor incidencia de falsos positivos (159). Además, se ha demostrado que el grosor CCG-CPI tiene un coeficiente de correlación intraclase intervisitas de hasta 0,99 (160, 161), demostrando superioridad en cuanto a fiabilidad y reproducibilidad respecto a la CFNRp.

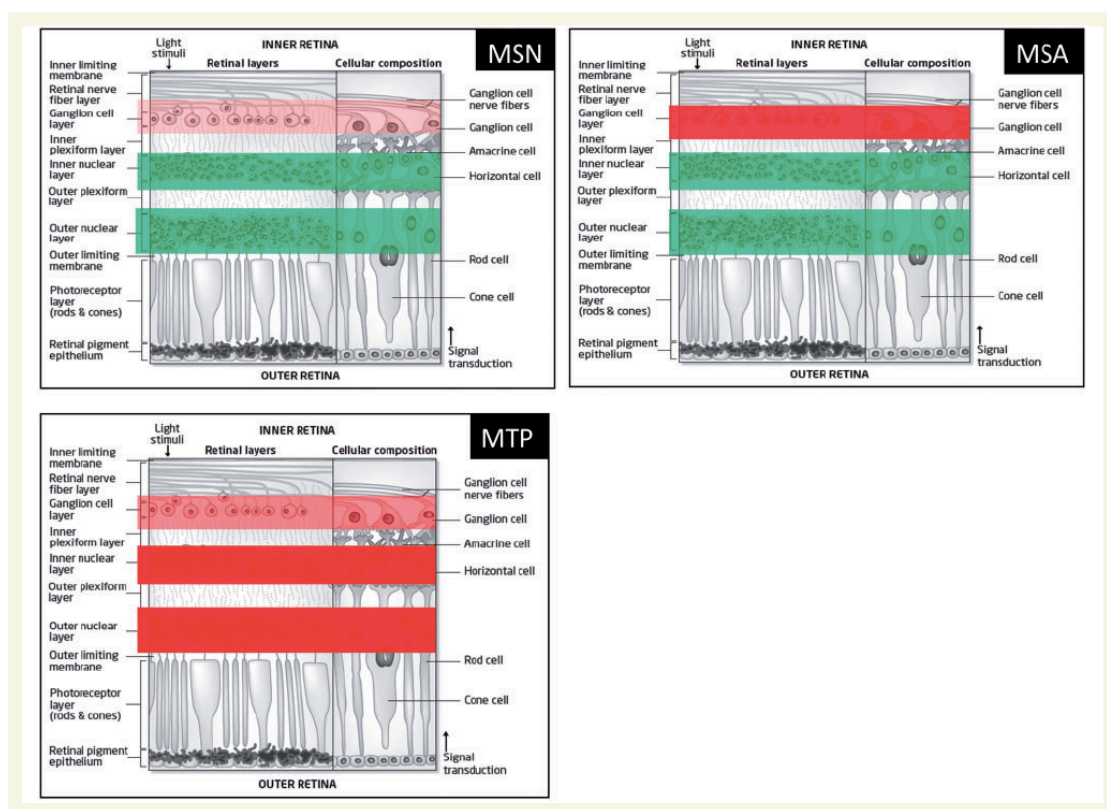
Las mejoras en los algoritmos de segmentación del OCT permiten medir por separado cada una de las capas de la retina, detectando qué grupo o grupos de células o fibras están afectados en cada caso. De esta forma se han estudiado otros biomarcadores como el engrosamiento de la CNI por EMM como marcador de inflamación descrito en un 5% de los ojos de pacientes de EM (162), o el engrosamiento pasajero de la CNE durante la fase aguda de NO (142, 156, 163, 164).

La segmentación macular ha permitido definir un nuevo fenotipo de pacientes con EM (figura 8), en los que se objetiva adelgazamiento macular, principalmente a expensas de las CNI y CNE. Este grupo de pacientes presentan un mayor deterioro neurológico, lo



que sugiere un daño neuronal primario y apoya hallazgos histológicos previos postmortem de pacientes con EM en los que además de la muerte axonal, se objetivaba muerte celular en varios niveles de la retina (neuronopatía retiniana primaria) (161).

La OCT-A permite un mejor estudio de la perfusión a nivel de la cabeza del nervio óptico lo que puede ayudar al mejor conocimiento de la fisiopatología de la EM. Las posibles razones que se han postulado por las que aparece la disminución de perfusión nerviosa son en primer lugar, la reducción del número de fibras nerviosas en la cabeza del nervio óptico, lo que significaría una menor actividad metabólica que por un mecanismo autorregulatorio produciría una disminución del flujo capilar. Una segunda hipótesis sería la que defiende la existencia de una disfunción vascular primaria como alteraciones endoteliales que ya han sido descritas en el cerebro de los pacientes con EM (165).



**Figura 8. Ilustración esquemática explicativa de los diferentes fenotipos de EM según OCT.** Las áreas rojas corresponden a diferentes grados de adelgazamiento, mientras que las áreas representadas en verde corresponden a grosores retinianos normales. La CCG está medianamente adelgazada en pacientes de EM a los que se les practica una OCT que resulta “normal” (MSN, *multiple sclerosis normal*); moderadamente adelgazada en el grupo MTP (*macular thinning predominant*, adelgazamiento macular predominante); y marcadamente adelgazada en pacientes en los que se obtiene una OCT anormal (MSA,

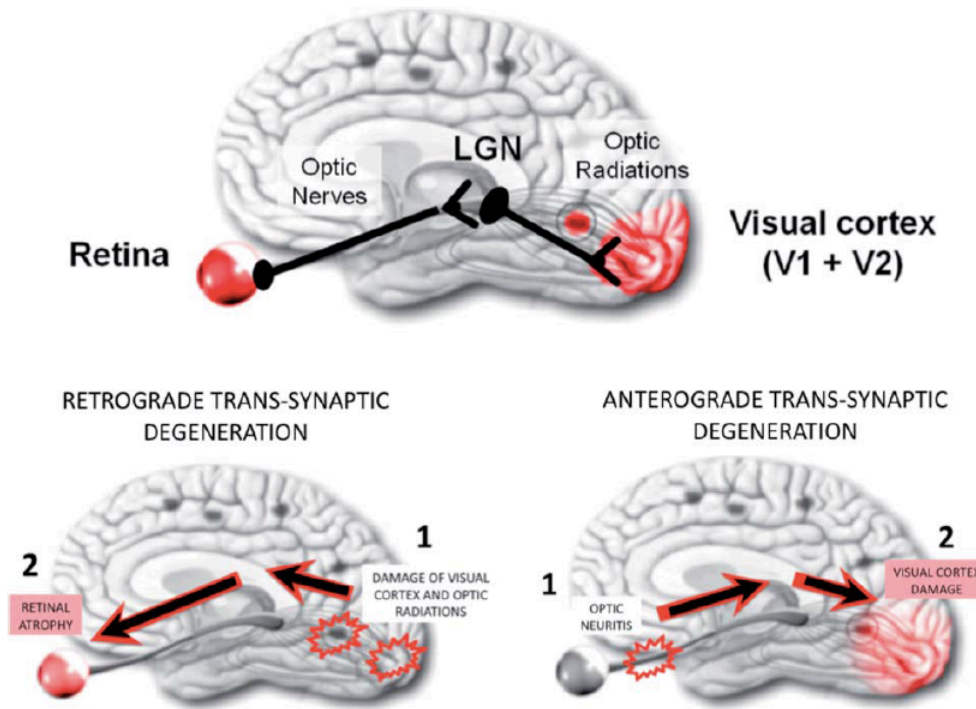
*multiple sclerosis abnormal*), principalmente debido al antecedente de NO. La CNI y la CNE presentan grosores normales en el grupo MSN y MSA, pero se encuentra marcadamente reducida en el grupo MTP. La ausencia de adelgazamiento en la CNI y CNE de los pacientes MSN y MSA, implica que el adelgazamiento de estas capas no es consecuencia de una NO (clínica o subclínica). Por tanto, el adelgazamiento de estas capas en el grupo MTP sugiere ser la consecuencia de un proceso retiniano primario. Extraído de *Saidha S et al. Primary retinal pathology in multiple sclerosis as detected by optical coherence tomography. Brain 2011; 134(Pt2): 518-33.*

No es de extrañar, por tanto, que la utilidad clínica de la OCT como complemento a la RM en la valoración de dichos pacientes todavía requiera una definición más precisa, (127, 142, 166) puesto que no puede predecir el riesgo de conversión a EM; no existe una correlación clara del adelgazamiento de la CFNR y la atrofia cerebral; no existe una tendencia claramente definida (lineal *versus* no lineal) en relación a la progresión de la CFNR (y demás capas de la retina) y los diferentes subtipos de EM (EMRR, EMPP, EMSP); y además, los parámetros obtenidos mediante OCT no se han correlacionado formalmente con parámetros de discapacidad neurológica (como EDSS o MSFC) (18, 146).

Por otra parte, la OCT cuenta con algunas limitaciones técnicas a tener en cuenta. De esta manera el grosor de la CFNR medido por OCT se puede ver limitado por la capacidad tecnológica del aparato, la presencia de vasos o la infiltración de la microglía como respuesta a una lesión, todo lo cual dificulta la comparación de resultados entre estudios (167). Además, se ha observado un “efecto suelo” que impide la valoración de la atrofia de la CFNRp <36  $\mu$ m (168).

Sin embargo, el papel de la OCT a nivel clínico y de investigación en neurooftalmología es prometedor (145, 154). Ha demostrado un adelgazamiento retiniano en pacientes con EM, siendo el fenómeno neurodegenerativo retiniano mayor en las fases iniciales y en aquellos casos con un grado alto de actividad inflamatoria sistémica (153, 169, 170), lo que demuestra que el adelgazamiento CFNRp refleja un proceso patológico que se extiende más allá del daño local en el nervio óptico (135), y que pone de manifiesto el fenómeno de degeneración axonal transináptica que fue experimentalmente evidenciado por primera vez por Van Buuren et al. en 1963 (171). Lógicamente, el proceso de neurodegeneración es bidireccional, donde la degeneración axonal anterógrada tiene lugar en la dirección de lo que se llama degeneración Walleriana (del axón hacia las terminaciones nerviosas), mientras que la degeneración axonal retrógrada se produce en lo que se llama degeneración por “*dying-back*” (del axón hacia el soma neuronal) (138).

Cabe puntualizar que el fenómeno de degeneración axonal se estudia en la vía visual sobre un modelo simplificado que esquemáticamente se resumen en célula ganglionar → NGL → corteza occipital, lo que explicaría por ejemplo, que en un principio no se altere la reactividad pupilar normal y no se asocie un DPAR al fenómeno de degeneración axonal retrógrada que pueda acompañar al daño occipital (172).



**Figura 9. La vía visual como modelo de estudio para la degeneración neuronal transináptica en la EM.** Extraído de *Gabilondo I et al. Trans-synaptic axonal degeneration in the visual pathway in multiple sclerosis. Ann Neurol. 2014; 75(1): 98-107.*

En relación al fenómeno de degeneración axonal, se ha constatado la propagación de la neurodegeneración por el fenómeno de degeneración transináptica anterógrada en la vía óptica (mediante la disminución de N-acetil-aspartato calculado por RM en el NGL en enfermos con antecedentes de NO) así como por el fenómeno de degeneración transináptica retrógrada (por la disminución del grosor de CFNR y de CCG-CPI en pacientes con lesiones en córtex visual) (figura 9) (127, 128, 142, 143, 145).

Se ha demostrado que la velocidad de la degeneración axonal retrógrada en la vía visual es mayor en los 2 primeros años posteriores al daño cortical (infarto, traumatismo, daño desmielinizante...) evidenciándose claramente mediante OCT al año del suceso y registrándose un adelgazamiento en la CFNR de 4,4  $\mu\text{m}/\text{año}$ . Estudios longitudinales

confirman que esta degeneración axonal progresa de manera continuada durante una década a menor ritmo (172).

Este fenómeno de degeneración transináptica por el que degeneran neuronas conectadas con la inicialmente dañada, resulta más difícilmente aplicable en otros sistemas neurológicos que no sean el visual, y puede resultar clave para entender los mecanismos que conducen a la discapacidad progresiva o a la atrofia cerebral en la EM. Por ejemplo, la atrofia talámica ocurre tempranamente y de manera desproporcionada en comparación con otras estructuras de la SG. La degeneración transináptica es un posible mecanismo que podría explicar la degeneración talámica temprana, dado que el tálamo es una estructura con un gran número de interconexiones. En cualquier caso, aún queda por conocer los mecanismos de este “efecto dominó” degenerativo o de si existe algún mecanismo compensatorio como “frenos degenerativos” en las primeras sinapsis (138) o la reorganización de las aferencias sinápticas mediante el fenómeno de neuroplasticidad. (173). Del mismo modo, queda por dilucidar el potencial efecto que pueden tener las NO subclínicas, las lesiones corticales, los mecanismos reparativos y otros potencialmente patológicos para los que nuestras técnicas resultan insensibles (174).

Además de permitir entender y monitorizar el proceso de degeneración neuronal, la OCT ofrece la posibilidad de evaluar diferentes tratamientos modificadores de la enfermedad (como por ejemplo, la detección de edema macular causado por el fingolimod y el siponimod) (162). Por último, la OCT destaca por su reproducibilidad, su sensibilidad para la detección de cambios estructurales retinianos y del nervio óptico, así como por permitir la integración de la información ofrecida por otras pruebas complementarias (de imagen, neurofisiológicas...) para entender la fisiopatología de la enfermedad (145).

Las manifestaciones oftalmológicas de diferentes enfermedades neurodegenerativas, además de ser clínicamente relevantes y suponer una importante causa de discapacidad para el paciente, pueden no solo ser clave en el diagnóstico (como el síndrome de Kearns-Sayre o el síndrome neuropatía, ataxia y retinitis pigmentosa), sino también potenciales marcadores de progresión de la enfermedad (175).

Aunque en todas ellas sucede la degeneración final de las células ganglionares, se tiende a buscar características propias de cada enfermedad. Por ejemplo, en la enfermedad de Parkinson se ha demostrado un aplanamiento de la fovea (176, 177) de los pacientes y

un aumento de la CNI (178) mediante el examen con OCT hipotetizándose que se trataría de un mecanismo fisiológico de compensación al déficit de dopamina liberada por la sustancia negra mesencefálica, así como la presencia de agregados de  $\alpha$ -sinucleína fosforilada (179) y cuerpos de Lewy (180) en las capas internas de la retina en estudios post-mortem. El siguiente objetivo es poder detectar estas proteínas anormales *in vivo*, objetivo que se está estudiando en la enfermedad de Alzheimer donde además de detectar una degeneración específica de las células ganglionares melanópsicas y de  $\beta$ -amiloide mediante inmunohistoquímica, (181) se ha podido demostrar la presencia *in vivo* del  $\beta$ -amiloide en la retina de los pacientes utilizando un marcador fluorescente (182, 183).

El nervio óptico y la retina proporcionan una oportunidad única para investigar procesos neurodegenerativos, puesto que están formados por axones y glía en ausencia de mielina, y los axones de las células ganglionares están separados de otras neuronas. Además, la estratificación de las neuronas retinianas en capas permite la observación de su morfología, bioquímica y biología molecular tras una agresión. De esta manera, cada vez toma más fuerza la idea de que su examen puede utilizarse como herramienta para evaluar la eficacia de diferentes agentes terapéuticos en ensayos clínicos, así como para el seguimiento clínico de los pacientes (175, 184).



## **JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**





## **1. Justificación**

La EM es una compleja enfermedad neurodegenerativa que se caracteriza por la lesión axonal en el SNC con una elevada prevalencia a nivel mundial, considerándose una de las principales causas de enfermedad en adultos jóvenes, teniendo por tanto un gran impacto socioeconómico (6).

Se trata de una enfermedad en la que coexisten inflamación y neurodegeneración desde el principio de manera independiente (185), considerándose el daño neuroaxonal la principal causa de discapacidad (186). El diagnóstico de la enfermedad es fundamentalmente clínico, sin existir ningún test diagnóstico específico. Con la finalidad de conseguir un diagnóstico temprano, así como una correcta monitorización de la progresión de la enfermedad y de su respuesta al tratamiento, se están estudiando diversos biomarcadores (187).

Se ha demostrado que el deterioro neuronal de los pacientes con EM puede ser observado y cuantificado a nivel macular y peripapilar fácilmente mediante OCT. Dada la frecuente afectación visual en estos pacientes, la vía óptica sirve de modelo para estudiar los fenómenos neurodegenerativos que coexisten desde el principio de la enfermedad con la inflamación. Por ello, la OCT se postula como una técnica de imagen del nervio óptico (CFNRp) y de la retina (OCT macular) cuyo valor como biomarcador asistencial y en el ámbito de la investigación en EM es cada vez mayor (188, 189).

## 2. Hipótesis

En este escenario las hipótesis que se plantean son las que siguen.

Nuestras hipótesis nulas son:

- **H<sub>01</sub>**: En la EM el daño estructural cuantificado a través de la OCT de nervio óptico y macular no se correlaciona con el daño estructural cuantificado a través de la RM cerebral y medular.
- **H<sub>02</sub>**: En la EM la dimensión cromática de la función visual medida a través del índice de confusión del color (CCI, *Colour Confusion Index*) no se correlaciona con el daño estructural cuantificado mediante OCT de nervio óptico y macular, ni con el daño estructural cuantificado mediante RM cerebral y medular.
- **H<sub>03</sub>**: En la EM la discapacidad clínica medida a través de la EDSS no se correlaciona con el daño estructural cuantificado mediante OCT de nervio óptico y macular, ni con el daño estructural cuantificado mediante RM cerebral y medular.

Las hipótesis alternativas son las siguientes:

- **H<sub>01</sub>**: En la EM el daño estructural cuantificado a través de la OCT de nervio óptico y macular se correlaciona con el daño estructural cuantificado a través de la RM cerebral y medular.
- **H<sub>02</sub>**: En la EM la dimensión cromática de la función visual medida a través del CCI se correlaciona con el daño estructural cuantificado mediante OCT de nervio óptico y macular, así como con el daño estructural cuantificado mediante RM cerebral y medular.
- **H<sub>03</sub>**: En la EM la discapacidad clínica medida a través de la EDSS se correlaciona con el daño estructural cuantificado mediante OCT de nervio óptico y macular, así como con el daño estructural cuantificado mediante RM cerebral y medular.

### **3. Objetivos**

Objetivo principal:

- 1- Estudiar la correlación entre los valores de OCT de nervio óptico y mácula con las volumetrías de RM cerebral y espinal acorde a la historia de NO y fenotipo de EM.

Objetivos secundarios:

- 2- Analizar los datos demográficos y las características clínicas de los pacientes de nuestra muestra acorde a la historia de NO.
- 3- Formular y validar un modelo de regresión lineal que permita predecir la discromatopsia a partir de marcadores clínicos y paraclínicos oftalmológicos y neurológicos.
- 4- Formular y validar un modelo de regresión ordinal que permita predecir la discapacidad a partir de marcadores clínicos y paraclínicos oftalmológicos y neurológicos.



## **MATERIAL Y MÉTODO**



## **1. Diseño del estudio**

Se trata de un estudio observacional, analítico y transversal de una serie de pacientes remitidos al servicio de oftalmología desde la Unidad Mixta de EM y Neuroregeneración del servicio de neurología del Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia desde octubre 2017 hasta mayo 2019. El estudio cumple con la aprobación del Comité de Ética de Investigación de dicho hospital.

## **2. Grupo de estudio**

Para formar parte del grupo de estudio, los pacientes de EM debían cumplir los siguientes criterios de inclusión y ninguno de exclusión (modificados estos últimos de (190)).

### **2.1. Criterios de inclusión**

1. Paciente con diagnóstico de EM siguiendo los criterios de McDonald 2010 (191).
2. Edad mayor de 18 años.
3. Haber leído la hoja de información al paciente (anexo 1) donde se explica detalladamente con nivel divulgativo las características del estudio, y haber firmado el documento del consentimiento informado (anexo 2) para participar en el estudio.

### **2.2. Criterios de exclusión**

1. Antecedentes de enfermedad neurológica (distinta de EM) o psiquiátrica.
2. Incapacidad para exploración mediante RM: reducción del filtrado renal (screening: filtrado glomerular  $< 45$  ml/min), historia de hipersensibilidad al Gd, claustrofobia.
3. Historia de NO en los 6 meses previos a la inclusión del estudio o tratamiento con esteroides sistémicos en los 30 días anteriores a la participación en el estudio.

4. Actividad clínica o radiológica (definida como la presencia de brotes, nuevas lesiones en T2, aumento del tamaño de las mismas o captación de Gd).
5. Antecedente quirúrgico ocular.
6. Cualquier causa diferente a la EM que pueda causar daño en retina o nervio óptico, como:
  - a) glaucoma o presión intraocular  $> 20$  mmHg (medido por tonometría de aplanación)
  - b) tratamientos actuales o pasados con fármacos que puedan causar neuropatía o retinopatía
  - c) DM o intolerancia a la glucosa ( $\geq 126$  mg/dl o  $\geq 200$  mg/dl tras test de tolerancia oral a la glucosa)
  - d) historia de abuso de sustancias en los últimos 5 años, incluyendo alcoholismo ( $> 40$  g/día en mujeres y  $>60$  g/día en hombres) y tabaco ( $> 20$  cigarrillos/día)
  - e) discromatopsia congénita.
7. Dificultades para la realización de la OCT como:
  - a) defecto refractivo  $>6$  dioptrías de miopía,  $>5$  dioptrías de hipermetropía o  $>3$  dioptrías de astigmatismo
  - b) dificultad para fijación
  - c) baja movilidad
  - d) opacidad corneal
  - e) catarata u opacidad cristaliniiana
  - f) drusas del nervio óptico.



### 3. Metodología y protocolo exploratorio

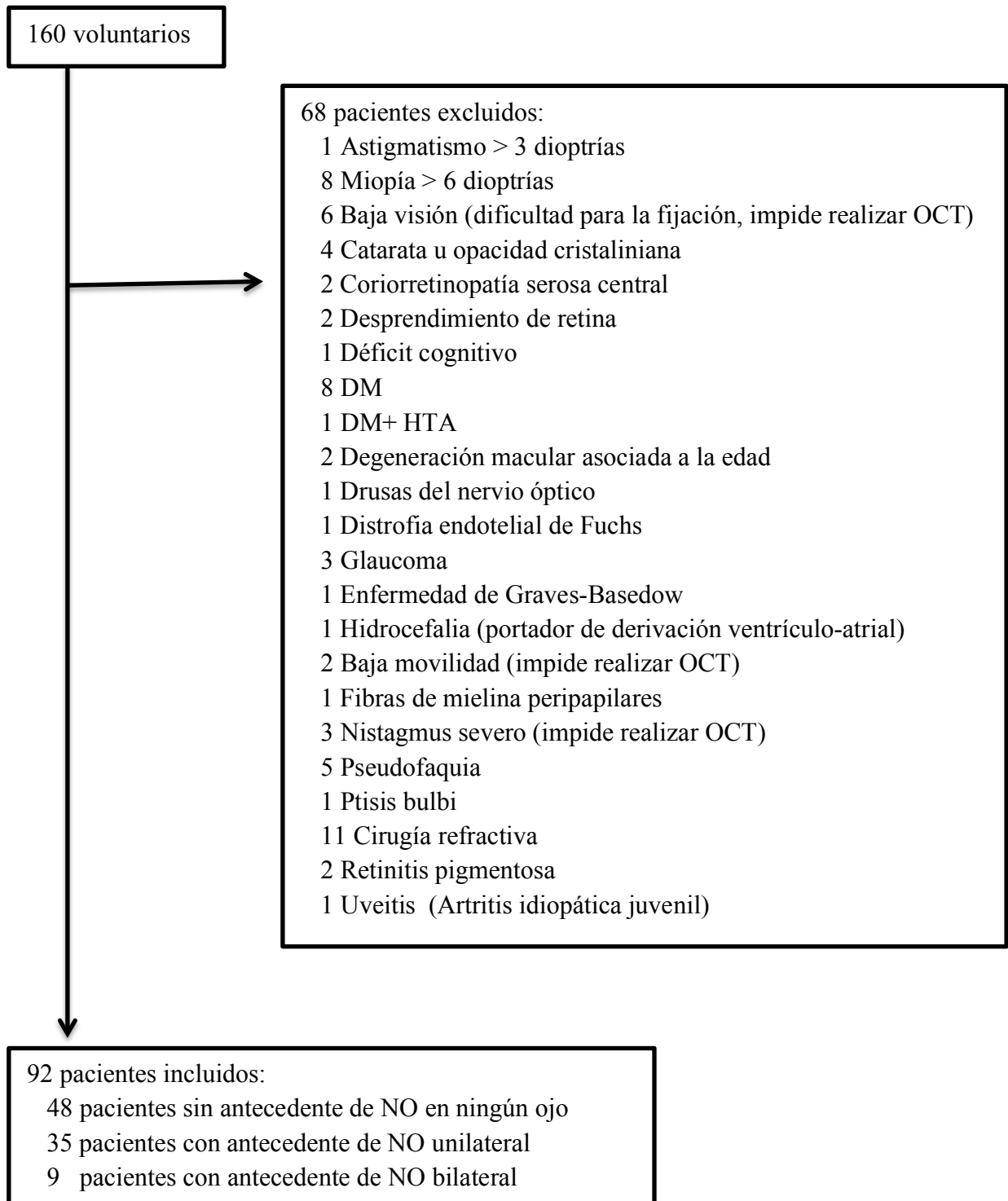
De los 160 voluntarios que firmaron el consentimiento informado, 92 fueron finalmente incluidos en el estudio al cumplir los criterios anteriormente descritos (figura 10).

De cada participante se recogieron los siguientes datos clínicos a través de los registros médicos informatizados (historia clínica de Orion Clinic<sup>®</sup>, Everis Health, Valencia, España): edad en el momento de la exploración (años), sexo, duración de la enfermedad (años), historia farmacológica de DMT, tipo de EM (EMRR, EMPP, EMSP), antecedente de NO y discapacidad (medida a través de la EDSS).

La historia farmacológica de los pacientes permitió clasificarlos acorde al uso de DMT, como fármacos de 1º línea (interferon (INF)  $\beta$ -1a (Rebif<sup>®</sup> 22/44, Avonex<sup>®</sup>), INF  $\beta$ -1b (Betaferon<sup>®</sup>), peg-INF  $\beta$ -1a (Plegridy<sup>®</sup>), teriflunomida, acetato de glatirámico, azatioprina y dimetil-fumarato) o de 2º línea (fingolimod, natalizumab, alemtuzumab, rituximab, trasplante de médula ósea, ciclofosfamida y ocrelizumab). La duración de la enfermedad se definió como el tiempo transcurrido desde la primera manifestación de la enfermedad hasta la inclusión en el estudio.

El antecedente de NO se determinó acorde a los síntomas definidos en el ONTT: dolor con los movimientos oculares, disminución de agudeza visual, discromatopsia y presencia de DPAR (192). Todos los casos fueron confirmados mediante RM orbitaria, OCT y/o PEV.

Además, cada participante fue valorado neurorradiológicamente (RM cerebral y espinal), mediante OCT (CFNRp y OCT macular) y mediante el test Farnsworth D-15. Los datos de imagen (RM y OCT), la valoración de la discapacidad y de la visión cromática del paciente se valoraron de forma prospectiva con un intervalo de tiempo menor a 3 meses entre exploraciones.



**Figura 10. Flujo de candidatos voluntarios para formar parte del estudio.** De los 92 pacientes incluidos para el análisis estadístico de los objetivos 1 y 2, se utilizaron los datos de 64 pacientes para el análisis estadístico del objetivo 3 y 4 (se excluyó a los 9 pacientes con antecedente de NO bilateral y a 19 pacientes sin RM espinal).

### 3.1. Visión cromática

La visión cromática se evaluó de forma monocular mediante el test de Farnsworth 15D (X-Rite, MI, USA), formado por una caja de 15 tabletas coloreadas (figura 11). Se le pidió al paciente que organizase las tabletas de forma secuencial y los errores se analizaron para definir la deficiencia del color basándose en el cálculo de la suma de las diferencias cromáticas de las pastillas adyacentes según el orden obtenido por el sujeto explorado.



**Figura 11. Test de Farnsworth D-15.** Extraído de <https://www.ebay.es/itm/Farnsworth-Munsell-D-15-Color-Vision-Test-With-Test-Sheet-Manual-/381792023044>.

Este test tiene una valoración tanto cualitativa como cuantitativa. La primera se basa en la disposición de los errores cometidos según los ejes representados en el diagrama (“protán”, “deután”, “tritán”; rojo, verde y azul respectivamente, existiendo la posibilidad de una discriminación cromática difusa y normal). La segunda se basa en el cálculo de la puntuación total de la diferencia del color (TCDS, *Total Colour Difference Score*) y del CCI definidos por Bowman K.J. et al (193); así como la puntuación total del error (TES, *Total Error Score*), el índice de selectividad (SI, *Selectivity Index*) y el índice de confusión (CI, *Confusion Index*) definidos por Vingrys y King-Smith (194) y obtenidos según el análisis de Török (<http://torok.info/colorvision/d15.htm>2013).

El TCDS es una información cuantitativa acerca del número y del tipo de transposiciones hechas por el examinado: a mayor TCDS mayor alteración, siendo normal un TCDS de 116,9. Este índice guarda una alta correlación con el TES, por la base matemática que subyace a ambos.

El CCI no es más que el cociente TCDS examinado/TCDS ideal. Un CCI igual a 1 sería normal, mientras que un CCI superior a 1 sería representativo de alteración.

El tipo de defecto cromático (eje rojo-verde, eje azul-amarillo, inespecífico) se clasifica según el análisis vectorial. Ángulos de confusión entre -25 y 25 se consideran defectos del eje rojo-verde. Ángulos de confusión entre -70 y -100 y entre 70 y 100 se consideran defectos del eje azul-amarillo. Los defectos que no corresponden con dichos ángulos se consideran inespecíficos.

El SI cuantifica el grado de polaridad, dispersión o aleatorización en el ordenamiento de las fichas, calculado como el cociente entre el radio mayor y menor. Es patológico cuando sus valores son mayores de 2.

El CI es la relación entre el radio mayor del paciente y el radio mayor de un ordenamiento perfecto, es decir, permite cuantificar la severidad de la confusión cromática. Este valor se correlaciona con el número de cruces y el TES. El valor 1 representa una visión perfecta del color, y los valores superiores a 1 indican alguna alteración del color, siendo más graves cuanto más elevado es el valor.

Los test se realizaron de forma monocular con la mejor visión corregida, a 50 cm de distancia y bajo condiciones de iluminancia C y 270 lux.

### **3.2. Tomografía de coherencia óptica**

Se usó una SD-OCT (Spectralis<sup>®</sup>, Heidelberg Engineering, Germany; Heidelberg Eye Explorer software version 6.3.1.0) para la valoración oftalmológica. El protocolo peripapilar consistió en un análisis circular del nervio óptico (escáner circular de 3,5 mm de diámetro centrado en la cabeza del nervio óptico con un ART (*automatic real-time tracking*) de 100 y 1536 A-scans por B-scans) con el N-Site Axonal Analytic software (versión 6.7) obteniendo el valor promedio del grosor ( $\mu\text{m}$ ) de la CFNRp y de sus sectores (nasal superior, NS; nasal, N; nasal inferior, NI; temporal inferior, TI; temporal, T; temporal superior, TS; y HPM).

Además, se llevó a cabo un protocolo macular consistente en 25 B-scans horizontales que analizaron un área macular de 7,5 mm x 7,5 mm con un ART de 9 y 512 A-scans por B-scans, utilizando la rejilla ETDRS de 1, 3 y 6 mm centrada en fovea. De esta manera se obtuvo el volumen ( $\text{mm}^3$ ) de la CCG, la CPI, la CNI, y la CNE en el área macular. Todos los cortes tomográficos debían cumplir los criterios OSCAR-IB (195, 196) y APOSTEL (197) para su posterior análisis en el estudio.

### 3.3. Resonancia Magnética

Se practicó una RM cerebral y medular usando un equipo de 3 Tesla (Philips Medical System, Best, The Netherlands).

En la RM cerebral se obtuvieron las siguientes secuencias: secuencia 3D ponderada en T1 a partir de cortes axiales (TE (tiempo de eco): 3 ms, TR (tiempo de repetición): 8 ms, cortes de 1 mm) y secuencia 3D T2-FLAIR (*Fluid Attenuated Inversion Recovery*) de la que se estudiaron cortes sagitales (TE: 2,6 ms, TR: 6000 ms, cortes de 1,1 mm). En la RM espinal se analizó la secuencia axial 3D post-Gd ponderada en T1 (TE: 2,6 ms; TR: 7,5 ms, cortes de 1 mm). En todos los casos el porcentaje de campo de visión fue 100%.

La atrofia cerebral medida a través del BPF (*Brain parenchymal fraction*), el volumen de cerebelo ( $\text{mm}^3$ ), el volumen de SG ( $\text{mm}^3$ , incluyendo SG cerebelosa, cortical y subcortical) y el volumen de SB ( $\text{mm}^3$ , incluyendo SB cerebelosa y cortical) fueron cuantificados mediante el programa *Freesurfer* versión 5.3 (<https://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>). El volumen espinal ( $\text{mm}^3$ , tomando como límites C1/C4) fue delimitado manualmente para su cuantificación.

Durante su análisis, todas las imágenes fueron valoradas cuidadosamente para la corrección de errores/artefactos.

## 4. Análisis estadístico

En primer lugar, se realizó la estadística descriptiva para caracterizar nuestra muestra y así tener una visión genérica de los individuos estudiados y sus características. En el caso de las variables cualitativas se presentan las frecuencias absolutas y relativas. Al analizar las variables de tipo cuantitativo son las medias, desviaciones estándar (DE) y rangos (mínimo y máximo) lo que se presenta.

En segundo lugar, se planteó la estadística inferencial para dar respuesta a los objetivos planteados y, por ende, a las hipótesis de investigación definidas en este estudio. Se tomó en todo el estudio inferencial un nivel de significación de 0,05, así, p-valores  $\leq 0,05$  para 2 colas se consideraron estadísticamente significativos.

La primera decisión que debemos tomar, para iniciar el estudio inferencial, al respecto de las variables cuantitativas, es determinar si se cumple la hipótesis de aplicabilidad de los test paramétricos, es decir, si los valores de cada variable siguen una distribución normal. Para realizar dicha comprobación se utilizó el test de Kolmogorov-Smirnov, y se concluyó el no cumplimiento de la hipótesis mencionada, por lo que se usaron test no paramétricos según las variables estudiadas, como el test de diferencias de proporciones (DP), que permite estudiar la diferencia de proporciones entre las categorías de una variable cualitativa o categórica; o el test U de Mann-Whitney (MW), que marca la posible diferencia entre variables cuantitativas.

Para el estudio de las correlaciones RM-OCT de los ojos con historia de NO y de los ojos sin historia de NO se formularon modelos lineales multivariantes de efectos mixtos, utilizados para controlar las interrelaciones inter-ojos de un mismo sujeto. En la formulación de dichos modelos, se tuvo en cuenta la edad, el género y la duración de la enfermedad (198). Además, se realizaron dichas correlaciones para toda la muestra independientemente del subtipo de enfermedad, y posteriormente diferenciando entre formas remitente recurrente (EMRR) y formas progresivas (EMP, que incluye EMPP y EMSP).

Además se calculó el tamaño del efecto mediante la eta cuadrado parcial ( $\eta^2$ ). La consideración del tamaño del efecto en el contexto de una prueba de hipótesis es una manera de controlar tanto el valor de  $\alpha$  (probabilidad de cometer un error de tipo I), como el valor de  $\beta$  (probabilidad de cometer un error de tipo II) (199). En nuestro

estudio valores  $\eta^2 \leq 0,04$  corresponden a un tamaño del efecto pequeño,  $\eta^2 = 0,25$  corresponden a un tamaño del efecto medio, mientras que valores  $\eta^2 \geq 0,64$  corresponden a un tamaño del efecto grande (200); aunque otros análisis estadísticos menos exigentes utilizan como puntos de corte 0,01, 0,06 y 0,14 respectivamente (201). Finalmente, para estudiar la predicción de las variables EDSS y CCI se diseñaron modelos estadísticos, de regresión ordinal para la primera y de regresión lineal para la segunda. En este caso, la muestra se redujo a 64 pacientes, por ser el número de pacientes de los que se tenían datos de todas las variables consideradas. Para la estadística de estos dos objetivos, se diferenciaron dos grupos: 50 individuos cuyos datos sirvieron para la formulación del modelo (“grupo de estudio”) y 14 individuos cuyos datos sirvieron para la validación del mismo (“grupo de validación”).

Además, siguiendo el ejemplo de otras publicaciones (190), y teniendo en cuenta el efecto de la NO sobre la función visual y los parámetros de OCT, los ojos con antecedente de NO fueron excluidos del análisis estadístico. De esta manera, en el caso de pacientes sin antecedente de NO en ningún ojo, se utilizó el valor medio de la variable oftalmológica teniendo en cuenta ambos ojos. En el caso de pacientes con NO unilateral, se incluyó en el análisis estadístico el valor del ojo adelfo.

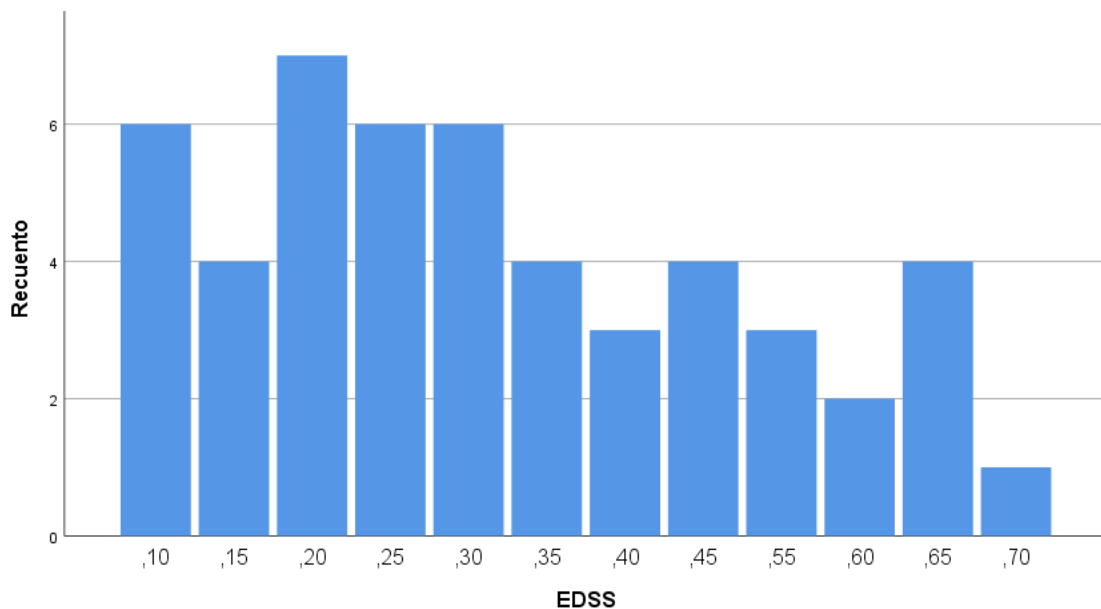
Del mismo modo, revisando la literatura (188, 202), se optó por no diferenciar entre los diferentes fenotipos de enfermedad para estos dos objetivos de la tesis, basándonos en la hipótesis de que las diferentes formas de enfermedad son la consecuencia de los mismos mecanismos (inflamación autoinmune, pérdida axonal, desmielinización y remielinización) en diferentes momentos y con distinta intensidad a lo largo del curso de la enfermedad.

