

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

Departamento de Medicina

Facultad de Medicina

**Estudio clínico y de resonancia magnética
orientado al conocimiento del
sustrato patológico de la discapacidad
en la esclerosis múltiple primariamente progresiva**

**Carmen Tur Gómez
Tesis doctoral**

2. Segundo estudio. Estudio longitudinal a cinco años de una cohorte de EMPP de poco tiempo de evolución (EMPP temprana)

2.1. Resultados

Las características clínicas y demográficas de los pacientes se muestran en la **TABLA VI-8**.

TABLA VI-8. Características clínicas y demográficas de los sujetos en momento de iniciarse el estudio (en el momento basal)^a

Características clínicas y demográficas	Pacientes N = 47	Controles N = 18
Edad (años)	45,13 (10,66)	34,56 (5,79)
Sexo (número de mujeres (%))	19 (40,4%)	10 (55,6%)
Duración de la enfermedad (años)	3,38 (0,87)	-
Puntuación en la escala del EDSS (puntuación mediana (rango ^b))	4,5 (1,5; 7,0)	-
z-TWT (z-score)	-0,099 (1,22)	-
z-NHPT (z-score)	-2,25x10 ⁻⁷ (1,00)	-
z-PASAT (z-score)	2,51x10 ⁻⁶ (1,00)	-

a: Los resultados se expresan como media (desviación estándar), a no ser que se especifique lo contrario; b: rango expresado como: (mínimo; máximo). Abreviaturas: EDSS: *Expanded Disability Status Scale*; z-NHPT: z-score del *9-Hole Peg Test*; z-PASAT: z-score del *Paced Auditory Serial Addition Test*; z-TWT: z-score correspondiente al *Timed 25-foot Walk Test*.

Predicción de la progresión clínica a los cinco años

Durante el seguimiento, los pacientes mostraron un aumento significativo en su discapacidad medida por el EDSS, el z-TWT y el z-NHPT (**FIGURA VI-3, TABLA VI-9**).

La progresión en el EDSS se pudo predecir por los valores basales de VLT2 (**FIGURA VI-4**), moda de MTR en SBAN y volumen porcentual de la SBAN (**TABLA VI-9**). Sin embargo, cuando estas variables fueron incluidas de forma conjunta en el mismo modelo de regresión, ninguna de ellas resultó ser significativa.

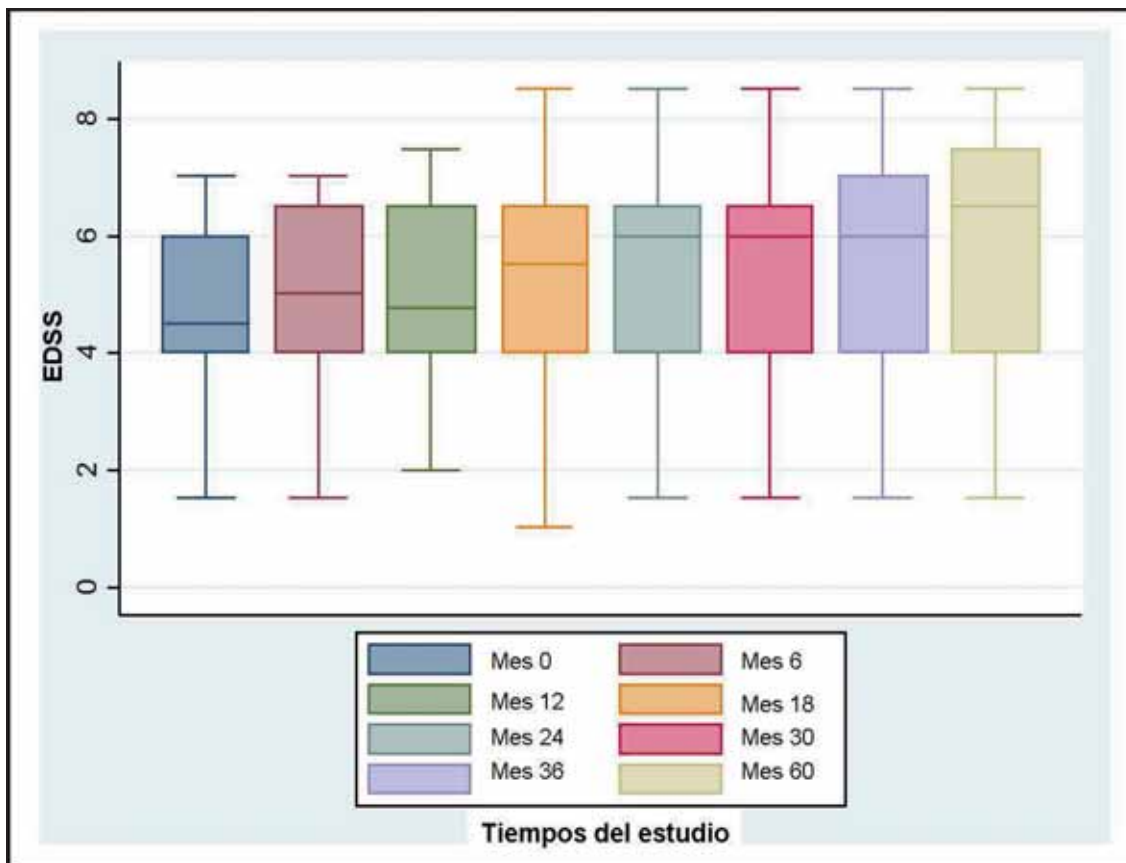


FIGURA VI-3. Evolución del EDSS en el grupo de pacientes. Esta figura muestra los cambios en el EDSS en el grupo de pacientes, desde el momento basal (mes 0) hasta el momento final del estudio (mes 60), a los 5 años del seguimiento. Los cambios fueron muy significativos ($p < 0,00005$).

Los empeoramientos en el z-TWT se pudieron predecir por los valores en el momento basal de VLT2, todos los parámetros de MTR de la SG, media y moda de MTR de la SBAN y los volúmenes porcentuales de SG y SBAN ($p < 0,001$) (**TABLA VI-10**). Cuando estas variables se incluyeron juntas en el mismo modelo, el VLT2, la moda de MTR en SG y el pico máximo asociado a la moda de MTR en SG se asociaron significativamente con la progresión (**TABLA VI-11**). El modelo final resultante, que también incluía el z-TWT en el momento basal y la edad, explicó el 91% de la varianza de la variable dependiente (z-TWT a los cinco años de seguimiento) (**FIGURA VI-5**). Este porcentaje fue significativamente mayor que los porcentajes obtenidos en los modelos en los que las variables de la RM habían sido incluidas individualmente (desde el 68%, para el pico máximo asociado a la moda de

MTR en SG, hasta el 80%, para el VLT2).

Ninguna de las medidas de resonancia magnética a nivel basal fue capaz de predecir los cambios observados en z-NHPT y el z-PASAT a lo largo de los cinco años del estudio.

TABLA VI-9. Datos clínicos de los pacientes, en el momento basal y a los cinco años de seguimiento

	Momentos del estudio		Cambio desde el momento basal hasta los 5 años de seguimiento	
	Basal Mediana (rango)	5 años Mediana (rango)	p ^a	
Medidas clínicas				
EDSS	4,5 (1,5; 7,0)	6,5 (1,5; 8,5)	<0,00005	
	Momentos del estudio		Cambio anual, desde el momento basal hasta los 5 años de seguimiento	
	Basal Media (DE)	5 años Media (DE)	CR (95%IC)	p ^b
z-TWT	7,71x10 ⁻⁷ (1,00)	-1,451 (2,725)	-0,215 (-0,284; -0,022)	0,007
z-NHPT	-2,25x10 ⁻⁷ (1,00)	0,051 (1,145)	-0,096 (-0,132; -0,054)	<0,0005
z-PASAT	2,51x10 ⁻⁶ (1,00)	0,414 (1,159)	0,013 (-0,037; 0,064)	0,615

a: Test de Wilcoxon para datos apareados (Wilcoxon matched-pairs signed rank test); **b:** Modelo longitudinal. *Abreviaturas:* CR (95%IC): coeficiente de regresión (expresado en unidades de z-score (de cambio)/año) (95% Intervalo de confianza), que representa el cambio anual de cada z-score; DE: desviación estándar; EDSS: *Expanded Disability Status Scale*; p: p valor; z-NHPT: z-score (valor normalizado) del *Nine Hole Peg Test*; z-PASAT: z-score (valor normalizado) del *Paced Auditory Serial Addition Test*; z-TWT: z-score (valor normalizado) del *Timed 25-foot Walk Test*.

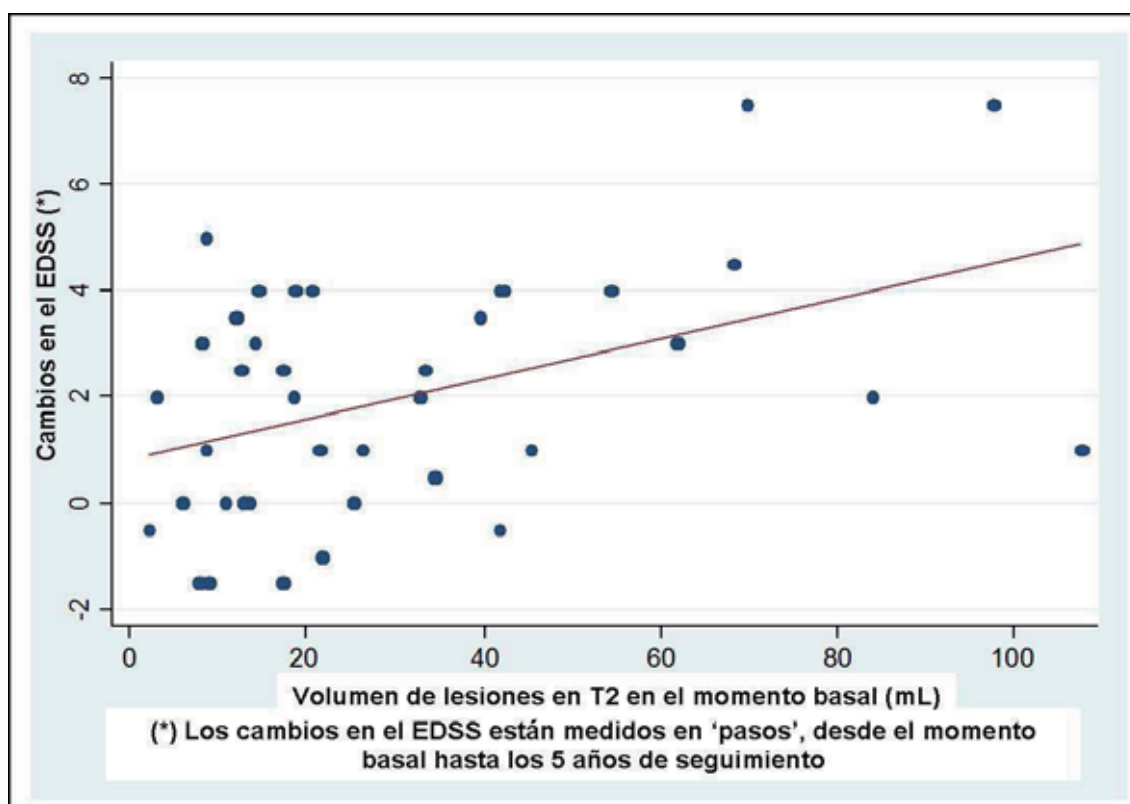


FIGURA VI-4. Predicción de los cambios en el EDSS a lo largo del estudio por el volumen de lesiones en T2 en el momento basal. Esta figura muestra cómo el volumen de lesiones en T2 en el momento basal predice los cambios en el EDSS (p=0,015). Este es un modelo inicial, en el que se incluye cada variable de RM de forma individual.

TABLA VI-10. Resultados de los modelos de regresión iniciales, usados para predecir la progresión en las variables clínicas -durante los cinco años del estudio- en un primer paso, incluyendo las variables de RM en el momento basal de forma individual en cada modelo (hay un modelo para cada variable clínica)

MODELOS INICIALES (un modelo para cada variable clínica)												
Parámetros de RM obtenidos en el momento basal ^d	Variables clínicas (variable dependiente) ^a											
	EDSS			z-TWT			z-NHPT			z-PASAT		
	OR (95%IC)	p ^b	R ²	CR (95%IC)	p ^c	R ²	CR (95%IC)	p ^c	R ²	CR (95%IC)	p ^c	R ²
VLT2	1,03 (1,01; 0,05)	0,015	0,09	-0,09 (- 0,12; -0,06)	0,0001	0,80	-0,01 (- 0,03; 0,002)	0,080	0,77	-	0,131	-
Media de MTR en SG	0,61 (0,36; 1,02)	0,057	0,08	1,52 (0,90; 2,14)	0,0001	0,76	-	0,450	-	-	0,120	-
Moda de MTR en SG	-	0,255	-	3,29 (1,81; 4,77)	0,0001	0,74	-	0,293	-	-	0,705	-
Pico máximo asociado a la moda de MTR en SG	-	0,154	-	858,12 (381,44; 1334,81)	0,001	0,68	-	0,447	-	-	0,263	-
Media de MTR en SBAN	0,58 (0,30; 1,1)	0,093	0,07	2,15 (1,2; 3,09)	0,0001	0,74	-	0,371	-	-	0,270	-
Moda de MTR en SBAN	0,44 (0,21; 0,92)	0,029	0,08	2,11 (1,13; 3,1)	0,0001	0,73	-	0,407	-	-	0,249	-
Pico máximo asociado a la moda de MTR en SBAN	-	0,324	-	266,4 (- 1,93; 534,72)	0,052	0,56	-	0,952	-	-	0,444	-
Volumen ^e de SG	-	0,165	-	0,63 (0,28; 0,97)	0,001	0,69	-	0,116	-	-	0,138	-
Volumen ^e de SBAN	0,78 (0,61; 0,99)	0,037	0,08	0,70 (0,35; 1,05)	0,0001	0,71	-	0,183	-	-	0,278	-

a: Los modelos se crearon utilizando, como variable dependiente (una variable para cada modelo), los valores de la variable clínica a los cinco años de seguimiento, en el caso de los *z-scores* de TWT, NHPT y PASAT (*z-TWT*, *z-NHPT* y *z-PASAT*), o bien los cambios en el EDSS medidos en 'pasos'; **b:** Regresión logística ordinal múltiple (resultados ajustados por edad y sexo); **c:** Regresión lineal múltiple (resultados ajustados por edad, sexo y valores basales del *z-score* que corresponda según el modelo); **d:** Las unidades de las variables de RM son: ml, para VLT2; unidades porcentuales, para media y moda de MTR; volúmenes porcentuales (x1000) para el pico máximo asociado a la moda de MTR; unidades porcentuales de volumen (%) para el volumen de SG y el volumen de SBAN; **e:** Los parámetros relacionados con el volumen tisular de SG o SBAN que se usaron para todos los modelos fueron las fracciones (%) de volumen de SG y de SBAN. *Abreviaturas:* CR (95%IC): coeficiente de regresión (95% intervalo de confianza), que indica la cantidad de cambio en la variable clínica (en unidades de *z-score*) por cada unidad de cambio en la variable de RM (ver más abajo); EDSS: *Expanded Disability Status Scale*; MTR: ratio de transferencia de magnetización, del inglés *Magnetization Transfer Ratio*; OR (95%IC): *Odds Ratio* (95% intervalo de confianza); R²: cuadrado de R, que indica la proporción de la varianza de la variable dependiente que puede explicarse por el modelo; SBAN: sustancia blanca de apariencia normal; SG: sustancia gris; VLT2: volumen de lesiones en T2; *z-NHPT*: valor normalizado (*z-score*) del *Nine Hole Peg Test*; *z-PASAT*: valor normalizado (*z-score*) del *Paced Auditory Serial Addition Test*, *z-TWT*: valor normalizado (*z-score*) del *Timed 25-foot Walk Test*.