Aquellas variables estadísticamente significativas fueron incluidas en los respectivos modelos, utilizando valores límite de referencia (máximo y mínimo) para dichas variables, con la finalidad de obtener resultados lógicos con un significado clínico real. Los valores máximos y mínimos se utilizaron para la tipificación de las variables incluidas en el modelo mediante la siguiente fórmula:  $\text{variable} = [\text{valor real} - \text{valor mínimo}] / [\text{máximo} - \text{mínimo}]$ . Mediante esta fórmula los coeficientes de las ecuaciones se modifican, de forma que todas las variables oscilan entre 0 y 1 (con excepción de las cualitativas) y por tanto los cambios en una variable cuantitativa se gradúan en décimas. Todo el estudio estadístico se realizó con el programa SPSS Statistics versión 24.0 (SPSS Inc, Armonk, NY:IBM, USA).

#### 4.1. Detalle de construcción del modelo de regresión ordinal para EDSS

En la formulación del modelo de discapacidad, se valoró la correlación de las variables clínicas y paraclínicas con la variable EDSS utilizando el coeficiente de correlación de Spearman para las variables cuantitativas y el test de la mediana para muestras independientes para las variables cualitativas. La EDSS es una escala ordinal que presenta ciertas características que deben tenerse en cuenta para su estadística, como su naturaleza no paramétrica debido a su distribución bimodal, ya que los pacientes se agrupan en torno a los estadios 1,0-3,0 y 6,0-7,0 (203, 204). Además, el tiempo en cada estadio de discapacidad no es el mismo, de manera que los pacientes tienden a permanecer más tiempo en los estadios 1, 2, 6 o 7 que en grados 3, 4 o 5 (205, 206).

Aunque en nuestra muestra la distribución de los valores de EDSS por frecuencia, refleja que las categorías más bajas tienen un mayor número de casos (figura 12), no se observan diferencias estadísticamente significativas en relación a la probabilidad de las diferentes categorías de EDSS (prueba de Chi-cuadrado  $p=0,662$ ). Por tanto, al realizar el modelo de regresión ordinal para la discapacidad, se aplicó la función de enlace logit:  $f(x) = \log(x/(1-x))$ .



**Figura 12. Histograma de frecuencias EDSS.** El valor de la EDSS se presenta tipificado en décimas para su utilización en el modelo de regresión ordinal.



El modelo se validó teniendo en cuenta la información de ajuste del modelo (prueba de Chi-cuadrado), la bondad de ajuste (Chi-cuadrado de Pearson y Chi-cuadrado basado en la devianza), así como el pseudo- $R^2$  (pruebas de Cox y Snell, prueba de Nagelkerke y prueba de McFadden).

#### **4.2. Detalle de construcción del modelo de regresión lineal para CCI**

En la formulación del modelo de visión cromática, la estadística inferencial fue calculada para la variable CCI utilizando logaritmos naturales como se ha hecho en otros trabajos (207). De esta manera, se valoró la correlación de las variables clínicas y paraclínicas con la variable log (CCI) utilizando el coeficiente de correlación de Spearman para las variables cuantitativas y el test ANOVA para las variables cualitativas.

La significación global del modelo de la discromatopsia se validó a través de la prueba de Omnibus y el procedimiento matemático a través de la bondad de ajuste (desvianza y el criterio de información de Aikake).



## RESULTADOS



# 1. Correlaciones RM-OCT

## 1.1. Influencia de la historia de NO en las características clínicas, neurorradiológicas y oftalmológicas

Se resume en la tabla 1 la estadística descriptiva de las características clínicas y neurológicas de los 92 pacientes. La tabla 2 presenta el estudio descriptivo para las características oftalmológicas de OCT de los 92 pacientes.

		Media (DE) / n (%) / Mediana (1°, 3° Q)		
		Rango		
		Pacientes sin historia NO = 48 (para médula espinal = 39)	Pacientes con historia NO = 44 (para médula espinal = 28)	p-valor
Edad (años)		43,958 (10,055)	43,772 (10,129)	0,885 (MW)
		20 - 69	25 - 64	
Tipo de EM	EMRR	25 (52,1%)	29 (65,9%)	0,239 (DP)
	EMPP	9 (18,8%)	0 (0%)	A
	EMSP	14 (29,2%)	15 (34,1%)	0,371 (DP)
Sexo	Hombre	14 (29,2%)	11 (25%)	0,123 (DP)
	Mujer	34 (70,8%)	33 (75%)	0,444 (DP)
Duración de la enfermedad (años)		13,458 (7,947)	15,659 (7,788)	0,222 (MW)
		0 - 30	4 - 34	
EDSS		3 (2, 4)	3 (2, 4,5)	0,642 (M)
		1 - 7	1 - 7	
DMT	1° línea	13 (27,1%)	12 (27,3%)	0,352 (DP)
	2° línea	35 (72,9%)	32 (72,7%)	0,337 (DP)
BPF (%)		70,489 (4,071)	69,799 (4,443)	0,381 (MW)
		58,51 - 79,138	60,234 - 78,51	
Cerebelo (mm <sup>3</sup> )		124433,702 (14402,96)	117165,961 (13028,028)	<b>0,008</b> (MW)
		90618,6 - 158230,8	92910,4 - 155552,3	
Sustancia gris total (mm <sup>3</sup> )		573372,784 (47991,441)	556374,745 (64237,385)	0,072 (MW)
		450856,306 - 702446,045	429062,573 - 687926,031	
Sustancia blanca (mm <sup>3</sup> )		434656,914 (57079,817)	419427,671 (64109,713)	0,205 (MW)
		309801,048 - 562956,388	275421,816 - 580148,117	
Médula espinal (mm <sup>3</sup> )		3744,719 (487,093)	3685,442 (717,832)	0,328 (MW)
		2758,679 - 5195,758	2621,928 - 5858,062	

**Tabla 1. Estadística descriptiva de las características clínicas y neurológicas.** A = no puede calcularse porque hay un 0. Resultados estadísticamente significativos ( $p \leq 0,05$ ) indicados en **negrita**. MW = test U de Mann-Whitney para muestras independientes; M = test de la mediana para muestras independientes; DP = test de la diferencia de proporciones.

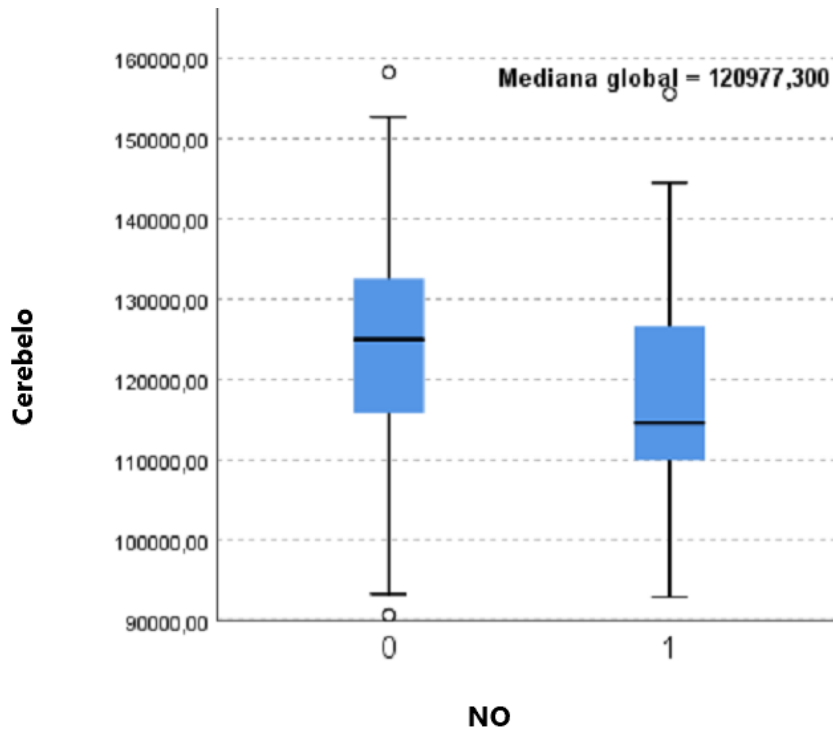


Figura 13. Diagrama de cajas comparando el volumen cerebeloso (mm<sup>3</sup>) según antecedente de NO (NO= 0, sin antecedente de NO; NO=1, con antecedente de NO).

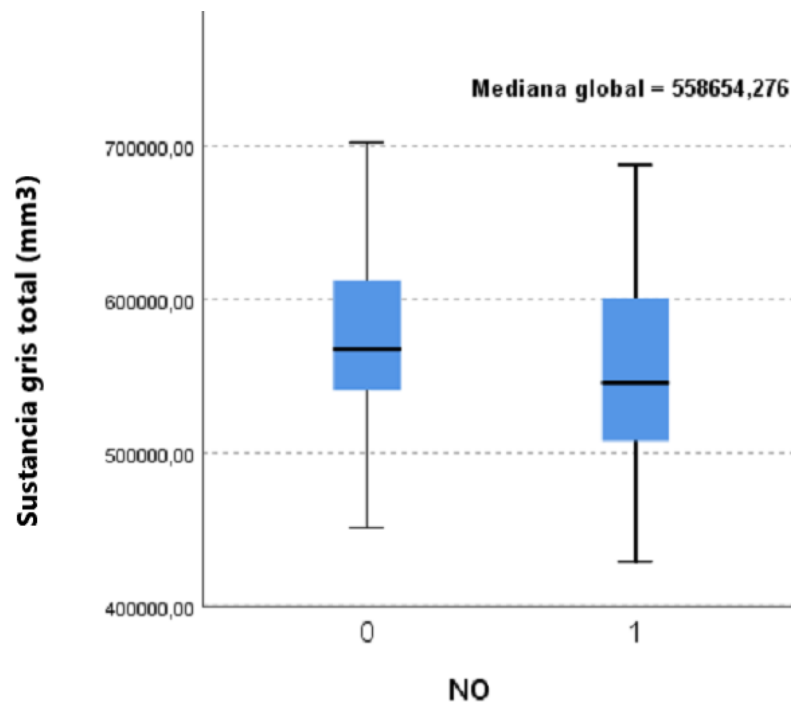


Figura 14. Diagrama de cajas comparando el volumen de sustancia gris total (mm<sup>3</sup>) según el antecedente de NO (NO= 0, sin antecedente de NO; NO=1, con antecedente de NO).

	Media (DE)		
	Rango		
	Ojos sin historia de NO = 131	Ojos con historia de NO = 53	p-valor
promedio CFNRp ( $\mu\text{m}$ )	94 (12)	75 (14)	<b>0,001</b> (MW)
	57 - 118	52 - 108	
SN-CFNRp ( $\mu\text{m}$ )	106 (22)	87 (20)	<b>0,001</b> (MW)
	52 - 172	48 - 147	
N-CFNRp ( $\mu\text{m}$ )	75 (13)	61 (14)	<b>0,001</b> (MW)
	40 - 108	36 - 92	
IN-CFNRp ( $\mu\text{m}$ )	114 (25)	96 (22)	<b>0,001</b> (MW)
	62 - 175	49 - 151	
IT-CFNRp ( $\mu\text{m}$ )	132 (22)	100 (25)	<b>0,001</b> (MW)
	59 - 174	57 - 157	
T-CFNRp ( $\mu\text{m}$ )	61 (12)	43 (13)	<b>0,001</b> (MW)
	27 - 93	25 - 80	
ST-CFNRp ( $\mu\text{m}$ )	132 (20)	105 (22)	<b>0,001</b> (MW)
	79 - 181	60 - 155	
HPM ( $\mu\text{m}$ )	46 (9)	33 (9)	<b>0,001</b> (MW)
	21 - 74	21 - 59	
CCG ( $\text{mm}^3$ )	1,026 (0,123)	0,83 (0,132)	<b>0,001</b> (MW)
	0,64 - 1,33	0,54 - 1,16	
CPI ( $\text{mm}^3$ )	0,865 (0,089)	0,736 (0,09)	<b>0,001</b> (MW)
	0,6 - 1,12	0,59 - 0,96	
CNI ( $\text{mm}^3$ )	0,994 (0,06)	1,021 (0,067)	<b>0,02</b> (MW)
	0,84 - 1,16	0,91 - 1,25	
CNE ( $\text{mm}^3$ )	1,701 (0,164)	1,727 (0,161)	0,306 (MW)
	1,37 - 2,28	1,36 - 2,25	

**Tabla 2. Estadística descriptiva de las características de OCT.** Resultados estadísticamente significativos ( $p \leq 0,05$ ) indicados en **negrita**. MW = test U de Mann-Whitney para muestras independientes.

Acorde al antecedente de NO no se observan diferencias clínicas ni demográficas estadísticamente significativas. Los ojos con historia de NO presentan un promedio de grosor en la CFNRp y sus sectores, CCG y CPI estadísticamente inferior; mientras que el volumen de la CNI (figura 15) es significativamente mayor comparado con ojos sin antecedente de NO. Por otra parte, el cerebelo (figura 13) es la única estructura de RM con un menor volumen estadísticamente significativo en pacientes con antecedente de NO, mientras que el total de sustancia gris (figura 14) presenta una tendencia ( $p = 0,072$ ) a menor volumen en pacientes con historia de NO.

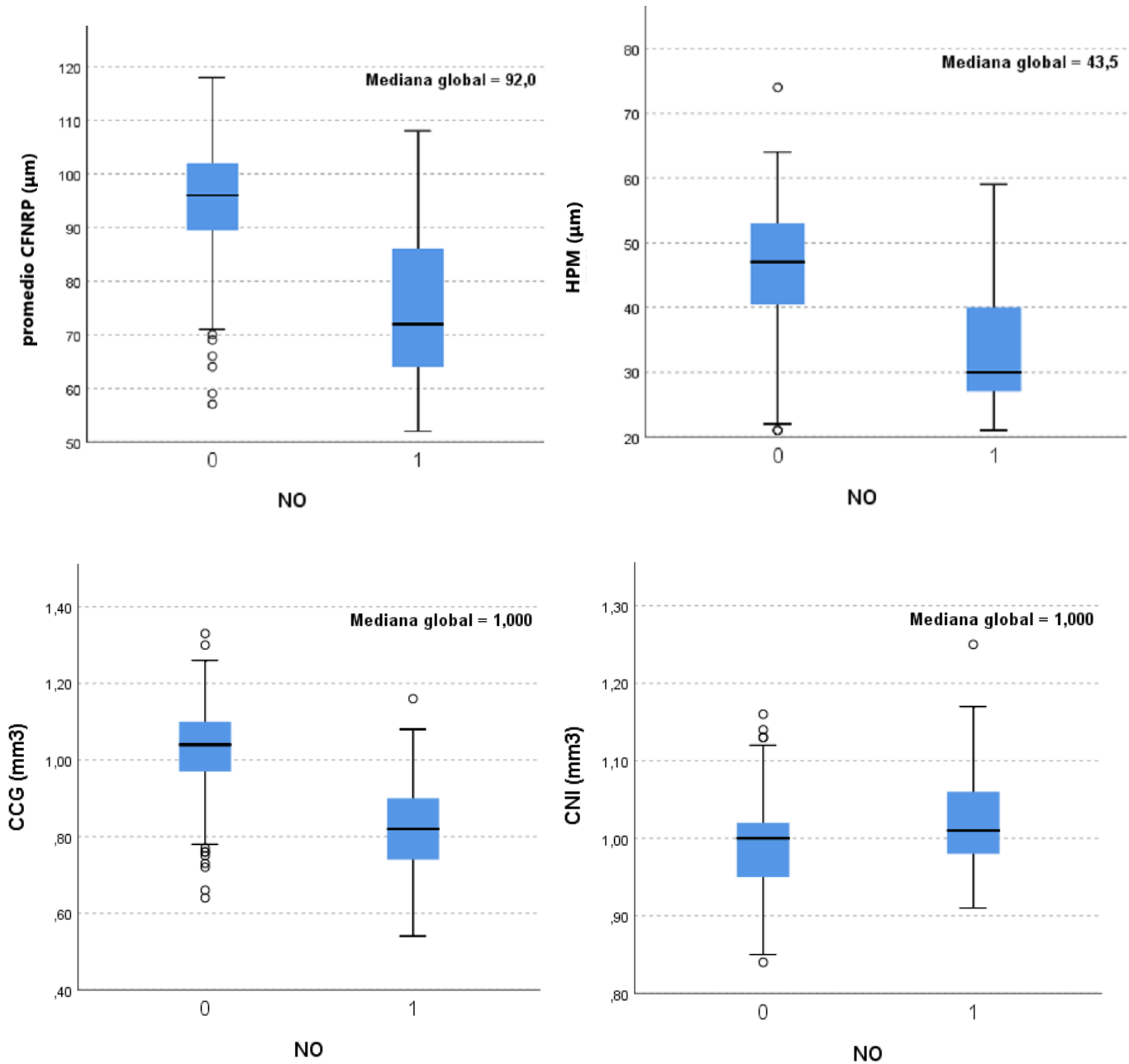


Figura 15. Diagrama de cajas comparando el grosor promedio de CFNRp ( $\mu\text{m}$ , superior izquierda), del HPM ( $\mu\text{m}$ , superior derecha) y el volumen de CCG ( $\text{mm}^3$ , inferior izquierda) y de la CNI ( $\text{mm}^3$ , inferior derecha) según el antecedente de NO (NO= 0, sin antecedente de NO; NO=1, con antecedente de NO).



## 1.2. Correlaciones RM-OCT de los ojos sin historia de NO.

Independientemente del tipo de enfermedad, en los ojos sin historia de NO (tabla 3) se muestra la correlación entre la médula espinal y el HPM ( $p= 0,032$ ,  $\eta^2= 0,144$ ), la CCG ( $p= 0,03$ ,  $\eta^2= 0,147$ ) y la CPI ( $p= 0,028$ ,  $\eta^2=0,151$ ).

En los ojos de los pacientes diagnosticados de EMRR sin historia de NO, esta correlación OCT-RM se muestra como una tendencia estadística a la significación sin alcanzarla, en relación al HPM ( $p= 0,085$ ) y la CCG ( $p= 0,051$ ), mientras que mantiene la significación estadística con la CPI ( $p= 0,03$ ,  $\eta^2= 0,39$ ). En este último grupo de pacientes, el volumen de la médula espinal tiende a la significación estadística sin alcanzarla en relación con el sector T-CFNRp ( $p= 0,067$ ). El volumen de SB en este grupo de pacientes tampoco alcanza la significación estadística al correlacionarlo con el sector SN-CFNRp ( $p= 0,056$ ). El parámetro BPF en los ojos de los pacientes EMRR sin historia de NO correlaciona con el sector N-CFNRp ( $p= 0,035$ ,  $\eta^2= 0,374$ ).

Las correlaciones establecidas con los ojos de pacientes diagnosticados de la forma EMP sin antecedente de NO, muestran una relación inversa entre la CNI y el BPF ( $p= 0,029$ ,  $\eta^2= 0,363$ ), mientras que con el total de SG no alcanza la significación estadística ( $p= 0,051$ ). El volumen cerebeloso correlaciona con las capas internas de la retina (CCG  $p= 0,007$ ,  $\eta^2= 0,496$ ; CPI  $p= 0,012$ ,  $\eta^2= 0,45$ ; e inversamente con la CNI  $p= 0,015$ ,  $\eta^2= 0,428$ ), mientras que muestra una tendencia estadísticamente significativa con el sector IT-CFNRp ( $p= 0,057$ ) y con el HPM ( $p= 0,053$ ).

Todos los ojos sin historia de NO (n= 131, excepto para médula espinal (n=103))													
	Promedio CFNRp	SN CFNRp	N CFNRp	IN CFNRp	IT CFNRp	T CFNRp	ST CFNRp	HPM	CCG	CPI	CNI	CNE	
BPF	0,654	0,561*	0,305	0,729	0,471*	0,115*	0,430*	0,163*	0,313*	0,269*	0,257*	0,310*	
Médula espinal	0,086	0,458	0,068	0,292	0,128	0,072	0,651	<b>0,032</b> (0,144)	<b>0,030</b> (0,147)	<b>0,028</b> (0,151)	0,734	0,847	
Cerebelo	0,535	0,222	0,790	0,757	0,663	0,429	0,389	0,323	0,124	0,167	0,263	0,436	
Sustancia gris total	0,807*	0,451	0,449	0,884*	0,847	0,677*	0,404	0,656*	0,916	0,651	0,77*	0,747*	
Sustancia blanca	0,542	0,319	0,975	0,471	0,898	0,905	0,359	0,616*	0,680*	0,719*	0,487	0,851	
Ojos EMRR sin historia de NO (n= 73, excepto para médula espinal (n= 55))													
BPF	0,057	0,883	<b>0,035</b> (0,374)	0,357	0,076	0,323	0,068	0,421	0,141	0,138	0,743	0,685*	
Médula espinal	0,355	0,427*	0,255	0,477*	0,141	0,067	0,286	0,085	0,051	<b>0,03</b> (0,39)	0,461*	0,244	
Cerebelo	0,820	0,556	0,779	0,759	0,428	0,511	0,242	0,597	0,828	0,924	0,706*	0,707	
Sustancia gris total	0,803*	0,113	0,963	0,756	0,677	0,690	0,886	0,920	0,899	0,749	0,581	0,540*	
Sustancia blanca	0,778	0,056	0,747*	0,481	0,799	0,510*	0,683	0,472*	0,409*	0,311*	0,906	0,548	
Ojos EMP sin historia de NO (n= 58, excepto para médula espinal (n= 48))													
BPF	0,402*	0,855*	0,688*	0,461*	0,301*	0,562*	0,559*	0,571*	0,211*	0,184*	<b>0,029*</b> (0,363)	0,482*	
Médula espinal	0,175	0,278	0,402	0,113	0,363	0,615	0,662	0,597	0,318	0,362	0,137	0,844	
Cerebelo	0,112	0,501	0,165	0,543	0,057	0,138	0,515	0,053	<b>0,007</b> (0,496)	<b>0,012</b> (0,45)	<b>0,015*</b> (0,428)	0,908	
Sustancia gris total	0,241	0,681	0,987	0,352	0,234	0,263	0,235	0,241	0,302*	0,559*	0,051*	0,628	
Sustancia blanca	0,755	0,829	0,745	0,356	0,776	0,593*	0,674	0,318*	0,769*	0,814*	0,096	0,974	

**Tabla 3. Correlaciones entre parámetros de RM y OCT de ojos sin historia de NO.** P-valores (en **negrita**  $p \leq 0,05$ ) generados a partir de modelos de regresión lineal

multivariable de efectos mixtos, ajustados por edad, género y duración de la enfermedad. El asterisco (\*) indica relación inversa. Se indica entre paréntesis los valores de  $\eta^2$  si  $p \leq 0,05$ .

### 1.3. Correlaciones RM-OCT de los ojos con historia de NO

Independientemente del fenotipo de la enfermedad, las correlaciones de los ojos con historia de NO (tabla 4) se establecen principalmente con la médula espinal (promedio CFNRp  $p=0,035$ ,  $\eta^2=0,213$ ; N-CFNRp  $p=0,004$ ,  $\eta^2=0,36$ ; IN-CFNRp  $p=0,0001$ ,  $\eta^2=0,484$ ) y con la SB (IT-CFNRp  $p=0,03$ ,  $\eta^2=0,224$ ; CCG  $p=0,015$ ,  $\eta^2=0,275$ ; CPI  $p=0,006$ ,  $\eta^2=0,332$ ).

En los ojos de pacientes diagnosticados de EMRR con historia de NO, la médula espinal mantiene la asociación estadísticamente significativa con el sector N-CFNRp ( $p=0,034$ ,  $\eta^2=0,348$ ) y con el sector IN-CFNRp ( $p=0,013$ ,  $\eta^2=0,441$ ). Además, el sector IT-CFNRp correlaciona con el BPF ( $p=0,012$ ,  $\eta^2=0,449$ ), con la SG total ( $p=0,044$ ,  $\eta^2=0,32$ ) y con la SB ( $p=0,021$ ,  $\eta^2=0,399$ ). El total de SG correlaciona con la CCG ( $p=0,023$ ,  $\eta^2=0,387$ ) y con la CPI ( $p=0,034$ ,  $\eta^2=0,347$ ), mostrando una tendencia inversa a la significación estadística con la CNI ( $p=0,063$ ); mientras la SB se correlaciona con la CCG ( $p=0,004$ ,  $\eta^2=0,547$ ) y con la CPI ( $p=0,009$ ,  $\eta^2=0,48$ ).

Todos los ojos con historia de NO (n= 53, excepto para la médula espinal (n= 31))													
	Promedio CFNRP	SN CFNRP	N CFNRP	IN CFNRP	IT CFNRP	T CFNRP	ST CFNRP	HPM	CCG	CPI	CNI	CNE	
BPF	0,398*	0,507*	0,448*	0,740*	0,143*	0,629	0,518	0,578	0,994	0,923	0,382*	0,447*	
Médula espinal	<b>0,035</b> (0,213)	0,170	<b>0,004</b> (0,36)	<b>0,0001</b> (0,484)	0,862	0,995	0,692	0,759	0,629	0,547	0,204*	0,693	
Cerebelo	0,601	0,132	0,597	0,781	0,091	0,577	0,423	0,905	0,541	0,387	0,772	0,085	
Sustancia gris total	0,345*	0,869	0,144	0,772	0,284	0,798	0,786*	0,664	0,163	0,068	0,205*	0,626*	
Sustancia blanca	0,056	0,198	0,065	0,720*	<b>0,03</b> (0,224)	0,399	0,109	0,862	<b>0,015</b> (0,275)	<b>0,006</b> (0,332)	0,265	0,415*	
Ojos EMRR con historia de NO (n= 35, excepto para médula espinal (n= 23))													
BPF	0,178	0,277*	0,591*	0,834	<b>0,012</b> (0,449)	0,421	0,447	0,609	0,103	0,295	0,170*	0,443*	
Médula espinal	0,103	0,209	<b>0,034</b> (0,348)	<b>0,013</b> (0,441)	0,935	0,938	0,816	0,642	0,859	0,886	0,092*	0,952*	
Cerebelo	0,495	0,174	0,449	0,770	0,099	0,722	0,344	0,850	0,190	0,175	0,693	0,378	
Sustancia gris total	0,304	0,680	0,529	0,671	<b>0,044</b> (0,32)	0,323	0,664	0,814	<b>0,023</b> (0,387)	<b>0,034</b> (0,347)	0,063*	0,659*	
Sustancia blanca	0,087	0,128	0,229	0,316	<b>0,021</b> (0,399)	0,337	0,061	0,950	<b>0,004</b> (0,547)	<b>0,009</b> (0,48)	0,162	0,758*	

**Tabla 4. Correlaciones entre parámetros de RM y OCT de ojos con historia de NO.** P-valores (en **negrita**  $p \leq 0,05$ ) generados a partir de modelos de regresión lineal multivariantes de efectos mixtos, ajustados por edad, género y duración de la enfermedad. El asterisco (\*) indica relación inversa. Se indica entre paréntesis los valores de  $\eta^2$  si  $p \leq 0,05$ . No se puede calcular el subgrupo de ojos EMP con historia de NO por insuficiente muestra.

## 2. Resultados de los modelos predictivos

La tabla 5 presenta la estadística descriptiva de dichos grupos para las características clínicas y neurorradiológicas, la tabla 6 resume las características oftalmológicas cuantitativas, mientras que la tabla 7 presenta las características oftalmológicas cualitativas.

		Media (DE) / n (%) / Mediana (1°, 3° Q)	
		Rango	
Variables [Máximo-mínimo]		Grupo de estudio (N = 50 pacientes)	Grupo de validación (N = 14 pacientes)
Edad [0-100 años]		45,16 (10,659)	40,3571 (8,967)
		20 - 69	25 - 61
Sexo	Hombre	9 (18%)	6 (42,9%)
	Mujer	41 (82%)	8 (57,1%)
Historia de NO	Sin historia de NO	33 (66%)	6 (42,86%)
	Historia unilateral	17 (34%)	8 (57,14%)
Duración de la enfermedad [0 – 100 años]		15,52 (8,207)	11,714 (5,837)
		2 - 32	3 - 24
EDSS [0 – 10]		3 (2, 4,5)	3,75 (2,75, 4,5)
		1 - 7	1,5 - 6
BPF [0 – 100 %]		70,498 (3,873)	69,11 (5,7)
		60,234 – 78,224	58,51 – 78,51
Volumen médula espinal [2000 – 6500 mm <sup>3</sup> ]		3704,553 (530,391)	3884,356 (785,462)
		2621,928 – 5211,542	2758,679 – 5858,062
DMT	1° línea	14 (28%)	4 (28,6%)
	2° línea	36 (72%)	10 (71,4%)

**Tabla 5. Estadística descriptiva de las características clínicas y neurorradiológicas.** Incluidos entre corchetes están los valores máximos y mínimos fijados para las variables incluidas en la formulación del modelo.

Se observa que el perfil clínico del paciente utilizado para el diseño de los modelos predictivos es el de una mujer a principios-mediados de la quinta década de su vida, con una duración media de enfermedad de más de 10 años, y con capacidad de deambulación pese a presentar un grado de discapacidad leve-moderado. En la mayor parte de casos, se trata de una paciente que tiene historia farmacológica de DMT de segunda línea.

	Media (DE) / n (%) / Mediana (1°, 3° Q)	
	Rango	
VARIABLES [Máximo – mínimo]	Grupo de estudio (N = 50 pacientes)	Grupo de validación (N = 14 pacientes)
Promedio-CFNRp (μm)	94,54 (12,517)	96,071 (9,154)
	58 - 115	76 – 108,5
CCG	35,923 (4,259)	36,959 (5,143)
[0 – 100 μm]	22,989 – 43,502	27,587 – 46,509
CPI (μm)	30,331 (2,922)	31,174 (3,865)
	21,574 – 35,545	24,05 – 39,435
CNI (μm)	34,929 (2,068)	35,797 (2,284)
	29,886 – 39,966	32,892 – 40,142
CNE (μm)	59,008 (6,191)	64,635 (5,243)
	48,454 – 80,639	53,052 – 71,797
CCI	1,156 (0,188)	1,241 (0,355)
[1 – (>1)]	1 – 1,82	1 – 2,315
SI	1,584 (0,284)	1,634 (0,322)
	1,08 – 2,51	1,35 – 2,39
CI	1,244 (0,3)	1,385 (0,583)
	1 – 2,155	1 – 3,12

**Tabla 6. Estadística descriptiva de las características oftalmológicas cuantitativas.** Incluidos entre corchetes están los valores máximos y mínimos fijados para las variables incluidas en la formulación de los modelos.

	N (%)	
	Grupo de estudio (N = 100 ojos)	Grupo de validación (N = 28 ojos)
Discriminación cromática normal	86 (86%)	23 (82,1429%)
Error de discriminación cromática difuso	11 (11%)	5 (17,8571%)
Protanomalia o protanopia	0 (0%)	0 (0%)
Deuteranomalia o deuteranopia	0 (0%)	0 (0%)
Tritanomalia o tritanopia	3 (3%)	0 (%)

**Tabla 7. Estadística descriptiva de las características oftalmológicas cualitativas.**

En relación a los valores oftalmológicos cuantitativos, se observa que se trata de pacientes con grosores maculares y peripapilares conservados puesto que se utilizaron valores tomográficos de ojos sin antecedente de NO para la formulación del modelo. Del mismo modo, y en relación a los valores de discriminación cromática, se observa que se trata de pacientes con una baja severidad para la confusión cromática, con valores de CCI y CI próximos a la normalidad, así como con un bajo grado de dispersión o aleatorización en el ordenamiento de las fichas (SI inferior a 2). Por último, destaca el bajo número de trasposiciones realizadas durante la prueba y la normal discriminación cromática en la mayoría de pacientes.

## 2.1. Modelo de discromatopsia

Tal y como se mencionó en el apartado de “Análisis estadístico” únicamente aquellas variables que guardan una relación estadísticamente significativa ( $p \leq 0,05$ ) con  $\log(\text{CCI})$  fueron incluidas en el modelo predictivo de discromatopsia (tabla 8). Dada la colinealidad entre la CCG, el promedio de la CFNRp y la EDSS, se decidió incluir en el modelo la variable CCG por su mayor reproducibilidad y menor afectación por artefactos que la CFNRp (208, 209), y por su mayor relación con la afectación visual (210).

	Log CCI
Promedio CFNRp ( $\mu\text{m}$ )	$r = -0,322$ $p = \mathbf{0,009}$ (S)
CCG ( $\mu\text{m}$ )	$r = -0,321$ $p = \mathbf{0,01}$ (S)
BPF	$r = -0,287$ $p = \mathbf{0,021}$ (S)
Volumen médula espinal ( $\text{mm}^3$ )	$r = -0,33$ $p = \mathbf{0,008}$ (S)
Edad (años)	$r = 0,417$ $p = \mathbf{0,001}$ (S)
Duración de la enfermedad (años)	$r = 0,371$ $p = \mathbf{0,003}$ (S)
EDSS	$r = 0,44$ $p = \mathbf{0,001}$ (S)
CPI ( $\mu\text{m}$ )	$r = -0,237$ $p = 0,06$ (S)
CNI ( $\mu\text{m}$ )	$r = 0,45$ $p = 0,722$ (S)
CNE ( $\mu\text{m}$ )	$r = 0,184$ $p = 0,145$ (S)
sexo	$p = 0,701$ (A)
DMT	$p = 0,116$ (A)

**Tabla 8. Correlaciones de las variables clínicas, neurorradiológicas y de OCT con  $\log$  CCI. En negrita  $p \leq 0,05$ . S = Rho de Spearman; A = ANOVA.**

Las siguientes figuras representan gráficamente las correlaciones positivas (figura 18 y 20) y negativas (figura 16, 17 y 19) establecidas entre las variables finalmente introducidas en el modelo matemático y la variable de interés ( $\log$  CCI).

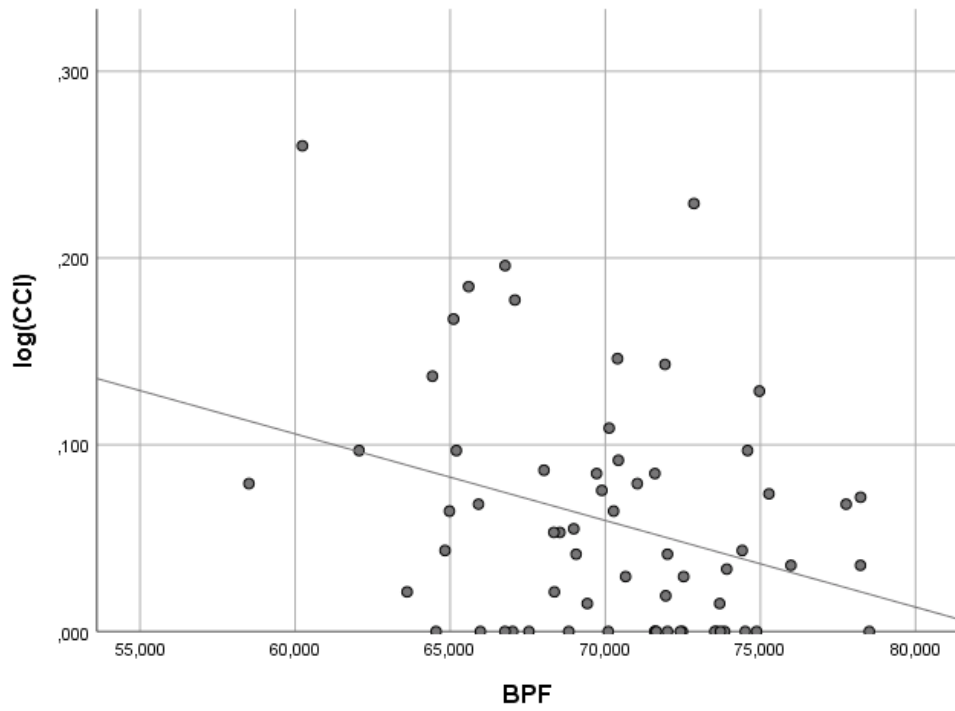


Figura 16. Gráfico de dispersión simple con ajuste de línea de log CCI por BPF.

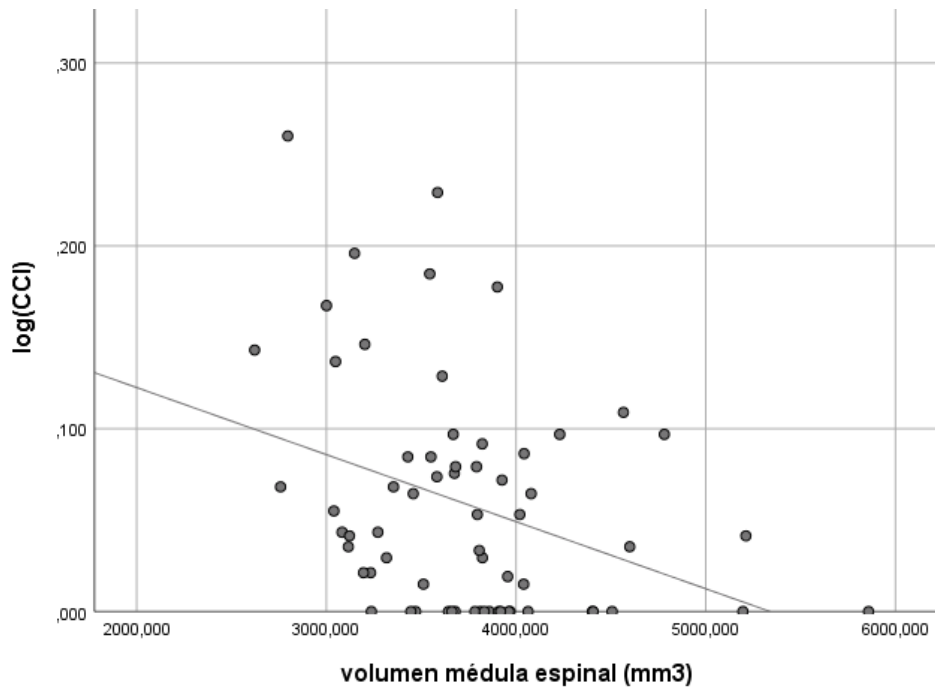


Figura 17. Gráfico de dispersión simple con ajuste de línea de log CCI por volumen espinal (mm<sup>3</sup>).