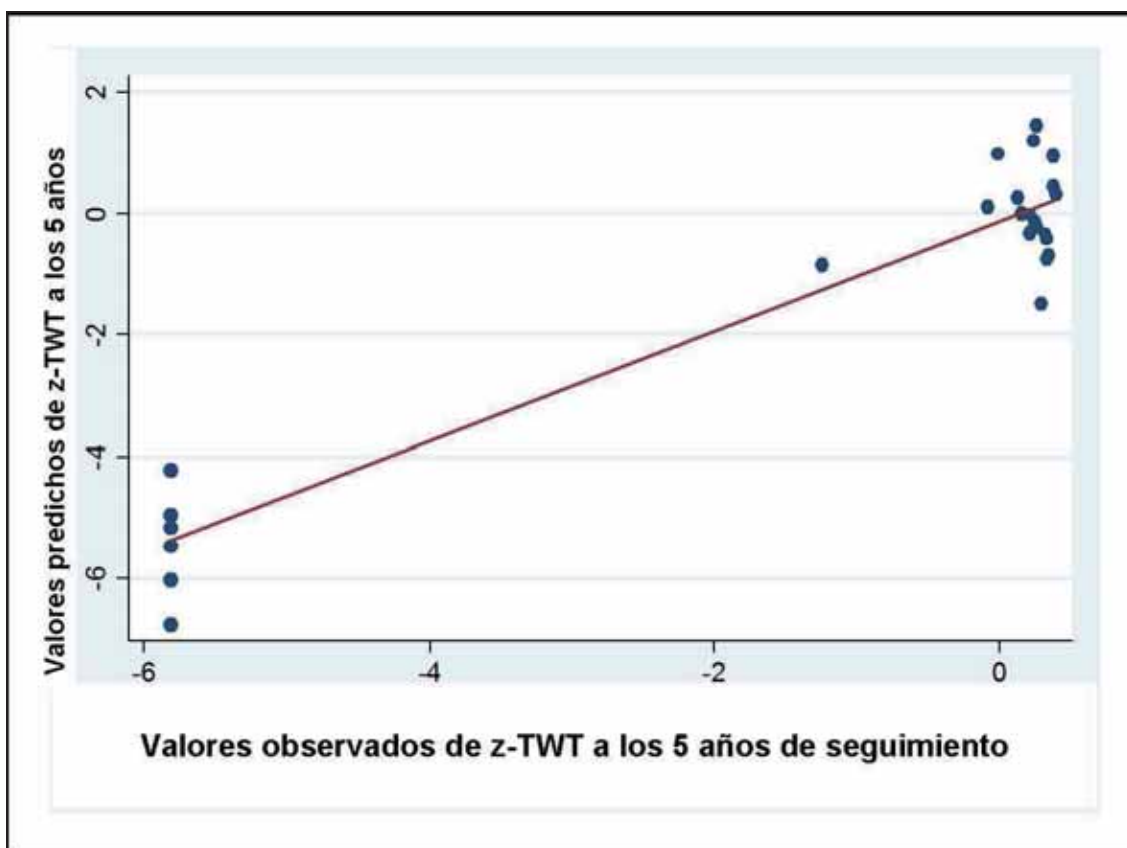


FIGURA VI-5. Valores predichos versus valores observados del z-TWT a los 5 años de seguimiento. Esta figura representa la relación entre los valores observados (eje de abscisas) y los valores predichos (eje de ordenadas) del z-TWT, según el modelo de regresión final de predicción. Este modelo incluía parámetros de RM (medidos en el momento basal), como volumen de lesiones en T2 y dos parámetros de MTR de la SG (moda de MTR y pico máximo asociado a la moda de MTR), así como el valor de z-TWT en el momento basal y edad. El modelo explicaba en un 91% la varianza de la variable dependiente (z-TWT a los 5 años). Ver texto para más detalles. *Abreviaturas:* MTR: ratio de transferencia de magnetización, del inglés *Magnetization Transfer Ratio*; SG: sustancia gris; z-TWT: valor normalizado del TWT, del inglés *Timed 25-foot Walk Test*.

Cambios concurrentes en la RM y en la clínica durante el periodo de estudio

En los pacientes, el VLT2 aumentó significativamente durante los cinco años del estudio. Todos los parámetros de MTR (excepto el pico máximo asociado a la moda de MTR, para la SG y para la SBAN) y los volúmenes de SG y SBAN (volúmenes porcentuales) disminuyeron significativamente a lo largo del seguimiento (**TABLA VI-12**). El VLT2 aumentó alrededor de 3 ml (IC [95%]: de 2,1 a 3,9; $p < 0,0001$) cada año. De las medidas de MTR, la media y la moda de MTR en la SG experimentaron la mayor tasa de reducción (RC: -0,384 y -0,235 por año, respectivamente). De las medidas volumétricas, el volumen porcentual de SG disminuyó más que el volumen de SBAN (RC: -0,686 y -0,415 por año,

respectivamente). En los controles, ninguna de las medidas de RM cambió a lo largo del seguimiento.

TABLA VI-11. Variables de RM que conforman el modelo final de predicción del aumento de la discapacidad según el TWT

Variables de RM incluidas en el modelo final	Parámetros que reflejan la relación entre las variables de RM y la variable clínica TWT ^a			
	Coefficiente de regresión ^b	Intervalo de confianza al 95%	Unidades del coeficiente de regresión	p valor
VLT2	-0,04	de -0,08 a -0,01	unidades de z-TWT/ml	p=0,007
Moda de MTR en SG	1,73	de 0,53 a 2,93	unidades de z-TWT/pu	p=0,007
Pico máximo asociado a la moda en SG de MTR	527,40	de 227,09 a 827,73	unidades de z-TWT/pv	p=0,002

Esta tabla muestra las variables de RM que conforman el modelo final de predicción del aumento de la discapacidad según el TWT, **a**: La variable TWT (o z-TWT) que actúa como variable dependiente en el modelo final está medida a los cinco años de seguimiento (ver texto para más detalles); **b**: Coeficiente de regresión de cada variable de RM dentro del modelo. *Abreviaturas*: ml: mililitros; MTR: ratio de transferencia de magnetización, del inglés *Magnetization Transfer Ratio*; pu: unidad porcentual; pv: volumen porcentual; TWT: *Timed 25-foot Walk Test*; VLT2: volumen de lesiones en T2; SG: sustancia gris; z-TWT: valor normalizado (*z-score*) del TWT original (en segundos).

En los pacientes, se hallaron las siguientes correlaciones:

a) Una mayor tasa de progresión, medida por el EDSS, el z-TWT, el z-NHPT y el z-PASAT, se correlacionó significativamente con un aumento más pronunciado en el VLT2 ($p < 0,0005$, $p = 0,001$, $p = 0,009$ y $p = 0,017$, respectivamente) (**FIGURA VI-6**).

b) Mayores deterioros en el z-TWT y el z-NHPT se correlacionaron con mayores disminuciones en la media de MTR en SG ($p = 0,008$ y $p = 0,043$, respectivamente).

c) Tasas mayores de deterioro en el z-NHPT y el z-PASAT se correlacionaron con un ritmo más rápido de reducción de la moda de MTR en SG ($p = 0,045$ y $p = 0,016$, respectivamente).

d) Un mayor empeoramiento en el z-NHPT se correlacionó con una

reducción más pronunciada en la moda de MTR de la SBAN ($p=0,025$) (TABLA VI-13).

TABLA VI-12. Cambios en las medias de RM a lo largo del periodo de estudio

Parámetros de RM ^a	Pacientes		Controles		Pacientes vs. Controles p ^b
	Tasa anual de cambio (95%IC)	p ^b	Tasa anual de cambio (95%IC)	p ^b	
VLT2	3,02 (2,11; 3,94)	0,0001	-	-	-
Media de MTR en SG	-0,38 (-0,52; -0,25)	0,0001	0,02 (-0,04; 0,08)	0,484	0,0001
Moda de MTR en SG	-0,24 (-0,41; -0,06)	0,008	0,02 (-0,05; 0,09)	0,581	0,015
Pico máximo asociado a la moda de MTR en SG	-0,0002 (-0,0005; 0,00002)	0,068	-0,0001 (-0,0002; 0,00004)	0,224	0,820
Media de MTR en SBAN	-0,11 (-0,20; -0,01)	0,028	0,007 (-0,03; 0,05)	0,695	0,042
Moda de MTR en SBAN	-0,14 (-0,26; -0,03)	0,016	0,002 (-0,04; 0,05)	0,943	0,056
Pico máximo asociado a la moda de MTR en SBAN	-0,0004 (-0,001; 0,0001)	0,113	0,00006 (-0,0003; 0,0002)	0,570	0,500
Volumen ^c de SG	-0,69 (-0,96; -0,41)	0,0001	0,01 (-0,1; 0,12)	0,834	0,0001
Volumen ^c de SBAN	-0,42 (-0,62; -0,21)	0,0001	0,08 (-0,01; 0,18)	0,086	0,0001

Esta tabla muestra los cambios en los parámetros de RM a lo largo del periodo de estudio, en pacientes y controles, **a**: Las unidades de las variables de RM son: ml, para VLT2; unidades porcentuales, para media y moda de MTR; volúmenes porcentuales (x1000) para el pico máximo asociado a la moda de MTR; unidades porcentuales de volumen (%) para el volumen de SG y el volumen de SBAN; **b**: Modelos longitudinales: análisis de regresión de modelo mixto (ver texto para más detalles); **c**: Los parámetros relacionados con el volumen tisular de SG o SBAN que se usaron para todos los modelos fueron las fracciones (%) de volumen de SG y de SBAN. *Abreviaturas*: 95%IC: intervalo de confianza al 95%; MTR: ratio de transferencia de magnetización, del inglés, *Magnetization Transfer Ratio* (ver texto para más detalles de los parámetros de MTR); RM: resonancia magnética; SBAN: sustancia blanca de apariencia normal; SG: sustancia gris; VLT2: volumen de lesiones en T2.

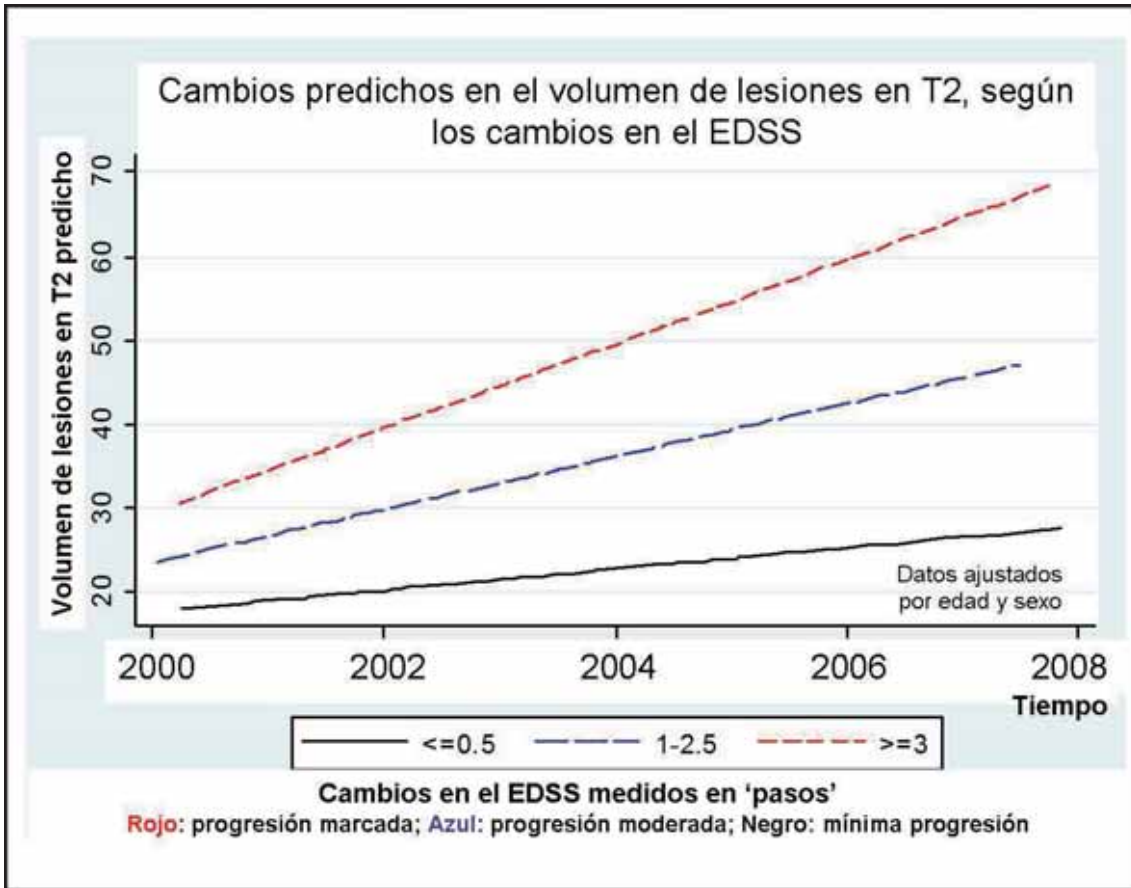


FIGURA VI-6. Cambios predichos en el volumen de lesiones en T2 a lo largo del estudio, según los cambios en el EDSS en el mismo periodo de tiempo. Esta figura representa cómo se modificaría a lo largo del tiempo, según el modelo, el volumen de lesiones en T2 (en ml) en función de la evolución clínica del paciente (medida por el EDSS). Como puede observarse, aquellos pacientes con una peor evolución clínica (línea en rojo) mostrarían un mayor aumento de lesiones en T2 en el mismo periodo de tiempo ($p < 0,0005$). Los valores de volumen de lesiones en T2 son estimaciones hechas a partir del modelo estadístico longitudinal utilizado (análisis de regresión de modelo mixto, con el parámetro de RM como variable dependiente). Ver texto para más detalles. *Abreviaturas:* EDSS: *Expanded Disability Status Scale*.

Los resultados más relevantes de este proyecto se exponen resumidos en la **TABLA VI-14.**

TABLA VI-13. Asociaciones entre los cambios en las variables de RM y los cambios en las variables clínicas, a lo largo del periodo de estudio (cinco años)^a

Variables de RM ^b	Variables clínicas			
	EDSS	z-TWT	z-NHPT	z-PASAT
VLT2	CI: 1,89 (95%IC 0,91; 2,87) p <0,0005	CI: -0,48 (95%IC -0,76; -0,19) p = 0,001	CI: -1,64 (95%IC -2,87; -0,41) p = 0,009	CI: -1,41 (95%IC -2,57; -0,26) p = 0,017
Media de MTR, en SG	CI: -0,05 (95%IC -0,11; 0,005) p = 0,074	CI: 0,02 (95%IC 0,004; 0,03) p = 0,008	CI: 0,06 (95%IC 0,002; 0,12) p = 0,043	CI: 0,04 (95%IC -0,02; 0,09) p = 0,174
Moda de MTR, en SG	CI: -0,06 (95%IC -0,12; 0,0004) p = 0,051	CI: 0,02 (95%IC -0,0004; 0,04) p = 0,055	CI: 0,09 (95%IC 0,002; 0,18) p = 0,045	CI: 0,09 (95%IC 0,02; 0,16) p = 0,016
Moda de MTR, en SBAN	CI: 0,02 (95%IC -0,02; 0,06) p = 0,362	CI: 0,01 (95%IC -0,0004; 0,02) p = 0,058	CI: 0,06 (95%IC 0,007; 0,11) p = 0,025	CI: 0,01 (95%IC -0,04; 0,06) p = 0,666

Esta tabla representa la asociación entre los cambios anuales en los parámetros de RM y los cambios en las variables clínicas (EDSS o z-scores de los subtest del MSFC), **a**: Los resultados están expresados en CI (95%IC): coeficientes de interacción (95% intervalo de confianza); los coeficientes de interacción son aquellos coeficientes obtenidos para cada término de interacción, a partir del modelo longitudinal empleado para cada variable de RM (análisis de regresión de modelo mixto – ver texto para más detalles); cada CI lleva asociado un p valor (p), que indica si la asociación entre los cambios en la variable de RM y los cambios clínicos son significativos ($p < 0,05$) o no ($p > 0,05$). Para mayor comodidad, se han resaltado en negrita los valores de p que han resultado significativos; no mostramos los modelos en los que la variable de RM no resultó estar significativamente asociada con ninguno de los cambios clínicos acontecidos durante el mismo periodo de tiempo; **b**: Las unidades de las variables de RM son: ml, para VLT2; unidades porcentuales, para media y moda de MTR. *Abreviaturas*: CI: coeficiente de interacción; EDSS: *Expanded Disability Status Scale*; p: p valor; z-NHPT: valor normalizado (z-score) del *Nine Hole Peg Test*; z-PASAT: valor normalizado (z-score) del *Paced Auditory Serial Addition Test*, z-TWT: valor normalizado (z-score) del *Timed 25-foot Walk Test*, 95%IC: Intervalo de Confianza al 95%.

TABLA VI-14. Tabla resumen con los resultados más relevantes del segundo estudio

RESULTADOS MÁS RELEVANTES
<ul style="list-style-type: none">➤ El VLT2 y dos parámetros de afectación de la SBAN, la moda de la MTR y el volumen de SBAN, obtenidos en el momento basal predijeron por separado (mediante distintos modelos, uno para cada variable de RM) el aumento de la discapacidad medida por el EDSS a los cinco años. Cuando los tres parámetros se pusieron juntos en el modelo estadístico, ninguno de los tres predijo de forma independiente el aumento del EDSS.➤ El VLT2 y dos parámetros de MTR de la SG (moda y pico máximo asociado a la moda) en el momento basal predijeron de forma independiente (en el mismo modelo) el aumento de la discapacidad medida por el TWT en los siguientes cinco años. Es decir, una mayor carga lesional en el momento basal y unos valores bajos de MTR de la SG (que traducen un mayor daño tisular, una mayor desmielinización de la SG) también en el momento basal predijeron de forma independiente el aumento de la discapacidad medida por el TWT durante los cinco años de seguimiento. El modelo que combinaba estos tres parámetros explicó el 91% de la varianza del aumento de discapacidad según el TWT, un porcentaje mucho mayor que ninguno de los porcentajes obtenidos en los modelos que albergaban estos parámetros por separado.➤ El ratio de progresión clínica a lo largo de los cinco años se correlacionó con el aumento del VLT2 y la disminución (el empeoramiento) de dos medidas de MTR de la SG (media y moda) y una medida de MTR de la SBAN (moda) durante el mismo periodo de tiempo.

Abreviaturas: EDSS: *Expanded Disability Status Scale*; MTR: ratio de transferencia de magnetización, del inglés *Magnetization Transfer Ratio*; SBAN: sustancia blanca de apariencia normal; SG: sustancia gris; TWT: *Timed 25-foot walk test*; VLT2: volumen de lesiones en T2.

2.2. Relevancia de los resultados del segundo estudio

- Este trabajo representa el estudio de mayor seguimiento de una cohorte de EMPP de diagnóstico precoz que ha sido estudiada de forma integral, mediante técnicas convencionales de RM y mediante MTI.
- El abordaje global desde el punto de vista de la RM, en el que se tengan en cuenta secuencias que estudien cada uno de los compartimentos del SNC afectados en la enfermedad, parece ser mucho más eficaz que abordajes parciales, de cara a conocer el sustrato anatomopatológico del aumento irreversible de la discapacidad en la EMPP.

2.3. Limitaciones del segundo estudio

- Un relativamente bajo porcentaje (57%) de pacientes que habían comenzado el estudio (47 pacientes) fue evaluado a los cinco años (27 pacientes). Esto, sin embargo, no invalidaría necesariamente nuestros resultados. Dado que es posible que los pacientes que no fueron evaluados a los cinco años fueran los más discapacitados, si hubiesen entrado en el estudio tal vez habrían ayudado a aumentar el rendimiento de los modelos estadísticos que utilizamos para predecir el aumento de la discapacidad.
- No estudiamos el daño en la médula espinal, que, sin duda, contribuye al aumento de la discapacidad en la EM en general y especialmente en la EMPP.

Complementary roles of grey matter MTR and T2 lesions in predicting progression in early PPMS

C Tur,^{1,2} Z Khaleeli,¹ O Ciccarelli,¹ D R Altmann,^{3,4} M Cercignani,^{3,5} D H Miller,³ A J Thompson¹

► Additional tables are published online only. To view these files please visit the journal online (<http://jnp.bmj.com>).

¹Department of Brain Repair and Rehabilitation, UCL Institute of Neurology, London, UK

²Department of Medicine, Autonomous University of Barcelona, Barcelona, Spain

³Department of Neuroinflammation, UCL Institute of Neurology, London, UK

⁴Medical Statistics Unit, London School of Hygiene and Tropical Medicine, London, UK

⁵Neuroimaging Laboratory, Santa Lucia Foundation, Rome, Italy

Correspondence to

Professor Alan Thompson, Department of Brain Repair and Rehabilitation, UCL Institute of Neurology, Queen Square, London WC1N 3BG, UK; a.thompson@ion.ucl.ac.uk

Received 19 February 2010

Revised 24 June 2010

Accepted 21 July 2010

Published Online First

25 October 2010

ABSTRACT

Objective To investigate whether T2 lesion load and magnetisation transfer ratio (MTR) in the normal-appearing white matter (NAWM) and grey matter (GM) at study entry are independent predictors of progression and whether their changes correlate with the accrual of disability, over 5 years in early primary progressive multiple sclerosis (PPMS).

Methods Forty-seven patients with early PPMS and 18 healthy controls were recruited at baseline and invited to attend clinical 6-monthly assessments for 3 years, and after 5 years. Patients were scored on the Expanded Disability Status Scale and multiple sclerosis functional composite subtests (25-foot timed walk test (TWT), nine-hole peg test and paced auditory serial addition test). At each time point, all subjects underwent brain MRI including T2-weighted, magnetisation transfer and volumetric sequences. T2 lesion load (T2LL), MTR histogram parameters and volumes for NAWM and GM were calculated. Statistical analyses identified predictors of progression and correlations between MRI changes and clinical changes over time.

Results Baseline T2LL and GM peak location and peak height MTR were independent predictors of progression, as measured by TWT; a model including these three predictors explained 91% of the variance of the progression on TWT, a significantly higher percentage than that obtained when the predictors were modelled individually (80%, 74% and 68%, respectively). A greater progression rate correlated with a steeper increase in T2LL and a faster decline in GM mean and peak location MTR.

Conclusions The combined assessment of both visible white matter damage and GM involvement is useful in predicting progression in PPMS.

INTRODUCTION

Progression in primary progressive multiple sclerosis (PPMS) varies widely among patients,¹ but at present, only a few tools provide modest prediction of clinical outcome.² Among these tools, conventional MRI, including T2-weighted imaging, is attractive, since it can be easily performed and standardised across scanners. Although T2 lesion load at study entry did not predict progression in patients with established PPMS,^{2,3} other features of T2 lesions, such as their increase over a short period of time, were reported to predict clinical outcome at a 5-year follow-up,³ suggesting that T2 lesion load may be relevant to determine disability, and, therefore, progression. Whether T2 lesion load is a predictor of disability over a longer period in patients with early PPMS has not been addressed.

Another tool is magnetisation transfer imaging (MTI), which, although being dependent on the characteristics of scanners and sequences, and therefore less suitable for multicentre studies, has a higher pathological specificity than conventional MRI. The magnetisation transfer ratio (MTR) reflects demyelination and axonal loss, and can be measured in normal-appearing tissue, that is outside visible lesions.⁴ We found that in patients with early PPMS, MTR of the normal-appearing white matter (NAWM) and grey matter (GM) at baseline were the best predictors of clinical outcome at 1- and 5-year follow-up, respectively.^{5,6} Since MTR of GM predicted disability over a longer period than that of NAWM and had, in addition, a steeper rate of change over time,⁵ MTR of the GM appears the more promising candidate for predicting long-term progression in early PPMS. Although not yet confirmed, it has been suggested that GM MTR abnormalities reflect axonal damage⁷ and, to a greater extent, demyelination,⁴ mainly within GM lesions,^{8,9} since little is known about pathological findings outside GM lesions.⁹ Moreover, GM lesions have been found to play an important part in determining disability in other forms of MS.^{10–11} These findings prompted investigation of the MTR of GM as a potential measure to predict disability in PPMS.

We hypothesised that T2 lesion load and MTR of the GM at study entry were independent predictors of clinical progression over a 5-year follow-up in early PPMS. We also assessed whether T2 lesion load and MTR of the normal-appearing brain correlated with progression over 5 years. We investigated the cohort of patients with early PPMS previously studied,^{5,6} and in order to ensure that the effect of the imaging measures were independent of brain atrophy,¹² our statistical analyses controlled for the NAWM and GM brain volumes. Clinical progression was measured by the expanded disability status scale (EDSS),¹³ and since this measure is known to have limitations in reflecting accumulation of disability over time,^{14,15} we also used the subsets of the multiple sclerosis functional composite (MSFC),¹⁶ which is potentially more sensitive to clinical worsening.¹⁵

METHODS

Subjects

Forty-seven patients with definite or probable PPMS¹⁷ within 5 years of symptom onset and 18 healthy controls (10 female, mean age 34.56 years, range 27–52) were studied at baseline (see their clinical and demographic characteristics in table 1). All subjects were then invited for clinical and

Table 1 Clinical and demographic characteristics of subjects at the study entry (mean (SD) unless otherwise stated)

Clinical and demographic characteristics	Patients, N=47	Controls, N=18
Age	45.13 (10.66)	34.56 (5.79)
Gender, female, N (%)	19 (40.4%)	10 (55.6%)
Disease duration	3.38 (0.8736)	—
Expanded Disability Status Scale, median (range)	4.5 (1.5 to 7.0)	—
Timed 25-foot walk test z-score	-0.099 (1.224)	—
Nine-hole peg test z-score	-2.25 × 10 ⁻⁷ (1)	—
Paced auditory serial addition test z-score	2.51 × 10 ⁻⁶ (1)	—

radiological assessment at baseline and every 6 months for 3 years, and again at 5 years. The number of individuals studied at each time point is shown in supplementary table 1. Although not all patients attended all time points, the use of linear mixed effect models allowed us to take into account all the clinical and radiological data acquired at each time point for statistical analysis (see below), which corrected for the difference in age between patients and controls.

Regarding the 5-year follow-up visit, 42 patients (16 female, mean age 44.38 years, range 19–63) and 10 controls were assessed. The reasons for not being assessed, in patients, were: death for causes unrelated to MS (two cases) and withdrawal from the study (three cases).

None of the patients was taking disease-modifying medication. Two patients had received a single course of intravenous corticosteroids for a deterioration of symptoms (two males, who received steroids at three and between 3- and 5-year follow-up, respectively). Two patients were taking oral corticosteroids every 3 months (two males). One male patient took five courses of mitoxantrone between the 3- and 5-year follow-up.

Clinical assessments

At every visit, patients were scored on the EDSS.¹⁵ Where possible, patients were also scored on the MSFC subtests (ie, the timed 25-foot walk test (TWT), the nine hole peg test (NHPT) and the paced auditory serial addition test (PASAT)).¹⁶ At the last follow-up visit, the EDSS was obtained in person in 27 patients; the EDSS of the remaining 15 patients was assessed by phone,¹⁸ since they were too disabled to undergo MRI and declined the invitation to attend in person. The MSFC scores were obtained in 26 patients (out of those 27 who attended their last appointment).

Image acquisition and processing

At each time point, all subjects underwent the whole brain sequences described below, acquired using a 1.5 T GE Signa scanner (General Electric Co, Milwaukee, Wisconsin). The scanner was upgraded during the study, increasing the maximum gradient strength from 22 mT m⁻¹ to 33 mT m⁻¹, and changing the imager software version from 5× to 11×.

1. Magnetisation transfer (MT) dual echo spin-echo sequence, including PD and T2-weighted images, acquired with and without a MT presaturation pulse to calculate the MT ratio (MTR) images.¹⁹ T2 lesions were contoured, and T2 lesion load (T2LL) and lesion masks were obtained.²⁰ GM and NAWM MTR histograms were generated (bin width, 0.1 percentage unit (PU); smoothing window, 0.3 PU), and the histogram mean, peak location (PL) and peak height (PH) were calculated.⁶
2. 3D inversion prepared fast spoiled gradient recall (FSPGR) images. Segmentation was carried out using SPM2 (Statistical

Parametric Mapping; Wellcome Department of Cognitive Neurology), for consistency with previous studies in the same patient cohort. For each tissue class, the output of the algorithm is an image, whose voxel intensity represents the probability (from 0 to 1) of belonging to that class. To obtain binary masks for NAWM and GM, we set a threshold of 0.75 for the NAWM and GM map, meaning that only those voxels with a 75% or higher likelihood of being NAWM and GM, respectively, were retained.^{6, 21} In patients, binary lesion masks were applied to the tissue probability maps to obtain NAWM, lesions and GM maps. GM and NAWM volumes were divided by the total intracranial volume (sum of GM, NAWM, lesion and cerebrospinal fluid volumes), to obtain normalised volumes. These resulting volumes were multiplied by 100 to produce percentage GM and NAWM fractions.⁶

Statistical analysis

Analysis was carried out using Stata 9.2 statistical software (Stata-Corp).