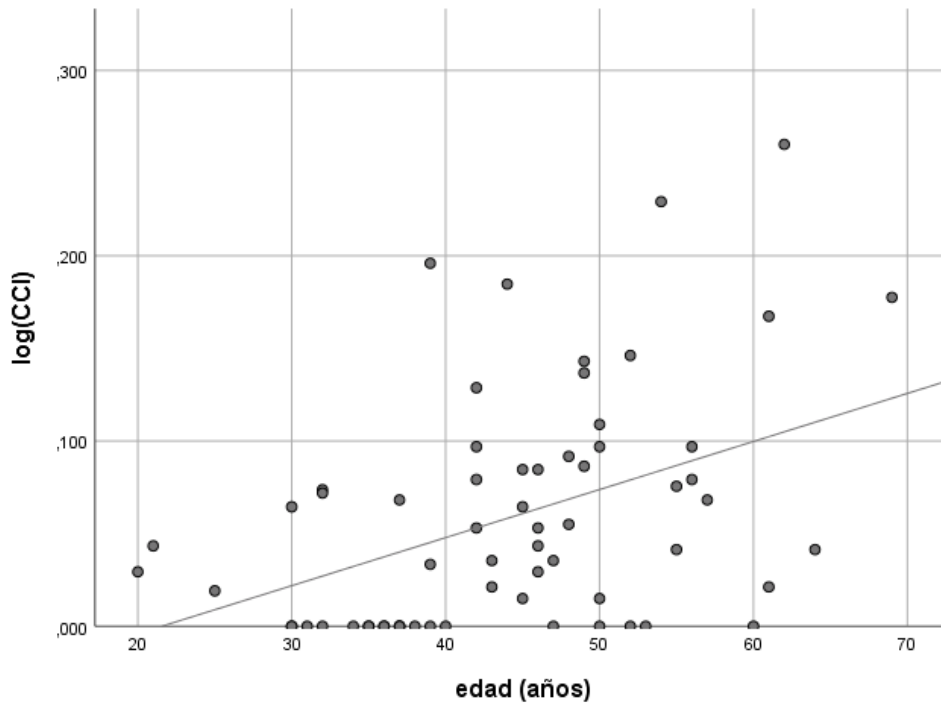


Figura 18. Gráfico de dispersión simple con ajuste de línea de log CCI por edad (años).

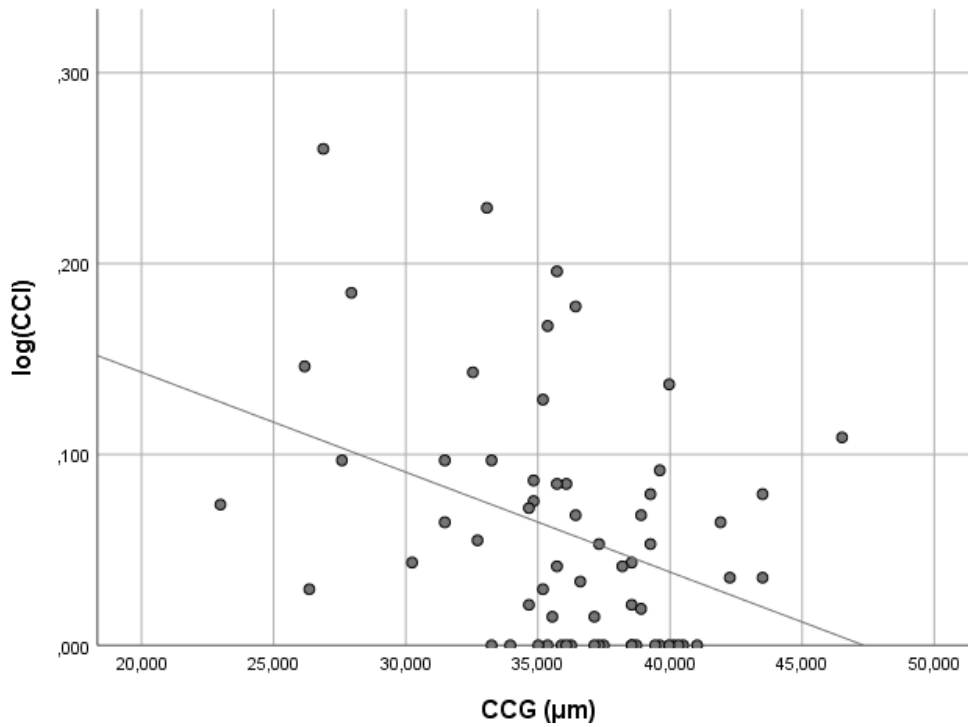
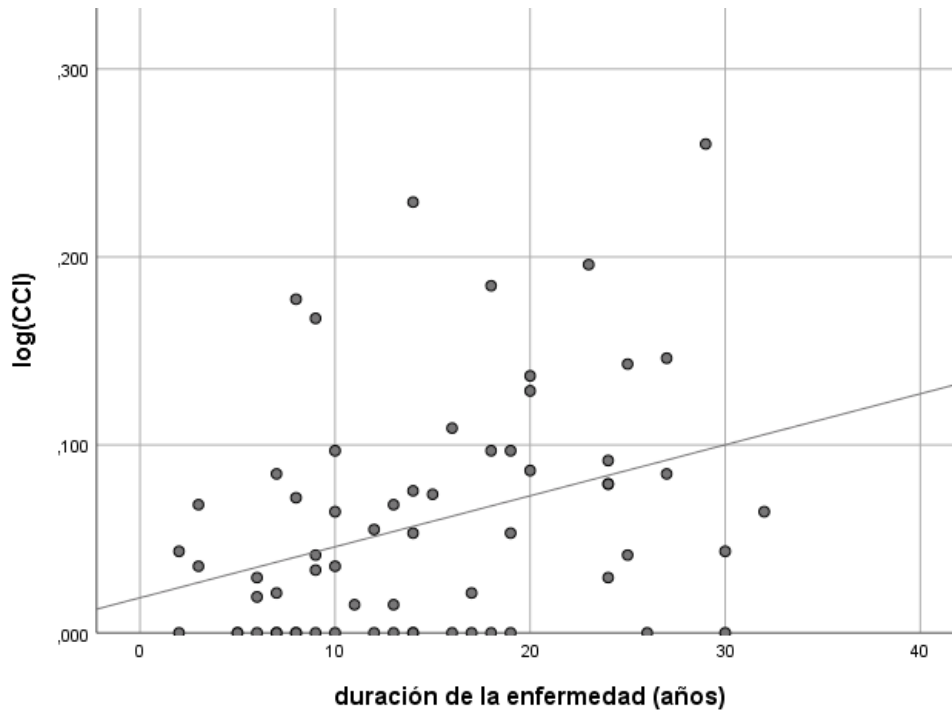


Figura 19. Gráfico de dispersión simple con ajuste de línea de log CCI por CCG ( $\mu\text{m}$ ).



**Figura 20.** Gráfico de dispersión simple con ajuste de línea de log CCI por duración de la enfermedad (años).

	Estimación	Error estándar	IC 95% de Wald	Hipótesis de contraste		
				Chi-cuadrado de Wald	gl	Sig
Intersección	0,316	0,1428	0,036 – 0,596	4,893	1	0,027
BPF	-0,224	0,1842	-0,585 – 0,137	1,473	1	0,225
Volumen espinal (mm <sup>3</sup> )	-0,187	0,06	-0,305 – (-0,069)	9,681	1	0,002
Edad (años)	0,226	0,0728	0,084 – (0,369)	9,677	1	0,002
Duración de la enfermedad (años)	0,012	0,101	-0,186 – (0,21)	0,014	1	0,906
CCG (µm)	-0,372	0,1786	-0,722 – (-0,022)	4,343	1	0,037
Escala	0,002 <sup>a</sup>	0,0005	0,002 – 0,003			

**Tabla 9. Estimación de los parámetros.** Variable dependiente: logCCI. Modelo (Intersección): BPF, volumen espinal, edad, duración de la enfermedad, CCG. a = Estimación de máxima verosimilitud.

La tabla 9 muestra la estimación y el error estándar de los parámetros incluidos como variables anteriormente seleccionadas e incluidas en el modelo, la hipótesis de contraste y el intervalo de confianza (IC) al 95% para cada parámetro (a = Estimación de máxima verosimilitud, gl = grados de libertad, sig = nivel de significación).

La prueba de Ómnibus (tabla 10), utilizada para valorar la significación global del modelo desarrollado muestra un análisis estadísticamente significativo ( $p < 0,001$ ).

Chi-cuadrado de razón de verosimilitud	gl	Sig.
28,424	5	0,000

**Tabla 10. Prueba de Ómnibus.** Variable dependiente: logCCI. Modelo (Intersección): BPF, volumen espinal, edad, duración de la enfermedad, CCG. La prueba de Ómnibus compara el modelo ajustado con el modelo de solo intersección.

Por otra parte, las medidas de bondad de ajuste (tabla 11) muestran infradispersión (valor/gl < 1), por lo que podemos concluir que el modelo diseñado se ajusta correctamente a los datos.

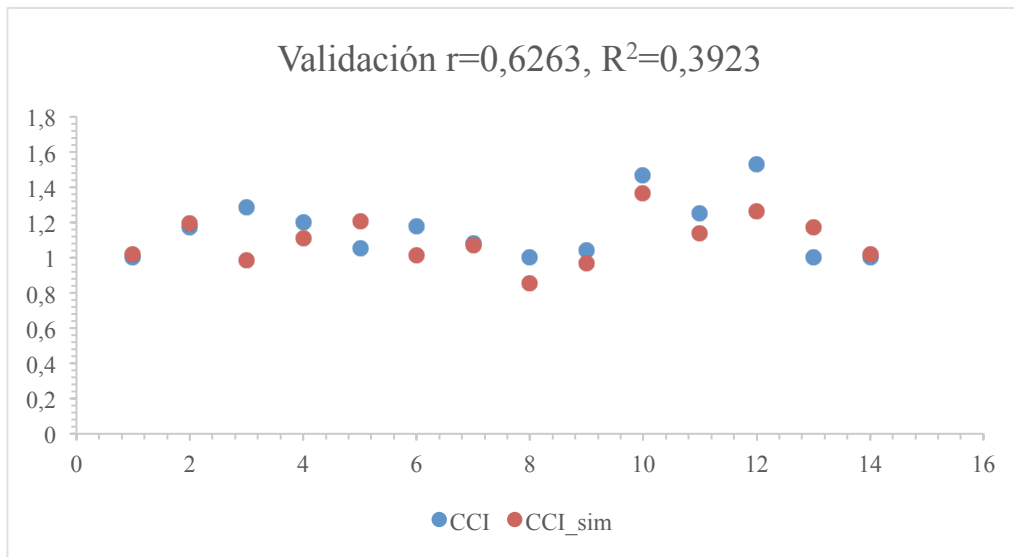
	Valor	gl	Valor/gl
Desviación	0,113	44	0,003
Desviación escalada	50	44	
Chi-cuadrado de Pearson	0,113	44	0,003
Chi-cuadrado de Pearson escalado	50	44	
Logaritmo de verosimilitud <sup>a</sup>	81,329		
Criterio de información Aikake (AIC)	-148,659		
AIC corregido para muestras finitas (AICC)	-145,992		
Criterio de información bayesiana (BIC)	-135,275		
AIC consistente (CAIC)	-128,275		

**Tabla 11. Bondad de ajuste.** Variable dependiente: logCCI. Modelo (Intersección): BPF, volumen espinal, edad, duración de la enfermedad, CCG. Los criterios de información están en un modelo de cuanto más pequeño mayor. a. La función de logaritmo de la verosimilitud completa se visualiza y utiliza en el cálculo de los criterios de información.

El modelo se acepta y se obtiene la siguiente ecuación que ofrece el CCI:

$$\log CCI = 0,316 - 0,224 \text{ BPF} - 0,187 \text{ volumen espinal (mm}^3\text{)} + 0,226 \text{ edad (años)} + 0,012 \text{ duración de la enfermedad (años)} - 0,372 \text{ CCG } (\mu\text{m}).$$

Al validar el modelo con los 14 pacientes seleccionados aleatoriamente (“grupo de validación”, figura 21) se obtiene un  $R^2 = 0,392$  ( $r = 0,626$ ).



**Figura 21.** Gráfica sobre la validación del modelo  $\log(\text{CCI})$  (Eje X: 14 voluntarios del “grupo de validación”, eje Y: valores CCI reales (CCI) y simulados a partir del modelo (CCI\_sim)).

## 2.2. Modelo de discapacidad

En este caso, la tabla 12 muestra, entre otras, aquellas variables que guardan una relación estadísticamente significativa ( $p \leq 0,05$ ) con la EDSS y por tanto, las incluidas en el modelo predictivo de discapacidad.

	EDSS
Edad (años)	$r = 0,543$ $p = \mathbf{0,0001}$ (S)
Volumen médula espinal ( $\text{mm}^3$ )	$r = -0,301$ $p = \mathbf{0,034}$ (S)
CCG ( $\mu\text{m}$ )	$r = -0,354$ $p = \mathbf{0,012}$ (S)
CPI ( $\mu\text{m}$ )	$r = -0,34$ $p = \mathbf{0,016}$ (S)
Duración de la enfermedad (años)	$r = 0,186$ $p = 0,195$ (S)
Promedio CFNRp ( $\mu\text{m}$ )	$r = -0,2$ $p = 0,163$ (S)
BPF	$r = -0,016$ $p = 0,913$ (S)
CNI ( $\mu\text{m}$ )	$r = -0,076$ $p = 0,6$ (S)
CNE ( $\mu\text{m}$ )	$r = -0,136$ $p = 0,346$ (S)
sexo	$r = 0,027$ $p = 0,835$ (M)
DMT	$r = 0,315$ $p = 0,808$ (M)

**Tabla 12.** Correlaciones de las variables clínicas, neurorradiológicas y de OCT con EDSS.

En **negrita**  $p \leq 0,05$ . S = Rho de Spearman; M = test de la mediana para muestras independientes.

Dada la colinealidad entre la CCG y la CPI, se decidió la inclusión del valor de la CCG en el modelo con la finalidad de ahondar en la relación entre la médula espinal y la retina, y su impacto en el grado de discapacidad en la EM.

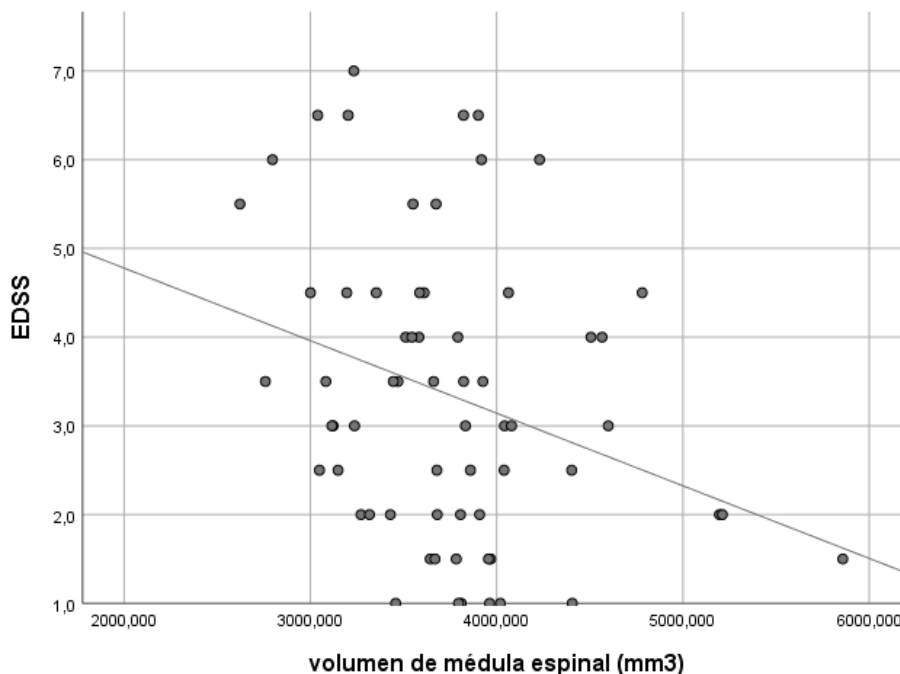


Figura 22. Gráfico de dispersión simple con ajuste de línea de EDSS por volumen espinal (mm<sup>3</sup>).

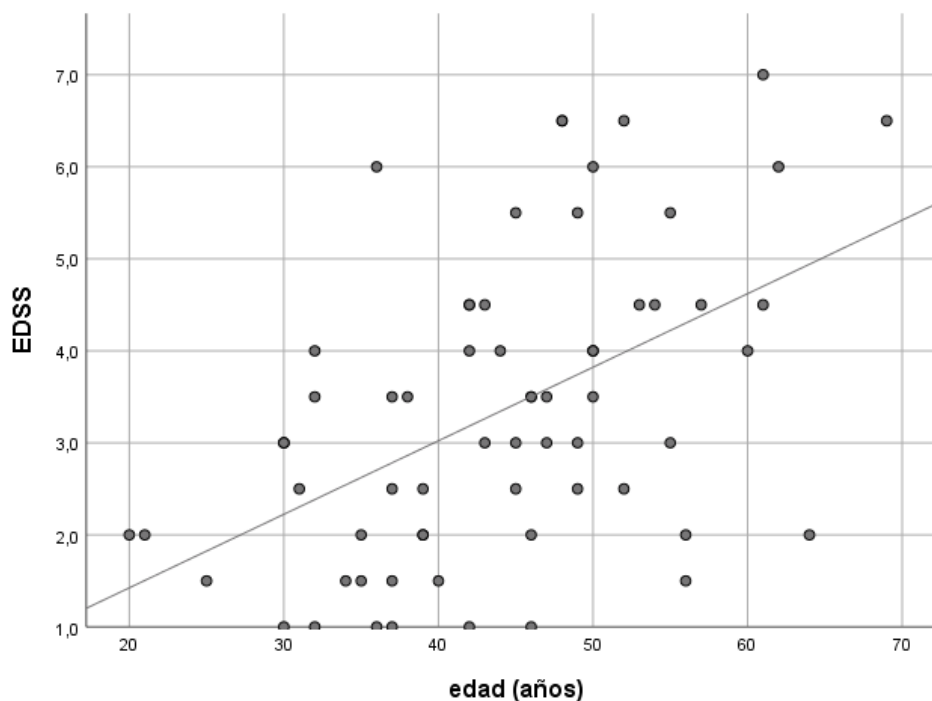
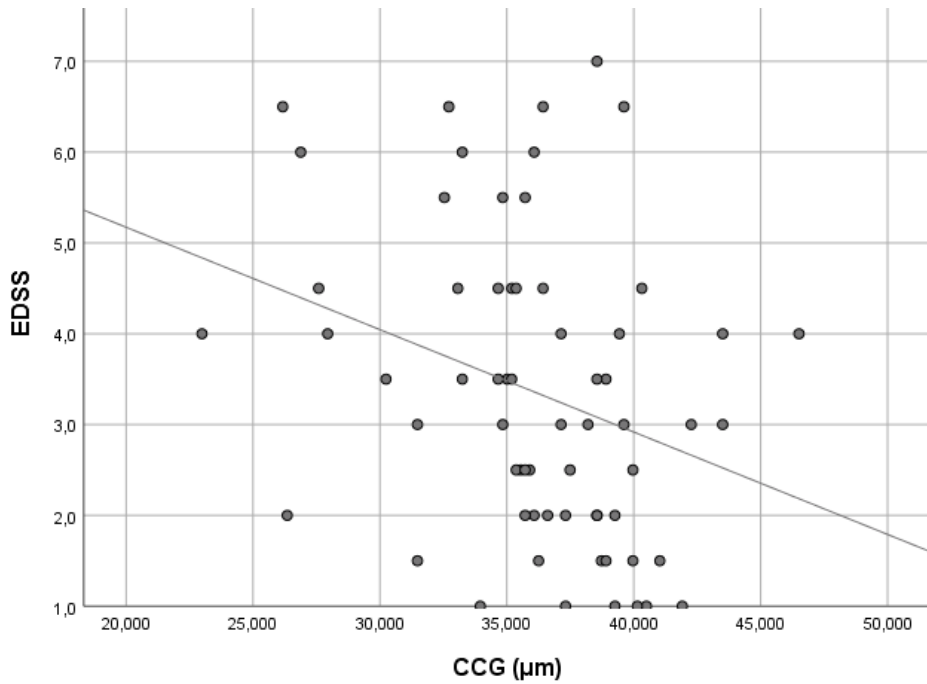


Figura 23. Gráfico de dispersión simple con ajuste de línea de EDSS por edad (años).



**Figura 24. Gráfico de dispersión simple con ajuste de línea de EDSS por CCG ( $\mu\text{m}$ ).**

Las figuras anteriores representan gráficamente las correlaciones positivas (figura 23) y negativas (figura 22 y 24) establecidas entre las variables finalmente introducidas en el modelo matemático y la variable de interés (EDSS).

La tabla 13 muestra la estimación y el error estándar de los parámetros incluidos como variables anteriormente seleccionadas e incluidas en el modelo, la hipótesis de contraste y el intervalo de confianza al 95% para cada parámetro.

Umbral	Estimación	Error estándar	Hipótesis de contraste			
			Chi-cuadrado de Wald	gl	Sig	
[EDSS = 0,1]	-4,268	2,503	2,907	1	0,088	(-9,174 – 0,638)
[EDSS = 0,15]	-3,542	2,483	2,036	1	0,154	(-8,408 – 1,323)
[EDSS = 0,2]	-2,586	2,466	1,1	1	0,294	(-7,418 – 2,247)
[EDSS = 0,25]	-1,88	2,459	0,585	1	0,445	(-6,701 – 2,94)
[EDSS = 0,3]	-1,163	2,456	0,224	1	0,636	(-5,977 – 3,651)
[EDSS = 0,35]	-0,656	2,455	0,071	1	0,789	(-5,467 – 4,156)
[EDSS = 0,4]	-0,246	2,454	0,01	1	0,92	(-5,056 – 4,564)
[EDSS = 0,45]	0,405	2,454	0,027	1	0,869	(-4,406 – 5,215)
[EDSS = 0,55]	1,035	2,457	0,177	1	0,674	(-3,781 – 5,852)
[EDSS = 0,6]	1,545	2,464	0,393	1	0,531	(-3,285 – 6,376)
[EDSS = 0,65]	3,395	2,584	1,726	1	0,189	(-1,67 – 8,46)
Volumen espinal (mm <sup>3</sup> )	-4,689	2,314	4,108	1	0,043	(-9,224 – (-0,155))
Edad (años)	11,563	2,771	17,413	1	0,001	(6,132 – 16,994)
CCG (µm)	-13,927	6,358	4,798	1	0,028	(-26,388 – (-1,466))

**Tabla 13. Estimación de los parámetros.** Función de enlace: logit.

Como primera medida es necesario saber si el modelo da predicciones. En la tabla 14 presentada a continuación:

	Logaritmo de la verosimilitud -2	Chi-cuadrado	gl	Sig
Sólo intersección	239,139			
Final	211,074	28,065	3	0,001

**Tabla 14. Información de ajuste de los modelos.** Función de enlace: logit.

Se presenta la prueba de hipótesis del estudio:

$H_0$ : el modelo es adecuado solo con la constante

$H_1$ : el modelo no es adecuado solo con la constante

Debido a que el  $p\text{-valor} \leq 0,05$ , se rechaza la hipótesis nula. Por tanto, el significado estadístico que resulta, indica que el modelo con las variables introducidas mejora el ajuste de forma significativa, respecto al modelo con sólo la constante.

En la tabla 15 presentada a continuación:

	Chi-cuadrado	gl	Sig
Pearson	498,887	536	0,873
Desviación	211,074	536	1

**Tabla 15. Bondad de ajuste.** Función de enlace: logit.

Se presenta la prueba de hipótesis:

$H_0$ : el modelo se ajusta adecuadamente a los datos

$H_1$ : el modelo no se ajusta adecuadamente a los datos

Esta tabla contiene la estadística de Chi-cuadrado de Pearson para el modelo y otra estadística de Chi-cuadrado sobre la base de la desviación, concluyendo que el modelo se ajusta a los datos correctamente ( $p= 1$ ).

Por otra parte, los test de pseudo- $R^2$  (tabla 16) son medidas equivalentes al coeficiente de determinación  $R^2$  de los modelos lineales, que resumen la proporción de la variabilidad en la variable dependiente (EDSS) asociada con los factores de predicción (variables independientes: edad, volumen espinal y CCG).

Cox y Snell	0,477
Nagelkerke	0,481
McFadden	0,135

**Tabla 16. Test de pseudo- $R^2$**  Función de enlace: logit.



Estos valores de la pseudo-R<sup>2</sup> son respetables muestras de la variabilidad explicada por el modelo, y en ellas se observa, por ejemplo, que la prueba de Nagelkerke estima en un 48,1% tal variabilidad.

Se acepta el modelo y se obtienen las siguientes ecuaciones que dan la probabilidad (*P*, no el valor exacto) para obtener un valor determinado de EDSS según los valores de las variables independientes.

$$P (EDSS \leq 0,1) = 1 / [1+\exp [-( -4,268 +4,689 \text{ volumen espinal (mm}^3) -11,563 \text{ edad (años) } +13,927 \text{ CCG } (\mu\text{m}))]]]$$

$$P (EDSS \leq 0,15) = 1 / [1+\exp [-( -3,542 +4,689 \text{ volumen espinal (mm}^3) -11,563 \text{ edad (años) } +13,927 \text{ CCG } (\mu\text{m}))]]]$$

$$P (EDSS \leq 0,2) = 1 / [1+\exp [-( -2,586 +4,689 \text{ volumen espinal (mm}^3) -11,563 \text{ edad (años) } +13,927 \text{ CCG } (\mu\text{m}))]]]$$

$$P (EDSS \leq 0,25) = 1 / [1+\exp [-( -1,88 +4,689 \text{ volumen espinal (mm}^3) -11,563 \text{ edad (años) } +13,927 \text{ CCG } (\mu\text{m}))]]]$$

$$P (EDSS \leq 0,3) = 1 / [1+\exp [-( -1,163 +4,689 \text{ volumen espinal (mm}^3) -11,563 \text{ edad (años) } +13,927 \text{ CCG } (\mu\text{m}))]]]$$

$$P (EDSS \leq 0,35) = 1 / [1+\exp [-( -0,656 +4,689 \text{ volumen espinal (mm}^3) -11,563 \text{ edad (años) } +13,927 \text{ CCG } (\mu\text{m}))]]]$$

$$P (EDSS \leq 0,4) = 1 / [1+\exp [-( -0,246 +4,689 \text{ volumen espinal (mm}^3) -11,563 \text{ edad (años) } +13,927 \text{ CCG } (\mu\text{m}))]]]$$

$$P (EDSS \leq 0,45) = 1 / [1+\exp [-( 0,405 +4,689 \text{ volumen espinal (mm}^3) -11,563 \text{ edad (años) } +13,927 \text{ CCG } (\mu\text{m}))]]]$$

$$P (EDSS \leq 0,55) = 1 / [1+\exp [-( 1,035 +4,689 \text{ volumen espinal (mm}^3) -11,563 \text{ edad (años) } +13,927 \text{ CCG } (\mu\text{m}))]]]$$

$$P (EDSS \leq 0,6) = 1 / [1+\exp [-(1,545 +4,689 \text{ volumen espinal (mm}^3) -11,563 \text{ edad (años) +13,927 CCG (\mu\text{m}))]]]$$

$$P (EDSS \leq 0,65) = 1 / [1+\exp [-(3,395 +4,689 \text{ volumen espinal (mm}^3) -11,563 \text{ edad (años) +13,927 CCG (\mu\text{m}))]]]$$

La probabilidad de obtener un valor de EDSS se calcula de la siguiente manera. Los valores normalizados del volumen espinal (mm<sup>3</sup>), la edad (años) y la CCG (μm) se introducen en la ecuación, multiplicando dichos valores por los coeficientes mostrados (4,689, (-11,563), 13,927 respectivamente). La probabilidad de EDSS resulta de la expresión inversa de la exponencial de dicho polinomio más 1. Debido a la naturaleza ordinal de la EDSS, una vez todas las ecuaciones han sido calculadas, la EDSS probable más alta obtenida es la que con más seguridad coincide con el examen clínico. La simulación de dicho procedimiento se explica en la tabla 17 utilizando el grupo de validación de los 14 pacientes restantes de la muestra del estudio.

Volumen espinal (mm <sup>3</sup> )	Edad (años)	CCG (µm)	EDSS	Probabilidad calculada de EDSS (0-1)											EDSS simulada	
				1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5,5	6	6,5		
0,40725702	0,3	0,37136153	0,3	<b>0,342</b>	0,176	0,219	0,113	0,071	0,030	0,016	0,016	0,016	0,008	0,004	0,005	1
0,16859543	0,37	0,38904542	0,35	0,088	0,078	<b>0,175</b>	0,171	0,170	0,099	0,062	0,068	0,039	0,039	0,019	0,025	2
0,57018876	0,5	0,46508611	0,4	<b>0,289</b>	0,168	0,230	0,129	0,085	0,037	0,020	0,020	0,010	0,010	0,005	0,006	1
0,39810777	0,42	0,43502351	0,4	0,232	0,152	<b>0,235</b>	0,148	0,104	0,047	0,026	0,026	0,014	0,014	0,006	0,008	2
0,26565098	0,43	0,3466041	0,45	0,04	0,040	0,105	0,130	<b>0,170</b>	0,125	0,092	0,117	0,076	0,039	0,039	0,055	3
0,42800614	0,32	0,3466041	0,35	<b>0,243</b>	0,156	0,234	0,144	0,100	0,045	0,025	0,025	0,013	0,006	0,006	0,008	1
0,40131272	0,39	0,36605637	0,2	0,142	0,113	<b>0,216</b>	0,172	0,144	0,073	0,042	0,044	0,024	0,011	0,015	2	
0,85734718	0,37	0,41026608	0,15	<b>0,766</b>	0,105	0,075	0,026	0,014	0,005	0,003	0,003	0,001	0,001	0,001	0,001	1
0,43463196	0,25	0,38904542	0,15	<b>0,574</b>	0,162	0,143	0,057	0,032	0,013	0,007	0,006	0,003	0,003	0,001	0,002	1
0,2223593	0,61	0,35367765	0,45	0,005	0,005	0,015	0,024	0,047	0,054	0,060	0,127	0,151	0,126	<b>0,297</b>	6,5	
0,61807523	0,42	0,27586857	0,45	0,084	0,076	0,171	0,170	<b>0,172</b>	0,101	0,064	0,071	0,041	0,020	0,026	3	
0,34334291	0,44	0,27940534	0,4	0,021	0,021	0,060	0,085	0,134	0,119	0,102	<b>0,152</b>	0,116	0,067	0,102	4,5	
0,32125249	0,47	0,38550864	0,35	0,056	0,053	0,132	0,150	<b>0,177</b>	0,118	0,081	0,096	0,059	0,029	0,040	3	
0,42631146	0,36	0,3607512	0,6	0,197	0,139	<b>0,232</b>	0,159	0,118	0,055	0,031	0,031	0,017	0,008	0,010	2	

**Tabla 17. Simulación del modelo matemático.** Los 14 voluntarios aleatoriamente seleccionados (grupo de validación) fueron utilizados para la simulación del modelo. Las variables incluidas en el modelo se calcularon tipificadas (valor de 0 a 1), aplicándose las diferentes ecuaciones para una determinada probabilidad de EDSS también tipificada. Una vez todas las ecuaciones han sido calculadas, se determina cuál es el valor de EDSS más probable (el valor más alto de EDSS se señala en **negrita**). Podemos concluir que el modelo de regresión ordinal diseñado explica cerca de la mitad de la variabilidad de un valor determinado de EDSS ( $R^2 = 0,44$ ).



## DISCUSIÓN



## 1. Discusión acerca de las correlaciones RM-OCT

Existe un creciente interés sobre las correlaciones entre medidas de OCT (grosos o volúmenes) y estructuras del SNC, principalmente aquellas que intervienen en la vía visual. Es por ello que la CFNR se ha correlacionado con el tálamo (153, 188, 211, 212), córtex visual (188, 211, 213, 214), SB (188, 215) y la FA de las radiaciones ópticas (216); la CCG (sola o en combinación con la CPI) se ha correlacionado con el tálamo (153, 217), el córtex visual (213, 214) y la FA de las radiaciones ópticas (216); la CNI se ha correlacionado con el tálamo (153, 217); la CNE se ha correlacionado también con el tálamo (153); y el total macular se ha correlacionado con el tálamo (211) y con las lesiones en las radiaciones ópticas (188).

Las correlaciones con otras volumetrías de RM han sido valoradas, de manera que la CFNR se ha correlacionado con el volumen cerebral (153, 212, 217-219) y el BPF (220, 221), SB (198, 212, 216, 217, 219, 221, 222), SG (216-218, 220), SG cortical (153, 198), SG profunda (153, 198, 212), médula espinal (223), tronco del encéfalo (153), ínsula izquierda (214), giro cingulado posterior (214), giro temporal superior (214) y el ratio bicaudado (224); la CCG (sola o en combinación con la CPI) se ha correlacionado con el total del volumen cerebral (153, 217), SB (153, 216, 217, 225), SG (216, 217), SG cortical (153, 198), SG profunda (198), médula espinal (223), lesiones infratentoriales (226), tronco del encéfalo (153), ínsula izquierda (214), cingulum posterior (214) y córtex orbitofrontal (214); la CNI se ha correlacionado inversamente con la SB (198); y la CNE con la SB cerebelosa (198), con la SG cortical (198) y con el tronco del encéfalo (198). El total macular se ha correlacionado con el BPF (221, 227) y la SB (221, 228).

El cerebelo es una de las estructuras del SNC cuya atrofia se ha publicado incluso en estadios preclínicos de la enfermedad (41). Aunque tradicionalmente se le ha considerado como un órgano dedicado a la coordinación del movimiento y a su aprendizaje, la investigación de las funciones cerebelosas revelan su participación en funciones superiores (229, 230). En relación a la función visual, y más allá de su implicación de la vía visual eferente (141), se ha publicado que el cerebelo contiene mapas retinotópicos, con una similar representación del espacio visual a la del córtex cerebral (231). Acorde a ello, hemos encontrado evidencia estadística que asocia la historia de NO con una disminución del volumen cerebeloso, sugiriendo similares

mecanismos etiopatogénicos a aquellos descritos en otras estructuras cerebrales con una organización retinotópica, permitiendo mapear cualquier daño a lo largo de la vía visual (232)

Está ampliamente asumido que la CFNR y las capas maculares reflejan patología del SNC en la EM. Ahora bien, si los cambios patológicos que muestra la OCT son consecuencia de la degeneración axonal transináptica debido a NO subclínicas, inflamación microscópica del nervio óptico, degeneración transináptica a lo largo de la vía visual, degeneración retiniana primaria o consecuencia de la inflamación sistémica es todavía materia de debate (233).

El adelgazamiento característicamente temporal de la CFNRp es propio de la EM (234), incluso en los estadios más tempranos de la neurodegeneración en el HPM (217) pero principalmente en ojos con historia de NO (235), lo que puede hacer que se pierdan las correlaciones con diferentes estructuras de la RM debido al daño desproporcional del nervio óptico y la retina tras un brote de NO (236). Independientemente del antecedente de NO, los sectores nasales de la CFNRp suelen ser los más preservados (237), pero sobre todo se observa la preservación de las capas internas de la retina en ausencia de NO.

En relación con lo expuesto, las correlaciones con la CFNRp de los ojos con historia de NO, independientemente del subtipo de enfermedad, se establecen principalmente con los volúmenes de la médula espinal y los sectores nasales (concretamente N-CFNRp e IN-CFNRp); mientras que en ojos sin historia de NO, e independientemente del subtipo de enfermedad, la médula espinal se correlaciona con el HPM, la CCG y la CPI, ofreciendo conclusiones similares en el subgrupo EMRR sin historia de NO. Por tanto, nuestros hallazgos refuerzan la idea de una conexión entre estos dos compartimentos del SNC funcional y espacialmente diferentes. Por su parte, el cerebelo correlaciona con dichas capas maculares de forma similar en este último subgrupo.

Por otra parte, en ojos con historia de NO, e independientemente del subtipo de enfermedad, las capas internas de la retina (CCG y CPI) correlacionan con la SB total. Además, en el grupo de ojos de EMRR con historia de NO, dichas capas también correlacionan con la SG total.

Es interesante señalar la correlación inversa entre la CNI y el BPF o el cerebelo en los ojos de pacientes EMP sin antecedente de NO. Como era de esperar (208, 234, 238), la CFNRp, la CCG y la CPI de los ojos con historia de NO demuestran un adelgazamiento estadísticamente significativo. Sin embargo, la red neuronal compuesta por células



bipolares, amacrinas y horizontales que constituyen la CNI no muestra adelgazamiento. Las descripciones histológicas realizadas por Green et al. (239) demostraron que el daño retiniano engloba más allá de las células ganglionares, demostrando la CNI signos de atrofia e infiltración inflamatoria a pesar de haber sido identificada como una posible barrera a la degeneración axonal retrógrada *in vivo* (240). El EMM localizado en la CNI (137, 241) se ha descrito como un signo predictivo de la actividad global de la enfermedad y de la monitorización de DMT (242). En nuestra muestra, la CNI de los ojos con antecedente de NO era estadísticamente significativa más gruesa que en aquellos ojos sin historia de NO ( $p= 0,02$ ) sin observarse EMM. Sin embargo, como recientemente se ha publicado (243), puede existir el incremento de la CNI en ausencia de un EMM visualmente detectable.

Balk et al. (243) sugieren que la CFNRp, la CCG y la CPI reflejan el componente neurodegenerativo de la enfermedad, mientras que la CNI refleja mejor la inflamación. Basándonos en esta teoría, sugerimos que la correlación inversa entre el cerebelo o el BPF con la CNI podría capturar actividad inflamatoria en la muestra de ojos de pacientes con EMP sin antecedente de NO. Esta hipótesis se amplía por la tendencia a la significación estadística entre la CNI y el total de SG en ojos de pacientes diagnosticados de EMP sin historia de NO y en ojos de pacientes diagnosticados de EMRR con antecedente de NO.