Assessment of clinical progression over 5 years

To assess changes in EDSS over time, the EDSS scores at baseline and at 5 years were compared using the Wilcoxon matched-pairs signed rank test, given its non-normal distribution. Changes in EDSS scores from baseline to 5-year follow-up were then converted into steps by considering 1 step change equal to 1 point increase for values of EDSS of 5.5 or lower, and to 0.5 increase for values of EDSS higher than 5.5, as previously described^{5, 6}; this unequal step size helps to overcome the intrinsic limitation of the EDSS in depicting real clinical changes at different levels of the scale. To assess changes in z-scores over time, scores of 180 and 300 s were assigned to the TWT and NHPT of patients who were unable to perform these tests.²² Then, all the MSFC subtests were transformed into z-scores (z-NHPT, z-TWT and z-PASAT), using our baseline sample as reference.²³ Finally, rather than perform paired t-tests which lose data on patients not present at both baseline and final follow-up, changes over time were assessed using linear mixed regression models,²⁴ which maximise the efficient use of all available data. In particular, each z-score recorded at each time point and for each subtest was used, in turn, as the dependent variable, and time was entered as the independent variable.²⁵

Prediction of clinical progression over 5 years

To identify predictors of progression, a multiple proportional odds ordinal logistic regression was used for the EDSS, and a multiple linear regression was used for the z-TWT, z-NHPT and z-PASAT. The EDSS step changes and the z-score of each MSFC subtest at 5 years were used as dependent variables, and age, gender, baseline z-scores (where appropriate) and baseline MRI measures were used as explanatory variables. To predict progression on the z-TWT, data from those unable to walk at baseline were excluded from the analysis, since their score at baseline would predict perfectly the score at 5 years, as both would be 180 s.

First, each MRI measure (ie, MTR mean, PL and PH for GM and NAWM, percentage of GM and NAWM fractions, T2 lesion load) was entered singly into the model. Second, to assess the best MRI predictor of progression, the significant MRI measures were included together in a new regression model, and the significant variables retained, although a correlation between the MRI measures might contribute to a possible loss of significant association when they are put together into the model. Third, to

assess the proportion of variance of progression explained by the best MRI predictors ($R^2 \times 100$), final models were created considering only the MRI measures which were significant in the previous step.

Concurrent MRI and clinical changes over 5 years

To make the most efficient use of the data points, and to avoid bias from excluding subjects not present at both baseline and 5 years, associations between clinical and MRI changes were assessed using linear mixed longitudinal models,²⁴ which estimated rates of change using all of a subject's available data points. When the MRI measure was the response variable, and 'group' and time were the explanatory variables, the group \times time interaction term coefficient assessed the extent to which the group variable was associated with rate of MRI change over time, and estimated the difference in rates between different groups. 'Group' variables were both subject type and, within patients only, clinical progression category. Additional explanatory variables were age, gender and an additional indicator for whether a data point was observed before or after April 2004, to adjust for a scanner upgrade at that time.

To assess the correlations between MRI changes and clinical changes over time, similar models were used in patients only, but with clinical change and clinical \times time interaction replacing the subject terms. The EDSS clinical change variable had three categories: minimal progression (deterioration ≤ 0.5 steps, 13 patients), moderate progression (deterioration of 1–2.5 steps, 13 patients) and considerable progression (deterioration ≥ 3 steps, 16 patients). For MSFC components the continuous Z scores were used.

Residuals from the final models, in both prediction and correlation analyses, were checked for normality and outliers.

RESULTS

Predictors of clinical progression over 5 years

Patients showed a significant increase in their disability during the follow-up, as measured by EDSS, z-TWT and z-NHPT (table 2). Progression on the EDSS was predicted by T2LL, NAWM PL MTR and percentage NAWM fraction measured at baseline (table 3). However, when these variables were put together into the same regression model to assess the best MRI predictor, none remained significant.

Worsening on z-TWT was predicted by T2LL, all the GM MTR histogram parameters, NAWM mean and PL MTR, and both percentages of GM and NAWM fractions ($p < 0.001$) (table 3). When these variables were modelled together, T2LL, GM PL and PH MTR were significantly associated with progression (T2LL: Regression coefficient (RC, in z-TWT unit/ml) -0.04 ,

95% CI: -0.08 to -0.01 , $p = 0.007$; PL: RC (z-TWT unit/pv) 1.73 z-TWT, 95% CI: 0.53 to 2.93, $p = 0.007$; PH: RC (z-TWT unit/pv) 527.4, 95% CI: 227.09 to 827.73, $p = 0.002$). The final resulting model, including, baseline T2LL, GM PL and PH MTR, together with z-TWT at baseline and age, explained 91% of the variance, which was significantly higher than the percentages obtained when the MRI variables were modelled individually (from 68% for GM PH MTR to 80% for T2LL) (figure 1).

None of the MRI measures predicted changes in the z-NHPT and z-PASAT.

Concurrent MRI and clinical changes over 5 years

In patients, T2LL significantly increased over 5 years follow-up and all the MTR histogram parameters (except GM PH and NAWM PH), and both percentages of GM and NAWM fractions significantly decreased (supplementary table 2). T2LL increased by about 3 ml (95% CI 2.1 to 3.9, $p < 0.0001$) every year. Of the MTR measures, GM mean and PL MTR had the highest rate of reduction (RC: -0.384 and -0.235 per year, respectively). Of the volumetric measures, the percentage GM fraction decreased more than the percentage NAWM fraction (RC: -0.686 and -0.415 per year, respectively). In controls, none of the MRI measures changed over time. The rates of changes in all MRI measures, except GM and NAWM PH and PL MTR, were significantly greater in patients than in controls (supplementary table 2).

In patients, a greater progression rate, as measured by EDSS, z-TWT, z-NHPT and z-PASAT, correlated significantly with a steeper increase in T2LL ($p < 0.0005$, $p = 0.001$, $p = 0.009$ and $p = 0.017$, respectively). In addition, a greater decline in z-TWT and z-NHPT correlated with a faster rate of decline in GM mean MTR ($p = 0.008$ and $p = 0.043$, respectively); a steeper reduction in z-NHPT and z-PASAT correlated with a faster rate of reduction in GM PL MTR ($p = 0.045$ and $p = 0.016$, respectively). Finally, a greater rate of decline in z-NHPT correlated with a steeper reduction in NAWM PL MTR ($p = 0.025$) (supplementary table 3).

DISCUSSION

In this study of early PPMS, we found evidence supporting the hypothesis that T2LL and GM MTR were independent predictors of the accumulation of disability, as measured by changes in TWT, considered a more responsive clinical endpoint in PPMS than the EDSS.¹⁵ We found that T2LL and GM MTR had complementary roles, since the model including them together with age and TWT at baseline explained 91% of the variance of the progression (as measured by changes in TWT). This was significantly higher than the percentages obtained by T2LL and GM MTR histogram parameters alone. A possible explanation

Table 2 Clinical data in patients at baseline and at 5 years' follow-up, and clinical changes over time

Clinical measures	Baseline median (range)	5-year median (range)	Change from baseline to 5 years' follow-up, p*	
			Yearly rate of change, from baseline to 5 years' follow-up	
	Baseline mean (SD)	5-year mean (SD)	RC (95% CI)	p Value†
Expanded Disability Status Scale	4.5 (1.5 to 7.0)	6.5 (1.5 to 8.5)	<0.00005	
Timed 25-foot walk test z-score	7.71×10^{-7} (1)	-1.451 (2.725)	-0.215 (-0.284 to -0.022)	0.007
Nine-hole peg test z-score	-2.25×10^{-7} (1)	0.051 (1.145)	-0.096 (-0.132 to -0.054)	<0.0005
Paced auditory serial addition test z-score	2.51×10^{-6} (1)	0.414 (1.159)	0.013 (-0.037 to 0.064)	0.615

RC (95% CI), regression coefficient (given as z-score unit change/year) (95% CI), which represents the annual change of each z-score.

*Wilcoxon matched-pairs signed rank test

†Longitudinal model (see text for further details).

correlation with EDSS changes. These findings highlight the higher sensitivity of the MSFC in detecting clinical changes¹⁵ when compared with the EDSS, and extend the results of the 10-year MAGNIMS study in patients with PPMS,³ which showed that the TWT at baseline predicted clinical progression, while EDSS did not.

We also found that the T2 lesion load and GM mean and PL MTR showed dynamic changes over time in patients, and distinguished between patients and controls, in agreement with previous reports.^{6,32} Also, rates of GM MTR changes over time were higher than those of NAWM, suggesting that GM pathology changed more rapidly than the NAWM. Since a similar result has been reported in patients with early relapsing-remitting MS,³² one possible conclusion is that GM abnormalities develop faster than NAWM changes in the early stages of the disease.

We found that although NAWM MTR and percentage of NAWM and GM fractions predicted progression, especially if this was measured by TWT, when they were entered individually into the model, they became non-significant when they were modelled together and with the other MTR histogram parameters, suggesting that their role is less important than that of the T2 lesion load and the GM damage. The presence of strong correlations between the MRI measures may well have also contributed to the loss of correlation when they were combined. However, a recent paper reported that brain and spinal cord atrophy and GM MTR, when combined together, correlated with EDSS in patients with PPMS, who had a mean disease duration of 9.6 years,³³ suggesting that the role of CNS atrophy may be important if spinal cord atrophy is included, especially when patients with well-established PPMS are studied.

From the clinical point of view, patients significantly deteriorated over time on all the EDSS, TWT and NHPT, suggesting that progression in this cohort of early PPMS mainly related to the deterioration of motor function. Interestingly, the two MSFC subtests which reflected motor function (TWT and NHPT) showed stronger and more frequent correlations with the MRI measures than the EDSS. Despite the lack of progression on the PASAT over time in our cohort as a whole, probably due to a learning effect,⁶ we found that people with a higher cognitive decline over 5 years had a steeper decline of GM MTR and higher lesion load increase, suggesting that these radiological measures have an impact on cognition in PPMS, as previously reported.^{34–36} However, this finding should be taken cautiously, and further studies are needed to clarify the relative contribution of GM MTR changes to cognitive decline in PPMS.

Although a number of statistical tests are reported in this paper, we did not feel it was appropriate to adjust for multiple comparisons, as a number of separate null hypotheses were examined, rather than one single null hypothesis, whose error rate is affected by every reported test.^{37,38}

A possible limitation of this prospective, longitudinal study is that the number of patients who underwent the MRI scan and were assessed on the MSFC subtests at 5 years was lower than the number of patients studied at baseline. However, we used mixed effects models²⁴ which estimate the mean rate of change of the response variable over time using information from all available data points in each subject. This minimises the bias which can result from excluding patients with missing data at the last time point (such patients may have higher or lower individual rates than other patients). Another limitation is that we did not take into consideration the involvement of the spinal cord, which may play a role in the development of disability in PPMS.^{39,40}

Finally, this study has the longest follow-up of a cohort of early PPMS comprehensively investigated by means of MRI. We showed that combining measures that reflected both GM and WM damage improved on the currently available tools to predict the accrual of disability in PPMS. This combined assessment is more accurate in predicting clinical progression than previous approaches, which focused mainly on the WM damage and, in particular, on the lesion load. Thus this approach may be of benefit either to monitor treatment effects or to identify patients with a higher risk for developing irreversible disability, for whom more aggressive therapeutic approaches might be offered.

In conclusion, a comprehensive assessment of the damage occurring in the WM and GM is an attractive approach that offers insights into the pathological mechanisms underlying progression in MS and may help to predict clinical progression.

Acknowledgements The authors thank the subjects for kindly agreeing to take part in this study.

Statistical analysis DRA and CT. CT had full access to all of the data in the study and takes responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis.

Funding CT was funded by the Multiple Sclerosis International Federation (McDonald Fellowship) and has received honoraria and support for travel from Serono Foundation and Sanofi-Aventis. ZK was funded by the MS Society of Great Britain and Northern Ireland. DC was funded by the Wellcome Trust and receives an honorarium for work as Clinical Editor of *Current Medical Literature—Multiple Sclerosis*. MC was funded by the Italian Ministry of Health (grant number PS05.58) and has received travel expenses and/or honoraria for lectures or educational activities not funded by industry. DHM has received honoraria from UCB Pharma, Schering, Biogen Idec, GSK and Wyeth for consulting services, speaking and serving on a scientific advisory board. He has received reimbursement for work as co-chief Editor of *Journal of Neurology* and a research grant support from the MS Society of Great Britain and Northern Ireland, Wellcome Trust, Medical Research Council UK, Biogen Idec, Novartis, GlaxoSmithKline and Schering. AJT has received honoraria and support for travel for consultancy, serving on advisory boards or speaking from Novartis, Eisai, Weleda/Society for Clinical Research, Hoffman La Roche, UCB Pharma, Serono Foundation, Sanofi-Aventis and the MS Society of GB. He is editor-in-chief of *Multiple Sclerosis*, for which he receives an honorarium from Sage Publications. This work was undertaken at UCLH/UCL, who received a proportion of funding from the Department of Health's NIHR Biomedical Research Centres funding scheme. The MS NMR Research Unit is supported by the MS Society of Great Britain and Northern Ireland.

Competing interests None.

Patient consent Obtained.

Ethics approval Ethics approval was provided by the Joint Medical Ethics Committee of the National Hospital for Neurology and Neurosurgery and the Institute of Neurology, London.

Provenance and peer review Not commissioned; externally peer reviewed.

REFERENCES

1. Tremlett H, Paty D, Devonshire V. The natural history of primary progressive MS in British Columbia, Canada. *Neurology* 2005;**65**:1919–23.
2. Sastre-Garriga J, Ingle GT, Rovaris M, et al. Long-term clinical outcome of primary progressive MS: predictive value of clinical and MRI data. *Neurology* 2005;**65**:633–5.
3. Khaloufi Z, Ciccarelli O, Manfredonia F, et al. Predicting progression in primary progressive multiple sclerosis: a 10-year multicenter study. *Ann Neurol* 2008;**63**:790–3.
4. Schmierer K, Scaravilli F, Altmann DR, et al. Magnetization transfer ratio and myelin in postmortem multiple sclerosis brain. *Ann Neurol* 2004;**56**:407–15.
5. Khaloufi Z, Sastre-Garriga J, Ciccarelli O, et al. Magnetization 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**:1076–82.
6. Khaloufi Z, Altmann DR, Cercignani M, et al. Magnetization transfer ratio in gray matter: a potential surrogate marker for progression in early primary progressive multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2008;**65**:1454–9.
7. Young EA, Fowler CD, Kidd GJ, et al. Imaging correlates of decreased axonal Na⁺/K⁺ ATPase in chronic multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 2008;**63**:429–35.
8. Peterson JW, Bo L, Mork S, et al. Transected neurites, apoptotic neurons, and reduced inflammation in cortical multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 2001;**50**:389–400.