El diseño transversal de nuestro estudio no puede decidir si las correlaciones descritas con la CNI preceden (241) o ha sido precedidas (243) por actividad clínica o radiológica. Sin embargo, hemos encontrado correlaciones inversas con la CNI que traducen la existencia de actividad inflamatoria a pesar del mayor peso de la neurodegeneración en la fase progresiva de la enfermedad, acentuando la importancia de la OCT en dicha fase, a pesar de unos niveles basales de CFNR menores o una mayor atrofia retiniana (244).

## **2. Discusión acerca de los modelos predictivos**

### **2.1. Modelo de discromatopsia**

En el presente trabajo se ha desarrollado por primera vez un modelo matemático predictivo del CCI a partir de biomarcadores clínicos y paraclínicos aceptados en la

práctica clínica y en investigación de EM. El principal hallazgo es que la discromatopsia en ojos sin NO se asocia con la discapacidad y con marcadores subrogados de daño axonal cerebral, espinal y retinianos. El patrón de afectación cromática más común encontrado en el estudio es el error difuso, lo que apoya la idea de la ausencia de un patrón específico en la deficiencia cromática en la EM (210, 245, 246).

A pesar del impacto de la enfermedad en el sistema visual, escalas clínicas como la EDSS ponderan el déficit visual mínimamente, mientras que otras como la MSFC no lo valoran. Específicamente la visión cromática es una dimensión visual escasamente explorada de la que se han desprendido conclusiones controvertidas en relación a su utilidad clínica y en investigación. Mientras que algunos autores cuestionan su utilidad en el diagnóstico y monitorización de la enfermedad (247), o directamente defienden la ausencia de significación estadística de las pruebas cromáticas (237, 248), existen varios artículos que defienden su inclusión en la práctica clínica e investigativa de la EM.

En línea con nuestros resultados, Martínez-Lapiscina et al. (249) demostraron que la discromatopsia en ojos sin historia de NO se correlaciona con una mayor edad del paciente de EM, una mayor duración de la enfermedad, un incremento de la discapacidad clínica y un mayor daño del SNC y retiniano. Tras un año de seguimiento, quedó demostrado que aquellos ojos que desarrollaron discromatopsia en ausencia de NO, tenían mayor discapacidad y atrofia de la SG, relacionándose la discromatopsia con el daño axonal difuso independiente de la actividad inflamatoria.

En relación a los marcadores de imagen valorados, en nuestro estudio hemos demostrado que la discromatopsia se correlaciona con el volumen espinal y el grosor de la CCG con una discreta mayor fuerza de asociación que la atrofia cerebral (BPF). En el modelo multivariable, cuando se incluye simultáneamente el volumen espinal, los grosores ganglionares y la atrofia cerebral junto a otras variables estadísticamente significativas (como la edad o la duración de la enfermedad), la CCG tiene el mayor coeficiente en la ecuación, lo que refleja el gran peso que conlleva el estado de las células ganglionares en la percepción cromática.

A diferencia de Oh et al. (223), que evaluaron la agudeza visual con altos y bajos contrastes, nuestros resultados sobre la visión cromática son dependientes de la atrofia cerebral, pero también dependen, entre otros, del estado de dos sistemas espacial y funcionalmente independientes (el visual y el espinal). Estos hallazgos sugieren que el daño crónico primariamente retiniano no solo es paralelo al daño crónico cerebral, sino

también al daño espinal, lo que apoya la existencia de una neurodegeneración primaria que engloba más allá de los límites anatómicos.

Consecuentemente, los test de visión cromática ofrecen información complementaria útil para la toma de decisiones clínicas, puesto que se correlacionan no solo con la EDSS y con parámetros del SNC, sino también con parámetros retinianos (CFNRp y la CCG). En línea con nuestros resultados, Villoslada et al. (246) y Satue et al. (250) demostraron que la visión cromática guarda una fuerte correlación con los parámetros de OCT en pacientes de EM, y Levin et al. (251) demostraron que el grosor retiniano en los ojos adelfos de pacientes con historia de NO monocular se correlacionan con la sensibilidad al contraste cromático. Finalmente, cabe comentar que Gundogan et al. (252) demostraron que el test Farnsworth-Munsell 100-Hue era más sensible que los PEV pattern en el diagnóstico de una afectación subclínica de la vía visual.

## **2.2. Modelo de discapacidad**

En el presente trabajo se ha desarrollado por primera vez un modelo de regresión ordinal que explica cerca de la mitad de la probabilidad de una puntuación de EDSS a través de la edad, del grosor de la CCG y del volumen espinal.

En línea con los resultados de estudios previos (48, 103, 253, 254), hemos encontrado que la médula espinal determina en gran medida la capacidad de deambulación, lo que es decisivo en pacientes principalmente con un EDSS >4 en los que el daño tisular espinal irreversible de los estadios más avanzados, trae consigo un grado de discapacidad notorio. Sin embargo, se debe señalar que la deambulación no solo se ve condicionada por el daño axonal y la pérdida neuronal, sino también por la presencia de comorbilidades, factores psicológicos, el hábito deportivo del paciente, la espasticidad, el uso de ayudas o el antecedente de mielitis transversa severa (255).

A diferencia de nuestros resultados, Furby et al. (255) no encontraron correlación entre el área espinal y la progresión de la discapacidad medida a través de la EDSS. En otro estudio, Ruggieri et al. (256) tampoco encontraron relaciones estadísticamente significativas entre la EDSS y la carga lesional o la atrofia espinal, aunque el análisis por subgrupos reveló que el EDSS >4,0 se asociaba con el volumen espinal. Por su parte, Kolind et al. (257) encontraron que la puntuación de la EDSS no se correlaciona con la atrofia cerebral ni con el volumen cervical espinal, aunque encontraron correlaciones con el volumen fraccional de mielina en la médula espinal cervical. Sin embargo, los resultados más sorprendentes fueron los publicados por Liptak et al. (258)

a partir del estudio de una cohorte en la que la EDSS correlacionaba con el volumen cervical alto y con el BPF, mientras que el análisis del subgrupo poblacional con una EDSS >4 solo correlacionaba con el BPF. En su artículo, los autores (258) confiesan que las medidas espinales no fueron obtenidas a partir de un protocolo que permitía la optimización de la imagen de RM espinal, mientras que la obtención de las medidas cerebrales presentaban un protocolo para su optimización.

Los autores anteriormente descritos justifican en parte sus resultados señalando las limitaciones propias de la EDSS, principalmente su gran dependencia en la deambulación (257) y la ausencia de una adecuada ponderación de otros déficits neurológicos (255, 257), pero también la ausencia de intervalos entre las diferentes puntuaciones de la escala y la disminución de sensibilidad al cambio en los rangos medios y altos (256). El hecho de que la puntuación de algunos sistemas funcionales se base en los síntomas cuya intensidad o severidad dependa de la descripción subjetiva del paciente, resulta en un alto índice de variabilidad intra- e interobservador para esta escala (259, 260).

Además, cabe apuntar que en los pacientes con menor grado de discapacidad, el incremento en la puntuación de la EDSS podría simplemente reflejar un empeoramiento de los signos clínicos, lo cual no tiene porqué asociarse con el incremento irreversible de la discapacidad. Sin embargo, es posible que la progresión de la enfermedad en un estadio concreto pueda rápidamente traducirse en cambios patológicos que se registren en la neuroimagen, aunque el impacto clínico de dichos cambios afloren posteriormente (261).

No obstante nuestros resultados se ven ampliamente corroborados por la mayoría de estudios que incluyen datos de neuroimagen de cerebro y médula espinal, en los que la EDSS normalmente se correlaciona mejor o únicamente con las medidas espinales, en comparación con los datos cerebrales. Acorde a ello, Liu et al. (262) fracasaron al demostrar la correlación entre el BPF y la EDSS, mientras que pudieron demostrar la asociación de la EDSS con el área cervical superior, lo que explicaba el 17% de la varianza de la EDSS ( $R^2= 0,17$ ). Por su parte, Furby et al. (263) hallaron que la EDSS se correlaciona con el área espinal cervical superior, aunque cuando dividían por subgrupos la cohorte (EDSS 4-6,  $\geq 6,5$ ) el volumen cerebral central pasaba a ser otro predictor significativo de discapacidad. Zivadinov et al. (264) demostraron que la EDSS se correlaciona tanto con el volumen espinal cervical como con el BPF, a pesar de que el volumen espinal mostraba mayor fuerza de asociación con la discapacidad. En su

modelo multivariable, la médula espinal predice aproximadamente el 50% de la discapacidad ( $R^2= 0,498$ ), mientras que el BPF sólo el 8% ( $R^2= 0,08$ ); explicando la médula espinal hasta un 65% ( $R^2= 0,652$ ) de la discapacidad en el análisis del subgrupo EMP, quedando el BPF sin incluir en este último análisis.

Bonati et al. (265) demostraron que la EDSS se correlaciona de manera estadísticamente significativa con el área cervical superior y con la SG cerebral. Dichos autores explican que la médula espinal en combinación con la SG cerebral justifican un tercio de la discapacidad, permitiéndoles desarrollar la teoría de que la atrofia de estas medidas no captura toda la patología clínicamente relevante de la EM, sugiriendo que otros datos de RM pueden incrementar el número de correlaciones con la EDSS y por tanto su coeficiente de determinación ( $R^2$ ). Como ejemplo, Agosta et al. (261) encontraron que no solo el área espinal, sino la FA de la columna cervical se correlaciona con los valores basales de EDSS y con la discapacidad acumulada tras un periodo medio de seguimiento de 2,4 años.

Llegados a este punto de la discusión, es irrefutable la importancia de la médula espinal como marcador subrogado de discapacidad, a pesar de que la médula espinal infrecuentemente se incluya en los protocolos de imagen por su coste, el tiempo necesario para su realización y las dificultades técnicas para la adquisición y cuantificación de medidas espinales (266), lo que a la postre deriva en la ausencia de consenso y estandarización sobre dichas medidas, y en la incapacidad para responder de manera sólida a preguntas como la magnitud medular más idónea para valorar la discapacidad (atrofia espinal, área espinal, carga lesional ...).

Kearney et al. (267) formularon un modelo de regresión múltiple, en el que el área y la carga lesional entre C2-C4 fueron las únicas variables de imagen independientemente asociadas con la EDSS ( $R^2 =0,58$ ). El análisis por subgrupos provocó la pérdida de asociación entre el área espinal y EDSS  $\leq 6,0$ , lo que llevó a los autores del artículo a apoyar la carga lesional espinal en vez del área medular como criterio de valoración en ensayos clínicos en los que participaban cohortes con EDSS  $\leq 6,0$ . Apoyando esta idea, Tsagkas et al. (266) recientemente utilizaron el volumen cervical superior para formular un modelo de EDSS ( $R^2 =19,19\%$  para EMRR,  $R^2 =53,38\%$  para EMSP) en lugar del área cervical superior alegando el menor sesgo de la atrofia focal por las lesiones y su mayor fiabilidad test-retest.

Lukas et al. (268) formularon un modelo de regresión multivariable para explicar la discapacidad ( $R^2= 0,564$ ) en el que el área espinal cervical superior y el número de

lesiones hipointensas cerebrales en T1 eran los parámetros de RM que correlacionaban mejor para explicar la discapacidad física a través de la EDSS, principalmente el área espinal cervical superior. Los autores (268) apuntan en su artículo que la discapacidad clínica guarda mayor asociación con el número de segmentos espinales afectados que con el número de lesiones espinales. En otro artículo, Lukas et al. (49) desarrollaron un modelo de progresión de la EDSS durante 24 meses ( $R^2= 0,83$ ) encontrando de nuevo que el número de segmentos espinales afectados probablemente tenía mayor fuerza de asociación con la discapacidad clínica que el número de lesiones espinales.

Otro hecho interesante a destacar hace referencia a la importancia del segmento cervical espinal como punto de encuentro de las fibras descendentes cerebroespinales y los tractos nerviosos ascendentes espinocerebrales. Además, su conexión con el cerebro y la médula toracolumbar, hacen del segmento cervical un punto clave para la degeneración axonal transináptica, lo que puede llevar a la atrofia espinal cervical en caso de una lesión craneal o caudal.

En esta línea de argumentación, Cohen et al. (269) concluyeron que el volumen espinal cervical alto era el único dato que correlacionaba con la EDSS. No encontraron correlación con variables cerebrales (incluido el BPF) u otras variables espinales como el volumen lesional en T2 de toda la médula espinal, del segmento torácico o cervical; así como con el volumen espinal total o torácico. Por su parte, Schlaeger et al. (270) formularon un modelo multivariable de la EDSS ( $R^2= 46,21\%$ ) en el que el área de SG en C2/C3 tiene el mayor peso de entre todas las variables para la predicción del valor de EDSS ( $R^2= 0,41$ ), seguido por el área de SG en T9/T10 ( $R^2= 0,2$ ) y el volumen normalizado de SG cerebral ( $R^2= 0,12$ ). Los autores (270) afirman que el orden de importancia relativa de los diferentes parámetros predictivos de discapacidad se mantienen en este orden, independientemente de las combinaciones de segmentos cervicales y torácicos elegidos.

Otro aspecto interesante en la determinación de la discapacidad es el tiempo de enfermedad, y su repercusión en la tasa de atrofia. Al respecto, Kearney et al. (271) defienden que el tiempo de evolución de la enfermedad juega un papel clave determinando la atrofia de la SG cerebral, la cual podría alcanzar su punto más bajo con la historia natural de la enfermedad, a partir del cual dicha variable tiene una menor contribución en la determinación de la discapacidad. Esta idea la desarrollan a partir de los resultados de un modelo binario (EDSS  $<6$ ,  $\geq 6$ ), en el cual el área espinal cervical superior y el volumen lesional cerebral en T2 se asocian independientemente con el

requerimiento de ayudas para caminar. Sin embargo, planteando un modelo en 4 categorías (EDSS  $\leq 1,5$ ,  $>1,5-3$ ,  $\geq 3-6$ ,  $\geq 6$ ) la SG cerebral se añade a las otras dos variables anteriormente nombradas como determinante independiente de discapacidad. Finalmente, nuestros resultados también se corroboran por un estudio reciente (223) que valora las relaciones entre médula espinal y OCT. El estudio de una cohorte mixta permitió formular un modelo multivariable de la EDSS ( $R^2 = 0,4$ ) revelando que el área espinal y la edad son las únicas variables examinadas que correlacionan con la EDSS. De manera similar al presente estudio, el sexo, el BPF, la CFNRp o la historia previa de NO no correlacionaron con el grado de discapacidad examinado a través de la EDSS. Debido a la mejor correlación estructura-función de la CCG con la discapacidad (y con la visión) en comparación con la CFNRp (208), en el presente estudio se ha enriquecido el modelo de regresión ordinal formulado, incluyendo como variable la CCG. Nuestros resultados sugieren que la discapacidad se captura mejor a través de parámetros espinales y retinianos que a través de la atrofia cerebral, lo que apoya la idea de mecanismos patogénicos a nivel espinal y retinianos diferentes de los cerebrales o al menos, la existencia de un daño tisular en médula espinal y retina que resulta clínicamente menos “silencioso” que el que pueda afectar al total cerebral (223).

### **3. Limitaciones**

El presente trabajo cuenta con ciertas limitaciones. La primera hace referencia al heterogéneo grupo de pacientes, que han sido tratados con varios DMT durante distintos intervalos de tiempo, infraestimando la tasa de atrofia retiniana, cerebral y medular en diferente medida. La segunda limitación hace referencia a la naturaleza transversal del estudio, lo que solo permite establecer correlaciones OCT-RM y no causalidad. La tercera limitación es debido el relativo pequeño tamaño muestral (particularmente formas progresivas), lo que se ve agravado por el número de pacientes a los que no se les pudo realizar la RM espinal. La cuarta limitación es debida a la ausencia de un grupo control de pacientes (con un emparejamiento por edad y sexo) para realizar comparaciones con sujetos sanos. A pesar de los estrictos criterios de exclusión y de los test oftalmológicos practicados, como quinta limitación no puede desecharse la posibilidad de no haber identificado NO subclínicas en algunos ojos. Además, como sexta limitación cabe comentar la obtención del volumen medular manualmente, método menos preciso que mediante un software automatizado.

Concretamente, en relación a la formulación y validación de modelos, cabe comentar como limitaciones que el estudio se ha realizado basándose en la hipótesis etiopatogénica de la EM del daño dinámico del SNC, sin que se pueda rechazar otras alternativas etiopatogénicas. Otras limitaciones relacionadas con los modelos formulados son la imposibilidad de su aplicación a pacientes con NO bilateral o un EDSS mayor de 6,5.

En el caso concreto del modelo predictivo de la discapacidad, cabe señalar que no solo los volúmenes de RM de las diferentes estructuras del SNC son influyentes en el valor de EDSS, sino también la localización de las lesiones, como es el caso de las infratentoriales y espinales (272). Del mismo modo, cabe comentar el creciente número de publicaciones con técnicas de neuroimagen no convencionales descritas en la primera parte de la introducción, que revelan la afectación de la SBAN y la SG incluso en estadios tempranos de la enfermedad y su correlación con la discapacidad.

De entre las fortalezas del estudio, destacamos los estrictos criterios clínicos de exclusión y la granularidad de los datos recogidos mediante OCT y RM, lo que ha permitido valorar correlaciones entre estructuras poco estudiadas como la médula espinal, el cerebelo, la CNI o la CNE.

Por su parte, la visión cromática puede ser valorada de múltiples maneras, pero en la práctica clínica diaria principalmente se distingue el uso de láminas pseudoisocromáticas (test de Ishihara y test de Hardy-Rand-Rittler) y el uso de discos (Farnsworth-Munsell 100-Hue, Farnsworth 15D y Lanthony 15D, éste último para la valoración cromática desaturada). Mientras que el uso de test compuestos por láminas son más fáciles, rápidos e independientes de la función del miembro superior, lo que los hace ideales como test de cribado; los test que utilizan discos permiten una valoración más detallada de la discromatopsia que pueda sufrir el paciente (273), habiendo consumido en nuestro estudio menos tiempo con el test de Farnsworth D15 que mediante la prueba de Farnsworth-Munsell 100-Hue, aunque teniendo menor sensibilidad para la detección de anomalías cromáticas medias en comparación con la prueba desaturada de Lanthony 15D.

A la luz de los resultados del presente proyecto de investigación, y a pesar de las limitaciones que puedan surgir del uso de la OCT como biomarcador en la EM (274), es posible identificar capas maculares concretas, así como sectores de la CFNRp, que pueden erigirse como marcadores subrogados con una finalidad clínica e investigadora, traduciendo potencialmente la integridad anatómica y la concurrencia de procesos



patológicos en otras estructuras del SNC, algunas de ellas anatómicamente y funcionalmente independientes de la vía visual (como es el caso de la médula espinal). Esta idea se ve reforzada al estudiar la discromatopsia como un marcador que refleja el proceso neurodegenerativo difuso independiente del componente inflamatorio de la enfermedad. Por su parte, el estudio de la EDSS refleja una mayor correlación de la discapacidad clínica con parámetros de OCT que con magnitudes neurorradiológicas como el BPF.

Por tanto, son necesarios estudios longitudinales con tamaños muestrales mayores y más homogéneos, que permitan ahondar en el potencial valor de parámetros de la función visual y de la OCT en la monitorización e investigación de la EM.



## **CONCLUSIONES**



## **Objetivo principal**

- 1.1. En los ojos del subgrupo general de pacientes diagnosticados de EM con historia de NO y en el subgrupo de pacientes diagnosticados de EMRR con historia de NO, los sectores N-CFNRp y NI-CFNRp se correlacionan con el volumen espinal (C1-C4).
- 1.2. En los ojos del subgrupo general de pacientes diagnosticados de EM sin historia de NO, el HPM, la CCG y la CPI se correlacionan con el volumen de la médula espinal (C1-C4).
- 1.3. La correlación inversa entre el volumen del cerebelo y el BPF con el grosor de la CNI en ojos de pacientes con EMP sin historia de NO podría indicar la existencia de actividad inflamatoria, incluso en ausencia de EMM. Dicho marcador de actividad inflamatoria tiende a la significación estadística con el total de SG en los subgrupos EMP sin historia de NO y EMRR con historia de NO.

## **Objetivos secundarios**

- 2.1. En nuestra muestra el antecedente de NO se asocia con la disminución de la CFNRp y sus sectores, así como con la disminución del volumen de la CCG y la CPI, y con el incremento del volumen de la CNI. Neurorradiológicamente el antecedente de NO se asocia con la disminución de volumen cerebeloso y con una tendencia estadística a un menor volumen de SG.
- 3.1. La discromatopsia medida a través del CCI en pacientes de EM, se correlaciona con parámetros retinianos (CCG, CFNRp), con la discapacidad física (EDSS) y con parámetros neurorradiológicos (volumen espinal (C1-C4) y BPF). Se ha formulado y validado un modelo de regresión lineal multivariable que permite predecir la discromatopsia como medida de neurodegeneración independiente de la inflamación, a partir de parámetros clínicos y paraclínicos anteriormente citados.
- 3.2. El patrón cualitativo de afectación cromática más común encontrado en nuestra muestra es el error cromático difuso, lo que apoya la ausencia de un patrón específico en la deficiencia cromática en la EM.

- 3.3. De los marcadores de imagen valorados, la discromatopsia se correlaciona con el volumen espinal (C1-C4) y el grosor de la CCG con mayor fuerza de asociación que la atrofia cerebral (BPF). En el modelo multivariante, la CCG presenta mayor coeficiente que los dos anteriores, lo que refleja el gran peso del estado de la CCG en la determinación final de dicho parámetro.
- 3.4. El daño crónico primario retiniano no sólo es paralelo al daño crónico cerebral, sino también al daño espinal (C1-C4), lo que apoya la existencia de una neurodegeneración primaria que afecta más allá de los límites anatómicos y funcionales establecidos.
- 3.5. Los test de visión cromática ofrecen información útil para la toma de decisiones clínicas y en la labor investigativa de la EM, puesto que se correlacionan con marcadores subrogados de discapacidad (EDSS), neurorradiológicos (volumen espinal (C1-C4) y BPF) y retinianos (CCG y CFNRp).
- 4.1. La discapacidad clínica medida a través de la EDSS se correlaciona con la edad, el volumen espinal (C1-C4) y parámetros de OCT (CCG y CPI). Se ha formulado y validado un modelo de regresión ordinal que permite predecir una probabilidad de obtener un valor de EDSS a partir de parámetros clínicos y paraclínicos anteriormente citados.
- 4.2. La discapacidad medida a través de la EDSS se captura mejor a través de parámetros espinales (C1-C4) y retinianos, que a través de la atrofia cerebral (BPF), lo que apoya la idea de mecanismos patogénicos a nivel espinal y retiniano diferentes de los cerebrales, o al menos, la existencia de un daño “menos silencioso” en la médula espinal y en la retina, en comparación con el daño cerebral.
- 4.3. Dada la buena correlación de la EDSS con la OCT, ésta se presenta como una buena herramienta para la monitorización clínica de la discapacidad en pacientes con EM y como marcador subrogado de daño axonal en ensayos clínicos.
- 4.4. Es irrefutable la utilidad de la RM espinal cervical como marcador de discapacidad, a pesar de su menor popularidad en la práctica clínica diaria y en investigación, en comparación con la RM cerebral. No existe consenso sobre la magnitud medular más idónea para valorar la discapacidad.

## BIBLIOGRAFÍA





1. Sawcer S, Franklin RJ, Ban M. Multiple sclerosis genetics. *Lancet Neurol.* 2014;13(7):700–9.
2. Belbasis L, Bellou V, Evangelou E, Ioannidis JPA, Tzoulaki I. Environmental risk factors and multiple sclerosis: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *Lancet Neurol.* 2015;14(3):263–73.
3. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet.* 2008;372(9648):1502–17.
4. Noseworthy J, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker B. Multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2000;343(13):938–52.
5. Pugliatti M, Rosati G, Carton H, Riise T, Drulovic J, Vécsei L, et al. The epidemiology of multiple sclerosis in Europe. *Eur J Neurol.* 2006;13(7):700–22.
6. Browne P, Chandraratna D, Angood C, Tremlett H, Baker C, Taylor BV, et al. Atlas of multiple sclerosis 2013: a growing global problem with widespread inequity. *Neurology.* 2014;83(11):1022–4.
7. Sospedra M, Martin R. Immunology of multiple sclerosis. *Semin Neurol.* 2016;36(2):115–27.
8. Montalban X, Tintoré M, Swanton J, Barkhof F, Fazekas F, Filippi M, et al. MRI criteria for MS in patients with clinically isolated syndromes. *Neurology.* 2010;74(5):427–34.
9. Swanton JK, Rovira A, Tintore M, Altmann DR, Barkhof F, Filippi M, et al. MRI criteria for multiple sclerosis in patients presenting with clinically isolated syndromes: a multicentre retrospective study. *Lancet Neurol.* 2007;6(8):677–86.
10. Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, Carroll WM, Coetzee T, Comi G, et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol.* 2018;17(2):162–73.
11. Okuda DT, Mowry EM, Beheshtian A, Waubant E, Baranzini SE, Goodin DS, et al. Incidental MRI anomalies suggestive of multiple sclerosis: the radiologically isolated syndrome. *Neurology.* 2009;72(9):800–5.
12. Brownlee WJ, Hardy TA, Fazekas F, Miller DH. Diagnosis of multiple sclerosis: progress and challenges. *Lancet.* 2017;389(10076):1336–46.
13. Arrambide G, Sastre-Garriga J. Predictive markers of disease evolution after a CIS in everyday practice. *J Neurol Sci.* 2014;343(1-2):8–14.
14. Filippi M, Rocca MA, Ciccarelli O, De Stefano N, Evangelou N, Kappos L, et al. MRI criteria for the diagnosis of multiple sclerosis: MAGNIMS consensus guidelines. *Lancet Neurol.* 2016;15(3):292–303.

15. Hemmer B, Kerschensteiner M, Korn T. Role of the innate and adaptive immune responses in the course of multiple sclerosis. *Lancet Neurol.* 2015;14(4):406–19.
16. Poser CM, Paty DW, Scheinberg L, McDonald WI, Davis FA, Ebers GC, et al. New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Ann Neurol.* 1983;13(3):227–31.
17. Friese MA, Schattling B, Fugger L. Mechanisms of neurodegeneration and axonal dysfunction in multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol.* 2014;10(4):225–38.
18. Lublin FD, Reingold SC, Cohen JA, Cutter GR, Sorensen PS, Thompson AJ, et al. Defining the clinical course of multiple sclerosis: the 2013 revisions. *Neurology.* 2014;83(3):278–86.
19. Ontaneda D, Thompson AJ, Fox RJ, Cohen JA. Progressive multiple sclerosis: prospects for disease therapy, repair, and restoration of function. *Lancet.* 2017;389(10076):1357–66.
20. Lassmann H. Pathology and disease mechanisms in different stages of multiple sclerosis. *J Neurol Sci.* 2013;333(1-2):1–4.
21. Cree BAC, Hollenbach JA, Bove R, Kirkish G, Sacco S, Caverzasi E, et al. Silent progression in disease activity–free relapsing multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 2019;85(5):653–66.
22. Larochelle C, Uphaus T, Prat A, Zipp F. Secondary progression in multiple sclerosis: neuronal exhausting or distinct pathology? *Trends Neurosci.* 2016;39(5):325–39.
23. Lassmann H. Targets of therapy in progressive multiple sclerosis. *Mult Scler J.* 2017;23(12):1593–9.
24. Kawachi I, Lassmann H. Neurodegeneration in multiple sclerosis and neuromyelitis optica. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2017;88(2):137–45.
25. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology.* 1983;33(11):1944–52.
26. Kurtzke JF. A new scale for evaluating disability in multiple sclerosis. *Neurology.* 1955;5(8):580–3.
27. Meyer-Moock S, Feng YS, Maeurer M, Dippel FW, Kohlmann T. Systematic literature review and validity evaluation of the Expanded Disability Status Scale (EDSS) and the Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC) in patients with multiple sclerosis. *BMC Neurol.* 2014;25(14):58.
28. Rotstein D, Montalban X. Reaching and evidence-based prognosis for

- personalized treatment of multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol*. 2019;15(5):287–300.
29. Marciniwicz E, Podgórski P, Sasiadek M, Bładowska J. The role of MR volumetry in brain atrophy assessment in multiple sclerosis: a review of the literature. *Adv Clin Exp Med*. 2019;28(7):989–99.
  30. Vidal-Jordana A, Sastre-Garriga J, Pareto D, Tur C, Arrambide G, Otero-Romero S, et al. Brain atrophy 15 years after CIS: baseline and follow-up clinico-radiological correlations. *Mult Scler Int*. 2018;24(6):721–7.
  31. Van Schependom J, Guldolf K, D’Hooghe MB, Nagels G, D’Haeseleer M. Detecting neurodegenerative pathology in multiple sclerosis before irreversible brain tissue loss sets in. *Transl Neurodegener*. 2019;8(37):10.1186/s40035–019 – 0178–4.
  32. Rovira A, Tintoré M, Álvarez-Cermeño JC, Izquierdo G, Prieto JM. Recomendaciones para la utilización e interpretación de los estudios de resonancia magnética en la esclerosis múltiple. *Neurología*. 2010;25(4):248–65.
  33. Azevedo CJ, Overton E, Khadka S, Buckley J, Liu S, Sampat M, et al. Early CNS neurodegeneration in radiologically isolated syndrome. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2015;2(3):e102.
  34. Henry RG, Shieh M, Okuda DT, Evangelista A, Gorno-Tempini ML, Pelletier D. Regional grey matter atrophy in clinically isolated syndromes at presentation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008;79(11):1236–44.
  35. Harrison DM, Roy S, Oh J, Izbudak I, Pham D, Courtney S, et al. Association of cortical lesion burden on 7T magnetic resonance imaging with cognition and disability in multiple sclerosis. *JAMA Neurol*. 2015;72(9):1004–12.
  36. Rocca MA, Mesaros S, Pagani E, Sormani MP, Comi G, Filippi M. Thalamic damage and long-term progression of disability in multiple sclerosis. *Radiology*. 2010;257(2):463–9.
  37. Nielsen AS, Kinkel RP, Madigan N, Tinelli E, Benner T, Mainero C. Contribution of cortical lesion subtypes at 7T MRI to physical and cognitive performance in MS. *Neurology*. 2013;81(7):641–9.
  38. Calabrese M, Agosta F, Rinaldi F, Mattisi I, Grossi P, Favaretto A, et al. Cortical lesions and atrophy associated with cognitive impairment in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Arch Neurol*. 2009;66(9):1144–50.
  39. Schoonheim MM, Hulst HE, Brandt RB, Strik M, Wink AM, Uitdehaag BMJ, et

- al. Thalamus structure and function determine severity of cognitive impairment in multiple sclerosis. *Neurology*. 2015;84(8):776–83.
40. Ontaneda D, Fox RJ. Imaging as an outcome measure in multiple sclerosis. *Neurotherapeutics*. 2017;14(1):24–34.
  41. George IC, El Mendili MM, Inglese M, Azevedo CJ, Kantarci O, Lebrun C, et al. Cerebellar volume loss in radiologically isolated syndrome. *Mult Scler J*. 2019;4:135245851988734.
  42. Inglese M, Oesingmann N, Casaccia P, Fleysler L. Progressive multiple sclerosis and gray matter pathology: an MRI perspective. *Mt Sinai J Med*. 2011;78(2):258–67.
  43. Moccia M, Ruggieri S, Ianniello A, Toosy A, Pozzilli C, Ciccarelli O. Advances in spinal cord imaging in multiple sclerosis. *Ther Adv Neurol Disord*. 2019;12:1756286419840593.
  44. Bot JC, Barkhof F. Spinal cord MRI in multiple sclerosis: conventional and nonconventional MR techniques. *Neuroimag Clin N Am*. 2009;19(1):81–99.
  45. Hua LH, Donlon SL, Sobhanian MJ, Portner SM, Okuda DT. Thoracic spinal cord lesions are influenced by the degree of cervical spine involvement in multiple sclerosis. *Spinal Cord*. 2015;53(7):520–5.
  46. Miller DH, Altmann DR, Chard DT. Advances in imaging to support the development of novel therapies for multiple sclerosis. *Clin Pharmacol Ther*. 2012;91(4):621–34.
  47. Schlaeger R, Papinutto N, Panara V, Bevan C, Lobach IV, Bucci M, et al. Spinal cord gray matter atrophy correlates with multiple sclerosis disability. *Ann Neurol*. 2014;76(4):568–80.
  48. Rocca MA, Horsfield MA, Sala S, Copetti M, Valsasina P, Mesaros MS, et al. A multicenter assessment of cervical cord atrophy among MS clinical phenotypes. *Neurology*. 2011;76(24):2096–102.
  49. Lukas C, Knol DL, Sombekke MH, Bellenberg B, Hahn HK, Popescu V, et al. Cervical spinal cord volume loss is related to clinical disability progression in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2015;86(4):410–8.
  50. Evangelou N, DeLuca GC, Owens T, Esiri MM. Pathological study of spinal cord atrophy in multiple sclerosis suggests limited role of local lesions. *Brain*. 2005;128(1):29–34.
  51. Kearney H, Miller DH, Ciccarelli O. Spinal cord MRI in multiple sclerosis—

- diagnostic, prognostic and clinical value. *Nat Rev Neurol*. 2015;11(6):327–38.
52. Lassmann H. Multiple sclerosis pathology. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2018;8(3):a028936.
  53. Matthews PM. Chronic inflammation in multiple sclerosis — seeing what was always there. *Nat Rev Neurol*. 2019;15(10):582–93.
  54. Peterson JW, Bö L, Mörk S, Chang A, Trapp BD. Transected neurites, apoptotic neurons, and reduced inflammation in cortical multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol*. 2001;50(3):389–400.
  55. Calabrese M, Filippi M, Gallo P. Cortical lesions in multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol*. 2010;6(8):438–44.
  56. Mahad DH, Trapp BD, Lassmann H. Pathological mechanisms in progressive multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 2015;14(2):183–93.
  57. Haider L, Simeonidou C, Steinberger G, Hametner S, Grigoriadis N, Deretzi G, et al. Multiple sclerosis deep grey matter: the relation between demyelination, neurodegeneration, inflammation and iron. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2014;85(12):1386–95.
  58. Law M, Saindane AM, Ge Y, Babb JS, Johnson G, Mannon LJ, et al. Microvascular abnormality in relapsing-remitting multiple sclerosis: perfusion MR imaging findings in normal-appearing white matter. *Radiology*. 2004;231(3):645–52.
  59. Papadaki EZ, Mastorodemos VC, Amanakis EZ, Tsekouras KC, Papadakis AE, Tsavalas ND, et al. White matter and deep gray matter hemodynamic changes in multiple sclerosis patients with clinically isolated syndrome. *Magn Reson Med*. 2012;68(6):1932–42.
  60. Doche E, Lecocq A, Maarouf A, Duhamel G, Soulier E, Confort-Gouny S, et al. Hypoperfusion of the thalamus is associated with disability in relapsing remitting multiple sclerosis. *J Neuroradiol*. 2017;44(2):158–64.
  61. D’Haeseleer M, Beelen R, Fierens Y, Cambron M, Vanbinst AM, Verborgh C, et al. Cerebral hypoperfusion in multiple sclerosis is reversible and mediated by endothelin-1. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013;110(14):5654–8.
  62. D’Haeseleer M, Hostenbach S, Peeters I, El Sankari S, Nagels G, De Keyser J, et al. Cerebral hypoperfusion: a new pathophysiologic concept in multiple sclerosis? *J Cereb Blood Flow Metab*. 2015;35(9):1406–10.
  63. Barkhof F. The clinico-radiological paradox in multiple sclerosis revisited. *Curr*

- Opin Neurol. 2002;15(3):239–45.
64. Brinar VV, Barun B. Challenges in multiple sclerosis; how to define occurrence of progression. *Clin Neurol Neurosurg*. 2013;115(1):S30–4.
  65. Enzinger C, Barkhof F, Ciccarelli O, Filippi M, Kappos L, Rocca MA, et al. Nonconventional MRI and microstructural cerebral changes in multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol*. 2015;11(12):676–86.
  66. Mori S, Zhang J. Principles of diffusion tensor imaging and its applications to basic neuroscience research. *Neuron*. 2006;51(5):527–39.
  67. Moll NM, Rietsch AM, Thomas S, Ransohoff AJ, Lee JC, Fox R, et al. Multiple sclerosis normal-appearing white matter: pathology-imaging correlations. *Ann Neurol*. 2011;70(5):764–73.
  68. De Kouchkovsky I, Fieremans E, Fleysher L, Herbert J, Grossman RI, Inglese M. Quantification of normal-appearing white matter tract integrity in multiple sclerosis: a diffusion kurtosis imaging study. *J Neurol*. 2016;263(6):1146–55.
  69. Rocca MA, Preziosa P, Mesaros S, Pagani E, Dackovic J, Stosic-Opincal T, et al. Clinically isolated syndrome suggestive of multiple sclerosis: dynamic patterns of gray and white matter changes - a 2-year MR imaging study. *Radiology*. 2016;278(3):841–53.
  70. Cappellani R, Bergsland N, Weinstock-Guttman B, Kennedy C, Carl E, Ramasamy DP, et al. Diffusion tensor MRI alterations of subcortical deep gray matter in clinically isolated syndrome. *J Neurol Sci*. 2014;338(1-2):128–34.
  71. Planche V, Ruet A, Coupé P, Lamargue-Hamel D, Deloire M, Pereira B, et al. Hippocampal microstructural damage correlates with memory impairment in clinically isolated syndrome suggestive of multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2017;23(9):1214–24.
  72. Oh J, Zackowski K, Chen M, Newsome S, Saidha S, Smith SA, et al. Multiparametric MRI correlates of sensorimotor function in the spinal cord in multiple sclerosis. *Mult Scler J*. 2013;19(4):427–35.
  73. Ciccarelli O, Wheeler-Kingshott CA, McLean MA, Cercignani M, Wimpey K, Miller DH, et al. Spinal cord spectroscopy and diffusion-based tractography to assess acute disability in multiple sclerosis. *Brain*. 2007;130(8):2220–31.
  74. Matthews PM. Functional magnetic resonance imaging. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2004;75(1):6–12.
  75. Forn C, Rocca MA, Valsasina P, Boscá I, Casanova B, Sanjuan A, et al.

- Functional magnetic resonance imaging correlates of cognitive performance in patients with a clinically isolated syndrome suggestive of multiple sclerosis at presentation: an activation and connectivity study. *Mult Scler J.* 2012;18(2):153–63.
76. Colorado RA, Shukla K, Zhou Y, Wolinsky JS, Narayana PA. Multi-task functional MRI in multiple sclerosis patients without clinical disability. *Neuroimage.* 2012;59(1):573–81.
  77. White AT, Lee JN, Light AR, Light KC. Brain activation in multiple sclerosis: a BOLD fMRI study of the effects of fatiguing hand exercise. *Mult Scler.* 2009;15(5):580–6.
  78. Bonavita S, Gallo A, Sacco R, Della Corte M, Bisecco A, Docimo R, et al. Distributed changes in default-mode resting-state connectivity in multiple sclerosis. *Mult Scler J.* 2011;17(4):411–22.
  79. Louapre C, Perlberg V, García-Lorenzo D, Urbanski M, Benali H, Assouad R, et al. Brain networks disconnection in early multiple sclerosis cognitive deficits: an anatomofunctional study. *Hum Brain Mapp.* 2014;35(9):4706–17.
  80. Tien-Hsiang Chen J, Easley K, Colleen Schneider B, Kunio Nakamura B, Kidd GJ, Chang A, et al. Clinically feasible MTR is sensitive to cortical demyelination in MS. *Neurology.* 2012;80(3):246–52.
  81. Fjær S, Bø L, Lundervold A, Myhr KM, Pavlin T, Torkildsen Ø, et al. Deep gray matter demyelination detected by magnetization transfer ratio in the cuprizone model. *PLoS One.* 2013;8(12):e84162.
  82. Amann M, Papadopoulou A, Andelova M, Magon S, Mueller-Lenke N, Naegelin Y, et al. Magnetization transfer ratio in lesions rather than normal-appearing brain relates to disability in patients with multiple sclerosis. *J Neurol.* 2015;262(8):1909–17.
  83. Khaleeli Z, Sastre-Garriga J, Ciccarelli O, Miller DH, Thompson AJ. Magnetisation transfer ratio in the normal appearing white matter predicts progression of disability over 1 year in early primary progressive multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2007;78(10):1076–82.
  84. Khaleeli Z, Altmann DR, Cercignani M, Ciccarelli O, Miller DH, Thompson AJ. Magnetization transfer ratio in gray matter a potential surrogate marker for progression in early primary progressive multiple sclerosis. *Arch Neurol.* 2008;65(11):1454–9.

85. Filippi M, Preziosa P, Copetti M, Riccitelli G, Horsfield MA, Martinelli V, et al. Gray matter damage predicts the accumulation of disability 13 years later in MS. *Neurology*. 2013;81(20):1759–67.
86. Agosta F, Pagani E, Caputo D, Filippi M. Associations between cervical cord gray matter damage and disability in patients with multiple sclerosis. *Arch Neurol*. 2007;64(9):1302–5.
87. Kearney H, Yiannakas MC, Samson RS, Wheeler-Kingshott CAM, Ciccarelli O, Miller DH. Investigation of magnetization transfer ratio-derived pial and subpial abnormalities in the multiple sclerosis spinal cord. *Brain*. 2014;137(9):2456–68.
88. Giacomini PS, Levesque IR, Ribeiro L, Narayanan S, Francis SJ, Bruce Pike G, et al. Measuring demyelination and remyelination in acute multiple sclerosis lesion voxels. *Arch Neurol*. 2009;66(3):375–81.
89. Banati RB, Newcombe J, Gunn RN, Cagnin A, Turkheimer F, Heppner F, et al. The peripheral benzodiazepine binding site in the brain in multiple sclerosis. Quantitative in vivo imaging of microglia as a measure of disease activity. *Brain*. 2000;123(11):2321–37.
90. Rissanen E, Tuisku J, Rokka J, Paavilainen T, Parkkola R, Rinne JO, et al. In vivo detection of diffuse inflammation in secondary progressive multiple sclerosis using PET imaging and the radioligand C-PK11195. *J Nucl Med*. 2014;55(6):939–44.
91. Datta G, Colasanti A, Rabiner EA, Gunn RN, Malik O, Ciccarelli O, et al. Neuroinflammation and its relationship to changes in brain volume and white matter lesions in multiple sclerosis. *Brain*. 2017;140(11):2927–38.
92. Datta G, Colasanti A, Kalk N, Owen D, Scott G, Rabiner EA, et al. 11C-PBR28 and 18F-PBR111 detect white matter inflammatory heterogeneity in multiple sclerosis. *J Nucl Med*. 2017;58(9):1477–82.
93. Herranz E, Gianni C, Louapre C, Treaba CA, Govindarajan ST, Ouellette R, et al. Neuroinflammatory component of gray matter pathology in multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2016;80(5):776–90.
94. Takata K, Kato H, Shimosegawa E, Okuno T, Koda T, Sugimoto T, et al. 11C-Acetate PET imaging in patients with multiple sclerosis. *PLoS One*. 2014;9(11):e111598.
95. Narayana PA. Magnetic resonance spectroscopy in the monitoring of multiple sclerosis. *J Neuroimaging*. 2005;15(4):46S – 57S.



96. Sastre-Garriga J, Ingle GT, Chard DT, Ramió-Torrentà L, McLean MA, Miller DH, et al. Metabolite changes in normal-appearing gray and white matter are linked with disability in early primary progressive multiple sclerosis. *Arch Neurol.* 2005;62(4):569–73.
97. Khan O, Seraji-Bozorgzad N, Bao F, Razmjou S, Caon C, Santiago C, et al. The relationship between brain MR spectroscopy and disability in multiple sclerosis: 20-year data from the US glatiramer acetate extension study. *J Neuroimaging.* 2017;27(1):97–106.
98. Ruiz-Peña JL, Piñero P, Sellers G, Argente J, Casado A, Foronda J, et al. Magnetic resonance spectroscopy of normal appearing white matter in early relapsing-remitting multiple sclerosis: correlations between disability and spectroscopy. *BMC Neurol.* 2004;4:8.
99. Srinivasan R, Sailasuta N, Hurd R, Nelson S, Pelletier D. Evidence of elevated glutamate in multiple sclerosis using magnetic resonance spectroscopy at 3T. *Brain.* 2005;128(5):1016–25.
100. Cawley N, Solanky BS, Muhlert N, Tur C, Edden RA, Wheeler-Kingshott C, et al. Reduced gamma-aminobutyric acid concentration is associated with physical disability in progressive multiple sclerosis. *Brain.* 2015;138(9):2467–8.
101. De Stefano N, Airas L, Grigoriadis N, Mattle HP, O’Riordan J, Oreja-Guevara C, et al. Clinical relevance of brain volume measures in multiple sclerosis. *CNS Drugs.* 2014;28(2):147–56.
102. Losseff NA, Webb SL, O’riordan JI, Page R, Wang L, Barker GJ, et al. Spinal cord atrophy and disability in multiple sclerosis. A new reproducible and sensitive MRI method with potential to monitor disease progression. *Brain.* 1996;119(3):701–8.
103. Horsfield MA, Sala S, Neema M, Absinta M, Bakshi A, Sormani MP, et al. Rapid semi-automatic segmentation of the spinal cord from magnetic resonance images: application in multiple sclerosis. *Neuroimage.* 2010;50(2):446–55.
104. Lukas C, Hahn HK, Bellenberg B, Rexilius J, Schmid G, Schimrigk SK, et al. Sensitivity and reproducibility of a new fast 3D segmentation technique for clinical MR-based brain volumetry in multiple sclerosis. *Neuroradiology.* 2004;46(11):906–15.
105. Liu Y, Lukas C, Steenwijk MD, Daams M, Versteeg A, Duan Y, et al. Multicenter validation of mean upper cervical cord area measurements from head

- 3D T1-weighted MR imaging in patients with multiple sclerosis. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2016;37(4):749–54.
106. Xinapse Systems [Internet]. Essex (UK):Xinapse; 2001 (accessed 15 January 2020). Disponible en: <http://www.xinapse.com/Manual>.
107. De Leener B, Lévy S, Dupont SM, Fonov VS, Stikov N, Louis Collins D, et al. SCT: spinal cord toolbox, an open-source software for processing spinal cord MRI data. *Neuroimage.* 2017;145(A):24–43.
108. Liu Z, Yaldizli Ö, Pardini M, Sethi V, Kearney H, Muhlert N, et al. Cervical cord area measurement using volumetric brain magnetic resonance imaging in multiple sclerosis. *Mult Scler Relat Disord.* 2015;4(1):52–7.
109. Tintore M, Rovira À, Río J, Otero-Romero S, Arrambide G, Tur C, et al. Defining high, medium and low impact prognostic factors for developing multiple sclerosis. *Brain.* 2015;138(7):1863–74.
110. Tintoré M, Rovira A, Río J, Tur C, Pelayo R, Nos C, et al. Do oligoclonal bands add information to MRI in first attacks of multiple sclerosis? *Neurology.* 2008;70(13):1079–83.
111. Mailand MT, Frederiksen JL. Intrathecal IgM as a prognostic marker in multiple sclerosis. *Mol Diagn Ther.* 2020;24(3):263-77.
112. Teunissen CE, Iacobaeus E, Khademi M, Brundin L, Norgren N, Koel-Simmelink MJA, et al. Combination of CSF N-acetylaspartate and neurofilaments in multiple sclerosis. *Neurology.* 2009;72(15):1322–9.
113. Modvig S, Degn M, Sander B, Horwitz H, Wanscher B, Sellebjerg F, et al. Cerebrospinal fluid neurofilament light chain levels predict visual outcome after optic neuritis. *Mult Scler.* 2016;22(5):590–8.
114. Petzold A. The prognostic value of CSF neurofilaments in multiple sclerosis at 15-year follow-up. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2015;86(12):1388–90.
115. Petzold A, Steenwijk MD, Eikelenboom JM, Wattjes MP, Uitdehaag BMJ. Elevated CSF neurofilament proteins predict brain atrophy: a 15-year follow-up study. *Mult Scler.* 2016;22(9):1154–62.
116. Bonne-Barkay D, Wang G, Starkey A, Hamilton RL, Wiley CA. In vivo CHI3L1 (YKL-40) expression in astrocytes in acute and chronic neurological diseases. *J Neuroinflammation.* 2010;7:34.
117. Lee CG, Da Silva CA, Dela Cruz CS, Ahangari F, Ma B, Kang M-J, et al. Role of chitin and chitinase/chitinase-like proteins in inflammation, tissue remodeling,

- and injury. *Annu Rev Physiol.* 2011;73(1):479–501.
118. Martínez MAM, Olsson B, Bau L, Matas E, Calvo AC, Andreasson U, et al. Glial and neuronal markers in cerebrospinal fluid predict progression in multiple sclerosis. *Mult Scler J.* 2015;21(5):550–61.
  119. Canto E, Tintore M, Villar LM, Costa C, Nurtdinov R, Alvarez-Cermeno JC, et al. Chitinase 3-like 1: prognostic biomarker in clinically isolated syndromes. *Brain.* 2015;138(4):918–31.
  120. Borràs E, Cantó E, Choi M, Villar LM, Álvarez-Cermeño JC, Chiva C, et al. Protein-based classifier to predict conversion from clinically isolated syndrome to multiple sclerosis. *Mol Cell Proteomics.* 2016;15(1):318–28.
  121. Louapre C. Conventional and advanced MRI in multiple sclerosis. *Rev Neurol.* 2018;174(6):391–7.
  122. Hutchins J, Corbett J. Sistema visual. En: Haines, DE. *Principios de Neurociencia.* 2º ed. Barcelona: Elsevier; 2009. p. 303–22.
  123. Moreno Alguacil E, Moreno Alguacil F. La visión. Mecanismos que la hacen posible. En: Zaragoza Casares, P. *Aplicaciones clínicas de la electrofisiología ocular. Mesa Redonda 87 Congreso de la Sociedad Española de Oftalmología.* Madrid: Sociedad Española de oftalmología; 2011. p. 13–6.
  124. Pula JH, McDonald CJ. Current options for the treatment of optic neuritis. *Clin Ophthalmol.* 2012;6:1211–23.
  125. Kale N. Optic neuritis as an early sign of multiple sclerosis. *Eye Brain.* 2016;8:195–202.
  126. Balcer LJ, Frohman EM. Evaluating loss of visual function in multiple sclerosis as measured by low-contrast letter acuity. *Neurology.* 2010;74(3):S16–23.
  127. Graham SL, Klistorner A. Afferent visual pathways in multiple sclerosis: a review. *Clin Exp Ophthalmol.* 2016;45(1):62–72.
  128. Toosy AT, Mason DF, Miller DH. Optic neuritis. *Lancet Neurol.* 2014;13(1):83–99.
  129. Torres-Torres R, Sanchez-Dalmau BF. Treatment of acute optic neuritis and vision complaints in multiple sclerosis. *Curr Treat Options Neurol.* 2015;17(1):328.
  130. Optic Neuritis Study Group. The clinical profile of optic neuritis, experience of the optic neuritis treatment trial. *Arch Ophthalmol.* 1991;109(12):1673–8.
  131. Savino PJ, Carmona O, Arbizu T, Arruga J, Sánchez-Dalmau B, Vidaller A,

- García O. Neuritis ópticas. En: Arruga Ginebreda J, Sánchez Dalmau B. Neuropatías ópticas: diagnóstico y tratamiento. LXXVIII Ponencia Oficial de la Sociedad Española de Oftalmología. Madrid: Sociedad Española de Oftalmología; 2002. p.177-206.
132. Grigsby S, Vingrys A, Benes S, King-Smith P. Correlation of chromatic, spatial and temporal sensitivity in optic nerve disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1991;32(13):3252–62.
  133. Sepulcre J, Murie-Fernandez M, Salinas-Alaman A, García-Layana A, Bejarano B, Villoslada P. Diagnostic accuracy of retinal abnormalities in predicting disease activity in MS. *Neurology.* 2007;68(18):1488–94.
  134. Ortiz-Pérez S, Martínez-Lapiscina EH, Gabilondo Í, Fraga-Pumar E, Martínez-Heras E, Saiz A, et al. Retinal periphlebitis is associated with multiple sclerosis severity. *Neurology.* 2013;81(10):877–81.
  135. Noval S, Contreras I, Muñoz S, Oreja-Guevara C, Manzano B, Rebolleda G. Optical coherence tomography in multiple sclerosis and neuromyelitis optica: an update. *Mult Scler Int.* 2011;2011:472790.
  136. Chen L, Gordon LK. Ocular manifestations of multiple sclerosis. *Curr Opin Ophthalmol.* 2005;16(5):315–20.
  137. Gelfand JM, Nolan R, Schwartz DM, Graves J, Green AJ. Microcystic macular oedema in multiple sclerosis is associated with disease severity. *Brain.* 2012;135(6):1786–93.
  138. Balk LJ, Petzold A. Current and future potential of retinal optical coherence tomography in multiple sclerosis with and without optic neuritis. *Neurodegen Dis Manag.* 2014;4(2):165–76.
  139. Heath G, Airody A, Gale RP. The ocular manifestations of drugs used to treat multiple sclerosis. *Drugs.* 2017;77(3):303–11.
  140. Hanson JVM, Lukas SC, Pless M, Schippling S. Optical coherence tomography in multiple sclerosis. *Semin Neurol.* 2016;36(2):177–84.
  141. Costello F. Vision disturbances in multiple sclerosis. *Semin Neurol.* 2016;36(2):185–95.
  142. Brandt AU, Martinez-Lapiscina EH, Nolan R, Saidha S. Monitoring the course of multiple sclerosis with optical coherence tomography. *Curr Treat Options Neurol.* 2017;19(4):15.
  143. Frohman E, Costello F, Zivadinov R, Stuve O, Conger A, Winslow H, et al.

- Optical coherence tomography in multiple sclerosis. *Lancet Neurol.* 2006;5(10):853–63.
144. Bitirgen G, Akpinar Z, Malik RA, Ozkagnici A. Use of corneal confocal microscopy to detect corneal nerve loss and increased dendritic cells in patients with multiple sclerosis. *JAMA Ophthalmol.* 2017;135(7):777–82.
  145. Petzold A, De Boer JF, Schippling S, Vermersch P, Kardon R, Green A, et al. Optical coherence tomography in multiple sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol.* 2010;9(9):921–32.
  146. Chan JW. Recent advances in optic neuritis related to multiple sclerosis. *Acta Ophthalmol.* 2012;90(3):203–9.
  147. Galetta SL, Villoslada P, Levin N, Shindler K, Ishikawa H, Parr E, et al. Acute optic neuritis: unmet clinical needs and model for new therapies. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm.* 2015;2(4):e135.
  148. Gabilondo I, Martínez-Lapiscina EH, Fraga-Pumar E, Ortiz-Perez S, Torres-Torres R, Andorra M, et al. Dynamics of retinal injury after acute optic neuritis. *Ann Neurol.* 2015;77(3):517–28.
  149. Barkhof F, Calabresi PA, Miller DH, Reingold SC. Imaging outcomes for neuroprotection and repair in multiple sclerosis trials. *Nat Rev Neurol.* 2009;5(5):256–66.
  150. Kupersmith MJ, Garvin MK, Wang J-K, Durbin M, Kardon R. Retinal ganglion cell layer thinning within one month of presentation for optic neuritis. *Mult Scler J.* 2016;22(5):641–8.
  151. Huang-Link YM, Al-Hawasi A, Lindehammar H. Acute optic neuritis: retinal ganglion cell loss precedes retinal nerve fiber thinning. *Neurol Sci.* 2015;36(4):617–20.
  152. Britze J, Pihl-Jensen G, Frederiksen JL. Retinal ganglion cell analysis in multiple sclerosis and optic neuritis: a systematic review and meta-analysis. *J Neurol.* 2017;264(9):1837–53.
  153. Saidha S, Al-louzi O, Ratchford JN, Bhargava P, Oh J, Newsome SD, et al. Optical coherence tomography reflects brain atrophy in multiple sclerosis: a four-year study. *Ann Neurol.* 2015;78(5):801–13.
  154. Lambe J, Murphy OC, Saidha S. Can optical coherence tomography be used to guide treatment decisions in adult or pediatric multiple sclerosis? *Curr Treat Options Neurol.* 2018;20(4):9.

155. Lee JY, Taghian K, Petratos S. Axonal degeneration in multiple sclerosis: can we predict and prevent permanent disability? *Acta Neuropathol Commun.* 2014;27(2):97.
156. Saidha S, Calabresi PA. Optical coherence tomography should be part of the routine monitoring of patients with multiple sclerosis: yes. *Mult Scler J.* 2014;20(10):1296–9.
157. Nolan-Kenney R, Liu M, Akhand O, Al. E. Optimal intereye differences thresholds by optical coherence tomography in multiple sclerosis: an international study. *Ann Neurol.* 2019;85(5):618–29.
158. Xu S, Kardon R, Leavitt J, Al. E. Optical coherence tomography is highly sensitive in detecting prior optic neuritis. *Neurology.* 2019;92(6):e527–35.
159. Rebolleda G, Muñoz Negrete FJ. Segmentación macular en neurooftalmología: ¿descriptiva o predictiva? *Arch Soc Esp Oftalmol.* 2013;88(8):289–90.
160. Oberwahrenbrock T, Weinhold M, Mikolajczak J, Zimmermann H, Paul F, Beckers I, et al. Reliability of intra-retinal layer thickness estimates. *PLoS One.* 2015;10(9):e0137316.
161. Saidha S, Syc SB, Ibrahim MA, Eckstein C, Warner CV, Farrell SK, et al. Primary retinal pathology in multiple sclerosis as detected by optical coherence tomography. *Brain.* 2011;134 (2):518–33.
162. Lambe J, Saidha S, Bermel RA. Optical coherence tomography and multiple sclerosis: update on clinical application and role in clinical trials. *Mult Scler.* 2020; 26(6):624-39.
163. Calabresi PA, Balcer LJ, Frohman EM. Retinal pathology in multiple sclerosis: insight into the mechanisms of neuronal pathology. *Brain.* 2010;133(6):1575–7.
164. Petzold A, Balcer LJ, Calabresi PA, Costello F, Frohman TC, Frohman EM, et al. Retinal layer segmentation in multiple sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol.* 2017;16(10):797–812.
165. Camós-Carreras A, Mingorance E, Sánchez-Dalmau BF. Angio-OCT en neurooftalmología. En: Adán A, Zarranz-Ventura J. *Angiografía por Tomografía de Coherencia Óptica (OCT-A).* Mesa Redonda 93 Congreso de la Sociedad Española de Oftalmología. Madrid: Sociedad Española de Oftalmología; 2017. p. 179-86.
166. Toosy AT, Robert Naismith FT, Villoslada P. OCT as a window to the MS brain: the view becomes slightly clearer. *Neurology.* 2017;89(24):2404–5.

167. Mead B, Tomarev S. Evaluating retinal ganglion cell loss and dysfunction. *Exp Eye Res.* 2016;151:96–106.
168. Chauhan D, Marshall J. The interpretation of optical coherence tomography images of the retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1999;40(10):2332–42.
169. Ratchford JN, Saidha S, Sotirchos ES, Oh JA, Seigo MA, Eckstein C, et al. Active MS is associated with accelerated retinal ganglion cell/inner plexiform layer thinning. *Neurology.* 2013;80(1):47–54.
170. London A, Benhar I, Schwartz M. The retina as a window to the brain—from eye research to CNS disorders. *Nat Rev Neurol.* 2013;9(1):44–53.
171. Van Buren JM. Trans-synaptic retrograde degeneration in the visual system of primates. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1963;26(5):402–9.
172. Dinkin M. Trans-synaptic retrograde degeneration in the human visual system: slow, silent, and real. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2017;17(2):16.
173. Toosy AT. Valuable insights into visual neuroplasticity after optic neuritis. *JAMA Neurol.* 2018;75(3):274–6.
174. Bermel RA, Villoslada P. Retrograde trans-synaptic degeneration in MS. A missing link? *Neurology.* 2014;82(24):2152–3.
175. Kersten HM, Roxburgh RH, Danesh-Meyer H V. Ophthalmic manifestations of inherited neurodegenerative disorders. *Nat Rev Neurol.* 2014;10(6):349–62.
176. Spund B, Ding Y, Liu T, Selesnick I, Glazman S, Shrier EM, et al. Remodeling of the fovea in Parkinson disease. *J Neural Transm.* 2013;120(5):745–53.
177. Miri S, Shrier EM, Glazman S, Ding Y, Selesnick I, Kozlowski PB, et al. The avascular zone and neuronal remodeling of the fovea in Parkinson disease. *Ann Clin Transl Neurol.* 2015;2(2):196–201.
178. Garcia-Martin E, Larrosa JM, Polo V, Satue M, Marques ML, Alarcia R, et al. Distribution of retinal layer atrophy in patients with Parkinson disease and association with disease severity and duration. *Am J Ophthalmol.* 2014;157(2):470–8.
179. Beach TG, Carew J, Serrano G, Adler CH, Shill HA, Sue LI, et al. Phosphorylated  $\alpha$ -synuclein-immunoreactive retinal neuronal elements in Parkinson's disease subjects. *Neurosci Lett.* 2014;571:34–8.
180. Bodis-Wollner I, Kozlowski PB, Glazman S, Miri S.  $\alpha$ -synuclein in the inner retina in Parkinson disease. *Ann Neurol.* 2014;75(6):964–6.
181. La Morgia C, Ross-Cisneros FN, Koronyo Y, Hannibal J, Gallassi R, Cantalupo

- G, et al. Melanopsin retinal ganglion cell loss in Alzheimer disease. *Ann Neurol*. 2016;79(1):90–109.
182. Koronyo-Hamaoui M, Koronyo Y, Ljubimov A V., Miller CA, Ko MHK, Black KL, et al. Identification of amyloid plaques in retinas from Alzheimer's patients and noninvasive in vivo optical imaging of retinal plaques in a mouse model. *Neuroimage*. 2011;54S1:S204–17.
183. Koronyo Y, Biggs D, Barron E, Boyer DS, Pearlman JA, Au WJ, et al. Retinal amyloid pathology and proof-of-concept imaging trial in Alzheimer's disease. *JCI Insight*. 2017;2(16):93621.
184. Ferrari L, Huang SC, Magnani G, Ambrosi A, Comi G, Leocani L. Optical coherence tomography reveals retinal neuroaxonal thinning in frontotemporal dementia as in Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis*. 2017;56(3):1101–7.
185. Losy J. Is MS an inflammatory or primary degenerative disease? *J Neural Transm*. 2013;120(10):1459–62.
186. Tallantyre EC, Bø L, Al-Rawashdeh O, Owens T, Polman CH, Lowe JS, et al. Clinico-pathological evidence that axonal loss underlies disability in progressive multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2010;16(4):406–11.
187. Comabella M, Sastre-Garriga J, Montalban X. Precision medicine in multiple sclerosis: biomarkers for diagnosis, prognosis, and treatment response. *Curr Opin Neurol*. 2016;29(3):254–62.
188. Gabilondo I, 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. *Ann Neurol*. 2014;75(1):98–107.
189. Gabilondo Í, Martínez-Lapiscina EH, Fraga-Pumar E, Ortiz-Perez S, Torres-Torres R, Andorra M, et al. Dynamics of retinal injury after acute optic neuritis. *Ann Neurol*. 2015;77(3):517–28.
190. Martínez-Lapiscina EH, Fraga-Pumar E, Gabilondo I, Martínez-Heras E, Torres-Torres R, Ortiz-Pérez S, et al. The multiple sclerosis visual pathway cohort: understanding neurodegeneration in MS. *BMC Res Notes*. 2014;7:910.
191. Polman CH, Reingold SC, Banwell B, Clanet M, Cohen JA, Filippi M, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol*. 2011;69(2):292–302.
192. Optic Neuritis Study Group. Visual function 15 years after optic neuritis: a final follow-up report from the Optic Neuritis Treatment Trial. *Ophthalmology*.



- 2008;115(6):1079–82.
193. Bowman KJ. A method for quantitative scoring of the Farnsworth panel D-15. *Acta Ophthalmol.* 1982;60(6):907–16.
  194. Vingrys AJ, King-Smith PE. A quantitative scoring technique for panel tests of color vision. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1988;29(1):50–63.
  195. Tewarie P, Balk L, Costello F, Green A, Martin R, Schippling S, et al. The OSCAR-IB consensus criteria for retinal OCT quality assessment. *PLoS One.* 2012;7(4):e34823.
  196. Schippling S, Balk LJ, Costello F, Albrecht P, Balcer L, Calabresi PA, et al. Quality control for retinal OCT in Multiple Sclerosis: validation of the OSCAR-IB criteria. *Mult Scler.* 2015;21(2):163–70.
  197. Cruz-Herranz A, Balk J, Oberwahrenbrock T, Saidha S, Martinez-Lapiscina E, Lagreze W, et al. The APOSTEL recommendations for reporting quantitative optical coherence tomography studies. *Neurology.* 2016;88(24):2303–9.
  198. Saidha S, Sotirchos ES, Oh J, Syc SB, Seigo MA, Shiee N, et al. Retinal axonal and neuronal measures in multiple sclerosis reflects global CNS pathology. *JAMA Neurol.* 2013;70(1):34–43.
  199. Ledesma R, Macbeth G, Cortada de Kohan N. Tamaño del efecto: revisión teórica y aplicaciones con el sistema estadístico ViSta. *RLP.* 2008;40(3):425–39.
  200. Ferguson CJ. An effect size primer: a guide for clinicians and researchers. *Prof Psychol Res Pr.* 2009;40(5):532–8.
  201. Ellis P. The essential guide to effect sizes: statistical power, meta-analysis and the interpretation of research results. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 2010.
  202. Kotelnikova E, Kiani NA, Abad E, Martinez-Lapiscina EH, Andorra M, Zubizarreta I, et al. Dynamics and heterogeneity of brain damage in multiple sclerosis. *PLoS Comput Biol.* 2017;13(10):e1005757.
  203. Weinshenker BG, Rice GP, Noseworthy JH, Carriere W, Baskerville J, Ebers GC. The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. 4. Applications to planning and interpretation of clinical therapeutic trials. *Brain.* 1991;114(2):1057–67.
  204. Miller DH, Hornabrook RW, Purdie G. The natural history of multiple sclerosis: a regional study with some longitudinal data. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1992;55(5):341–6.

205. Cutter GR, Baier ML, Rudick RA, Cookfair DL, Fischer JS, Petkau J, et al. Development of a multiple sclerosis functional composite as a clinical trial outcome measure. *Brain*. 1999;122(5):871–82.
206. Fisher JS, Rudick RA, Cutter GR, Reingold SC. The multiple sclerosis functional composite measure (MSFC): an integrate approach to MS clinical outcome assessment. National MS Society Clinical Outcomes Assessment Task Force. *Mult Scler*. 1999;5(4):244–50.
207. Semple S, Dick F, Osborne A, Cherrie JW, Soutar A, Seaton A, et al. Impairment of colour vision in workers exposed to organic solvents. *Occup Env Med*. 2000;57(9):582–7.
208. Saidha S, Syc SB, Durbin MK, Eckstein C, Oakley JD, Meyer SA, et al. Visual dysfunction in multiple sclerosis correlates better with optical coherence tomography derived estimates of macular ganglion cell layer thickness than peripapillary retinal nerve fiber layer thickness. *Mult Scler*. 2011;17(12):1449–63.
209. Behbehani R, Al-Moosa A, Sriraman D, Alroughani R. Ganglion cell analysis in acute optic neuritis. *Mult Scler Relat Disord*. 2016;5:66–9.
210. Lampert EJ, Andorra M, Torres-Torres R, Ortiz-Pérez S, Llufríu S, Sepúlveda M, et al. Color vision impairment in multiple sclerosis points to retinal ganglion cell damage. *J Neurol*. 2015;262(11):2491–7.
211. Petracca M, Cordano C, Cellerino M, Button J, Krieger S, Vancea R, et al. Retinal degeneration in primary-progressive multiple sclerosis: a role for cortical lesions? *Mult Scler J*. 2017;23(1):43–50.
212. Zivadinov R, Bergsland N, Cappellani R, Hagemeyer J, Melia R, Carl E, et al. Retinal nerve fiber layer thickness and thalamus pathology in multiple sclerosis patients. *Eur J Neurol*. 2014;21(8):1137–44.
213. Pietroboni AM, Dell’Arti L, Caprioli M, Scarioni M, Carandini T, Arighi A, et al. The loss of macular ganglion cells begins from the early stages of disease and correlates with brain atrophy in multiple sclerosis patients. *Mult Scler J*. 2019;25(1):31–8.
214. Stellmann JP, Cetin H, Young KL, Hodecker S, Pöttgen J, Bittersohl D, et al. Pattern of gray matter volumes related to retinal thickness and its association with cognitive function in relapsing–remitting MS. *Brain Behav*. 2016;7(2):e00614.

215. Puthenparampil M, Federle L, Poggiali D, Mianite S, Signori A, Pilotto E, et al. Trans-synaptic degeneration in the optic pathway. A study in clinically isolated syndrome and early relapsing-remitting multiple sclerosis with or without optic neuritis. *PLoS One*. 2017;12(8):e0183957.
216. Balk LJ, Steenwijk MD, Tewarie P, Daams M, Killestein J, Wattjes MP, et al. Bidirectional trans-synaptic axonal degeneration in the visual pathway in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2015;86(4):419–24.
217. Vural A, Okar S, Kurne A, Sayat-Gürel G, Acar NP, Karabulut E, et al. Retinal degeneration is associated with brain volume reduction and prognosis in radiologically isolated syndrome. *Mult Scler J*. 2020;26(1):38–47.
218. Frohman EM, Dwyer MG, Frohman T, Cox JL, Salter A, Greenberg BM, et al. Relationship of optic nerve and brain conventional and non-conventional MRI measures and retinal nerve fiber layer thickness, as assessed by OCT and GDx: a pilot study. *J Neurol Sci*. 2009;282(1-2):96–105.
219. Grazioli E, Zivadinov R, Weinstock-Guttman B, Lincoff N, Baier M, Rang J, et al. Retinal nerve fiber layer thickness is associated with brain MRI outcomes in multiple sclerosis. *J Neurol Sci*. 2008;268(1-2):12–7.
220. Siger M, Dziegielewski K, Jasek L, Bieniek M, Nicpan A, Nawrocki J, et al. Optical coherence tomography in multiple sclerosis: thickness of the retinal nerve fiber layer as a potential measure of axonal loss. *J Neurol*. 2008;255(10):1555–60.
221. Young KL, Brandt AU, Petzold A, Reitz LY, Lintze F, Paul F, et al. Loss of retinal nerve fibre layer axons indicates white but not grey matter damage in early multiple sclerosis. *Eur J Neurol*. 2013;20(5):803–11.
222. Cilingir V, Batur M, Bulut MD, Milanlioglu A, Yılgor A, Batur A, et al. The association between retinal nerve fibre layer thickness and corpus callosum index in different clinical subtypes of multiple sclerosis. *Neurol Sci*. 2017;38(7):1223–32.
223. Oh J, Sotirchos ES, Saidha S, Whetstone A, Chen M, Newsome SD, et al. Relationships between quantitative spinal cord MRI and retinal layers in multiple sclerosis. *Neurology*. 2015;84(7):720–8.
224. Abalo-Lojo JM, Limeres CC, Gómez MA, Baleato-González S, Cadarso-Suárez C, Capeáns-Tomé C, et al. Retinal nerve fiber layer thickness, brain atrophy, and disability in multiple sclerosis patients. *J Neuro-Ophthalmology*. 2014;34(1):23–

- 8.
225. Alves C, Batista S, D’Almeida OC, Sousa L, Cunha L, Bernardes R, et al. The retinal ganglion cell layer predicts normal-appearing white matter tract integrity in multiple sclerosis: a combined diffusion tensor imaging and optical coherence tomography approach. *Hum Brain Mapp.* 2018;39(4):1712–20.
226. Filippatou A, Shoemaker T, Esch M, Qutab M, Gonzalez-Caldito N, Prince JL, et al. Spinal cord and infratentorial lesions in radiologically isolated syndrome are associated with decreased retinal ganglion cell/inner plexiform layer thickness. *Mult Scler J.* 2018;25(14):1878–87.
227. Dörr J, Wernecke KD, Bock M, Gaede G, Wuerfel JT, Pfueller CF, et al. Association of retinal and macular damage with brain atrophy in multiple sclerosis. *PLoS One.* 2011;6(4):e18132.
228. Gordon-Lipkin E, Chodkowski B, Reich DS, Smith SA, Pulicken M, Balcer LJ, et al. Retinal nerve fiber layer is associated with brain atrophy in multiple sclerosis. *Neurology.* 2007;69(16):1603–9.
229. Striemer CL, Chouinard PA, Goodale MA, de Ribaupierre S. Overlapping neural circuits for visual attention and eye movements in the human cerebellum. *Neuropsychologia.* 2015;69:9–21.
230. Schmahmann JD. The cerebellum and cognition. *Neurosci Lett.* 2019;688:62-75.
231. van Es DM, van der Zwaag W, Knäpen T. Topographic maps of visual space in the human cerebellum. *Curr Biol.* 2019;29(10):1689–94.e3.
232. Martínez-Lapiscina E, Sanchez-Dalmau B, Fraga-Pumar E, Ortiz-Perez S, Tercero-Urbe A, Torres-Torres R, et al. The visual pathway as a model to understand brain damage in multiple sclerosis. *Mult Scler J.* 2014;20(3):1678–86.
233. Martinez-Lapiscina EH, Arnow S, Wilson JA, Saidha S, Preiningerova JL, Oberwahrenbrock T, et al. Retinal thickness measured with optical coherence tomography and risk of disability worsening in multiple sclerosis: a cohort study. *Lancet Neurol.* 2016;15(6):574–84.
234. Talman LS, Bisker ER, Sackel DJ, Long DA, Galetta KM, Ratchford JN, et al. Longitudinal study of vision and retinal nerve fiber layer thickness in multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 2010;67(6):749–60.
235. Abalo-Lojo JM, Treus A, Arias M, Gómez-Ulla F, Gonzalez F. Longitudinal study of retinal nerve fiber layer thickness changes in a multiple sclerosis patients cohort: a long term 5 year follow-up. *Mult Scler Relat Disord.* 2017;19:124–8.

236. Zimmermann H, Freing A, Kaufhold F, Gaede G, Bohn E, Bock M, et al. Optic neuritis interferes with optical coherence tomography and magnetic resonance imaging correlations. *Mult Scler J*. 2013;19(4):443–50.
237. Herrero R, Garcia-Martin E, Almarcegui C, Ara JR, Rodriguez-Mena D, Martin J, et al. Progressive degeneration of the retinal nerve fiber layer in patients with multiple sclerosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(13):8344–9.
238. Syc SB, Saidha S, Newsome SD, Ratchford JN, Levy M, Ford E, et al. Optical coherence tomography segmentation reveals ganglion cell layer pathology after optic neuritis. *Brain*. 2012;135(2):521–33.
239. Green AJ, McQuaid S, Hauser SL, Allen I V, Lyness R. Ocular pathology in multiple sclerosis: retinal atrophy and inflammation irrespective of disease duration. *Brain*. 2010;133(6):1591–601.
240. Balk LJ, Twisk JWR, Steenwijk MD, Daams M, Tewarie P, Killestein J, et al. A dam for retrograde axonal degeneration in multiple sclerosis? *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2014;85(7):782–9.
241. Saidha S, Sotirchos ES, Ibrahim MA, Crainiceanu CM, Gelfand JM, Sepah YJ, et al. Relationships of the inner nuclear layer of the retina with clinicoradiologic disease characteristics in multiple sclerosis: a retrospective study. *Lancet Neurol*. 2012;11(11):963–72.
242. Knier B, Schmidt P, Aly L, Buck D, Berthele A, Mühlau M, et al. Retinal inner nuclear layer volume reflects response to immunotherapy in multiple sclerosis. *Brain*. 2016;139(11):2855–63.
243. Balk LJ, Coric D, Knier B, Zimmermann HG, Behbehani R, Alroughani R, et al. Retinal inner nuclear layer volume reflects inflammatory disease activity in multiple sclerosis; a longitudinal OCT study. *Mult Scler J Exp Transl Clin*. 2019;5(3):205521731987158.
244. Winges KM, Murchison CF, Bourdette DN, Spain RI. Longitudinal optical coherence tomography study of optic atrophy in secondary progressive multiple sclerosis: results from a clinical trial cohort. *Mult Scler J*. 2019;25(1):55–62.
245. Moura A, Teixeira R, Oiwa N, Costa MF, Feitosa-Santana C, Callegaro D, et al. Chromatic discrimination losses in multiple sclerosis patients with and without optic neuritis using the Cambridge Colour Test. *Vis Neurosci*. 2008;25(3):463–8.
246. Villoslada P, Cuneo A, Gelfand J, Hauser SL, Green A. Color vision is strongly associated with retinal thinning in multiple sclerosis. *Mult Scler*.