9. **Geurts JJ, Barkhof F.** Grey matter pathology in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2008;**7**:841–51.
10. **Calabrese M, Agosta F, Rinaldi F, et al.** Cortical lesions and atrophy associated with cognitive impairment in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2009;**66**:1144–50.
11. **Roosendaal SD, Moras B, Pouwels PJ, et al.** Accumulation of cortical lesions in MS: relation with cognitive impairment. *Mult Scler* 2009;**15**:708–14.
12. **Bakshi R, Neema M, Healy BC, et al.** Predicting clinical progression in multiple sclerosis with the magnetic resonance disease severity scale. *Arch Neurol* 2008;**65**:1449–53.
13. **Kurtzke JF.** Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 1983;**33**:1444–52.
14. **Hobart J, Freeman J, Thompson A.** Kurtzke scales revisited: the application of psychometric methods to clinical intuition. *Brain* 2000;**123**:1027–40.
15. **Bosma LV, Kragt JJ, Brieve L, et al.** The search for responsive clinical endpoints in primary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler* 2009;**15**:715–20.
16. **Cutter GR, Baird ML, Rudick RA, et al.** Development of a multiple sclerosis functional composite as a clinical trial outcome measure. *Brain* 1999;**122**:871–82.
17. **Thompson AJ, Montalban X, Barkhof F, et al.** Diagnostic criteria for primary progressive multiple sclerosis: a position paper. *Ann Neurol* 2000;**47**:831–5.
18. **Lechner-Scott J, Kappos L, Hofman M, et al.** Can the Expanded Disability Status Scale be assessed by telephone? *Mult Scler* 2003;**9**:154–9.
19. **Barker GJ, Tofts PS, Gass A.** An interleaved sequence for accurate and reproducible clinical measurement of magnetization transfer ratio. *Magn Reson Imaging* 1996;**14**:403–11.
20. **Plummer DL.** Displmage: Un mezzo di analisi e presentazione per iconografici medici [Displmage: a display and analysis tool for medical images]. *Riv Neuroscol* 1992;**5**:1715–20.
21. **Smith SM, Jenkinson M, Johansen-Berg H, et al.** Tract-based spatial statistics: voxelwise analysis of multi-subject diffusion data. *Neuroimage* 2006;**31**:1487–505.
22. **Hoogervorst EL, Kalkers NF, Uitendaa BM, et al.** A study validating changes in the multiple sclerosis functional composite. *Arch Neurol* 2002;**59**:113–16.
23. **Fischer JS, Jak AJ, Knicker JE, et al.** Administration and scoring manual for the MS Functional Composite measure (MSFC). National Multiple Sclerosis Society, ed. 2nd edn (2001). US: UNITECH Communications, 1999.
24. **Verbeke G, Molenberghs G.** *Linear Mixed Models for Longitudinal Data*. Springer-Verlag New York Inc, New York, 2000.
25. **Laird NM, Ware JH.** Random-effects models for longitudinal data. *Biometrics* 1982;**38**:963–74.
26. **Fisziku LK, Brex PA, Altmann DR, et al.** Disability and T2 MRI lesions: a 20-year follow-up of patients with relapse onset of multiple sclerosis. *Brain* 2008;**131**:808–17.
27. **Geurts JJ, Pouwels PJ, Uitendaa BM, et al.** Intracortical lesions in multiple sclerosis: improved detection with 3D double inversion-recovery MRI imaging. *Radiology* 2005;**236**:254–60.
28. **Barkhof F, Calabrese PA, Miller DH, et al.** Imaging outcomes for neuroprotection and repair in multiple sclerosis trials. *Nat Rev Neurol* 2009;**5**:256–66.
29. **Sepulcre J, Sastre-Garriga J, Cercignani M, et al.** Regional gray matter atrophy in early primary progressive multiple sclerosis: a voxel-based morphometry study. *Arch Neurol* 2006;**63**:1175–80.
30. **Khalifeh Z, Cercignani M, Austin B, et al.** Localized gray matter damage in early primary progressive multiple sclerosis contributes to disability. *Neuroimage* 2007;**37**:253–61.
31. **Roveris M, Judica E, Gallo A, et al.** Grey matter damage predicts the evolution of primary progressive multiple sclerosis at 5 years. *Brain* 2006;**129**:2628–34.
32. **Davies GR, Altmann DR, Hodjopoulos A, et al.** Increasing normal-appearing grey and white matter magnetisation transfer ratio abnormality in early relapsing-remitting multiple sclerosis. *J Neurol* 2005;**252**:1037–44.
33. **Roveris M, Judica E, Sastre-Garriga J, et al.** Large-scale, multicentre, quantitative MRI study of brain and cord damage in primary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler* 2008;**14**:455–64.
34. **Camp SJ, Stevenson VL, Thompson AJ, et al.** A longitudinal study of cognition in primary progressive multiple sclerosis. *Brain* 2005;**128**:2891–8.
35. **Ukkonen M, Valveläinen T, Hamalainen P, et al.** Cognitive dysfunction in primary progressive multiple sclerosis: a neuropsychological and MRI study. *Mult Scler* 2009;**15**:1055–61.
36. **Ramio-Torrenta L, Sastre-Garriga J, Ingle GT, et al.** Abnormalities in normal appearing tissues in early primary progressive multiple sclerosis and their relation to disability: a tissue specific magnetisation transfer study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006;**77**:40–5.
37. **Peroneer TV.** What's wrong with Bonferroni adjustments. *BMJ* 1998;**316**:1236–8.
38. **Rothman KJ.** No adjustments are needed for multiple comparisons. *Epidemiology* 1990;**1**:43–6.
39. **Oppenheimer DR.** The cervical cord in multiple sclerosis. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1978;**4**:151–62.
40. **Stevenson VL, Leary SM, Losseff NA, et al.** Spinal cord atrophy and disability in MS: a longitudinal study. *Neurology* 1998;**51**:234–8.

3. Tercer estudio. Estudio de seguimiento de una cohorte de EMPP cinco años después de su participación en un ensayo clínico con interferón beta -1b

3.1. Resultados

Sesenta y siete de los 73 pacientes randomizados inicialmente finalizaron el EC (Montalban et al., 2009b). Cuatro de estos 67 no pudieron ser incluidos en el estudio de seguimiento: dos pertenecientes al grupo que había recibido IFN β -1b (de uno se perdió el seguimiento y el otro falleció después de finalizar en EC) y dos del grupo placebo (de uno se perdió el seguimiento y el otro también falleció después de la finalización del EC).

Así pues, la muestra del estudio de seguimiento consistió en 63 pacientes: 32 habían recibido IFN β -1b durante el EC y 31 habían recibido placebo. En cuatro pacientes (dos de cada grupo de tratamiento) se obtuvo el EDSS mediante conferencia telefónica (Lechner-Scott et al., 2003), por lo que de estos pacientes no se pudo obtener información sobre los subtest del MSFC. En los 59 pacientes restantes se obtuvo información acerca del EDSS, de los subtest del MSFC e información neuropsicológica. En 50 pacientes de estos 59 (25 de cada grupo de tratamiento), se pudo realizar una RM cerebral. La **FIGURA VI-7** muestra la disposición de los pacientes a lo largo del EC y del seguimiento.

La **TABLA VI-15** muestra las características sociodemográficas de la población estudiada en este proyecto.

Análisis a los cinco años de seguimiento tras la finalización del ensayo clínico

Los pacientes que habían recibido IFN β -1b mostraron mejores puntuaciones en el NHPT ($p = 0,017$) y en el test de fluencia verbal (WLG) ($p < 0,001$) que aquellos que habían recibido placebo durante el EC. No se observaron diferencias significativas en ninguna otra variable clínica o neuropsicológica (**TABLA VI-15**).

En cuanto a las variables de RM, no se observaron diferencias en el VLT1, el VLT2, la proporción de pacientes con lesiones activas o el número promedio de lesiones activas por paciente. Los parámetros de MTR en la SBAN fueron significativamente mayores en los pacientes que habían recibido IFNb-1b que en los pacientes del grupo placebo (TABLA VI-15).

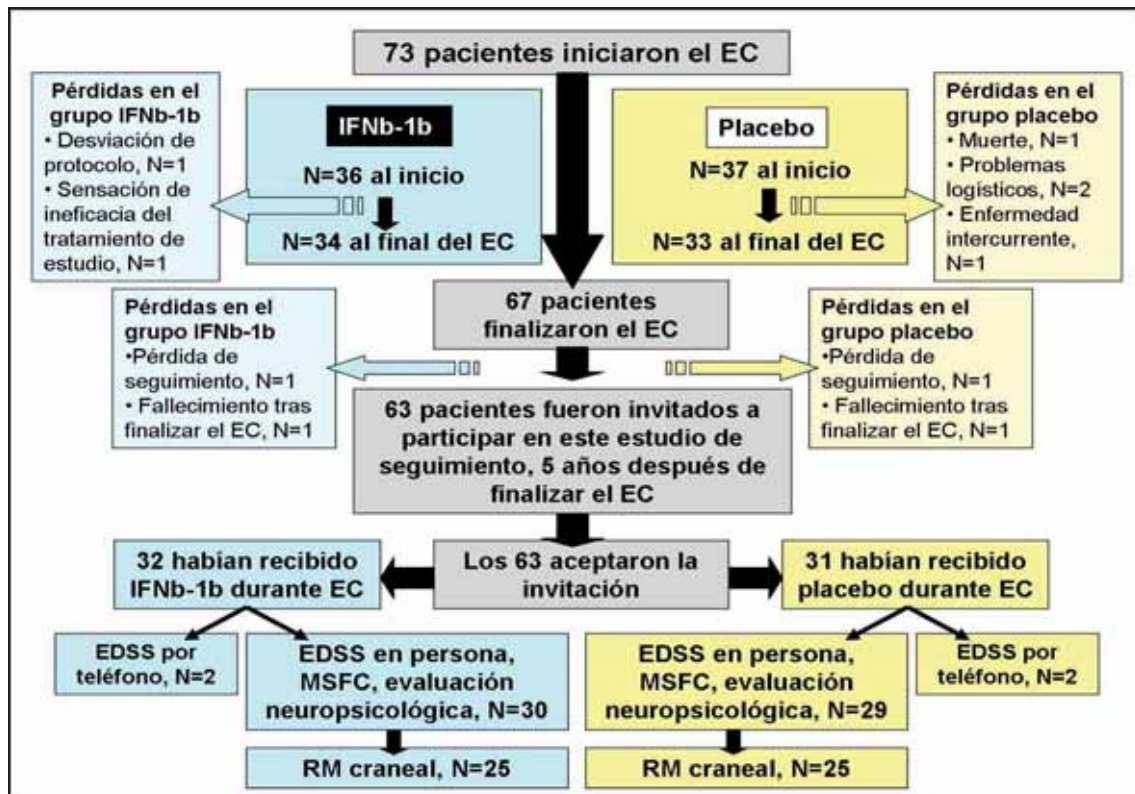


FIGURA VI-7. Esquema que muestra la disposición de los pacientes desde el inicio del ensayo clínico hasta la visita de seguimiento, cinco años después de finalizar el ensayo. Como puede observarse, hubo muy pocas pérdidas de pacientes a lo largo del estudio. Abreviaturas: EC: ensayo clínico; EDSS: *Expanded Disability Status Scale*; MSFC: *Multiple Sclerosis Functional Composite*; RM: resonancia magnética; IFNb-1b: interferón beta 1b.

Cambios desde el final del ensayo clínico hasta el momento del seguimiento, cinco años después de finalizar el ensayo clínico

Ambos grupos empeoraron en cuanto al EDSS y al MSFC ($p < 0.010$ para ambos grupos y todas las medidas). No se observaron diferencias entre los dos grupos en cuanto a este empeoramiento ni en cuanto a la proporción de *no-respondedores* (definidos según tres criterios, expuestos en el capítulo de

material y métodos) (**TABLA VI-16**).

En cuanto a las variables de RM, ambos grupos presentaron un aumento significativo del VLT1 ($p < 0,001$), pero solo el grupo que había recibido IFN β -1b presentó un aumento significativo en el VLT2 ($p = 0,021$). Sin embargo, cuando se compararon ambos grupos de tratamiento, los cambios en el VLT1 y en el VLT2 no fueron significativamente diferentes entre los grupos. Ambos grupos empeoraron significativamente en cuanto a la FPC ($p < 0,001$). En el grupo que había recibido IFN β -1b se observó una mejoría en dos de los parámetros de MTR de la SBAN: la media de MTR ($p < 0,001$) y la moda de MTR ($p < 0,001$) (**TABLA VI-16**).

TABLA VI-15. Datos sociodemográficos, clínicos, neuropsicológicos y de RM a los cinco años de seguimiento tras la finalización del ensayo clínico