- 2012;18(7):991–9.
247. Yuksel B, Dogan B, Koctekin B, Atis N, Erdal A, Kurtulus F, et al. Color vision testing versus pattern visual evoked potentials and optical coherence tomography parameters in subclinical optic nerve involvement in multiple sclerosis. *J Clin Neurosci*. 2019;61:48–53.
  248. Garcia-Martin E, Ara JR, Martin J, Almarcegui C, Dolz I, Vilades E, et al. Retinal and optic nerve degeneration in patients with multiple sclerosis followed up for 5 Years. *Ophthalmology*. 2017;124(5):688–96.
  249. Martínez-Lapiscina EH, Ortiz-Pérez S, Fraga-Pumar E, Martínez-Heras E, Gabilondo I, Llufríu S, et al. Colour vision impairment is associated with disease severity in multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2014;20(9):1207–16.
  250. Satue M, Rodrigo MJ, Otin S, Bambo MP, Fuertes MI, Ara JR, et al. Relationship between visual dysfunction and retinal changes in patients with multiple sclerosis. *PLoS One*. 2016;11(6):e0157293.
  251. Levin N, Devereux M, Bick A, Baker N, Green A. Color perception impairment following optic neuritis and its association with retinal atrophy. *J Neurol*. 2019 May 1;266(5):1160–6.
  252. Gundogan FC, Tas A, Altun S, Oz O, Erdem U, Sobaci G. Color vision versus pattern visual evoked potentials in the assessment of subclinical optic pathway involvement in multiple sclerosis. *Indian J Ophthalmol*. 2013;61(3):100–3.
  253. Daams M, Weiler F, Steenwijk MD, Hahn HK, Geurts JGG, Vrenken H, et al. Mean upper cervical cord area (MUCCA) measurement in long-standing multiple sclerosis: relation to brain findings and clinical disability. *Mult Scler J*. 2014;20(14):1860–5.
  254. Lin X, Tench CR, Turner B, Blumhardt LD. Spinal cord atrophy and disability in multiple sclerosis over four years: application of a reproducible automated technique in monitoring disease progression in a cohort of the interferon  $\beta$ -1a (Rebif) treatment trial. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2003;74(8):1090–4.
  255. Furby J, Hayton T, Altmann D, Brenner R, Chataway J, Smith KJ, et al. A longitudinal study of MRI-detected atrophy in secondary progressive multiple sclerosis. *J Neurol*. 2010;257(9):1508–16.
  256. Ruggieri S, Petracca M, Miller A, Krieger S, Ghassemi R, Bencosme Y, et al. Association of deep gray matter damage with cortical and spinal cord degeneration in primary progressive multiple sclerosis. *JAMA Neurol*.

- 2015;72(12):1466–74.
257. Kolind S, Seddigh A, Combes A, Russell-Schulz B, Tam R, Yogendrakumar V, et al. Brain and cord myelin water imaging: a progressive multiple sclerosis biomarker. *NeuroImage Clin.* 2015;9:574–80.
  258. Liptak Z, Berger AM, Sampat MP, Charil A, Felsevalyi O, Healy BC, et al. Medulla oblongata volume: a biomarker of spinal cord damage and disability in multiple sclerosis. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2008;29(8):1465–70.
  259. Noseworthy JH, Vandervoot MK, Wong CJ, Ebers GC. Interrater variability with the Expanded Disability Status Scale (EDSS) and Functional System (FS) in a multiple sclerosis clinical trial. The Canadian Cooperation MS Study Group. *Neurology.* 1990;40(6):971–5.
  260. Goodkin DE, Cookfair D, Wende K, Bourdette D, Pullicino P, Scherokman B, et al. Inter- and intrarater scoring agreement using grades 1.0 to 3.5 of the Kutzke Expanded Disability Status Scale (EDSS). *Neurology.* 1992;42(4):859–63.
  261. Agosta F, Absinta M, Sormani MP, Ghezzi A, Bertolotto A, Montanari E, et al. In vivo assessment of cervical cord damage in MS patients: a longitudinal diffusion tensor MRI study. *Brain.* 2007;130(8):2211–9.
  262. Liu Y, Wang J, Daams M, Weiler F, Hahn HK, Duan Y, et al. Differential patterns of spinal cord and brain atrophy in NMO and MS. *Neurology.* 2015;84(14):1465–72.
  263. Furby J, Hayton T, Anderson V, Altmann D, Brenner R, Chataway J, et al. Magnetic resonance imaging measures of brain and spinal cord atrophy correlate with clinical impairment in secondary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2008;14(8):1068–75.
  264. Zivadinov R, Banas AC, Yella V, Abdelrahman N, Weinstock-Guttman B, Dwyer MG. Comparison of three different methods for measurement of cervical cord atrophy in multiple sclerosis. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2008;29(2):319–25.
  265. Bonati U, Fisniku LK, Altman D, Yiannakas M, Furby J, Thompson A, et al. Cervical cord and brain grey matter atrophy independently associate with long-term MS disability. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2011;82(4):471–2.
  266. Tsagkas C, Magon S, Gaetano L, Pezold S, Naegelin Y, Amann M, et al. Spinal cord volume loss: a marker of disease progression in multiple sclerosis. *Neurology.* 2018;91(4):e349–58.
  267. Kearney H, Altmann DR, Samson RS, Yiannakas MC, Wheeler-Kingshott CAM,

- Ciccarelli O, et al. Cervical cord lesion load is associated with disability independently from atrophy in MS. *Neurology*. 2015;84(4):367–73.
268. Lukas C, Sombekke MH, Bellenberg B, Hahn HK, Popescu V, Bendfeldt K, et al. Relevance of spinal cord abnormalities to clinical disability in multiple sclerosis: MR imaging findings in a large cohort of patients. *Radiology*. 2013;269(2):542–52.
269. Cohen AB, Neema M, Arora A, Dell’Oglio E, Benedict RHB, Tauhid S, et al. The relationships among MRI-defined spinal cord involvement, brain involvement, and disability in multiple sclerosis. *J Neuroimaging*. 2012;22(2):122–8.
270. Schlaeger R, Papinutto N, Zhu AH, Lobach I V., Bevan CJ, Bucci M, et al. Association between thoracic spinal cord gray matter atrophy and disability in multiple sclerosis. *JAMA Neurol*. 2015;72(8):897–904.
271. Kearney H, Rocca MA, Valsasina P, Balk L, Sastre-Garriga J, Reinhardt J, et al. Magnetic resonance imaging correlates of physical disability in relapse onset multiple sclerosis of long disease duration. *Mult Scler*. 2014;20(1):72–80.
272. Brownlee WJ, Altmann DR, Alves Da Mota P, Swanton JK, Miszkiel KA, Gandini Wheeler-Kingshott CAM, et al. Association of asymptomatic spinal cord lesions and atrophy with disability 5 years after a clinically isolated syndrome. *Mult Scler*. 2017;23(5):665–74.
273. Cole BL, Lian KY, Lakkis C. The new Richmond HRR pseudoisochromatic test for colour vision is better than the Ishihara test. *Clin Exp Ophthalmol*. 2006;89(2):73–80.
274. Aboulenein-Djamshidian F, Krššák M, Serbecic N, Rauschka H, Beutelspacher S, Kukurová IJ, et al. CROP - the clinico-radiologico-ophthalmological paradox in multiple sclerosis: are patterns of retinal and MRI changes heterogeneous and thus not predictable? *PLoS One*. 2015;10(11):e0142272.



## **ANEXOS**



## Anexo 1- Hoja de información al paciente

### HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

Versión de la HIP: 02	Fecha de la versión: 13-06-2017
Investigador Principal: Antonio Barreiro González, Oftalmología, antoniobarreiro3@gmail.com	
CENTRO: Hospital Universitario y Politécnico La Fe.	
Título del proyecto de investigación: Estudio de la vía visual mediante tomografía de coherencia óptica y resonancia magnética cerebral y medular para la formulación y validación de modelos predictivos de la discromatopsia y la discapacidad clínica en pacientes de esclerosis múltiple.	

#### 1. INTRODUCCIÓN:

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité de Ética de la Investigación Biomédica del Hospital Universitario y Politécnico la Fe.

Nuestra intención es tan sólo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Además, puede consultar con las personas que considere oportunas.

#### 2. PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA:

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico ni se produzca perjuicio alguno en su tratamiento.

#### 3. DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO:

El estudio en el que se le invita a participar tiene como objetivo principal conocer los mecanismos que contribuyen a la destrucción de los axones en la esclerosis múltiple (EM). Los axones son las estructuras que conducen los impulsos nerviosos y cuya destrucción da lugar a la aparición de los síntomas neurológicos permanentes de la EM. Con ello pretendemos avanzar en el conocimiento de su enfermedad con el fin de poder desarrollar nuevas opciones de tratamiento.

La EM es una enfermedad del sistema nervioso que se caracteriza por la destrucción de las cubiertas que revisten los nervios, que se llaman vainas de mielina y que tienen como función principal garantizar la correcta transmisión de señales en el sistema nervioso.

Como síntoma inicial de la EM a menudo aparecen alteraciones visuales. Esto es porque el nervio óptico también tiene una vaina de mielina que puede inflamarse, produciéndose un brote de neuritis óptica

La retina es la capa nerviosa del ojo que actúa como la película de una cámara y registra la imagen. Una vez registrada la imagen, ésta llega al cerebro a través del nervio óptico. Existen técnicas con las que podemos valorar el grado de pérdida de fibras nerviosas de la retina y del nervio óptico, pudiendo así medir el grado de

afectación nerviosa a este nivel. La principal técnica que nos permite realizar esto se llama tomografía de coherencia óptica (OCT). Se trata de una técnica de imagen sin contacto y no invasiva que emplea la luz para visualizar la retina (como una “fotografía” de la retina y del nervio óptico)

De esta forma podemos valorar el grado de afectación de la retina y el nervio óptico con la finalidad de medir si los daños nerviosos producidos a nivel ocular son equiparables a los que se observan en las imágenes de la resonancia magnética cerebral y medular.

El protocolo exploratorio consiste en dos tipos de exploraciones:

-Exploración oftalmológica: una medición de la presión ocular, una exploración completa de las partes anterior y posterior del ojo (para examinar la parte posterior del ojo puede que sea necesario dilatar la pupila con unas gotas). Además, se tomarán imágenes de OCT de su retina y nervio óptico. Finalmente se le pedirá que ordene unas fichas coloreadas (test de Farnsworth 15D) para valorar el grado de discriminación de los colores.

-Exploración neurológica: pretende valorar la actividad de la enfermedad mediante la exploración y la historia del paciente. Incluye la valoración mediante resonancia magnética para la cuantificación de la afectación cerebral y espinal. Esta parte del estudio ya es conocida por usted, puesto que se basa en pruebas habituales en el seguimiento de su enfermedad.

Los datos recogidos de su participación en el estudio serán: edad y sexo del paciente, historia de neuritis óptica, tiempo de enfermedad, tipo de EM y tratamiento asociado, presión intraocular bilateral, medición de las capas de la retina, puntuación del daño neurológico y cuantificación sobre la afectación cerebral y espinal de la enfermedad mediante resonancia. Dicha base de datos es confidencial y sólo será utilizada para finalidades de investigación clínica. La participación del sujeto en el estudio supondrá la autorización a analizar todos estos datos clínicos.

En el caso de la exploración oftalmológica, lo habitual es que con una visita al servicio de Oftalmología se consiga recopilar toda la información necesaria. Si alguno de los investigadores del estudio piensan que tiene que acudir de nuevo a la consulta, se concertará una nueva cita.

Como paciente, es usted responsable de seguir las instrucciones del estudio y las del investigador. Ello incluye acudir puntualmente a la consulta del investigador para realizar todas las visitas de seguimiento que sean necesarias, comunicar todos los cambios que realice en su medicación (fármacos de venta con y sin receta) e informar al investigador de los cambios en su salud.

#### **4. BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO:**

Es posible que no obtenga ningún beneficio médico directo por el hecho de participar en este estudio. Sin embargo, con su participación en este estudio, se espera obtener un mayor conocimiento sobre los mecanismos que produce su enfermedad, mejorando así la capacidad de diagnóstico y monitorización, así como el desarrollo de nuevas opciones de tratamiento para la población con su misma enfermedad.

Durante las exploraciones oculares podrán ponerle un colirio para dilatar la pupila. Puede ocasionar un breve escozor al entrar en contacto con el ojo. Las pupilas dilatadas pueden producir sensibilidad a la luz y visión algo borrosa, sobre todo de cerca. Los efectos del colirio pueden tardar algunas horas en desaparecer, por lo que es recomendable que no conduzca hasta que se hayan pasado dichos efectos.

La OCT mide el espesor de la parte posterior del ojo mediante un láser de muy baja potencia. Puede producir molestias mínimas a causa de la luz, sin embargo esta prueba no conlleva ningún otro riesgo.

#### **5. N° DE URGENCIA PARA PROBLEMAS DEL ESTUDIO:**

En caso de que desee formular preguntas acerca del estudio o daños relacionados con el mismo, contactar con el médico del estudio Dr. Antonio Barreiro González en el número de teléfono 961244064/961244065/961244066/961244067 o mediante correo (antoniobarreiro3@gmail.com)

#### **6. CONFIDENCIALIDAD:**

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes, se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre de protección de datos de carácter personal. De acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse a su médico del estudio. Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y sólo su médico del estudio o colaboradores podrán relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica. Por lo tanto, su identidad no será revelada a persona alguna salvo excepciones, en caso de urgencia médica o requerimiento legal. Sólo se tramitarán a terceros y a otros países los datos recogidos para el estudio, que en ningún caso contendrán información que le pueda identificar directamente, como nombre y apellidos, iniciales, dirección, nº de la seguridad social, etc... En el caso de que se produzca esta cesión, será para los mismos fines del estudio descrito y garantizando la confidencialidad como mínimo con el nivel de protección de la legislación vigente en nuestro país.

El acceso a su información personal quedará restringido al médico del estudio, colaboradores, autoridades sanitarias (Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios), al Comité de Ética de la Investigación y personal autorizado por el promotor, cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente. El acceso a su historia clínica ha de ser sólo en lo relativo al estudio. El responsable del Registro de los Datos en la Agenda Española de Protección de Datos, es la Institución.

## Anexo 2- Consentimiento informado por escrito

### MODELO DE CONSENTIMIENTO POR ESCRITO

Título del estudio: Estudio de la vía visual mediante tomografía de coherencia óptica y resonancia magnética cerebral y medular para la formulación y validación de modelos predictivos de la discromatopsia y la discapacidad clínica en pacientes de esclerosis múltiple.

Yo, *(nombre y apellidos)*.

He leído la hoja de información que se me ha entregado.  
He podido hacer preguntas sobre el estudio.  
He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con Antonio Barreiro González

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- 1º Cuando quiera
- 2º Sin tener que dar explicaciones.
- 3º Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Firma del Participante

Firma del Investigador

Nombre:  
Fecha:

Nombre: Antonio Barreiro González  
Fecha:

### **Anexo 3- Producción científica de la tesis doctoral**

**A. Barreiro-González**, S. Carratalà-Boscà, M.T. Sanz, C. Alcalá, J. Carreres-Polo, F.C. Pérez-Miralles, E. España-Gregori, B. Casanova. **Peripapillary retinal nerve fibre layer correlates better with spinal cord volume than with brain parenchymal fraction in multiple sclerosis.** ECTRIMS 2019 – Poster Session (P1244).

**A. Barreiro-González**, M.T. Sanz, S. Carratalà-Boscà, F. Pérez-Miralles, C. Alcalá, E. España-Gregori, B. Casanova. **Dyschromatopsia in multiple sclerosis reflects diffuse chronic neurodegeneration beyond anatomical landmarks.** Acta Neurol Belg. DOI: 10.1007/s13760-020-01516-x (Factor de impacto: 1,989 (JCR 2019), Q3).

**A. Barreiro-González**, M.T. Sanz, S. Carratalà-Boscà, F. Pérez-Miralles, C. Alcalá, J. Carreres-Polo, E. España-Grogori, B. Casanova. **Magnetic resonance imaging and optical coherence tomography correlations in multiple sclerosis beyond anatomical landmarks.** J Neurol Sci. DOI: 10.1016/j.jns.2020.117180 (Factor de Impacto: 3,115 (JCR 2019), Q2).

This is to certify that

**Antonio Barreiro-González**

**Spain**

attended the

**35<sup>th</sup> Congress of the European Committee for Treatment  
and Research in Multiple Sclerosis  
and  
24<sup>th</sup> Annual Conference of Rehabilitation in MS**

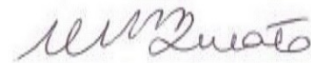
held in Stockholm, Sweden  
11 – 13 September 2019



**Jan Hillert**  
ECTRIMS 2019 Chair



**Professor Bernhard Hemmer**  
ECTRIMS President



**Maria Pia Amato**  
ECTRIMS Vice President

This congress has been accredited by the European Accreditation Council for Continuing Medical Education (EACCME®) for a maximum of **18** European CME credits (ECMEC®s).

11 September: 6 credits / 12 September: 6 credits / 13 September: 6 credits

Each medical specialist should claim only those hours of credit that he/she actually spent in the educational activity.

Through an agreement between the Union Européenne des Médecins Spécialistes and the American Medical Association, physicians may convert EACCME® credits to an equivalent number of AMA PRA Category 1 Credits™. Information on the process to convert EACCME® credit to AMA credit can be found at [www.ama-assn.org/education/earn-credit-participation-international-activities](http://www.ama-assn.org/education/earn-credit-participation-international-activities).

Live educational activities, occurring outside of Canada, recognised by the UEMS-EACCME® for ECMEC®s are deemed to be Accredited Group Learning Activities (Section 1) as defined by the Maintenance of Certification Program of the Royal College of Physicians and Surgeons of Canada.





## Scientific Programme

- P1235**      **Moderate alcohol diet leads to sex-specific disease amelioration in a mouse model of multiple sclerosis via effects on the Gut-CNS Axis**  
E. Melamed (Austin, US)
- P1236**      **Role of Cellular Adhesion Molecules (CAMs) in oligodendrocytes - CD4 T cells interaction**  
H. Jamann (Montreal, CA)
- P1237**      **Establishing of an in vitro high-throughput myelinating oligodendrocyte culture system on nanofibers to independently monitor effects on proliferation, differentiation and myelination**  
N. Schaeren-Wiemers (Basel, CH)
- P1238**      **Evaluation of the role of astrocytes in neurotoxicity in patients with multiple sclerosis**  
C. Matute (Barcelona, ES)
- P1239**      **Mitochondrial activity in multiple sclerosis patients**  
R. Shahien (Zefat, IL)
- P1240**      **Cerebrospinal fluid levels of parvalbumin predict cortical demyelination and atrophy in multiple sclerosis**  
R. Magliozzi (Verona, IT)
- P1241**      **Thalamic atrophy and its substrates in multiple sclerosis by ultra high field MRI**  
A. Mehndiratta (Boston, US)
- P1242**      **Single-cell genomics reveals neuron subtype vulnerability in multiple sclerosis**  
L. Schirmer (Mannheim, DE)
- P1243**      **Age of onset of progressive motor impairment in patients with critical demyelinating lesions**  
R.M. Kassa (Rochester, US)
- P1244**      **Peripapillary retinal nerve fibre layer correlates better with spinal cord volume than with brain parenchymal fraction in multiple sclerosis**  
A. Barreiro-González (Valencia, ES)
- P1245**      **Impaired remyelination in mixed active/inactive Multiple Sclerosis lesions**  
K. Heß (Münster, DE)
- P1246**      **Enhancing CNS remyelination by means of haematopoietic stem cell transplantation and gene therapy**  
V. Tepavcevic (Paris, FR)
- P1247**      **Bruton's tyrosine kinase (BTK) inhibition promotes myelin repair in two different models of demyelination**  
M.S. Aigrot (Paris, FR)
- P1248**      **Effects of high dose Pharmaceutical grade Biotin (MD1003), on survival, ensheathment, and ATP production by oligodendrocyte lineage cells in vitro**  
Q.-L. Cui (Montreal, CA)



# Dyschromatopsia in multiple sclerosis reflects diffuse chronic neurodegeneration beyond anatomical landmarks

Antonio Barreiro-González<sup>1</sup> · Maria T. Sanz<sup>2</sup> · Sara Carratalà-Boscà<sup>3</sup> · Francisco Pérez-Miralles<sup>3</sup> · Carmen Alcalá<sup>3</sup> · Enrique España-Gregori<sup>1,4</sup> · Bonaventura Casanova<sup>3,5</sup>

Received: 16 April 2020 / Accepted: 28 September 2020  
© Belgian Neurological Society 2020

## Abstract

To formulate and validate a dyschromatopsia linear regression model in patients with multiple sclerosis (MS). 64 MS patients (50 to formulate the model and 14 for its validation) underwent neurological (Expanded Disability Status Scale, EDSS), color vision (Farnsworth D15 test), and peripapillary retinal nerve fiber layer (pRNFL) and retinal evaluation with spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT). Neuroradiological examination permitted to obtain brain parenchymal fraction (BPF) and cervical spinal cord volume (SC). Ophthalmic parameters were calculated as the average of both non-optic neuritis (ON) eyes, and in case the patient had previous ON, the value of the fellow non-ON eye was taken. The influence of sex, age, disease duration, and history of disease-modifying treatment (first- or second-line DMT) was tested as covariables that could influence color perception. Color confusion index (log CCI) correlated with pRNFL ( $r = -0.322$ ,  $p = 0.009$ ), ganglion cell layer (GCL,  $r = -0.321$ ,  $p = 0.01$ ), BPF ( $r = -0.287$ ,  $p = 0.021$ ), SC volume ( $r = -0.33$ ,  $p = 0.008$ ), patients' age ( $r = 0.417$ ,  $p = 0.001$ ), disease duration ( $r = 0.371$ ,  $p = 0.003$ ), and EDSS ( $r = 0.44$ ,  $p = 0.001$ ). The following CCI equation was obtained:  $\log(\text{CCI}) = 0.316 - 0.224 \text{ BPF} - 0.187 \text{ SC volume (mm}^3) + 0.226 \text{ age (years)} + 0.012 \text{ disease duration (years)} - 0.372 \text{ GCL (}\mu\text{m)}$ . CCI correlates with MS clinical and paraclinical established biomarkers suggesting chronic diffuse neurodegeneration in MS operates at brain, SC, and retina linking all three compartments. Color vision outcome can be calculated through the aforementioned variables for clinical and research purposes.

**Keywords** Color vision defects · Magnetic resonance imaging · Multiple sclerosis · Neurodegeneration · Optical coherence tomography

**Electronic supplementary material** The online version of this article (<https://doi.org/10.1007/s13760-020-01516-x>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Antonio Barreiro-González  
antonioarreiro3@gmail.com

- <sup>1</sup> Ophthalmology Department, University and Polytechnic Hospital La Fe, Avenida Fernando Abril Martorell 106, 46026 Valencia, Spain
- <sup>2</sup> Departamento de Didáctica de La Matemática, Universidad de Valencia, Valencia, Spain
- <sup>3</sup> Neurology Department, University and Polytechnic Hospital La Fe, Valencia, Spain
- <sup>4</sup> Surgery Department, Faculty of Medicine, University of Valencia, Valencia, Spain
- <sup>5</sup> Medicine Department, Faculty of Medicine, University of Valencia, Valencia, Spain

## Introduction

Multiple sclerosis (MS) patients usually suffer from vision problems, mainly caused by acute optic neuritis (ON) [1]. Although optic neuritis treatment trial (ONTT) demonstrated that 85% of participants recovered a visual acuity (VA) better than 20/25 after 15 years of follow-up [2], many patients complain about an incomplete visual recovery and its impact on their daily activities [3, 4].

Beyond acute focal damage, concomitant chronic neurodegeneration drives diffuse central nervous system (CNS) damage and axonal loss what is considered the main cause of permanent disability. Both anterograde and retrograde degeneration may happen along the visual pathway [5]. Current data [6, 7] reveal that primary chronic inflammatory retinopathy may exist in the visual pathway of the non-ON eyes, what reflects global CNS damage. Thus, visual pathway has emerged as a source

of imaging biomarkers with useful clinical and research implications [8, 9].

Unlike other dimensions of visual function more widespread in clinical and research practice [10], color vision in MS patients has been less handled and the mechanisms involved in their dysfunction are poorly understood [11, 12].

Color information starts at cone cells according to the different sensitivity to light wavelengths and through parvocellular and koniocellular retino-cortical pathway; it reaches occipital cortex and associative visual cortex areas [13]. Vulnerability to demyelination and axonal injury of the parvocellular system (ganglionic cells and their synapses at lateral geniculate nucleus) compared to the magnocellular system has been demonstrated in multiple sclerosis [14, 15], what justifies dyschromatopsia as one of the main ocular symptoms of the disease. Although color vision physiopathology remains unknown, its origin points to ganglion cell damage [16].

Our hypothesis is that dyschromatopsia in MS correlates with optical coherence tomography (OCT) and magnetic resonance imaging (MRI) measures, what could allow to predict this visual outcome through a validated multivariate linear regression model.

## Materials and methods

### Study design

This is an observational cross-sectional study carried out by the Neurology and Ophthalmology Departments of the University and Polytechnic Hospital La Fe (Valencia, Spain) from October 2017 to May 2019 after the approval of the research ethics committee of our institution. The research followed the tenets of the Declaration of Helsinki.

### Study population and clinical assessment

MS patients who accepted participation were evaluated by clinical interview, as well as through a neurological and ophthalmological examination to fulfill inclusion criteria (age over 18 years and MS diagnosed following the 2010 revised McDonald criteria [17]) and discard exclusion criteria (Table 1, modified from [18]). Out of the 141 volunteers who signed written informed consent, 64 were finally included.

As other papers [19, 20], we opted not to classify patients using the three classic designations (relapsing–remitting, secondary progressive, and primary progressive MS) based on the hypothesis that the different phenotypes are the consequence of the same mechanisms (autoimmune inflammation, axonal loss, demyelination, and remyelination) at different times and intensity in the disease course.

**Table 1** Exclusion criteria

Any neurological disorder (other than multiple sclerosis) or psychiatric disease
Inability to undergo magnetic resonance imaging: reduce renal clearance (screening: glomerular filtration rate < 45 ml/min), history of severe hypersensitivity to gadolinium-DTPA (diethylenetriamine penta-acetic acid), claustrophobia
Acute optic neuritis in the 6 months prior to inclusion or systemic steroid treatment in the 30 days prior to enrollment
Clinically and radiological activity disease (defined by the presence of at least one relapse or new T2 lesion or gadolinium-enhancing lesion)
Previous eye surgery
Bilateral optic neuritis
Any ophthalmological causes for retinal or optic nerve damage different from multiple sclerosis such as
1. Previous diagnosis of glaucoma or intraocular pressure (applanation tonometry) > 20 mmHg
2. Current or previous treatment with drug involved in toxic neuropathy or retinopathy
3. Previous diagnosis of Diabetes Mellitus or impaired fasting glucose ( $\geq 126$ mg/dl or $\geq 200$ mg/dl after oral glucose tolerance test)
4. History of substance abuse in the last 5 years including alcoholism ( $> 40$ g/day for women and $60$ g/day for men) and severe tobacco use ( $> 20$ cigarettes/day)
5. Congenital dyschromatopsia
Major difficulties for optical coherence tomography evaluation such as
1. Severe refractive defects (myopia $> 6$ diopters, hyperopia $> 5$ diopters, cylinder $> 3$ diopters)
2. Difficulty in fixing
3. Low mobility
4. Corneal opacity
5. Crystalline opacity
6. Optic nerve drusen

Data for the study were collected in a prospective fashion from the medical, OCT, and MRI records with less than 3 month interval between examinations. For each patient, age (years) at the moment of examination, sex, MS disease duration (years), history of MS disease-modifying treatments (DMT), and disability assessed using the EDSS [21] were determined.

EDSS and color vision assessment, neuroradiological volumes analysis, and OCT performance were made by different researchers. All of them were blind to each other. Statistical analysis was carried out in a blind fashion for the assessment of predictors for the outcome, having masked the predictors.

The pharmacological history of the patients permitted to classify patients according to their DMT as first line (interferon (INF)  $\beta$ -1a (Rebif<sup>®</sup> 22/44, Avonex<sup>®</sup>), INF  $\beta$ -1b (Betaferon<sup>®</sup>), peg-INF  $\beta$ -1a (Plegridy<sup>®</sup>), teriflunomide, glatiramer acetate, azathioprine, and dimethyl fumarate) or second-line treatment (fingolimod, natalizumab, alemtuzumab, rituximab, bone marrow transplant, cyclophosphamide, and ocrelizumab). Disease duration was defined from the time of the first manifestation of disease until study enrollment.

History of previous ON was determined according to the symptoms defined in the ONTT: pain with eye movement, loss of visual acuity, visual field defect, color vision impairment, and relative afferent pupillary defect [2]. All cases were carefully confirmed by optic nerve MRI, OCT, and/or visual evoked potentials.

### Color vision assessment

Color vision was tested monocular using Farnsworth's panel D-15 (X-Rite, MI, USA) using an illuminant C equivalent light source at an illumination level of 270 lux. In this color test, the patient is asked to organize the tablets sequentially, this organization is represented in a diagram, and the errors are analyzed. The qualitative assessment of the test is based on the disposition of the mistakes made according to the axes represented in the diagram ("protan", "deutan", and "tritan"; red, green, and blue respectively), differentiating between the complete absence of pigment (using the suffix "-opia") or its deficiency (using the suffix "-anomaly"). Quantitative assessment is based on the calculation of the total color difference score (TCDS) and the Color Confusion Index (CCI) defined by Bowman KJ [22]; as well as the total error score (TES), the Selectivity Index (SI), and the Confusion Index (CI) defined by Vingrys and King-Smith [23], as implemented by Török (<https://torok.info/colorvision/d15.htm2013>).

Although all the indexes described above were collected for descriptive statistics, inferential analysis was carried out with the CCI. The CCI is calculated by dividing the calculated distance in color space for a specific cap replacement

by that distance calculated for perfect replacement. A CCI equal to 1 would be normal, while a CCI greater than 1 would be representative of alteration. It was performed monocular after refraction and near correction if necessary.

### Optical coherence tomography

Spectral Domain OCT (HRA-OCT Spectralis, Heidelberg Engineering, Germany; Heidelberg Eye Explorer software version 6.3.1.0) was performed for each eye. All subjects underwent a peripapillary retinal nerve fiber layer (pRNFL) protocol scan (3.5 mm-diameter circle scan centered on the optic nerve head with an Automatic Real-time Tracking (ART) of 100 frames and 1536 A-scans per B-scans) with the N-Site Axonal Analytic software version 6.7.

Besides a macular raster scan (25 horizontal B-scans analyzing a macular area of 7.5 mm  $\times$  7.5 mm with a mean ART of 9 and 512 A-scans per B-scans) was taken to measure ganglion cell layer (GCL), inner plexiform layer (IPL), inner nuclear layer (INL), and outer nuclear layer (ONL) thickness in macular area using the 1, 3, and 6 mm ETDRS grid centered on the fovea. Conversion of macular volumes (original measurement in mm<sup>3</sup>) to thicknesses (in  $\mu$ m) was conducted using the following equation: thickness ( $\mu$ m) =  $[4 \times \text{volume} (\mu\text{m}^3)] / [\pi \times (6000 \mu\text{m})^2]$ . To be included in the study, all OCT needs to fulfill OSCAR-IB [24, 25] and APOSTEL criteria [26].

### Magnetic resonance imaging

Brain and spinal cord (SC) MRIs were performed on a 3 T Philips Achieva scanner (Philips Medical Systems, Best, The Netherlands) with a standard head coil. Brain MRI consisted of an axial 3D T1 sequence (echo time (TE) 3 ms; repetition time (TR) 8 ms; slice thickness 1 mm); and a sagittal 3D FLAIR T2 (TE: 2.6 ms; TR 6000 ms; slice thickness 1.1 mm). SC MRI consisted of an axial 3D T1 post-gadolinium sequence (TE 2.6 ms; TR 7.5 ms; slice thickness 1 mm). Percent Phase Field of View was 100 in all cases.

Brain parenchyma fraction (BPF) was quantified by means of the Freesurfer software image analysis version 5.3 (<https://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>), while SC volume (mm<sup>3</sup>, measured taken C1/4 disc as landmarks) was assessed manually for its quantification. All images were assessed accurately controlled for errors/artifacts.

### Statistical analysis

Statistical analyses were performed using SPSS Statistics version 24.0 (SPSS Inc, Armonk, NY:IBM, USA) software.

First, we performed descriptive statistics to characterize our sample. For the design of the multivariate linear regression model, it is necessary to set boundary reference values

in the equation to obtain logical results with real clinical outcomes. These maximum and minimum values have been considered in the variables of the model applying the following formula for typing:  $\text{variable} = [\text{real value} - \text{minimum}] / [\text{maximum} - \text{minimum}]$ . With these formula coefficients of the equation are modified, since all the variables oscillate between 0 and 1 (with the exception of the qualitative ones) and, therefore, changes in the quantitative variables are graded in tenths.

To formulate the model, besides retinal and CNS biomarkers, MS-related clinical variables were assessed for their relation with the dependent variable  $\log(\text{CCI})$  using Spearman's correlation coefficient and ANOVA test. All  $p$  values were two-tailed and they were considered significant at  $p \leq 0.05$ . Given the collinearity between GCL, pRNFL, and EDSS, we decided to include GCL in the mathematical model because of its better reproducibility and less involvement by artifacts than pRNFL [27, 28] and its close relation with color vision impairment [16]. Natural logarithms of the CCI were taken as previously reported [29].

Global significance of the model was validated through Omnibus test and mathematical procedure through the goodness of fit (deviance and Aikake Information Criteria).

Taking into account previous publications [18] and ON effect in visual and OCT outcomes, eyes with history of ON were excluded from the statistical analysis. For patients without ON, ophthalmological values (CCI, pRNFL, and GCL) were determined as the mean value of both eyes. For patients with prior ON, only the value of the unaffected eye was included for the statistics.

## Results

Flow of participants through the study is represented in Fig. 1. The final cohort is characterized demographically, neurologically, and ophthalmologically in Table 2, while qualitative color vision assessments are summarized in Table 3.

Higher CCI values ( $\log \text{CCI}$ ) correlate with thinner pRNFL ( $r = -0.322$ ,  $p = 0.009$ ), thinner GCL ( $r = -0.321$ ,  $p = 0.01$ ), lower BPF ( $r = -0.287$ ,  $p = 0.021$ ), lower SC volume ( $r = -0.33$ ,  $p = 0.008$ ), older age ( $r = 0.417$ ,  $p = 0.001$ ), longer disease duration ( $r = 0.371$ ,  $p = 0.003$ ), and higher EDSS ( $r = 0.44$ ,  $p = 0.001$ ). CCI values ( $\log \text{CCI}$ ) did not correlate with IPL ( $p = 0.06$ ), INL ( $p = 0.722$ ), ONL ( $p = 0.145$ ), sex ( $p = 0.701$ ) nor DMT ( $p = 0.116$ ).

Table 4 shows the estimation (standardized  $\beta$ -coefficients) and standard error of the variables that have finally been included, the hypothesis contrast and the 95% confidence interval of each parameter.

Omnibus test (see supplementary material, table S1) reveals a significant global result of the predictive model

( $p\text{-value} < 0.001$ ). On the other hand, goodness of fit (see supplementary material, table S2) shows underdispersion ( $\text{value}/df < 1$ ), so we can conclude the model fits the data properly.

The model is accepted and the following equation that gives the CCI is obtained:  $\log(\text{CCI}) = 0.316 - 0.224 \text{ BPF} - 0.187 \text{ SC volume (mm}^3) + 0.226 \text{ age (years)} + 0.012 \text{ disease duration (years)} - 0.372 \text{ GCL } (\mu\text{m})$ . The model was validated (Fig. 2) with the 14 patients randomly selected as "validation group" obtaining an  $R^2 = 0.392$  ( $r = 0.626$ ).

## Conclusions

To the best of our knowledge, this is the first mathematical model to predict CCI from clinical and paraclinical biomarkers already accepted in MS clinical and research practice. The main finding of this study is that color vision impairment in non-ON eyes is associated with disability and surrogate brain, SC, and retinal markers of axonal damage. The most common pathological color vision pattern is diffuse color error discrimination, what supports the idea of no specific pattern of color deficiency in MS [16, 30–32].

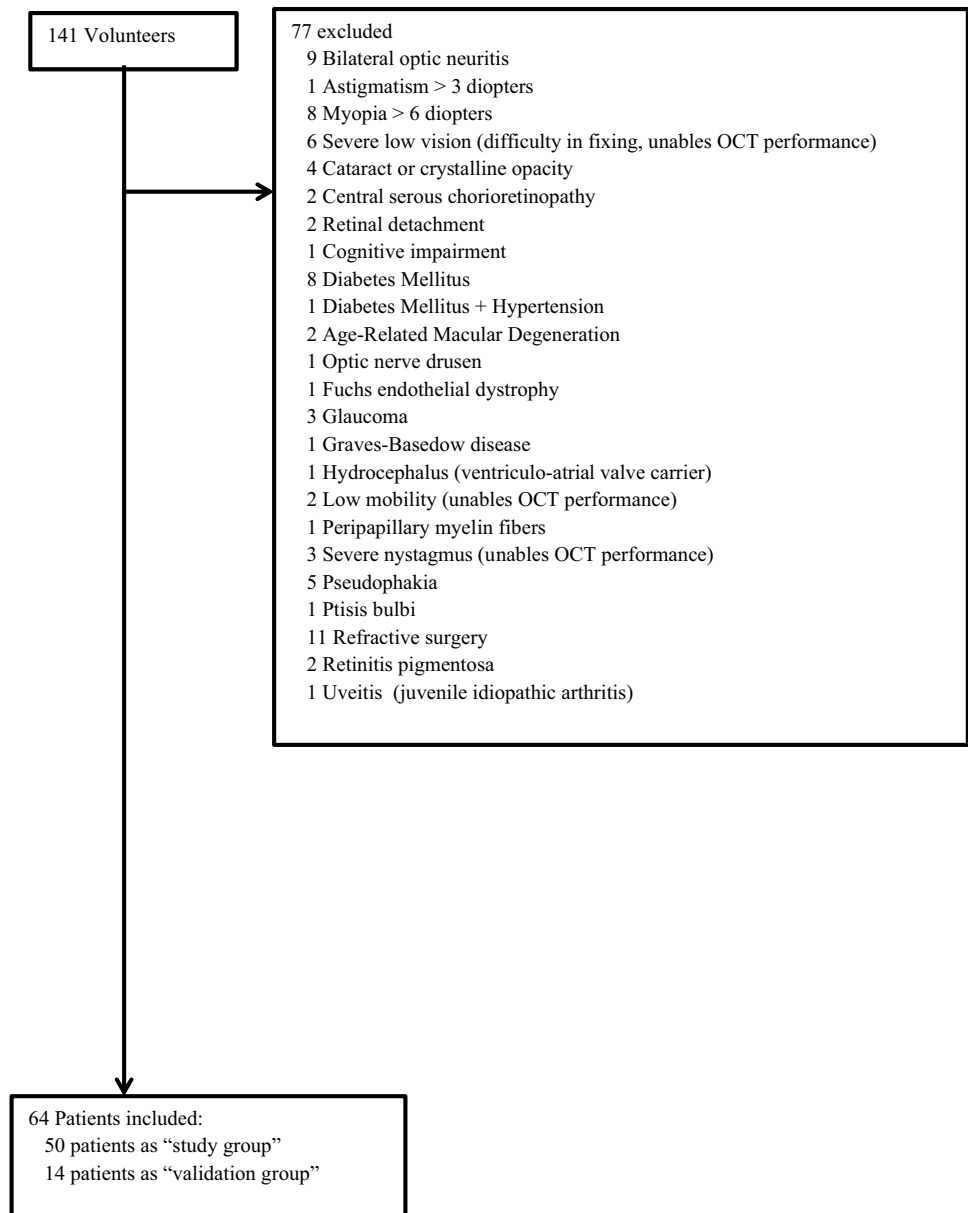
Despite the impact of the disease on the visual system, clinical scales such as EDSS weight visual impairment minimally, while others such as the multiple sclerosis functional composite (MSFC) do not assess it. Specifically, color vision is a visual dimension sparsely explored with controversial conclusions related to its clinical and research utility. While its usefulness as a diagnostic and monitoring tool has been questioned [33], or has not demonstrated significance [34, 35], there are several articles that support its inclusion in clinical practice and research.