	IFNb-1b N = 30	Placebo N = 29	p ^b
Variables demográficas y clínicas^a			
Edad (años)	57 (40; 71)	55 (39; 71)	0,335
Sexo (núm. de hombres (%))	11 (36,7%)	18 (62,1%)	0,051 ^c
Duración de la enfermedad (años)	16 (8; 39)	16 (8; 39)	0,733
EDSS ^d	6,5 (4; 9,5)	6,5 (4; 9,5)	0,841
NHPT (z-score)	0,32 (-3,29; 2,19)	-0,90 (-3,29; 1,93)	0,017
PASAT (z-score)	0,48 (-2,19; 1,72)	0,55 (-2,19; 1,72)	0,657
MSFC (z-score)	-0,53 (-3,07; 1,29)	-0,49 (-3,07; 1,18)	0,455
Índice de ambulación	0,78 (-0,59; 13,7)	-0,13 (-0,54; 13,7)	0,623
BDI ^e	8 (0; 34)	8,5 (1; 31)	>0,999
SIP ^e	20,23 (9,59; 36,7)	28,99 (0; 43,48)	0,189
FSS ^e (puntuación media (DE))	5,47 (1,07)	4,97 (1,31)	0,197
Variables neuropsicológicas (BNB)^a			
Test de atención/velocidad de procesamiento de la información ^f	37,5 (4; 72)	32 (10; 60)	0,318
Test de memoria verbal ^g	87 (19; 145)	80 (4; 145)	0,219
Test de memoria visuoespacial ^{h,i,j}			
inmediata ^h	18 (10; 27)	16,5 (8; 28)	0,728
diferida ⁱ	6 (0; 10)	5 (1; 10)	0,495
total ^j	24 (13; 37)	22 (11; 38)	0,656
Test de fluencia verbal ^k	19 (9; 28)	11,5 (6; 22)	<0,001
Variables de RM^f			
VLT1 (mm ³)	6071,09 (411,99; 29276,9)	10448,46 (1161,58; 35599,5)	0,222
VLT2 (mm ³)	14502,53 (1553,5; 74947,4)	25311,48 (4594,8; 82772,2)	0,162
Pacientes con lesiones activas ^l (N (%))	9 (36%)	8 (32%)	0,765 ^c
Número de lesiones activas	0 (0; 12)	0 (0; 10)	0,827
FPC (%)	72,86 (58,13; 79,13)	70,71 (58,87; 75,75)	0,074
Media de MTR, en SBAN (pu)	39,54 (37,35; 40,82)	38,64 (35,67; 40,69)	0,024
Moda de MTR, en SBAN (pu)	40 (38; 42)	39 (36; 41)	0,009
Pico máximo asociado a la moda de MTR, en SBAN (pv)	0,09 (0,07; 0,098)	0,08 (0,06; 0,096)	0,029

a: Todos los datos sociodemográficos, clínicos y de RM se muestran como mediana (rango: mínimo; máximo), excepto sexo (%), puntuación en la FSS (media (DE)) y porcentaje de pacientes con lesiones activas (%); b: Para todas las comparaciones se utilizó la prueba de los rangos sumados de Wilcoxon (*Wilcoxon rank sum Test*) excepto para sexo (c); c: Test del Chi-cuadrado; d: N=32 (IFNb-1b) y N=31 (placebo); e: Estas escalas están relacionadas con la seguridad del fármaco; f: Test de símbolos de dígitos o SDMT, del inglés *Symbol Digit Modalities Test*; g: El test de memoria verbal (*Selective Reminding Test*) mide la memoria verbal inmediata y la memoria verbal diferida; h, i, j: El test de memoria visuoespacial (10136 *Spatial Recall Test*) tiene varias partes: (h) inmediata y (i) diferida; también se obtuvo la puntuación total (j); k: El test de fluencia verbal utilizado fue la prueba de evocación categorial lexicosemántica (*Word List Generation Test*) y mide un aspecto de la función ejecutiva; l: lesiones activas: lesiones nuevas o agrandadas en la RM hecha para la visita de seguimiento, cinco años después de finalizar el ensayo clínico, tomando como referencia la última RM del ensayo. *Abreviaturas*: BDI: escala de depresión, del inglés *Beck Depression Inventory*; BNB: batería neuropsicológica breve (Rao et al., 1991); EDSS: *Expanded Disability Status Scale*; FPC: fracción de parénquima cerebral; FSS: escala de severidad de la fatiga, del inglés *Fatigue Severity Scale*; IFNb-1b: interferón beta 1b; MSFC: *Multiple Sclerosis Functional Composite*; MTR: ratio de transferencia de magnetización, del inglés *magnetization transfer ratio*; N: número de individuos; NHPT: *Nine Hole Peg Test*; p: p valor; PASAT: *Paced Auditory Serial Addition Test*; pu: unidad porcentual; pv: volumen porcentual; SBAN: sustancia blanca de apariencia normal; SIP: *Sickness Impact Profile*; VLT1: volumen de lesiones en T1; VLT2: volumen de lesiones en T2.

TABLA VI-16. Cambios desde el final del ensayo clínico hasta el momento del seguimiento, cinco años después de finalizar el ensayo clínico

Variables clínicas					
	IFNb-1b, N = 25		Placebo, N = 25		Comparación IFNb-1b vs. placebo, p valor ^c
	Cambio ^a	p ^b	Cambio ^a	p ^b	
MSFC z-score ^d	-0,36 (-2,22; 0,48)	<0,001	-0,49 (-2,7; 0,56)	<0,001	0,662
NHPT z-score	-0,48 (-1,91; 0,97)	<0,001	-0,67 (-4,17; 0,39)	<0,001	0,631
PASAT z-score	-0,13 (-0,98; 0,52)	0,042	-0,13 (-2,15; 0,46)	0,005	0,671
IA z-score ^e	0,36 (-1,17; 7,46)	0,041	0,46 (-1,10; 7,46)	0,038	0,845
EDSS ^f	0,75 (-2; 2,5)	0,002	0,5 (-0,5; 3)	<0,001	0,548
No-respondedores (%), desde la finalización del EC ^g					
	IFNb-1b		Placebo		IFNb-1b vs. placebo, p ^h
Criterio A	59,26%		53,85%		0,691
Criterio B	45,16%		35,48%		0,437
Criterio C	16,13%		12,9%		>0,999
Variables de RM					
	IFNb-1b		Placebo		IFNb-1b vs. placebo, p ^c
	Cambio ^a	p ^b	Cambio ^a	p ^b	
VLT1	726,7 (-517,85; 7249,9)	<0,001	952,72 (94,41; 6800,7)	<0,001	0,146
VLT2	466,3 (-3467,6; 10408,4)	0,021	183,1 (-11203,8; 7249,8)	0,393	0,438
FPC	-1,33 (-4,79; 2)	<0,001	-2,36 (-6,25; 0,55)	<0,001	0,091
Media de MTR, en SBAN	0,61 (-1,55; 3,1)	0,001	0,08 (-2,81; 2,23)	0,837	0,091
Moda de MTR, en SBAN	1 (-1; 2)	<0,001	0 (-3; 3)	0,436	0,053
Pico máximo de MTR asociado a la moda, en SBAN	-0,001 (-0,017; 0,016)	0,705	-0,003 (-0,025; 0,013)	0,049	0,265

a: Mediana del cambio (rango: mínimo, máximo); b: Prueba de rangos signados de Wilcoxon (datos apareados); c: Prueba de rangos sumados de Wilcoxon (datos independientes); d: Para los z-scores del MSFC y los subtest: cambios negativos implican empeoramiento; e: Para el EDSS y el IA, cambios positivos implican empeoramiento; f: La puntuación del EDSS se obtuvo en 63 pacientes: N = 32 (IFNb-1b), N = 31 (placebo); g: Dependiendo de la dimensión del cambio en el EDSS se definieron pacientes respondedores y no-respondedores, en base a tres criterios; h: Prueba del Chi-cuadrado (para criterios A y B). Para el criterio C se utilizó el test exacto de Fisher. *Abreviaturas:* EDSS: *Expanded Disability Status Scale*; IA: índice de ambulación; IFNb-1b: interferón beta-1b; MSFC: *Multiple Sclerosis Functional Composite*; z-score: valor normalizado del test; N: número de individuos; NHPT: *Nine Hole Peg Test*; p: p valor; PASAT: *Paced Auditory Serial Addition Test*; RM: resonancia magnética.

Cambios desde el inicio del ensayo clínico hasta el momento del seguimiento, cinco años después de finalizar el ensayo clínico

Ambos grupos empeoraron en cuanto al EDSS y a todos los subtest del MSFC, excepto el PASAT ($p < 0.050$ para ambos grupos y todas las medidas, excepto el PASAT). Estos empeoramientos, así como la proporción de *no-respondedores*, no fueron significativamente diferentes entre ambos grupos de tratamiento (**TABLA VI-17**).

En ambos grupos se observó un incremento del VLT1 y del VLT2 ($p < 0.001$ para ambos grupos) y un empeoramiento de la FPC ($p < 0.001$ para ambos grupos). Cuando se compararon estos cambios entre los dos grupos, se observaron diferencias en cuanto a los cambios en la FPC ($p = 0,004$), a favor del grupo que había recibido IFN β -1b. Los cambios en los parámetros de MTR no fueron diferentes entre los grupos (**TABLA VI-17**).

Respecto a los datos neuropsicológicos, mientras que los pacientes del grupo de IFN β -1b únicamente empeoraron de forma significativa en la prueba de fluencia verbal, el WLG ($p = 0,004$), los pacientes del grupo placebo no solo empeoraron en el test de fluencia verbal, el WLG ($p < 0,001$), sino que también lo hicieron en el test de memoria visuoespacial diferida (*Spatial-RT: delayed recall*) ($p = 0,027$) y el test de atención/velocidad de procesamiento de la información, el SDMT ($p < 0,001$). Los cambios en las puntuaciones del test de memoria visuoespacial diferida (*Spatial-RT: delayed recall*) fueron significativamente diferentes entre los dos grupos ($p = 0,041$), a favor del grupo de IFN β -1b. No se observaron otras diferencias entre los dos grupos (**TABLA VI-18**).

TABLA VI-17. Cambios desde el inicio del ensayo clínico hasta el momento del seguimiento, cinco años después de finalizar el ensayo clínico

Variables clínicas					
	IFNb-1b, N = 25		Placebo, N = 25		Comparación IFNb-1b vs. placebo, p valor ^c
	Cambio ^a	p ^b	Cambio ^a	p ^b	
MSFC z-score ^d	-0,41 (-2,3; 1,28)	<0,001	-0,57 (-2,77; 0,31)	0,001	0,515
NHPT z-score	-0,69 (-2,61; 2,35)	0,001	-1,11 (-4,57; 0,65)	<0,001	0,166
PASAT z-score	0,07 (-1,7; 1,17)	0,760	-0,07 (-2,02; 1,37)	0,144	0,241
IA z-score ^e	0,78 (-1,17; 7,46)	0,026	0,33 (-1,05; 7,46)	0,039	0,610
EDSS ^f	1,5 (-2,5; 5)	<0,001	1,5 (-0,5; 3,5)	<0,001	0,636
No-respondedores (%), desde el inicio del EC ^g					
	IFNb-1b		Placebo		IFNb-1b vs. placebo, p valor ^h
Criterio A	70,97%		67,74%		0,783
Criterio B	58,06%		54,84%		0,798
Criterio C	25,81%		38,71%		0,277
Variables de RM					
	IFNb-1b		Placebo		IFNb-1b vs. placebo, p valor ^c
	Cambio ^a	p ^b	Cambio ^a	p ^b	
VLT1	832,55 (134,56; 8854,94)	<0,001	1856,8 (-1342,02; 9432,8)	<0,001	0,095
VLT2	2265,9 (-303,3; 12754,4)	<0,001	2986,9 (-9773,3; 13226,5)	<0,001	0,174
FPC	-1,78 (-6,99; 1,29)	<0,001	-3,16 (-6,87; 2,37)	<0,001	0,004
Media de MTR en SBAN	0,04 (-1,76; 1,9)	0,845	0,001 (-2,77; 3,57)	0,678	0,741
Moda de MTR en SBAN	0 (-1; 2)	0,064	0 (-3; 2)	0,999	0,338
Pico máximo asociado a la moda de MTR en SBAN	-0,003 (-0,022; 0,016)	0,042	-0,004 (-0,027; 0,017)	0,118	0,897

a: Mediana del cambio (rango: mínimo, máximo); todos los cambios clínicos (excepto cambios en el EDSS) fueron considerados desde el mes 6 del ensayo clínico; b: Prueba de rangos signados de Wilcoxon (datos apareados); c: Prueba de rangos sumados de Wilcoxon (datos independientes); d: Para los z-scores del MSFC y los subtest: cambios negativos implican empeoramiento; e: Para el EDSS y el IA, cambios positivos implican empeoramiento; f: La puntuación del EDSS se obtuvo en 63 pacientes: N = 32 (IFNb-1b), N = 31 (placebo); g: Dependiendo de la dimensión del cambio en el EDSS se definieron pacientes respondedores y no-respondedores, en base a tres criterios; h: Prueba del Chi-cuadrado (para criterios A y B). Para el criterio C se utilizó el test exacto de Fisher. *Abreviaturas:* EDSS: *Expanded Disability Status Scale*; IA: índice de ambulaci3n; IFNb-1b: interfer3n beta-1b; MSFC: *Multiple Sclerosis Functional Composite*; z-score: valor normalizado del test; N: n3mero de individuos; NHPT: *Nine Hole Peg Test*; p: p valor; PASAT: *Paced Auditory Serial Addition Test*; RM: resonancia magn3tica.

TABLA VI-18. Cambios en los test neuropsicológicos desde el inicio del ensayo clínico hasta la visita de seguimiento, cinco años después de finalizar el ensayo

Test neuropsicológicos dentro de la BNB ^a	Cambios desde el inicio del EC hasta la visita de seguimiento				Comparación IFNb-1b vs. placebo
	IFNb-1b N = 30		Placebo N = 29		
	Cambio ^a	p ^b	Cambio ^a	p ^b	p ^c
Test de atención/velocidad de procesamiento de la información ^d	-4 (-13; 13)	0,128	-5 (-22; 5)	<0,001	0,203
Test de memoria verbal ^e	3 (-21; 35)	0,188	-4 (-23; 26)	0,963	0,350
Test de memoria visuoespacial ^{f,g,h}					
inmediata ^f	-1 (-7; 7)	0,429	-1 (-10; 7)	0,149	0,538
diferida ^g	0 (-4; 4)	0,563	-1 (-6; 3)	0,027	0,041
total ^h	-1 (-9; 11)	0,606	-2 (-15; 8)	0,093	0,284
Test de fluencia verbal ⁱ	-3 (-12; 6)	0,004	-5 (-22; 6)	<0,001	0,054

a: Todos los datos se muestran como mediana (rango: mínimo y máximo); b: Prueba de rangos signados de Wilcoxon (datos apareados); c: Prueba de rangos sumados de Wilcoxon (datos independientes); d: Test de símbolos de dígitos o SDMT, del inglés *Symbol Digit Modalities Test*; e: El test de memoria verbal (*Selective Reminding Test*) mide la memoria verbal inmediata y la memoria verbal diferida; f, g, h: El test de memoria visuoespacial (*10136 Spatial Recall Test*) tiene varias partes: (f) inmediata y (g) diferida; también se obtuvo la puntuación total (h); i: El test de fluencia verbal utilizado fue la prueba de evocación categorial lexicosemántica (*Word List Generation Test*) y mide un aspecto de la función ejecutiva. Abreviaturas: BNB: batería neuropsicológica breve (Rao et al., 1991); IFNb-1b: interferón beta 1b; N: número de individuos; p: p valor.

Correlación entre los cambios ocurridos durante el ensayo clínico y la progresión del EDSS desde la finalización del ensayo clínico hasta los cinco años de seguimiento

El número total de lesiones activas durante el EC se correlacionó significativamente con los cambios en el EDSS desde el final del EC hasta la visita de seguimiento, cinco años más tarde (coeficiente de correlación = 0,36, p <0,004). No se observaron otras correlaciones significativas (TABLA VI-19).

Parámetros de seguridad. En la visita de seguimiento realizada cinco años después de haber finalizado el EC, el grupo que había recibido IFNb-1b presentó puntuaciones más altas que el grupo placebo en la escala de Ashworth. Sin embargo, cuando se compararon los cambios en los parámetros de seguridad desde el inicio del EC hasta la visita de seguimiento, cinco años después de haber finalizado el EC, no se observaron diferencias significativas entre los dos grupos (TABLA VI-20).

TABLA VI-19. Correlación entre los cambios ocurridos durante el ensayo clínico y la progresión del EDSS desde la finalización del ensayo clínico hasta la visita de seguimiento, cinco años después de haber finalizado el ensayo

Cambios durante el ensayo clínico	Cambios en el EDSS desde la finalización del ensayo clínico hasta la visita de seguimiento	
	Coefficiente de correlación de Spearman	p valor
Cambios en el MSFC ^a	-0,10	0,435
Cambios en VLT1 ^b	0,16	0,211
Cambios en VLT2 ^b	0,07	0,600
Cambios en FPC ^b	0,01	0,920
Número total de lesiones activas ^{b,c}	0,36	0,004

a: Cambios desde el mes 6 del ensayo clínico hasta el mes 24; b: Cambios desde el momento basal (mes 0) hasta el mes 24; c: Para este parámetro se consideraron las lesiones nuevas o agrandadas durante el periodo del ensayo clínico. *Abreviaturas:* FPC: fracción de parénquima cerebral; MSFC: *Multiple Sclerosis Functional Composite*; VLT1: volumen de lesiones en T1; VLT2: volumen de lesiones en T2.

TABLA VI-20. Cambios en las variables relacionadas con la seguridad del fármaco a lo largo del tiempo

Escala clínica	Evaluación a los cinco años de seguimiento tras la finalización del ensayo clínico ^a			Cambios desde el momento basal del ensayo clínico hasta la visita de seguimiento, realizada cinco años después de finalizar el ensayo				
	IFNb-1b N = 30	Placebo N = 29	p	IFNb-1b N = 30		Placebo N = 29		Comparación entre los grupos de tratamiento p ^d
				Cambio ^b	p ^c	Cambio ^b	p ^c	
Escala de Ashworth	3 (1; 5)	1,5 (0; 4)	0,008	1,5 (-1; 4)	0,002	1 (-3; 3)	0,040	0,304
BDI	8 (0; 34)	8,5 (1; 31)	>0,999	-2 (-23;13)	0,113	-1 (-13; 9)	0,269	0,599
FSS	5,56 (2,56; 7)	5,39 (2; 6,78)	0,197	-0,28 (-1,67; 2,33)	0,647	-0,28 (-2,89; 1,67)	0,472	0,784
SIP	20,23 (9,59; 36,7)	28,99 (0,43; 48)	0,189	-3,11 (-27,06; 15,94)	0,021	2,24 (-33,42; 32,58)	0,527	0,093

a: Los resultados se expresan como mediana (rango: mínimo; máximo); b: Mediana del cambio (rango: mínimo, máximo); c: Prueba de rangos signados de Wilcoxon (datos apareados); d: Prueba de rangos sumados de Wilcoxon (datos independientes). *Abreviaturas:* BDI: escala de depresión, del inglés *Beck Depression Inventory*; FSS: escala de severidad de la fatiga, del inglés *Fatigue Severity Scale*; IFNb-1b: interferón beta-1b; N: número de individuos; p: p valor; SIP: *Sickness Impact Profile*.

Los resultados más relevantes de este proyecto se exponen resumidos en la **TABLA VI-21.**

TABLA VI-21. Tabla resumen con los resultados más relevantes del tercer estudio

RESULTADOS MÁS RELEVANTES
<ul style="list-style-type: none">➤ Tras cinco años de haber finalizado el ensayo clínico, los pacientes que habían recibido IFNb-1b presentaron mejores puntuaciones en el NHPT ($p=0,02$) y en el test de fluencia verbal, el <i>Word List Generation test</i>, ($p <0,001$) que los pacientes que habían recibido placebo (en el análisis transversal realizado a los cinco años de finalizar el ensayo clínico).➤ Los parámetros de MTR de la SBAN del grupo que había recibido IFNb-1b mostraron un menor deterioro ($p <0,05$) que los del grupo que había recibido placebo, cinco años después de haber finalizado el ensayo clínico (en el análisis transversal realizado a los cinco años de finalizar el ensayo clínico).➤ Considerando todo el periodo de estudio, desde el momento en que empezó el ensayo clínico hasta la evaluación cinco años después de haber finalizado el mismo, el grupo que recibió placebo mostró un mayor decremento en la fracción de parénquima cerebral ($p=0,004$) que el grupo que recibió IFNb-1b (análisis longitudinal de los datos).➤ La presencia de lesiones activas durante el periodo del ensayo, es decir, lesiones nuevas o que habían experimentado un aumento de tamaño durante ese periodo, se correlacionó con el empeoramiento del EDSS en el periodo comprendido desde la finalización inmediata del ensayo hasta la evaluación cinco años después ($p=0,004$) (análisis longitudinal de los datos, pero esta vez sin tener en cuenta si los pacientes habían recibido IFNb-1b o placebo durante el ensayo clínico).

Abreviaturas: EDSS: *Expanded Disability Status Scale*; IFNb-1b: interferón beta-1b; MTR: ratio de transferencia de magnetización, del inglés *Magnetization Transfer Ratio*; NHPT: *Nine Hole Peg Test*.

3.2. Relevancia de los resultados del tercer estudio

- Este estudio supone el seguimiento más largo realizado de una cohorte de EMPP que ha participado en un ensayo clínico.
- La gran mayoría de pacientes que participaron en el EC ha participado también en este estudio (muy pocas pérdidas de seguimiento).
- En nuestra cohorte de EMPP, observamos un modesto pero significativo efecto beneficioso del IFNb-1b, tanto a nivel clínico (NHPT) o neuropsicológico, como a nivel de aquellos parámetros de RM que reflejan un daño en el tejido cerebral de apariencia normal, cinco años después de haber finalizado el tratamiento. Además, los cambios en la actividad inflamatoria durante el periodo del EC se correlacionaron con los cambios en el EDSS una vez finalizado el tratamiento. Todo ello apunta a que la intervención inmune puede ser todavía explotada como forma de tratamiento en los pacientes con EMPP. De hecho, actualmente hay dos grandes ensayos clínicos en marcha en pacientes con EMPP en los que se está evaluando la eficacia de dos fármacos, el fingolimod y el ocrelizumab, cuyo mecanismo de acción se centra en la modificación del sistema inmunitario.

3.3. Limitaciones del tercer estudio

- Aunque pocas, hubo algunas pérdidas de pacientes desde el momento de iniciarse el EC hasta el momento en que se realizó la visita de seguimiento a los cinco años tras la finalización del mismo.
- En este estudio no se administró gadolinio a la hora de hacer las RM, así que nuestra capacidad para detectar actividad inflamatoria se vio mermada por este hecho, en comparación con otros estudios que sí han utilizado contraste. Este es un punto importante, si tenemos en cuenta que recientemente se ha sugerido que aquellos pacientes más jóvenes y con más actividad inflamatoria en momentos iniciales de la enfermedad son los pacientes que más pueden beneficiarse de una intervención

inmune (Hawker et al., 2009).

- Finalmente, se realizaron muchos análisis estadísticos, lo que nos expuso a un riesgo relativamente alto ($>0,05$) de cometer un error de tipo I, es decir, de rechazar la hipótesis nula (que hablaría de que no hay cambios o no hay diferencias entre grupos) siendo ésta cierta, o, dicho de otra manera, de encontrar resultados significativos simplemente por azar. No obstante, dado que este era un estudio exploratorio, no creímos necesario ajustar por comparaciones múltiples.

Interferon Beta-1b for the Treatment of Primary Progressive Multiple Sclerosis

Five-Year Clinical Trial Follow-up

Carmen Tur, MD; Xavier Montalban, PhD; Mar Tintoré, PhD; Carlos Nos, MD; Jordi Rio, PhD; Francesc Xavier Aymerich, MSc; Luis Bricva, PhD; Nieves Téllez, PhD; Héctor Perkal, MD; Manuel Comabella, MD; Ingrid Galán, MD; David Calle, BSc; Jaume Sastre-Garriga, MD; Alex Rovira, PhD

Objectives: To investigate, during the 5-year period without treatment after termination of a 2-year clinical trial of interferon beta-1b for the treatment of primary progressive multiple sclerosis, differences in the evolution of clinical variables and magnetic resonance imaging results between trial arms and to investigate correlations between in-trial changes in Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC) score and magnetic resonance imaging variables and Expanded Disability Status Scale (EDSS) score evolution.

Design: Five-year clinical trial follow-up.

Setting: Clinical Neuroimmunology Unit, Multiple Sclerosis Centre of Catalonia, Autonomous University of Barcelona, Spain.

Patients: Seventy-three patients received interferon beta-1b or placebo during the trial.

Main Outcome Measures: After 5 years without treatment, the EDSS and MSFC measures were scored for 63 and 59 patients, respectively. Neuropsychological and magnetic resonance imaging assess-

ments were performed for 59 and 50 patients, respectively.

Results: After 5 years without treatment, the interferon beta-1b group had better 9-Hole Peg Test ($P = .02$) and Word List Generation Test ($P < .001$) scores, and their magnetization transfer ratio measures in the normal-appearing white matter were significantly higher ($P = .02$, $P = .009$, and $P = .03$ for the mean, peak location, and peak height magnetic transfer ratios, respectively). During the entire study period (from trial baseline to assessment at 5 years without treatment), the placebo group showed a greater decrease in brain parenchymal fraction ($P = .004$). The in-trial increase of lesions correlated with the worsening of the EDSS score during the 5-year period without treatment ($P = .004$).

Conclusions: Modest but beneficial effects of interferon beta-1b on clinical variables and brain atrophy development were observed 5 years after trial termination. Moreover, in-trial lesion activity correlated with EDSS progression after trial termination. Therefore, we provide evidence to consider immunomodulation as a sensible approach to treat primary progressive multiple sclerosis.

Arch Neurol. 2011;68(11):1421-1427

Author Affiliations: Clinical Neuroimmunology Unit, Multiple Sclerosis Centre of Catalonia, Department of Medicine, Autonomous University of Barcelona, and Centre d'Anàlisi i Recerca en Neuroimatge i Esclerosi Multiple (Drs Tur, Montalban, Tintoré, Nos, Rio, Bricva, Téllez, Perkal, Comabella, Galán, and Sastre-Garriga), and Magnetic Resonance Unit (Mr Aymerich and Dr Rovira), Vall d'Hebron University Hospital, Barcelona; and Nuvisan Clinical Development Solutions, Madrid (Mr Calle), Spain.

BENEFICIAL EFFECTS OF INTERFERON beta on relapse-related outcome measures have been shown for patients with secondary progressive multiple sclerosis (MS) with superimposed relapses,¹⁻³ whereas positive results regarding disability progression outcomes have been less frequently reported.^{1,3} In primary progressive MS (PPMS),^{4,5} few randomized controlled clinical trials have been published.^{6,9} Trials with interferon beta-1a⁶ and glatiramer acetate⁷ failed to show positive effects on the Expanded Disability Status Scale (EDSS).¹⁰ A trial with rituximab, a monoclonal antibody that selectively depletes B cells, failed to show an effect on confirmed disease progression, although a subgroup analysis showed a treatment effect in

younger patients with gadolinium-enhanced lesions.⁹ Finally, a single-center trial with interferon beta-1b in PPMS also showed no significant treatment effect on EDSS, although a positive effect on Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC)¹¹ scores and magnetic resonance imaging (MRI) variables⁸ was observed.

The response to interferon beta can be highly heterogeneous,^{12,13} reflecting the presence of multiple complex processes responsible for treatment effects.¹⁴ Differences in the underlying condition may be one of the explanations for the dissimilar effects of interferon beta in relapsing vs progressive MS. However, another reason for such dissimilarities could be the too-short time frames of the clinical trials performed so far. The need for progression-

based-only primary outcome measures in progressive MS might imply the need for longer study periods to observe clinically meaningful treatment effects. Moreover, the poor sensitivity of the EDSS to measure clinical changes¹¹ contributed to the failure in detecting disease progression. Instead, the MSFC would be a more sensitive tool to measure clinical worsening, especially when combined with the EDSS.¹³

We have assessed clinically, neuropsychologically, and via MRI those patients who participated in the 2-year double-blind phase of a trial of interferon beta-1b 5 years after trial termination,⁸ with the general objective of exploring the long-term effects of their treatment. More specifically, we aimed to investigate whether those clinical and MRI differences between treatment groups observed during the trial were still present after 5 years without treatment; differences in clinical and MRI evolution between treatment groups from trial termination to the 5-year-without-treatment follow-up; differences in clinical and MRI evolution between treatment groups from trial baseline to the 5-year-without-treatment follow-up; and whether the in-trial changes in MSFC and MRI variables, considering the whole cohort, correlated with progression as measured by EDSS score after trial termination.

METHODS

PATIENTS

All patients who had completed the double-blind phase of the initial trial (67 of 73) were invited to participate in this study. Patients included in the feeder study had a PPMS course, allowing for a single attack before study entry. All patients gave informed written consent before the study.

ASSESSMENTS

Clinical

Patients were assessed 5 years after the last visit of the clinical trial at the Clinical Neuroimmunology Unit of the Multiple Sclerosis Centre of Catalonia at the Autonomous University of Barcelona, Spain. We obtained MSFC¹¹ and z subscores (9-Hole Peg Test [9-HPT], Paced Auditory Serial Addition Test [PASAT], and timed 25-ft walk test), ambulation index score, EDSS¹⁰ scores, and safety variables, such as those obtained by use of the Ashworth Scale, the Beck Depression Inventory, the Fatigue Severity Scale, and the Sickness Impact Profile,¹⁶⁻¹⁹ given that interferon beta has been found in some studies to increase spasticity,²⁰⁻²² fatigue,²³ and depressive symptoms.^{20,24} The MSFC and z subscores were calculated according to published guidelines,²⁵ using our baseline sample (before treatment) as a reference. The z subscores (ie, standardized scores) gave us a measure that related every individual's performance to the average performance in the population. The z subscores indicated the number of standard deviation units from which a patient's score was less than (if negative values) or greater than (if positive values) the average performance. For those tests measured in seconds (ie, the 9-HPT and the timed 25-ft walk test), the final z subscore was obtained after changing its sign because higher scores (in seconds) would indicate worse clinical performance. On the basis of the approximately normal distribution in our baseline sample of the original numbers before transformation to z

scores and based on their change over the trial period,⁸ z subscores were considered to be reliable measures.

The EDSS was administered by telephone²⁶ to those patients too disabled to be examined in person. Three months later, all patients were assessed again with the EDSS to obtain the confirmed EDSS score, which was the lowest score of the 2 assessments (hereafter referred to as the EDSS score). The EDSS scores of those patients who died after trial completion and those who did not participate in the follow-up study were not included in the analysis.

Neuropsychological

The Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Tests²⁷ was administered by a neuropsychologist who was unaware of previous patient allocation and not in communication with the treating or examining neurologists. It provided measurements for attention and speed of information processing (PASAT and Symbol Digit Modalities Test), verbal learning and late recall (Selective Reminding Test), visuospatial learning and late recall (10136 Spatial Recall Test), and semantic fluency (Word List Generation Test [WLGT]). Cognitive assessments never were performed during relapses or treatment with corticosteroids.