In line with our results, Martínez-Lapiscina et al. [31] showed dyschromatopsia in non-ON eyes relates to older age, longer disease duration, increased clinical disability, and higher central nervous system and retinal damage. 1-year follow-up revealed those who developed color vision impairment in the absence of ON, had a greater disability and gray matter atrophy, relating dyschromatopsia with diffuse axonal damage independent of inflammatory activity.

Unpublished before, we found dyschromatopsia correlates with SC volume and GCL slightly better than BPF. However, in the multivariate model, when SC volume, retinal, and brain atrophy are included simultaneously with other significant covariates (age, disease duration), GCL has the highest regression coefficient, what reflects the importance of the GCL viability in this parameter determination.

Unlike Oh et al. [36], who evaluated high- and low-contrast VA, our results about chromatic vision are mainly dependent on GCL thickness, but also depend, among others, on cervical SC volume, being visual and spinal systems two functionally and spatially unrelated CNS compartments.

Fig. 1 Study profile



These findings suggest chronic primary retinal damage not only parallels chronic brain damage, but also SC damage what supports ongoing primary neurodegeneration beyond anatomical landmarks.

Despite being a good biomarker of the clinical course, unless there are spinal findings on the neurological examination, routine SC MRI is not performed [37]. Partly because SC MRI is more complicated to be performed than at brain level, since some factors make the SC a difficult region to assess, such as low resolution or artifacts conditioned by physiological movements like heart rate or breathing [38]. However, the correlation between spinal atrophy and disability is greater than any other MRI measurement [39]. Atrophy rate at SC is higher than in brain (1.78% versus 0.5% annual

rate), having SC a greater limitation to neuroplasticity compared to brain involvement, with a relevant importance of the cervical segment, since it represents a key point for trans-synaptic axonal degeneration, and cervical periphery represents the most frequent location for SC lesions [40].

For these reasons, and despite the fact that SC (nor brain) volume measures have no role in the MS diagnostic criteria, there is growing evidence proving that it would help for early evaluation and disease progression [41]. Beyond the fact that an adequate management of the MRI scanner-related factors or an appropriate development of volumetric software tools would permit a better daily clinical decisions, MRI measures would improve our understanding of neurodegenerative mechanisms that are partly independent of

**Table 2** Demographic, neurological and ophthalmological characteristics of the study group and simulation cohort

Variables [maximum–minimum]	Mean (SD)/n (%) /median (1st, 3rd quartile)	
	Range	
	Study group (N= 50 patients)	Validation group (N= 14 patients)
Age [0–100 years]	45.16 (10.659)	40.3571 (8.967)
	20–69	25–61
Sex		
Male	9 (18%)	6 (42.9%)
Female	41 (82%)	8 (57.1%)
History of ON		
Bilateral non-ON	33 (66%)	6 (42.86%)
Unilateral ON	17 (34%)	8 (57.14%)
Disease duration [0–100 years]	15.52 (8.207)	11.714 (5.837)
	2–32	3–24
EDSS	3 (2, 4.5)	3.75 (2.75, 4.5)
	1–7	1.5–6
Brain parenchymal fraction [0–100%]	70.498 (3.873)	69.11 (5.7)
	60.234–78.224	58.51–78.51
Spinal cord volume [2000–6500 mm <sup>3</sup> ]	3704.553 (530.391)	3884.356 (785.462)
	2621.928–5211.542	2758.679–5858.062
MS treatment		
1st line	14 (28%)	4 (28.6%)
2nd line	36 (72%)	10 (71.4%)
pRNFL global (μm)	94.54 (12.517)	96.071 (9.154)
	58–115	76–108.5
Ganglion cell layer [0–100 μm]	35.923 (4.259)	36.959 (5.143)
	22.989–43.502	27.587–46.509
Inner plexiform layer (μm)	30.331 (2.922)	31.174 (3.865)
	21.574–35.545	24.05–39.435
Inner nuclear layer (μm)	34.929 (2.068)	35.797 (2.284)
	29.886–39.966	32.892–40.142
Outer nuclear layer (μm)	59.008 (6.191)	64.635 (5.243)
	48.454–80.639	53.052–71.797
Color Confusion Index [1–(> 1)]	1.156 (0.188)	1.241 (0.355)
	1–1.82	1–2.315
Total color difference score	135.184 (21.932)	145.168 (41.536)
	117–212.9	117–271.1
Total error score	13.653 (2.812)	14.961 (5.533)
	11.4–22.85	11.4–31.85
Selectivity Index	1.584 (0.284)	1.634 (0.322)
	1.08–2.51	1.35–2.39
Confusion Index	1.244 (0.3)	1.385 (0.583)
	1–2.155	1–3.12

In brackets maximum and minimum boundary reference values for inferential statistics

inflammatory mechanisms [42]. Current knowledge about these mechanisms is limited being necessary the research of surrogate markers that translates ongoing neurodegeneration in MS independently of anatomical boundaries.

Consequently, and according to our findings, color tests are a potential tool that provides helpful and complementary

information, as it correlates with EDSS and CNS parameters, but also with retinal measures (pRNFL and GCL). In this line of argument, Villoslada et al. [32] and Satue et al. [43] showed color vision strongly correlated with OCT measures, while Levin et al. [44] showed retinal thickness in fellow non-ON eyes correlate with color contrast sensitivity.

**Table 3** Qualitative color vision characteristics of the study group and simulation cohort

	N (%)	
	Study group (N = 100 eyes)	Validation group (N = 28 eyes)
Normal color discrimination	86 (86%)	23 (82.1429%)
Diffuse color error discrimination	11 (11%)	5 (17.8571%)
Protanomaly or protanopia	0 (0%)	0 (0%)
Deuteranomaly or deuteranopia	0 (0%)	0 (0%)
Tritanomaly or tritanopia	3 (3%)	0 (%)

For their part, Gundogan et al. [45] demonstrated Farnsworth–Munsell 100-Hue was more sensitive than pattern visual-evoked potential in the diagnosis of subclinical pathway involvement.

Our work has some methodological limitations that should be noted. First, the heterogeneous study population, who had been treated with various immunomodulating therapies during different time intervals, underestimates retinal, brain, and SC atrophy in different rates. Second, this study is based on the dynamic CNS damage etiopathogenic hypothesis, but does not reject alternatives such as the two-stage hypothesis or the inside-out hypothesis. Third, our results cannot be applied to patients with bilateral ON or a possible EDSS score greater than 6.5. Fourth, the study did not include a healthy age-sex matched control group for comparison. Fifth, despite the strict exclusion criteria and the ophthalmological tests performed, we cannot discard the possibility of subclinical ON that justifies the chromatic alteration, although the existence of a primary retinal degeneration is widely accepted [6, 7]. Sixth, the cross-sectional design and the limited number of patients make us cautious with the obtained results,

**Table 4** Parameters estimate

	$\beta$	Standard Error	95% Wald CI	Hypothesis contrast		
				Wald Chi-square	df	Sig
(Intercept)	0.316	0.1428	0.036 to 0.596	4.893	1	0.027
BPF	-0.224	0.1842	-0.585 to 0.137	1.473	1	0.225
SC volume (mm <sup>3</sup> )	-0.187	0.06	-0.305 to (-0.069)	9.681	1	0.002
Age (years)	0.226	0.0728	0.084 to (0.369)	9.677	1	0.002
Disease duration (years)	0.012	0.101	-0.186 to (0.21)	0.014	1	0.906
GCL ( $\mu$ m)	-0.372	0.1786	-0.722 to (-0.022)	4.343	1	0.037
(Scale)	0.002*	0.0005	0.002 to 0.003			

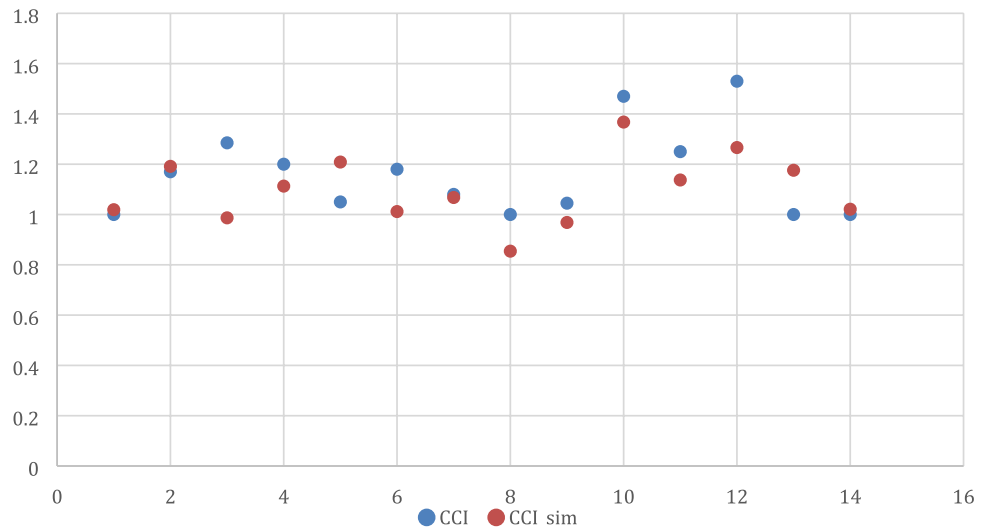
Dependent variable: Log Color Confusion Index (CCI)

Model (intercept): *BPF* brain parenchyma fraction, *SC volumen* Spinal cord volumen, age, disease duration, *GCL* ganglion cell layer

*CI* confidence interval, *df* degrees of freedom, *sig* significance level

\*Maximum-likelihood estimations

**Fig. 2** Mathematical model validation [mathematical model simulation ( $R^2=0.392$ ,  $r=0.626$ ). Blue dot: CCI validation group, red dot: simulated CCI. Y axis: CCI results (obtained by the model or real); X axis: 14 patients evaluated (“validation group”)]





although, in recent literature, we can find these same limitations [33, 44, 45]. Despite this, we have been able to obtain significant correlations to support our conclusions.

Color vision can be assessed in multiple ways but mainly in daily clinical practice, we can distinguish between pseudoisochromatic plates (Ishihara and Hardy-Rand-Rittler plates) and cap-based test (Farnsworth–Munsell 100-Hue, Farnsworth'panel D-15, and Lanthony's desaturated 15-hue). While pseudoisochromatic plate test are easier, faster, and independent of the upper-limb function, what makes them useful as a screening test, cap-based tests like Farnsworth D-15 permit a more detailed assessment of color vision impairment [46], less time-consuming than FM 100-hue but less suitable for detecting mild color abnormalities than Lanthony desaturated test. Specifically, Farnsworth D-15 is a non-invasive, inexpensive test to assess chromatic vision that technically presents a short learning curve for its administration and posterior analysis.

Among the strengths of our study, we could highlight the strict clinical exclusion criteria and the mathematical designed developed that includes potential confounding variables, besides retinal and CNS biomarkers less explored such as cervical SC volume or macular nuclear layers.

In conclusion, we found that dyschromatopsia in MS (CCI) correlates with retinal parameters (GCL, pRNFL), physical disability (EDSS), and MRI measures (SC volume, BPF) independent of radiological activity and clinical relapses. Based on our results, we encourage standardizing color vision outcomes to monitor disease activity in clinical consultation and as an end-point in research trials. Our findings extend the idea of the eye as a window to the brain but to the entire CNS, mirroring diffuse chronic ongoing neurodegeneration. Longitudinal studies with homogeneous larger samples of patients are necessary in future research.

**Author contributions** Conceptualization: AB-G, EE-G, BC. Methodology: AB-G, MTS, SC-B, FP-M, CA, EE-G, BC. Formal analysis and investigation: AB-G, MTS, SC-B, FP-M, CA, EE-G, BC. Writing—original draft preparation: AB-G. Writing—review and editing: AB-G, EE-G, BC. Funding acquisition: BC. Resources: AB-G, EE-G, BC. Supervision: EE-G, BC.

**Funding** Bonaventura Casanova was supported by a fellowship from Health Institute Carlos III, Spain (FIS 17/551). The funding agency had no role in the design and conduct of the study; collection, management, analysis and interpretation of the data; and preparation, review or approval of the manuscript; and decision to submit the manuscript for publication.

**Data availability** Data available on request due to privacy/ethical restrictions.

## Compliance with ethical standards

**Conflict of interest** Francisco Pérez-Mirallas has received compensation from Almirall, Biogen Idec, Genzyme, Merk-Serono, Mylan, Novartis, Roche, Sanofi-Aventis, and Teva, outside the submitted work. Bonaventura Casanova has received compensation from Novartis, Roche, Biogen, Merk, Teva, and Sanofi outside the submitted work. All other authors have no conflicts of interest to declare.

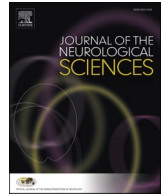
**Consent to participate** Written informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

## References

- Costello F (2016) Vision disturbances in multiple sclerosis. *Semin Neurol* 36:185–195. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1579692>
- Optic Neuritis Study Group (2008) Visual function 15 years after optic neuritis: a final follow-up report from the optic neuritis treatment trial. *Ophthalmology* 115:1079–1082. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2007.08.004>
- Heesen C, Böhm J, Reich C, Kasper J, Goebel M, Gold SM (2008) Patient perception of bodily functions in multiple sclerosis: gait and visual function are the most valuable. *Mult Scler* 14:988–991. <https://doi.org/10.1177/1352458508088916>
- Sanchez-Dalmau B, Martinez-Lapiscina EH, Pulido-Valdeolivas I et al (2018) Predictors of vision impairment in multiple sclerosis. *PLoS ONE* 13:e0195856. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195856>
- Graham SL, Klistorner A (2016) Afferent visual pathways in multiple sclerosis: a review. *Clin Exp Ophthalmol* 45:62–72. <https://doi.org/10.1111/ceo.12751>
- Saidha S, Syc SB, Ibrahim MA et al (2011) Primary retinal pathology in multiple sclerosis as detected by optical coherence tomography. *Brain* 134:518–533. <https://doi.org/10.1093/brain/awq346>
- Ortiz-Pérez S, Martínez-Lapiscina EH, Gabilondo I et al (2013) Retinal periphlebitis is associated with multiple sclerosis severity. *Neurology* 81:877–881. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182a3525e>
- Lambe J, Saidha S, Bermel RA (2019) Optical coherence tomography and multiple sclerosis: Update on clinical application and role in clinical trials. *Mult Scler*. <https://doi.org/10.1177/1352458519872751>
- Brandt AU, Martinez-Lapiscina EH, Nolan R, Saidha S (2017) Monitoring the course of multiple sclerosis with optical coherence tomography. *Curr Treat Options Neurol* 19:15. <https://doi.org/10.1007/s11940-017-0452-7>
- Balcer LJ, Raynowska J, Nolan R et al (2017) Validity of low-contrast letter acuity as a visual performance outcome measure for multiple sclerosis. *Mult Scler* 23:734–747. <https://doi.org/10.1177/1352458517690822>
- Katz B (1995) The dyschromatopsia of optic neuritis: a descriptive analysis of data from the optic neuritis treatment trial. *Trans Am Ophthalmol Soc* 93:658–708
- Silverman S, Hart W Jr, Gordon M, Kilo C (1990) The dyschromatopsia of optic neuritis is determined in part by the foveal/perifoveal distribution of visual field damage. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 31:1895–1902
- Solomon SG, Lennie P (2007) The machinery of colour vision. *Nat Rev Neurosci* 8:276–286. <https://doi.org/10.1038/nrn2094>
- Porciatti V, Sartucci F (1996) Retinal and cortical evoked responses to chromatic contrast stimuli. specific losses in both eyes of patients with multiple sclerosis and unilateral optic neuritis. *Brain* 119:723–740. <https://doi.org/10.1093/brain/119.3.723>

15. Evangelou N, Konz D, Esiri MM, Smith S, Palace J, Matthews PM (2001) Size-selective neuronal changes in the anterior optic pathways suggest a differential susceptibility to injury in multiple sclerosis. *Brain* 124:1813–1820. <https://doi.org/10.1093/brain/124.9.1813>
16. Lampert EJ, Andorra M, Torres-Torres R et al (2015) Color vision impairment in multiple sclerosis points to retinal ganglion cell damage. *J Neurol* 262:2491–2497. <https://doi.org/10.1007/s00415-015-7876-3>
17. Polman CH, Reingold SC, Banwell B et al (2011) Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol* 69:292–302. <https://doi.org/10.1002/ana.22366>
18. Martínez-Lapiscina EH, Fraga-Pumar E, Gabilondo I et al (2014) The multiple sclerosis visual pathway cohort: understanding neurodegeneration in MS. *BMC Res Notes* 7:910. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-910>
19. Gabilondo I, Martínez-Lapiscina EH, Martínez-Heras E et al (2014) Trans-synaptic axonal degeneration in the visual pathway in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 75:98–107. <https://doi.org/10.1002/ana.24030>
20. Kotelnikova E, Kiani NA, Abad E et al (2017) Dynamics and heterogeneity of brain damage in multiple sclerosis. *PLoS Comput Biol* 13:e1005757. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005757>
21. Kurtzke JF (1983) Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 33:1944–1952. <https://doi.org/10.1212/wnl.33.11.1444>
22. Bowman KJ (1982) A method for quantitative scoring of the Farnsworth panel D-15. *Acta Ophthalmol* 60:907–916. <https://doi.org/10.1111/j.1755-3768.1982.tb00621.x>
23. Vingrys AJ, King-Smith PE (1988) A quantitative scoring technique for panel tests of color vision. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 29:50–63
24. Tewarie P, Balk L, Costello F et al (2012) The OSCAR-IB consensus criteria for retinal OCT quality assessment. *PLoS ONE* 7:e34823. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034823>
25. Schippling S, Balk LJ, Costello F et al (2015) Quality control for retinal OCT in multiple sclerosis: validation of the OSCAR-IB criteria. *Mult Scler* 21:163–170. <https://doi.org/10.1177/1352458514538110>
26. Cruz-Herranz A, Balk J, Oberwahrenbrock T et al (2016) The APOSTEL recommendations for reporting quantitative optical coherence tomography studies. *Neurology* 88:2303–2309. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002774>
27. Saidha S, Syc SB, Durbin MK et al (2011) Visual dysfunction in multiple sclerosis correlates better with optical coherence tomography derived estimates of macular ganglion cell layer thickness than peripapillary retinal nerve fiber layer thickness. *Mult Scler* 17:1449–1463. <https://doi.org/10.1177/13524585111418630>
28. Behbehani R, Al-Moosa A, Sriraman D, Alroughani R (2016) Ganglion cell analysis in acute optic neuritis. *Mult Scler Relat Disord* 5:66–69. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2015.10.008>
29. Semple S, Dick F, Osborne A et al (2000) Impairment of colour vision in workers exposed to organic solvents. *Occup Environ Med* 57:582–587. <https://doi.org/10.1136/oem.57.9.582>
30. Moura A, Teixeira R, Oiwa N et al (2008) Chromatic discrimination losses in multiple sclerosis patients with and without optic neuritis using the Cambridge Colour Test. *Vis Neurosci* 25:463–468. <https://doi.org/10.1017/S0952523808080437>
31. Martínez-Lapiscina EH, Ortiz-Pérez S, Fraga-Pumar E et al (2014) Colour vision impairment is associated with disease severity in multiple sclerosis. *Mult Scler* 20:1207–1216. <https://doi.org/10.1177/1352458513517591>
32. Villoslada P, Cuneo A, Gelfand J, Hauser SL, Green A (2012) Color vision is strongly associated with retinal thinning in multiple sclerosis. *Mult Scler* 18:991–999. <https://doi.org/10.1177/1352458511431972>
33. Yuksel B, Dogan B, Koctekin B et al (2019) Color vision testing versus pattern visual evoked potentials and optical coherence tomography parameters in subclinical optic nerve involvement in multiple sclerosis. *J Clin Neurosci* 61:48–53. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2018.11.011>
34. Garcia-Martin E, Ara JR, Martin J et al (2017) Retinal and optic nerve degeneration in patients with multiple sclerosis followed up for 5 years. *Ophthalmology* 124:688–696. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2017.01.005>
35. Herrero R, Garcia-Martin E, Almarcegui C et al (2012) Progressive degeneration of the retinal nerve fiber layer in patients with multiple sclerosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 53:8344–8349. <https://doi.org/10.1167/iovs.12-10362>
36. Oh J, Sotirchos ES, Saidha S et al (2015) Relationships between quantitative spinal cord MRI and retinal layers in multiple sclerosis. *Neurology* 84:720–728. <https://doi.org/10.1212/WNL.000000000000001257>
37. Ontaneda D, Thompson AJ, Fox RJ et al (2017) Progressive multiple sclerosis: prospects for disease therapy, repair, and restoration of function. *Lancet* 389:1357–1366. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31320-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31320-4)
38. Ontaneda D, Fox RJ (2017) Imaging as an outcome measure in multiple sclerosis. *Neurotherapeutics* 14:24–34. <https://doi.org/10.1007/s13311-016-0479-6>
39. Kearney H, Miller DH, Ciccarelli O (2015) Spinal cord MRI in multiple sclerosis—diagnostic, prognostic and clinical value. *Nat Rev Neurol* 11:327–338. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2015.80>
40. Moccia M, Ruggieri S, Ianniello A et al (2019) Advances in spinal cord imaging in multiple sclerosis. *Ther Adv Neurol Disord* 12:1756286419840593. <https://doi.org/10.1177/1756286419840593>
41. Tsagkas C, Magon S, Gaetano L et al (2018) Spinal cord volume loss: a marker of disease progression in multiple sclerosis. *Neurology* 91:e349–e358. <https://doi.org/10.1212/WNL.00000000000005853>
42. Kawachi I, Lassmann H (2017) Neurodegeneration in multiple sclerosis and neuromyelitis optica. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 88:137–145. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2016-313300>
43. Satue M, Rodrigo MJ, Otin S et al (2016) Relationship between visual dysfunction and retinal changes in patients with multiple sclerosis. *PLoS ONE* 11:e0157293. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157293>
44. Levin N, Devereux M, Bick A, Baker N, Green A (2019) Color perception impairment following optic neuritis and its association with retinal atrophy. *J Neurol* 266:1160–1166. <https://doi.org/10.1007/s00415-019-09246-8>
45. Gundogan FC, Tas A, Altun S, Oz O, Erdem U, Sobaci G (2013) Color vision versus pattern visual evoked potentials in the assessment of subclinical optic pathway involvement in multiple sclerosis. *Indian J Ophthalmol* 61:100–103. <https://doi.org/10.4103/0301-4738.99842>
46. Cole BL, Lian KY, Lakkis C (2006) The new Richmond HRR pseudoisochromatic test for colour vision is better than the ishikawa test. *Clin Exp Ophthalmol* 89:73–80. <https://doi.org/10.1111/j.1444-0938.2006.00015.x>

**Publisher's Note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



## Magnetic resonance imaging and optical coherence tomography correlations in multiple sclerosis beyond anatomical landmarks

Antonio Barreiro-González<sup>a,\*</sup>, Maria T. Sanz<sup>b</sup>, Sara Carratalà-Boscà<sup>c</sup>, Francisco Pérez-Miralles<sup>c</sup>, Carmen Alcalá<sup>c</sup>, Joan Carreres-Polo<sup>d</sup>, Enrique España-Gregori<sup>a,e</sup>, Bonaventura Casanova<sup>c,f</sup>

<sup>a</sup> Ophthalmology Department, La Fe University and Polytechnic Hospital, Valencia, Spain

<sup>b</sup> Departamento de Didáctica de la Matemática, Universidad de Valencia, Valencia, Spain

<sup>c</sup> Neuroimmunology Unit, La Fe University and Polytechnic Hospital, Valencia, Spain

<sup>d</sup> Radiology Department, La Fe University and Polytechnic Hospital, Valencia, Spain

<sup>e</sup> Surgery Department, Faculty of Medicine, University of Valencia, Spain

<sup>f</sup> Medicine Department, Faculty of Medicine, University of Valencia, Spain

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

Magnetic resonance imaging  
Multiple sclerosis  
Neurodegenerative disorders  
Neuroophthalmology  
Optic neuritis  
Spinal cord

### ABSTRACT

**Objective:** To investigate multiple sclerosis (MS) optical coherence tomography (OCT) cross-sectional correlations with central nervous system (CNS) magnetic resonance imaging (MRI).

**Material and methods:** Peripapillary retinal nerve fiber layer (pRNFL), ganglion cell layer (GCL), inner plexiform layer (IPL), inner (INL) and outer nuclear layer (ONL) of 54 relapsing remitting (RRMS) and 38 progressive (PMS, 9 primary and 29 secondary) patients were measured. With less than 3 months brain parenchymal fraction (BPF), spinal cord (SC), total gray matter (GM) and white matter volumes were calculated. Demographical and clinical data was compared according to the history of optic neuritis (HON). Relationships between OCT and MRI data were assessed using multivariable linear regression models, adjusting for age, gender and disease duration, taking into account HON and disease subtype.

**Results:** Cerebellum ( $p = 0.008$ ), pRNFL ( $p = 0.001$ ), GCL ( $p = 0.001$ ) and IPL ( $p = 0.001$ ) were thinner, while INL was thicker ( $p = 0.02$ ) if HON. SC correlated better with nasal pRNFL sectors in eyes with HON (all eyes: average pRNFL  $p = 0.035$   $\eta^2 = 0.213$ ; N-pRNFL  $p = 0.04$   $\eta^2 = 0.36$ , NI-pRNFL  $p = 0.0001$   $\eta^2 = 0.484$ . RRMS eyes: N-pRNFL  $p = 0.034$   $\eta^2 = 0.348$ ; NI-pRNFL  $p = 0.013$   $\eta^2 = 0.441$ ), while it correlates with PMB ( $p = 0.032$   $\eta^2 = 0.144$ ), GCL ( $p = 0.03$   $\eta^2 = 0.147$ ) and IPL ( $p = 0.028$   $\eta^2 = 0.151$ ) in eyes without HON regardless of the disease subtype. INL presented no microcystic macular oedema and was inversely associated with BPF ( $p = 0.029$   $\eta^2 = 0.363$ ) and cerebellum ( $p = 0.015$   $\eta^2 = 0.428$ ) in PMS eyes without HON.

**Conclusions:** OCT data correlates with different CNS compartments, even with no anatomical or functional linkage, serving as useful neurodegeneration and inflammation surrogate marker.

### 1. Introduction

Visual pathway is a preferred place of acute and chronic damage in multiple sclerosis (MS), in which the retina and the optic nerve fibers devoid of myelin are an easily accessible model for the study, among others, of MS pathogenesis [1].

Inflammation and neurodegeneration are the two main different MS pathological processes that develop in different proportions from the beginning of the disease [2] and, although immune-regulatory and neuroprotective mechanisms may be activated from a relatively early onset of the clinical relapses [3], the course of the disease leads to an

irreversible neuro-axonal loss, which is the principal cause of disability [4]. Neurodegeneration is considered a chronic, diffuse, silent, ongoing process that spreads all over the central nervous system (CNS) [2]. Sensitive accessible imaging biomarkers validation that assess objectively neurodegeneration is a priority goal in daily clinical assessment and research trials, with a potential capacity in diagnosis and monitoring MS patients [5].

Optical coherence tomography (OCT) has emerged as a safe, non-invasive, rapid imaging technique that permits obtaining cross-sectional images of the retina and the optic nerve, from which quantitative and qualitative reliable data are analyzed with a reasonable cost.

\* Corresponding author at: Ophthalmology Department, La Fe University and Polytechnic Hospital, Avenida Fernando Abril Martorell 106, 46026 Valencia, Spain.  
E-mail address: [antonioarreiro3@gmail.com](mailto:antonioarreiro3@gmail.com) (A. Barreiro-González).

Its excellent reproducibility, well correlation with clinical and para-clinical measures of disease activity and progression [6,7], and therapeutic efficacy [8], makes this ophthalmological tool an ideal complement to magnetic resonance imaging (MRI) in MS practice.

The aim of this study is to evaluate OCT correlations (macular layers and optic nerve sectors) with CNS MRI parameters according to the history of optic neuritis (HON) in different MS disease subtypes, with the hypothesis that the visual pathway is a good marker of neurodegeneration and inflammation beyond anatomical landmarks.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Study design

This is an observational cross-sectional study carried out by the Neurology and Ophthalmology departments of La Fe University and Polytechnic Hospital (Valencia, Spain) from October 2017 to May 2019 after the approval of the research ethics committee of our institution.

### 2.2. Study population and clinical assessment

Out of the 160 MS volunteers who signed written informed consent, 92 met the inclusion criteria (age over 18 years and MS diagnosed following the 2010 revised McDonald criteria [9]) and none of them met the exclusion criteria (Supplementary file 1, modified from Martinez-Lapiscina et al. [10]).

Data for the study was collected in a prospective fashion from the medical, OCT and MRI records with less than 3 months interval between examinations. For each patient, age (years) at the moment of examination, sex, MS disease duration (years), history of MS disease-modifying treatments, MS type (relapsing-remitting (RRMS), secondary progressive (SPMS) and primary progressive (PPMS)), and disability assessed using the Expanded Disability Status Scale (EDSS) [11] were determined.

EDSS assessment, neuroradiological volumes analysis and OCT performance were made by different researchers. All of them were blind to

**Table 1**  
Demographic, clinical and MRI characteristics of the study group.

		Mean (SD) / n (%) / Median (1st, 3rd Q)
		Range
		All Patients = 92 (except for spinal cord = 67)
Age (years)		43.87 (10.035) 20–69
MS disease-type	RRMS	54 (58.7%)
	PPMS	9 (9.8%)
	SPMS	29 (31.5%)
Sex	Male	25 (27.2%)
	Female	67 (72.8%)
Disease duration (years)		14.51 (7.905) 0–34
EDSS		3 (2, 4.5) 1–7
MS treatment	1st line	25 (27.2%)
	2nd line	67 (72.8%)
Brain parenchymal fraction (BPF, %)		70.159 (4.248) 58.51–79.138
Cerebellum (mm <sup>3</sup> )		120,957.8261 (14,165.76) 90,618.6–158,230.8
Total gray matter (mm <sup>3</sup> )		565,243.287 (56,677.154) 429,062.573–702,446.045
		427,373.363 (60,690.861) 275,421.816–580,148.117
White matter (mm <sup>3</sup> )		3719.947 (590.143) 2621.928–5858.062

SD = standard deviation, RRMS = relapsing remitting multiple sclerosis, PPMS = primary progressive multiple sclerosis, SPMS = secondary progressive multiple sclerosis, EDSS = Expanded Disability Status Scale.

each other. Statistical analysis was carried out in a blind fashion for the assessment of predictors for the outcome, having masked the predictors.

The pharmacological history of the patients was used to classify them as 1st line treatment (interferon  $\beta$ -1a, interferon  $\beta$ -1b, peg-interferon  $\beta$ -1a, teriflunomide, glatiramer acetate, azathioprine and dimethyl fumarate) or 2nd line treatment (fingolimod, natalizumab, alemtuzumab, rituximab, bone marrow transplant, cyclophosphamide and ocrelizumab). Disease duration was defined from the time of the first manifestation of disease until study enrollment.

HON was determined according to the symptoms defined in the Optic Neuritis Treatment Trial: pain with eye movement, loss of visual acuity, visual field defect, colour vision impairment and relative afferent pupillary defect [12]. All cases were carefully confirmed by optic nerve MRI, OCT and/or visual evoked potentials.

### 2.3. Optical coherence tomography

Spectral Domain OCT (Spectralis, Heidelberg Engineering, Germany; Heidelberg Eye Explorer software version 6.3.1.0) was performed for each eye. All subjects underwent a peripapillary retinal nerve fiber layer (pRNFL) protocol scan (3.5 mm diameter circle scan centered on the optic nerve head with automatic real-time tracking of 100 frames and 1536 A-scans per B-scans) with the N-Site Axonal Analytic software version 6.7 obtaining an average thickness ( $\mu$ m) value of pRNFL and its sectors (superonasal, NS; nasal, N; inferonasal, NI; inferotemporal, TI; temporal, T; superotemporal, TS; and papillomacular bundle, PMB).

Besides, a macular raster scan (25 horizontal B-scans analysing a macular area of 7.5 mm  $\times$  7.5 mm with a mean automatic real-time tracking of 9 and 512 A-scans per B-scans) was taken to measure ganglion cell layer (GCL), inner plexiform layer (IPL), inner nuclear layer (INL), and outer nuclear layer (ONL) volume (mm<sup>3</sup>) using the 1, 3, 6 mm ETDRS grid centered on the fovea. In order to be included in the study all OCT images needed to fulfill OSCAR-IB [13,14] and APOSTEL criteria [15].

### 2.4. Magnetic resonance imaging

Brain and spinal cord (SC) MRIs were performed on a 3 Tesla Philips Achieva scanner (Philips Medical Systems, Best, The Netherlands) with a standard head coil. Brain MRI consisted of an axial 3D T1 sequence (echo time 3 ms; repetition time 8 ms; slice thickness 1 mm), and a sagittal 3D T2-FLAIR (echo time 2.6 ms; repetition time 6000 ms; slice thickness 1.1 mm). SC MRI consisted of an axial 3D T1 post-gadolinium sequence (echo time 2.6 ms; repetition time 7.5 ms; slice thickness 1 mm). Percent Phase Field of View was 100 in all cases.

Brain parenchymal fraction (BPF, referred as the percentage of volume occupied by brain tissue versus intracranial space), cerebellum (mm<sup>3</sup>), total gray matter (GM mm<sup>3</sup>; which includes cerebellum, cortical and subcortical gray matter) and white matter volume (WM mm<sup>3</sup>; which includes cerebellum and cortical white matter) were quantified by means of using the Freesurfer software image analysis version 5.3, which extracts the value of total intracranial volumen for BPF volumetric MRI analysis, through its relation to the transformation to MNI305 space. On the other hand, SC volume (mm<sup>3</sup>, taken C1/4 as landmarks) was assessed manually with automatic software to minimize boundary errors due to SC curvature. All images were assessed and accurately controlled for errors/artifacts. For more details see Supplementary file 2.

### 2.5. Statistical analysis

Statistical analyses were performed using SPSS Statistics version 24.0 (SPSS Inc., Armonk, NY:IBM, USA) software. First, we performed descriptive statistics to characterize our sample clinically, ophthalmological and neurologically. These characteristics were compared according to the previous HON using Mann-Whitney *U* test, when the

**Table 2**  
Ophthalmic characteristics of the study group.

	Mean (SD)
	Range
	All eyes = 184
Average pRNFL (µm)	88.72 (15.46) 52–118
Superonasal pRNFL (µm)	100.13 (22.99) 48–172
Nasal pRNFL (µm)	70.90 (14.541) 36–108
Inferonasal pRNFL (µm)	108.8 (25.329) 49–175
Inferotemporal pRNFL (µm)	122.96 (27.299) 57–174
Temporal pRNFL (µm)	55.67 (14.719) 25–93
Superotemporal pRNFL (µm)	124.68 (23.93) 60–181
Papillomacular bundle (µm)	42.55 (11.034) 21–74
Ganglion cell layer (mm <sup>3</sup> )	0.969 (0.154) 0.54–1.33
Inner plexiform layer (mm <sup>3</sup> )	0.827 (0.106) 0.59–1.12
Inner nuclear layer (mm <sup>3</sup> )	1.002 (0.063) 0.84–1.25
Outer nuclear layer (mm <sup>3</sup> )	1.709 (0.164) 1.36–2.28

SD = standard deviation, pRNFL = peripapillary retinal nerve fiber layer.

variables to compare were quantitative; median test for independent samples, when variables involved were ordinal quantitative; and test of difference of proportions, when variables to compare were qualitative.

Secondly, as OCT measures from both eyes of volunteers were included in analyses, mixed-effects multivariable linear regression models were used to account for within-subject, inter-eye correlations. Relationships between OCT and MRI were assessed using these models,

**Table 3**  
Demographic, clinical and MRI characteristics of the study group.

		Mean (SD) / n (%) / Median (1st, 3rd Q)		p-Value
		Range		
		Patients without HON = 48 (except for spinal cord = 39)	Patients with HON = 44 (except for spinal cord = 28)	
Age (years)		43.958 (10.055) 20–69	43.772 (10.129) 25–64	0.885 (MW)
MS disease-type	RRMS	25 (52.1%)	29 (65.9)	0.239 (DP)
	PPMS	9 (18.8%)	0 (0%)	A
	SPMS	14 (29.2%)	15 (34.1%)	0.371 (DP)
Sex	Male	14 (29.2%)	11 (25%)	0.123 (DP)
	Female	34 (70.8%)	33 (75%)	0.444 (DP)
Disease duration (years)		13.458 (7.947) 0–30	15.659 (7.788) 4–34	0.222 (MW)
EDSS		3 (2, 4) 1–7	3 (2, 4.5) 1–7	0.642 (M)
MS treatment	1st line	13 (27.1%)	12 (27.3%)	0.352 (DP)
	2nd line	35 (72.9%)	32 (72.7%)	0.337 (DP)
Brain parenchymal fraction (BPF, %)		70.489 (4.071) 58.51–79.138	69.799 (4.443) 60.234–78.51	0.381 (MW)
Cerebellum (mm <sup>3</sup> )		124,433.702 (14,402.96) 90,618.6–158,230.8	117,165.961 (13,028.028) 92,910.4–155,552.3	0.008* (MW)
Total gray matter (mm <sup>3</sup> )		573,372.784 (47,991.441) 450,856.306–702,446.045	556,374.745 (64,237.385) 429,062.573–687,926.031	0.072 (MW)
White matter (mm <sup>3</sup> )		434,656.914 (57,079.817) 309,801.048–562,956.388	419,427.671 (64,109.713) 275,421.816–580,148.117	0.205 (MW)
Spinal cord (mm <sup>3</sup> )		3744.719 (487.093) 2758.679–5195.758	3685.442 (717.832) 2621.928–5858.062	0.328 (MW)

SD = standard deviation, HON = history of optic neuritis, RRMS = relapsing remitting multiple sclerosis, PPMS = primary progressive multiple sclerosis, SPMS = secondary progressive multiple sclerosis, EDSS = Expanded Disability Status Scale. A = cannot be calculated because there is a 0. Significant differences ( $p < 0.05$ ) are indicated with \*. MW = Mann-Whitney *U* test for independent samples; M = Median test for independent samples; DP = Test of difference of proportions.

adjusting for age, gender and disease duration. These correlations were assessed using the same differential criteria (HON), initially applying to the entire sample independently to the disease subtype and then differentiating between relapsing remitting (RRMS) and progressive forms (PMS, which includes PPMS and SPMS). All *p*-values were two tailed and they were considered significant at  $p \leq 0.05$ . The effect size was reported through the partial eta squared ( $\eta^2$ ) if the OCT-MRI correlation was  $p \leq 0.05$  in order to assess chance as an explanation of the results. In our study, partial  $\eta^2 \leq 0.04$  values correspond to a low effect size,  $\eta^2 = 0.25$  correspond to a medium effect size, while  $\eta^2 \geq 0.64$  correspond to a large effect size [16]; although there are other less demanding approaches with cutoff values of 0.01, 0.06 and 0.14 respectively [17].

### 3. Results

#### 3.1. Influence of HON in clinical, ophthalmological and neurological characteristics

Flow of participants through the study is represented in Supplementary file 3. The final cohort is characterized clinically and neuro-radiologically (Table 1) as well as ophthalmologically (Table 2). Tables 3 and 4 present the aforementioned characteristics dividing the sample according to the HON for its comparison.

According to the HON, no statistically significant demographic or clinical differences are observed. In eyes with HON average pRNFL and its sectors, GCL and IPL are significantly lower, while INL is significantly higher compared to those measures in eyes without HON. On the other hand, the cerebellum is the only MRI structure with a statistically significant lower volume in patients with HON, while total GM presents a trend ( $p = 0.072$ ) of lower volumes in patients with HON.

#### 3.2. OCT-MRI correlations in eyes without HON

Regardless of the disease subtype, eyes without HON (Table 5) show that SC correlates with PMB ( $p = 0.032$ ,  $\eta^2 = 0.144$ ), GCL ( $p = 0.03$ ,

**Table 4**  
Ophthalmic characteristics of the study group.

	Mean (SD)		p-Value
	Range		
	Eyes without HON = 131	Eyes with HON = 53	
Average pRNFL ( $\mu\text{m}$ )	94 (12)	75 (14)	0.001* (MW)
Superonasal pRNFL ( $\mu\text{m}$ )	57–118	52–108	0.001* (MW)
	106 (22)	87 (20)	
Nasal pRNFL ( $\mu\text{m}$ )	52–172	48–147	0.001* (MW)
	75 (13)	61 (14)	
Inferonasal pRNFL ( $\mu\text{m}$ )	40–108	36–92	0.001* (MW)
	114 (25)	96 (22)	
Inferotemporal pRNFL ( $\mu\text{m}$ )	62–175	49–151	0.001* (MW)
	132 (22)	100 (25)	
Temporal pRNFL ( $\mu\text{m}$ )	59–174	57–157	0.001* (MW)
	61 (12)	43 (13)	
Superotemporal pRNFL ( $\mu\text{m}$ )	27–93	25–80	0.001* (MW)
	132 (20)	105 (22)	
Papillomacular bundle ( $\mu\text{m}$ )	79–181	60–155	0.001* (MW)
	46 (9)	33 (9)	
Ganglion cell layer ( $\text{mm}^3$ )	21–74	21–59	0.001* (MW)
	1.026 (0.123)	0.83 (0.132)	
Inner plexiform layer ( $\text{mm}^3$ )	0.64–1.33	0.54–1.16	0.001* (MW)
	0.865 (0.089)	0.736 (0.09)	
Inner nuclear layer ( $\text{mm}^3$ )	0.6–1.12	0.59–0.96	0.02* (MW)
	0.994 (0.06)	1.021 (0.067)	
Outer nuclear layer ( $\text{mm}^3$ )	0.84–1.16	0.91–1.25	0.306 (MW)
	1.701 (0.164)	1.727 (0.161)	
	1.37–2.28	1.36–2.25	

SD = standard deviation, HON = history of optic neuritis, pRNFL = peripapillary retinal nerve fiber layer. Significant differences ( $p < 0.05$ ) are indicated with \*. MW = Mann-Whitney U test for independent samples.

$\eta^2 = 0.147$ ) and IPL ( $p = 0.028$ ,  $\eta^2 = 0.151$ ). In RRMS eyes without HON this OCT-MRI correlation turns into a statistical trend related to PMB ( $p = 0.085$ ) and GCL ( $p = 0.051$ ), while maintains its statistical significance with IPL ( $p = 0.03$ ,  $\eta^2 = 0.39$ ). BPF in RRMS eyes without HON correlate with N-pRNFL ( $p = 0.035$ ,  $\eta^2 = 0.374$ ).

Correlations in PMS eyes without HON show inverse relationships between INL and BPF ( $p = 0.029$ ,  $\eta^2 = 0.363$ ), while total GM does not reach statistical significance ( $p = 0.051$ ). Cerebellum correlates with many of the inner macular layers (GCL  $p = 0.007$ ,  $\eta^2 = 0.496$ ; IPL  $p = 0.012$ ,  $\eta^2 = 0.45$ ; inversely with INL  $p = 0.015$ ,  $\eta^2 = 0.428$ ), while show a tendency to correlate with TI-pRNFL ( $p = 0.057$ ) and PMB ( $p = 0.053$ ).

### 3.3. OCT-MRI correlations in eyes with HON

Independently of the disease phenotype, correlations in eyes with HON (Table 6) are mainly established with SC (average pRNFL  $p = 0.035$ ,  $\eta^2 = 0.213$ ; N-pRNFL  $p = 0.004$ ,  $\eta^2 = 0.36$ ; NI-pRNFL  $p = 0.0001$ ,  $\eta^2 = 0.484$ ) and WM (TI-pRNFL  $p = 0.03$ ,  $\eta^2 = 0.224$ ; GCL  $p = 0.015$ ,  $\eta^2 = 0.275$ ; IPL  $p = 0.006$ ,  $\eta^2 = 0.332$ ).

In RRMS eyes with HON SC keeps its statistical association with N-pRNFL ( $p = 0.034$ ,  $\eta^2 = 0.348$ ) and NI-pRNFL ( $p = 0.013$ ,  $\eta^2 = 0.441$ ). Besides, TI-pRNFL correlates with BPF ( $p = 0.012$ ,  $\eta^2 = 0.449$ ), total GM ( $p = 0.044$ ,  $\eta^2 = 0.32$ ) and WM ( $p = 0.021$ ,  $\eta^2 = 0.399$ ). Total GM correlates with GCL ( $p = 0.023$ ,  $\eta^2 = 0.387$ ) and IPL ( $p = 0.034$ ,  $\eta^2 = 0.347$ ),

showing inverse statistical tendency to correlate with INL ( $p = 0.063$ ); while WM correlates with GCL ( $p = 0.004$ ,  $\eta^2 = 0.547$ ) and IPL ( $p = 0.009$ ,  $\eta^2 = 0.48$ ).

## 4. Discussion

There is a growing interest of studies addressing OCT measures (thicknesses or volumes) with CNS structures, mainly those involved in visual processing. That is why RNFL has been related with thalamus [18,19], visual cortex [18,20–22], WM lesion [20,23], and fractional anisotropy [24] of optic radiation; GCL (alone or combined with IPL) with thalamus [19,25], visual cortex [21,22], and fractional anisotropy of optic radiation [24]; INL with thalamus [19,25]; ONL with thalamus [19]; and total macula with thalamus [18] and WM lesion inside optic radiation [20].

Moreover, correlations with general MRI structures have been assessed and RNFL has been correlated with brain volume [19,25–27] and BPF [28–30], WM [24–27,30,31], GM [24,28,32], cortical [19,33] and deep GM [19,26,33], SC [34], brainstem [19], left insula [22], posterior cingulate gyrus [22], superior temporal gyrus [22] and bicaudate ratio [35]; GCL (alone or combined with IPL) has been correlated with total brain volume [19,25], WM [19,24,25,36], GM [24,25], cortical [19,33] and deep GM [33], SC [34] and infratentorial lesions [37], brainstem [19], left insula [22], posterior cingulum [22] and orbitofrontal cortex [22]; INL has been inversely correlated with WM [33] and ONL with cerebellar WM [33] cortical GM [33] and brain stem [33]. Meanwhile total macula has been correlated with BPF [29,30] and WM [30,38].

Cerebellum is one of the structures whose atrophy has been published even in preclinical stages of MS [39]. Although traditionally considered a structure of the CNS dedicated to the coordination of movement and its learning, the investigation of cerebellar functions reveals its participation in higher functions [40,41]. Related to visual function and beyond its involvement in the efferent visual pathway [42], it has been published that cerebellum contains retinotopic maps, with a similar representation of visual space to that of the cerebral cortex [43]. Therefore, and according to that, we have found statistical evidence that HON is associated with a decreased in cerebellar volume. Behind this evidence, we suggest similar etiopathogenic mechanisms to those described in other cerebral structures with a retinotopic organization, permitting any damage of the visual pathway to be mapped [1].

It is assumed that RNFL and retinal layers reflect global CNS pathology in MS. Whether OCT pathological changes are consequence of trans-synaptic axonal degeneration due to subclinical optic neuritis, microscopic optic nerve inflammation, trans-synaptic degeneration along visual pathway, primary retinal degeneration or systemic effect of inflammation is still a matter of debate [6].

Temporal-predominant pRNFL thinning is characteristic in MS [44], even in the earliest stages of neurodegeneration at PMB [25] but mainly in eyes with HON [45], what makes losing OCT correlations with MRI structures due to the disproportional retinal and optic nerve injury after optic neuritis [46]. Independently of the HON, RNFL nasal sectors are the most preserved [47].

In line with this, correlations with pRNFL eyes with HON in our cohort are mainly established between SC and nasal sectors with medium effect size; while in eyes without HON and regardless of MS subtype, SC correlates with low effect size with PMB, GCL and IPL. We therefore reinforce the idea that little is described about a connection between these two functionally and spatially different CNS compartments.

Particularly noteworthy was the inverse correlation between INL and BPF or cerebellum in PMS eyes without HON with a medium effect size. As expected [44,48,49], pRNFL, GCL and IPL measures in eyes with HON show significant thinning. However, the neuronal network composed by bipolar, amacrine and horizontal cells that constitute the INL does not. Histological descriptions by Green et al. [50]

**Table 5**  
Relations between MRI and OCT parameters in eyes without HON.

	Average pRNFL	NS pRNFL	N pRNFL	NI pRNFL	TI pRNFL	T pRNFL	TS pRNFL	PMB	GCL	IPL	INL	ONL
All eyes without HON (n = 131, except for spinal cord (n = 103))												
Brain parenchymal fraction	0.654	0.561 <sup>†</sup>	0.305	0.729	0.471 <sup>†</sup>	0.115 <sup>†</sup>	0.430 <sup>†</sup>	0.163 <sup>†</sup>	0.313 <sup>†</sup>	0.269 <sup>†</sup>	0.257 <sup>†</sup>	0.310 <sup>†</sup>
Spinal cord	0.086	0.458	0.068	0.292	0.128	0.072	0.651	0.032* (0.144)	0.030* (0.147)	0.028* (0.151)	0.734	0.847
Cerebellum	0.535	0.222	0.790	0.757	0.663	0.429	0.389	0.323	0.124	0.167	0.263	0.436
Total gray matter	0.807 <sup>†</sup>	0.451	0.449	0.884 <sup>†</sup>	0.847	0.677 <sup>†</sup>	0.404	0.656 <sup>†</sup>	0.916	0.651	0.777 <sup>†</sup>	0.747 <sup>†</sup>
White matter	0.542	0.319	0.975	0.471	0.898	0.905	0.359	0.616 <sup>†</sup>	0.680 <sup>†</sup>	0.719 <sup>†</sup>	0.487	0.851
RRMS eyes without HON (n = 73, except for spinal cord (n = 55))												
Brain parenchymal fraction	0.057	0.883	0.035* (0.374)	0.357	0.076	0.323	0.068	0.421	0.141	0.138	0.743	0.685 <sup>†</sup>
Spinal cord	0.355	0.427 <sup>†</sup>	0.255	0.477 <sup>†</sup>	0.141	0.067	0.286	0.085	0.051	0.030* (0.39)	0.461 <sup>†</sup>	0.244
Cerebellum	0.820	0.556	0.779	0.759	0.428	0.511	0.242	0.597	0.828	0.924	0.706 <sup>†</sup>	0.707
Total gray matter	0.803 <sup>†</sup>	0.113	0.963	0.756	0.677	0.690	0.886	0.920	0.899	0.749	0.581	0.540 <sup>†</sup>
White matter	0.778	0.056	0.747 <sup>†</sup>	0.481	0.799	0.510 <sup>†</sup>	0.683	0.472 <sup>†</sup>	0.409 <sup>†</sup>	0.311 <sup>†</sup>	0.906	0.548 <sup>†</sup>
PMS eyes without HON (n = 58, except for spinal cord (n = 48))												
Brain parenchymal fraction	0.402 <sup>†</sup>	0.855 <sup>†</sup>	0.688 <sup>†</sup>	0.461 <sup>†</sup>	0.301 <sup>†</sup>	0.562 <sup>†</sup>	0.559 <sup>†</sup>	0.571 <sup>†</sup>	0.211 <sup>†</sup>	0.184 <sup>†</sup>	0.029 <sup>†</sup> * (0.363)	0.482 <sup>†</sup>
Spinal cord	0.175	0.278	0.402	0.113	0.363	0.615	0.662	0.597	0.318	0.362	0.137	0.844
Cerebellum	0.112	0.501	0.165	0.543	0.057	0.138	0.515	0.053	0.007* (0.496)	0.012* (0.45)	0.015 <sup>†</sup> * (0.428)	0.908
Total gray matter	0.241	0.681	0.987	0.352	0.234	0.263	0.235	0.241	0.302 <sup>†</sup>	0.559 <sup>†</sup>	0.051 <sup>†</sup>	0.628
White matter	0.755	0.829	0.745	0.356	0.776	0.593 <sup>†</sup>	0.674	0.318 <sup>†</sup>	0.769 <sup>†</sup>	0.814 <sup>†</sup>	0.096	0.974

pRNFL = peripapillary retinal nerve fiber layer, NS = superonasal, N = nasal, NI = inferonasal, TI = inferotemporal, T = temporal, TS = superotemporal, PMB = papillomacular bundle, GCL = ganglion cell layer, IPL = inner plexiform layer, INL = inner nuclear layer, ONL = outer nuclear layer, HON = history of optic neuritis.

P-value entries generated with mixed effects linear regression accounting for within-subject inter-eye correlations, adjusting for age, gender and disease-duration. Asterisk (\*) indicates p-values ≤ 0.05 and dagger (†) indicates inverse relationships. Statistical significant partial η<sup>2</sup> values correlations in brackets.

**Table 6**  
Relations between MRI and OCT parameters in eyes with HON.

	Average pRNFL	NS pRNFL	N pRNFL	NI pRNFL	TI pRNFL	T pRNFL	TS pRNFL	PMB	GCL	IPL	INL	ONL
All eyes with HON (n = 53, except for spinal cord (n = 31))												
Brain parenchymal fraction	0.398 <sup>†</sup>	0.507 <sup>†</sup>	0.448 <sup>†</sup>	0.740 <sup>†</sup>	0.143 <sup>†</sup>	0.629	0.518	0.578	0.994	0.923	0.382 <sup>†</sup>	0.447 <sup>†</sup>
Spinal cord	0.035* (0.213)	0.170	0.004* (0.36)	0.0001* (0.484)	0.862	0.995	0.692	0.759	0.629	0.547	0.204 <sup>†</sup>	0.693
Cerebellum	0.601	0.132	0.597	0.781	0.091	0.577	0.423	0.905	0.541	0.387	0.772	0.085
Total gray matter	0.345 <sup>†</sup>	0.869	0.144	0.772	0.284	0.798	0.786 <sup>†</sup>	0.664	0.163	0.068	0.205 <sup>†</sup>	0.626 <sup>†</sup>
White matter	0.056	0.198	0.065	0.720 <sup>†</sup>	0.030* (0.224)	0.399	0.109	0.862	0.015* (0.275)	0.006* (0.332)	0.265	0.415 <sup>†</sup>
RRMS eyes with HON (n = 35, except for spinal cord (n = 23))												
Brain parenchymal fraction	0.178	0.277 <sup>†</sup>	0.591 <sup>†</sup>	0.834	0.012* (0.449)	0.421	0.447	0.609	0.103	0.295	0.170 <sup>†</sup>	0.443 <sup>†</sup>
Spinal cord	0.103	0.209	0.034* (0.348)	0.013* (0.441)	0.935	0.938	0.816	0.642	0.859	0.886	0.092 <sup>†</sup>	0.952 <sup>†</sup>
Cerebellum	0.495	0.174	0.449	0.770	0.099	0.722	0.344	0.850	0.190	0.175	0.693	0.378
Total gray matter	0.304	0.680	0.529	0.671	0.044* (0.32)	0.323	0.664	0.814	0.023* (0.387)	0.034* (0.347)	0.063 <sup>†</sup>	0.659 <sup>†</sup>
White matter	0.087	0.128	0.229	0.316	0.021* (0.399)	0.337	0.061	0.950	0.004* (0.547)	0.009* (0.48)	0.162	0.785 <sup>†</sup>

pRNFL = peripapillary retinal nerve fiber layer, NS = superonasal, N = nasal, NI = inferonasal, TI = inferotemporal, T = temporal, TS = superotemporal, PMB = papillomacular bundle, GCL = ganglion cell layer, IPL = inner plexiform layer, INL = inner nuclear layer, ONL = outer nuclear layer, HON = history of optic neuritis.

P-value entries generated with mixed effects linear regression accounting for within-subject inter-eye correlations, adjusting for age, gender and disease-duration. PMS eyes with HON cannot be calculated because of insufficient data. Asterisk (\*) indicates p-values ≤ 0.05 and dagger (†) indicates inverse relationships. Statistical significant partial η<sup>2</sup> values correlations in brackets.

demonstrated retinal injury encompasses beyond ganglion cells, showing INL signs of atrophy and inflammatory infiltration despite having been identified as a possible in vivo retrograde axonal degeneration barrier [51]. Microcystic macular oedema at the INL [52,53] has been described as a predictive sign of global activity disease and disease-modifying treatment monitoring [54]. In our sample, INL of the eyes

with HON were significant thicker than those without (p = 0.02) and no microcystic macular oedema was observed. However, as recently published [55], thickening of the INL can occur in the absence of visually detectable microcystic macular oedema.

The authors [55] suggest that pRNFL/GCL/IPL measures reflect neurodegeneration while INL volume may better reflect inflammation.

Unpublished before, and relying on these theories, we suggest that BPF and cerebellum inverse correlation with INL could capture inflammatory activity in our PMS eyes sample even without the HON. This hypothesis is broadened by the statistical tendency to the inverse correlation between INL and total GM in PMS eyes without HON and RRMS eyes with HON.

Our cross-sectional design cannot decide whether the described correlations predicts [53] or has been preceded [55] by clinical and/or radiological activity. However, we have found some inverse correlation what translates the inflammatory activity although the greater presence of neurodegeneration in the progressive phase of the disease, stressing the importance of OCT in this phase of the disease, despite low baseline RNFL or small retinal atrophy [56].

Our work has some methodological limitations. First, the heterogeneous study population, who had been treated with various MS treatments during different time intervals underestimating retinal, brain and SC atrophy in different rates. Second, due to the cross-sectional study we are only able to establish OCT-MRI association, most of them with medium effect size, but not causality. Despite being able to identify relationships, lending credence to our results, a third limitation refers to the relatively small sample of patients, generally referred to those whose SC MRI was not available and particularly PMS eyes with HON group. Fourth, the study does not include a control group for comparisons. Fifth, despite the strict exclusion criteria and the ophthalmological tests performed, we cannot discard the possibility of subclinical optic neuritis. Finally, although SC volume was carried out in a blind fashion by part of our experienced multidisciplinary team (neurologists, neuroradiologists and engineers) manually assessment could imply a decreased test-retest correlation.

Among the strengths of our study we could highlight the strict clinical exclusion criteria and the granularity of the OCT data, that permits assessing pRNFL sectors and macular layers correlations with MRI volumes, some of them less studied like SC, cerebellum, INL or ONL.

In summary, the findings of the present study seem to indicate that, first, SC correlates better with more preserved nasal-predominant pRNFL sectors in eyes with HON; while it correlates with PMB, GCL and IPL in eyes without HON regardless of the disease subtype. Second, INL inverse correlation with BPF and cerebellum in PMS eyes without HON may reflect inflammatory activity, even with the absence of microcystic macular oedema.

Therefore, despite the limitation that may arise from the use of OCT as a biomarker in MS [57], our findings permit recognizing concrete macular layers and pRNFL sectors as surrogate biomarkers for clinical and research purposes that potentially translate integrity and different pathological processes happening at others CNS structures, some of them anatomical and functional independent of the visual pathway. Further longitudinal studies with larger homogeneous sample of patients are needed to delve into OCT-MRI correlations.

## Funding

Bonaventura Casanova was supported by a fellowship from Health Institute Carlos III, Spain (FIS 17/551). The funding agency had no role in the design and conduct of the study; collection, management, analysis and interpretation of the data; and preparation, review or approval of the manuscript; and decision to submit the manuscript for publication.

## Declaration of Competing Interest

Francisco Pérez-Mirallas has received compensation for serving on scientific advisory boards or for speaking honoraria from Almirall, Biogen Idec, Genzyme, Merk-Serono, Mylan, Novartis, Roche, Sanofi-Aventis and Teva, outside the submitted work. Bonaventura Casanova has received compensation from Novartis, Roche, Biogen, Merk, Teva and Sanofi outside the submitted work. All other authors have no conflicts of interest to declare.

## Acknowledgements

We are extremely grateful to the multiple sclerosis participants without whose contribution this study would not be possible.

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.jns.2020.117180>.

## References

- [1] E. Martínez-Lapiscina, B. Sanchez-Dalmau, E. Fraga-Pumar, et al., The visual pathway as a model to understand brain damage in multiple sclerosis, *Mult. Scler. J.* 20 (3) (2014) 1678–1686, <https://doi.org/10.1177/1352458514542862>.
- [2] I. Kawachi, H. Lassmann, Neurodegeneration in multiple sclerosis and neuromyelitis optica, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 88 (2) (2017) 137–145, <https://doi.org/10.1136/jnnp-2016-313300>.
- [3] A. Tsakiri, S. Ravanidis, R. Lagoudaki, et al., Neuroprotective and anti-inflammatory mechanisms are activated early in optic neuritis, *Acta Neurol. Scand.* 131 (5) (2015) 305–312, <https://doi.org/10.1111/ane.12344>.
- [4] E.C. Tallantyre, L. Bø, O. Al-Rawashdeh, et al., Clinico-pathological evidence that axonal loss underlies disability in progressive multiple sclerosis, *Mult. Scler.* 16 (4) (2010) 406–411, <https://doi.org/10.1177/1352458510364992>.
- [5] A. Candelieri Merlicco, L. Gabaldón Torres, R. Villaverde González, et al., Transorbital ultrasonography for measuring optic nerve atrophy in multiple sclerosis, *Acta Neurol. Scand.* 138 (5) (2018) 388–393, <https://doi.org/10.1111/ane.12976>.
- [6] E.H. Martínez-Lapiscina, S. Arnov, J.A. Wilson, et al., Retinal thickness measured with optical coherence tomography and risk of disability worsening in multiple sclerosis: a cohort study, *Lancet Neurol.* 15 (6) (2016) 574–584, [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)00068-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)00068-5).
- [7] K. Soelberg, S. Specovius, H. Zimmerman, et al., Optical coherence tomography in acute optic neuritis: a population-based study, *Acta Neurol. Scand.* 138 (6) (2018) 566–573, <https://doi.org/10.1111/ane.13004>.
- [8] J. Button, O. Al-Louzi, A. Lang, et al., Disease-modifying therapies modulate retinal atrophy in multiple sclerosis: a retrospective study, *Neurology* 88 (2017) 525–532, <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000003582>.
- [9] C.H. Polman, S.C. Reingold, B. Banwell, et al., Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria, *Ann. Neurol.* 69 (2) (2011) 292–302, <https://doi.org/10.1002/ana.22366>.
- [10] E.H. Martínez-Lapiscina, E. Fraga-Pumar, I. Gabilondo, et al., The multiple sclerosis visual pathway cohort: understanding neurodegeneration in MS, *BMC Res. Notes* 7 (2014) 910, <https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-910>.
- [11] J.F. Kurtzke, Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS), *Neurology* 33 (11) (1983) 1944–1952, <https://doi.org/10.1212/wnl.33.11.1444>.
- [12] Optic Neuritis Study Group, Visual function 15 years after optic neuritis: a final follow-up report from the Optic Neuritis Treatment Trial, *Ophthalmology* 115 (6) (2008) 1079–1082, e5, <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2007.08.004>.
- [13] P. Tevarie, L. Balk, F. Costello, et al., The OSCAR-IB consensus criteria for retinal OCT quality assessment, *PLoS One* 7 (4) (2012), e34823, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034823>.
- [14] S. Schippling, L.J. Balk, F. Costello, et al., Quality control for retinal OCT in multiple sclerosis: validation of the OSCAR-IB criteria, *Mult. Scler.* 21 (2) (2015) 163–170, <https://doi.org/10.1177/1352458514538110>.
- [15] A. Cruz-Herranz, J. Balk, T. Oberwahrenbrock, et al., The APOSTEL recommendations for reporting quantitative optical coherence tomography studies, *Neurology* 88 (24) (2016) 2303–2309, <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002774>.
- [16] C. Ferguson, An effect size primer: a guide for clinicians and researchers, *Prof. Psychol. Res. Pr.* 40 (5) (2009) 532–538, <https://doi.org/10.1037/a0015808>.
- [17] P. Ellis, *The Essential Guide to Effect Sizes: Statistical Power, Meta-analysis and the Interpretation of Research Results*, Cambridge University Press, Cambridge, UK, 2010.
- [18] M. Petracca, C. Cordano, M. Cellerino, et al., Retinal degeneration in primary-progressive multiple sclerosis: a role for cortical lesions? *Mult. Scler. J.* 23 (1) (2017) 43–50, <https://doi.org/10.1177/1352458516637679>.
- [19] S. Saidha, O. Al-louzi, J.N. Ratchford, et al., Optical coherence tomography reflects brain atrophy in multiple sclerosis: a four-year study, *Ann. Neurol.* 78 (5) (2015) 801–813, <https://doi.org/10.1002/ana.24487>.
- [20] I. Gabilondo, E.H. Martínez-Lapiscina, E. Martínez-Heras, et al., Trans-synaptic axonal degeneration in the visual pathway in multiple sclerosis, *Ann. Neurol.* 75 (1) (2014) 98–107, <https://doi.org/10.1002/ana.24030>.
- [21] A.M. Pietroboni, L. Dell'Arti, M. Caprioli, et al., The loss of macular ganglion cells begins from the early stages of disease and correlates with brain atrophy in multiple sclerosis patients, *Mult. Scler. J.* 25 (1) (2019) 31–38, <https://doi.org/10.1177/1352458517740214>.
- [22] J.P. Stellmann, H. Cetin, K.L. Young, et al., Pattern of gray matter volumes related to retinal thickness and its association with cognitive function in relapsing–remitting MS, *Brain Behav.* 7 (2) (2016), e00614, <https://doi.org/10.1002/brb3.614>.



- [23] M. Puthenparampil, L. Federle, D. Poggiali, et al., Trans-synaptic degeneration in the optic pathway. A study in clinically isolated syndrome and early relapsing-remitting multiple sclerosis with or without optic neuritis, *PLoS One* 12 (8) (2017), e0183957, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183957>.
- [24] L.J. Balk, M.D. Steenwijk, P. Tewarie, et al., Bidirectional trans-synaptic axonal degeneration in the visual pathway in multiple sclerosis, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 86 (4) (2015) 419–424, <https://doi.org/10.1136/jnnp-2014-308189>.
- [25] A. Vural, S. Okar, A. Kurme, et al., Retinal degeneration is associated with brain volume reduction and prognosis in radiologically isolated syndrome, *Mult. Scler. J.* 26 (1) (2020) 38–47, <https://doi.org/10.1177/1352458518817987>.
- [26] R. Zivadinov, N. Bergsland, R. Cappellani, et al., Retinal nerve fiber layer thickness and thalamus pathology in multiple sclerosis patients, *Eur. J. Neurol.* 21 (8) (2014) 1137–1144, <https://doi.org/10.1111/ene.12449>.
- [27] E. Grazioli, R. Zivadinov, B. Weinstock-Guttman, et al., Retinal nerve fiber layer thickness is associated with brain MRI outcomes in multiple sclerosis, *J. Neurol. Sci.* 268 (1–2) (2008) 12–17, <https://doi.org/10.1016/j.jns.2007.10.020>.
- [28] M. Siger, K. Dziegielewska, L. Jasek, et al., Optical coherence tomography in multiple sclerosis: thickness of the retinal nerve fiber layer as a potential measure of axonal loss, *J. Neurol.* 255 (10) (2008) 1555–1560, <https://doi.org/10.1007/s00415-008-0985-5>.
- [29] J. Dörr, K.D. Wernecke, M. Bock, et al., Association of retinal and macular damage with brain atrophy in multiple sclerosis, *PLoS One* 6 (4) (2011), e18132, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018132>.
- [30] K.L. Young, A.U. Brandt, A. Petzold, et al., Loss of retinal nerve fiber layer axons indicates white but not grey matter damage in early multiple sclerosis, *Eur. J. Neurol.* 20 (5) (2013) 803–811, <https://doi.org/10.1111/ene.12070>.
- [31] V. Cilingir, M. Batur, M.D. Bulut, et al., The association between retinal nerve fiber layer thickness and corpus callosum index in different clinical subtypes of multiple sclerosis, *Neurol. Sci.* 38 (7) (2017) 1223–1232, <https://doi.org/10.1007/s10072-017-2947-0>.
- [32] E.M. Frohman, M.G. Dwyer, T. Frohman, et al., Relationship of optic nerve and brain conventional and non-conventional MRI measures and retinal nerve fiber layer thickness, as assessed by OCT and GDx: a pilot study, *J. Neurol. Sci.* 282 (1–2) (2009) 96–105, <https://doi.org/10.1016/j.jns.2009.04.010>.
- [33] S. Saidha, E.S. Sotirchos, J. Oh, et al., Relationships between retinal axonal and neuronal measures and global central nervous system pathology in multiple sclerosis, *JAMA Neurol.* 70 (1) (2013) 34–43, <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2013.573>.
- [34] J. Oh, E.S. Sotirchos, S. Saidha, et al., Relationships between quantitative spinal cord MRI and retinal layers in multiple sclerosis, *Neurology* 84 (7) (2015) 720–728, <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001257>.
- [35] J.M. Abalo-Lojo, C.C. Limeres, M.A. Gómez, et al., Retinal nerve fiber layer thickness, brain atrophy, and disability in multiple sclerosis patients, *J. Neuro-Ophthalmol.* 34 (1) (2014) 23–28, <https://doi.org/10.1097/WNO.0000000000000057>.
- [36] C. Alves, S. Batista, O.C. D'Almeida, et al., The retinal ganglion cell layer predicts normal-appearing white matter tract integrity in multiple sclerosis: a combined diffusion tensor imaging and optical coherence tomography approach, *Hum. Brain Mapp.* 39 (4) (2018) 1712–1720, <https://doi.org/10.1002/hbm.23946>.
- [37] A. Filippatou, T. Shoemaker, M. Esch, et al., Spinal cord and infratentorial lesions in radiologically isolated syndrome are associated with decreased retinal ganglion cell/inner plexiform layer thickness, *Mult. Scler. J.* 25 (14) (2019) 1878–1887, <https://doi.org/10.1177/1352458518815597>.
- [38] E. Gordon-Lipkin, B. Chodkowski, D.S. Reich, et al., Retinal nerve fiber layer is associated with brain atrophy in multiple sclerosis, *Neurology* 69 (16) (2007) 1603–1609, <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000295995.46586.ae>.
- [39] I.C. George, M.M. El Mendili, M. Inglese, et al., Cerebellar volume loss in radiologically isolated syndrome, *Mult. Scler. J.* (2019), <https://doi.org/10.1177/1352458519887346>, 1352458519887346.
- [40] C.L. Striemer, P.A. Chouinard, M.A. Goodale, et al., Overlapping neural circuits for visual attention and eye movements in the human cerebellum, *Neuropsychologia* 69 (2015) 9–21, <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2015.01.024>.
- [41] J.D. Schmahmann, The cerebellum and cognition, *Neurosci. Lett.* 688 (2019) 62–75, <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.07.005>.
- [42] F. Costello, Vision disturbances in multiple sclerosis, *Semin. Neurol.* 36 (2) (2016) 185–195, <https://doi.org/10.1055/s-0036-1579692>.
- [43] D.M. Van es, W. Van der Zwaag, T. Knapen, Topographic maps of visual space in the human cerebellum, *Curr. Biol.* 29 (10) (2019) 1689–1694, e3, <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.04.012>.
- [44] L.S. Talman, E.R. Bisker, D.J. Sackel, et al., Longitudinal study of vision and retinal nerve fiber layer thickness in multiple sclerosis, *Ann. Neurol.* 67 (6) (2010) 749–760, <https://doi.org/10.1002/ana.22005>.
- [45] J.M. Abalo-Lojo, A. Treus, M. Arias, et al., Longitudinal study of retinal nerve fiber layer thickness changes in a multiple sclerosis patients cohort: a long term 5 year follow-up, *Mult. Scler. Relat. Disord.* 19 (2018) 124–128, <https://doi.org/10.1016/j.msard.2017.11.017>.
- [46] H. Zimmermann, A. Freing, F. Kaufhold, et al., Optic neuritis interferes with optical coherence tomography and magnetic resonance imaging correlations, *Mult. Scler. J.* 19 (4) (2013) 443–450, <https://doi.org/10.1177/1352458512457844>.
- [47] R. Herrero, E. Garcia-Martin, C. Almarcegui, et al., Progressive degeneration of the retinal nerve fiber layer in patients with multiple sclerosis, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 53 (13) (2012) 8344–8349, <https://doi.org/10.1167/iovs.12-10362>.
- [48] S. Saidha, S.B. Syc, M.K. Durbin, et al., Visual dysfunction in multiple sclerosis correlates better with optical coherence tomography derived estimates of macular ganglion cell layer thickness than peripapillary retinal nerve fiber layer thickness, *Mult. Scler. J.* 17 (12) (2011) 1449–1463, <https://doi.org/10.1177/13524585111418630>.
- [49] S.B. Syc, S. Saidha, S.D. Newsome, et al., Optical coherence tomography segmentation reveals ganglion cell layer pathology after optic neuritis, *Brain* 135 (Pt 2) (2012) 521–533, <https://doi.org/10.1093/brain/awr264>.
- [50] A.J. Green, S. McQuaid, S.L. Hauser, et al., Ocular pathology in multiple sclerosis: retinal atrophy and inflammation irrespective of disease duration, *Brain* 133 (Pt 6) (2010) 1591–1601, <https://doi.org/10.1093/brain/awq080>.
- [51] L.J. Balk, J.W.R. Twisk, M.D. Steenwijk, et al., A dam for retrograde axonal degeneration in multiple sclerosis? *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 85 (7) (2014) 782–789, <https://doi.org/10.1136/jnnp-2013-306902>.
- [52] J.M. Gelfand, R. Nolan, D.M. Schwartz, et al., Microcystic macular oedema in multiple sclerosis is associated with disease severity, *Brain* 135 (Pt 6) (2012) 1786–1793, <https://doi.org/10.1093/brain/aww098>.
- [53] S. Saidha, E.S. Sotirchos, M.A. Ibrahim, et al., Microcystic macular oedema, thickness of the inner nuclear layer of the retina, and disease characteristics in multiple sclerosis: a retrospective study, *Lancet Neurol.* 11 (11) (2012) 963–972, [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(12\)70213-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(12)70213-2).
- [54] B. Knier, P. Schmidt, L. Aly, et al., Retinal inner nuclear layer volume reflects response to immunotherapy in multiple sclerosis, *Brain* 139 (Pt 11) (2016) 2855–2863, <https://doi.org/10.1093/brain/aww219>.
- [55] L.J. Balk, D. Coric, B. Knier, et al., Retinal inner nuclear layer volume reflects inflammatory disease activity in multiple sclerosis: a longitudinal OCT study, *Mult. Scler. J. Exp. Transl. Clin.* 5 (3) (2019), <https://doi.org/10.1177/2055217319871582>, 2055217319871582.
- [56] K.M. Wings, C.F. Murchison, D.N. Bourdette, R.I. Spain, Longitudinal optical coherence tomography study of optic atrophy in secondary progressive multiple sclerosis: results from a clinical trial cohort, *Mult. Scler. J.* 25 (1) (2019) 55–62, <https://doi.org/10.1177/1352458517739136>.
- [57] F. Aboulenein-Djamshidian, M. Krššák, N. Serbecic, et al., CROP - the clinico-radiologic-ophthalmological paradox in multiple sclerosis: are patterns of retinal and MRI changes heterogeneous and thus not predictable? *PLoS One* 10 (11) (2015), e0142272 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142272>.