MRI and Analysis

All patients were invited to undergo an MRI examination (Magnetom Vision Plus 1.5T; Siemens AG, Erlangen, Germany). The following sequences were obtained: transverse, T2-weighted, fast-acquisition, dual-echo sequence (repetition time, 3000 milliseconds; echo time, 14-85 milliseconds; echo train length, 5; and acquisitions, 1); transverse, T1-weighted, spin-echo sequence (repetition time, 667 milliseconds; echo time, 14 milliseconds; and acquisitions, 2); and 2-dimensional, gradient-echo, pulse sequence (repetition time, 805 milliseconds; echo time, 12 milliseconds; flip angle, 30°; and acquisitions, 1), repeated with an additional off-resonance preparation pulse to saturate bound protons. The variables of this saturation pulse are described elsewhere.⁸ The difference between the two 2-dimensional gradient-echo sequences, with and without the saturation pulse, was used to obtain the magnetization transfer images.

The T2 lesion masks initially were analyzed and marked on proton density-weighted hard copies cross-referenced to the T2-weighted images using DisPlmage (D.L. Plummer, University College London, England).²⁸ From these masks, T1-weighted lesion masks were obtained as the hypointense region in T1-weighted images located within the T2-weighted lesion mask.²⁹ T1-weighted and T2-weighted lesion volumes (T1LV and T2LV, respectively) were calculated from these lesion masks. Brain atrophy was evaluated by measuring the brain parenchymal fraction (BPF) according to a previously described algorithm.^{30,31} Total intracranial volume was calculated as normal-appearing white matter (NAWM) + normal-appearing gray matter (NAGM) + cerebrospinal fluid (CSF) + lesion mask. The BPF was calculated as follows: $([NAWM + NAGM + lesion\ mask] / total\ intracranial\ volume)$. From magnetization transfer images, we calculated the magnetization transfer ratio (MTR) as follows: $MTR = 100 (M_0 - M_s) / M_0$, in which M_0 and M_s are the signal intensities for a given region determined from the images obtained without and with the saturation pulse, respectively. A normalized histogram-based analysis of MTR images was performed on the 3-dimensional NAWM region, obtaining peak location, peak height, and mean. The MRI variables obtained at the 5-year follow-up assessment included T1LV and T2LV, atrophy (measured as BPF), number of active lesions (ALs) (ie, new or enlarging lesions observed, with the scan at trial termination as the reference), and MTR variables. A new lesion was considered to exist when an area of high signal appeared in an area of previously normal brain tis-

sue on a proton density-weighted image.³¹ Further details of the MRI protocol have been reported elsewhere.⁸

STUDY END POINTS AND STATISTICAL ANALYSIS

Analysis at 5-Year-Without-Treatment Follow-up

The EDSS score and the z scores of the MSFC and its subtests, radiologic variables, and neuropsychological test scores were compared between treatment groups by the Wilcoxon rank sum test. Demographic variables were compared, if quantitative, by means of a 1-way analysis of variance (the data analyzed met the assumption of analysis of variance; otherwise, the Kruskal-Wallis [for independent groups] would have been used) and, if dichotomous or qualitative, using the χ^2 test.

Changes From the End of the Trial and Trial Baseline to the 5-Year-Without-Treatment Follow-up

Changes in EDSS score, the z scores of the MSFC and its subtests, and MRI variables were calculated. According to EDSS score change from trial baseline, patients were classified as responders and nonresponders. Nonresponders were defined according to 3 criteria³²: criterion A: at least 1-EDSS point increase if the baseline EDSS score was 5 or lower or 0.5-point increase if the baseline EDSS score was 5.5 or higher (1 step change); criterion B: 2.5-EDSS point increase if the baseline EDSS score was 0, 2.0-point increase if it was 1.0 to 4.0, 1.5-point increase if it was 4.5 to 5.0, and 1.0-point increase if it was 5.5 or higher (2 step changes); and criterion C: 3.5-EDSS point increase if the baseline EDSS score was 0, 3-point increase if it was 1.0 to 3.0, 2.5-point increase if it was 3.5 to 4.0, 2-point increase if it was 4.5 to 5.0, and 1.5-point increase if it was 5.5 or higher (3 step changes). Nonresponder percentages between treatment groups were compared with the χ^2 test or Fisher exact test (when appropriate).

The MSFC changes from trial baseline were calculated from month 6 of the trial to avoid interference with learning effects.³³ Wilcoxon tests (between-groups comparison) and Wilcoxon rank sum tests (intragroup comparison) were used to compare the change in MSFC and EDSS scores, neuropsychological test scores, safety, and MRI variables over time between treatment groups. Two-sided statistical tests were used.

Correlation Between In-Trial Changes and Progression as Measured by EDSS Score After Trial Termination

Correlations between in-trial changes in MSFC score, T1LV, T2LV, BPF, and total number of ALs and changes in EDSS scores from trial termination to 5-year-without-treatment follow-up were performed, considering the whole sample of patients independently of their treatment group. Spearman correlation coefficients were calculated.

All statistical analyses were performed using SAS statistical software, version 8.2 (SAS Institute, Inc, Cary, North Carolina). The level of statistical significance was set at $P < .05$. All assumptions for each test (when necessary) were checked for violations.

RESULTS

PATIENT DISPOSITION AND DEMOGRAPHIC CHARACTERISTICS

Sixty-seven of the 73 initially randomized patients had completed the clinical trial.⁸ Four of these 67 could not

be included in the follow-up: 2 from the interferon group (1 loss of follow-up and 1 death after trial completion) and 2 from the placebo group (1 loss of follow-up and 1 death after trial completion). Thus, the study sample consisted of 63 patients. Thirty-two had received interferon beta-1b and 31 had received placebo. Four patients (2 within each treatment group) had only telephone EDSS assessment²⁰ without MSFC assessment, but the remaining 59 had both assessments. Fifty patients of these 59 (25 from each group) underwent MRI. Demographic features are listed in **Table 1**.

STUDY END POINTS

Assessment at 5-Year-Without-Treatment Follow-up

Patients from the interferon beta-1b group had better scores on the 9-HPT ($P = .02$) and the WLGT ($P < .001$). No significant differences were observed in any other clinical or neuropsychological variable (Table 1). Regarding the MRI variables, no significant differences were observed in T1LV, T2LV, the proportion of patients with ALs, or the mean number of ALs per patient. Patients in the interferon beta-1b group showed significantly higher MTR measurements (Table 1).

Changes From Trial Termination to 5-Year-Without-Treatment Follow-up

Both groups scored worse on the EDSS ($P = .002$ for the interferon beta-1b group and $P < .001$ for the placebo group) and MSFC ($P < .001$, for both groups) measures. Such worsening, as well as the proportion of nonresponders, was not significantly different between groups (**Table 2**).

Both groups worsened over time in T1LV ($P < .001$), but only the interferon beta-1b group significantly worsened in T2LV ($P = .02$). However, no differences were observed in these changes between groups. Both groups significantly worsened regarding their BPF ($P < .001$). Some improvement was observed in the NAWM mean MTR ($P = .001$) and the NAWM peak location MTR ($P < .001$) in the interferon beta-1b arm (Table 2).

Changes From Trial Baseline to 5-Year-Without-Treatment Follow-up

Both groups scored worse on the EDSS ($P < .001$) and MSFC ($P < .001$ for the interferon beta-1b group and $P = .001$ for the placebo group) measures except on the PASAT z subtest. However, neither this worsening nor the proportion of nonresponders was significantly different between groups (Table 2).

Both groups increased their T1LV and T2LV over time ($P < .001$ for both groups) and worsened regarding their BPF ($P < .001$ for both). Changes in BPF were different ($P = .004$) between groups, favoring the interferon beta-1b group. Changes in MTR variables were not significantly different between groups (Table 2).

Regarding the neuropsychological data, although patients within the interferon beta-1b group only worsened significantly on the WLGT ($P = .004$), patients within

Table 1. Demographic, Clinical, Cognitive, and MRI Variables at 5-Year-Without-Treatment Follow-up

Variable ^a	Interferon Beta-1b ^b	Placebo ^b	P Value ^c
Age, y	57 (40 to 71)	55 (39 to 71)	.34
Male, No. (%)	11 (37)	18 (62)	.05 ^d
Disease duration, y	16 (8 to 39)	16 (8 to 39)	.73
EDSS score ^e	6.5 (4.0 to 9.5)	6.5 (4.0 to 9.5)	.84
9-HPT z score	0.32 (-3.29 to 2.19)	-0.90 (-3.29 to 1.93)	.02
PASAT z score	0.48 (-2.19 to 1.72)	0.55 (-2.19 to 1.72)	.66
MSFC z score	-0.53 (-3.07 to 1.29)	-0.49 (-3.07 to 1.18)	.46
Ambulation Index score	0.78 (-0.59 to 13.70)	-0.13 (-0.54 to 13.70)	.62
BDI score	8 (0 to 34)	8.5 (1 to 31)	>.99
SIP score	20.23 (9.59 to 36.70)	28.99 (0 to 43.48)	.19
Fatigue Severity Scale score, mean (SD)	5.47 (1.07)	4.97 (1.31)	.20
Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Tests scores ³			
Spatial Recall Test	18 (10 to 27)	17 (8 to 28)	.73
Spatial Recall Test: delayed recall	6 (0 to 10)	5 (1 to 10)	.50
Spatial Recall Test: total	24 (13 to 37)	22 (11 to 38)	.66
SDMT	37.5 (4.0 to 72.0)	32.0 (10.0 to 60.0)	.32
WLGT	19.0 (9.0 to 28.0)	11.5 (6.0 to 22.0)	<.001
Selective Reminding Test ^f	87 (19 to 145)	80 (4 to 145)	.22
MRI variables ³			
T1LV, mm ³	6071.09 (411.99 to 29 276.90)	10 448.46 (1161.58 to 35 599.50)	.22
T2LV, mm ³	14 502.53 (1553.50 to 74 947.40)	25 311.48 (4594.8 to 82 772.20)	.16
Patients with ALs, No. (%)	9 (30)	8 (28)	.76 ^d
No. of ALs	0 (0 to 12)	0 (0 to 10)	.83
BPF	72.86 (58.13 to 79.13)	70.71 (58.87 to 75.75)	.07
NAWM mean MTR	39.54 (37.35 to 40.82)	38.64 (35.67 to 40.69)	.02
NAWM PL MTR	40 (38 to 42)	39 (36 to 41)	.009
NAWM PH MTR	0.09 (0.07 to 0.10)	0.08 (0.06 to 0.10)	.03

Abbreviations: ALs, active lesions (defined as new and enlarging lesions observed in the current scan [at 5-year-without-treatment follow-up] when compared with the previous scan performed at the end of the clinical trial); BDI, Beck Depression Inventory; BPF, brain parenchymal fraction; EDSS, Expanded Disability Status Scale; MRI, magnetic resonance imaging; MSFC, Multiple Sclerosis Functional Composite; MTR, magnetization transfer ratio; NAWM, normal-appearing white matter; 9-HPT, 9-Hole Peg Test; PASAT, Paced Auditory Serial Addition Test; PH, peak height; PL, peak location (mean PL and PH are MTR histogram variables); SDMT, Symbol Digit Modalities Test; SIP, Sickness Impact Profile; T1LV, T1-weighted lesion volume; T2LV, T2-weighted lesion volume; WLGT, Word List Generation Test.

^aAll values shown as median (range), except where indicated.

^bFor MRI variables, n=25 for each group; for the other variables, n=30 for the interferon beta-1b group and n=29 for the placebo group.

^cThe Wilcoxon test was used for all comparisons except for sex and patients.

^d χ^2 Test.

^eSample sizes are 32 for the interferon beta-1b group and 31 for the placebo group.

^fMeasures long-term storage plus consistent long-term storage plus total delay.

the placebo group worsened on the delayed version of the Spatial Recall Test ($P=.03$), the Symbol Digit Modalities Test ($P<.001$), and the WLGT ($P<.001$) (Table 3). Changes in the delayed version of the Selective Reminding Test were significantly different between the 2 groups ($P=.04$) in favor of the interferon beta-1b group. No other significant differences were seen between groups (Table 3).

Correlation Between In-Trial MRI and Clinical Changes and EDSS Changes After Trial Termination

The total number of ALs during the trial significantly correlated with EDSS changes from trial termination to 5-year-without-treatment follow-up (correlation coefficient=0.36, $P=.004$). No other significant correlations were obtained (eTable 1; <http://www.archneuro.com>).

At 5-year-without-treatment follow-up, the interferon beta-1b group scored higher on the Ashworth scale than the placebo group. However, no differences were observed in changes from trial baseline to 5-year-without-treatment follow-up in any of the safety variables (eTable 2).

COMMENT

Our results suggest that treatment with interferon beta-1b could have a modest long-term effect on clinical and MRI variables in patients with PPMS. The first piece of evidence supporting this statement is the fact that after a period of 5 years without treatment, patients from the interferon beta-1b group had better scores on the 9-HPT and on some neuropsychological tests. This finding is in keeping with that of patients taking interferon beta-1b who obtained better MSFC z scores than the placebo group in all time points from month 6 to month 24 during the double-blind phase of this trial.⁶ Of interest, the IMPACT (Intramuscular Interferon Beta-1a in Secondary Progressive MS) trial³ and the trial of interferon beta-1a in PPMS⁶ also showed a positive effect of interferon beta on the 9-HPT, and a trial with low-dose methotrexate in progressive MS showed less clinical progression as measured by the 9-HPT in those patients who received treatment.³⁴ It was then suggested that measures of upper limb function might be more sensitive to change than measures of lower limb function because patients with PPMS

Table 2. Clinical and MRI Changes Over Time

Variable	Changes From Trial Termination to 5-Year-Without-Treatment Follow-up					Changes From Trial Baseline to 5-Year-Without-Treatment Follow-up				
	Interferon Beta-1b ^a		Placebo ^a		Comparison of Interferon Beta-1b vs Placebo, P Value ^d	Interferon Beta-1b ^a		Placebo ^a		Comparison of Interferon Beta-1b vs Placebo, P Value ^d
	Change ^b	P Value ^c	Change ^b	P Value ^c		Change ^b	P Value ^c	Change ^b	P Value ^c	
Test^e										
MSFC z score	-0.36 (-2.22 to 0.48)	<.001	-0.49 (-2.70 to 0.56)	<.001	.66	-0.41 (-2.30 to 1.28)	<.001	-0.57 (-2.77 to 0.31)	.001	.52
9-HPT z score	-0.48 (-1.91 to 0.97)	<.001	-0.67 (-4.17 to 0.39)	<.001	.63	-0.69 (-2.61 to 2.35)	.001	-1.11 (-4.57 to 0.65)	<.001	.17
PASAT z score	-0.13 (-0.98 to 0.52)	.04	-0.13 (-2.15 to 0.46)	.005	.67	0.07 (-1.70 to 1.17)	.76	-0.07 (-2.02 to 1.37)	.14	.24
AI z score	0.36 (-1.17 to 7.46)	.04	0.46 (-1.10 to 7.46)	.04	.84	0.78 (-1.17 to 7.46)	.03	0.33 (-1.05 to 7.46)	.04	.61
EDSS score	0.8 (-2.0 to 2.5)	.002	0.5 (-0.5 to 3.0)	<.001	.55	1.5 (-2.5 to 5.0)	<.001	1.5 (-0.5 to 3.5)	<.001	.64
Nonresponders, %^f										
Criterion A	59.26	...	53.8569	70.97	...	67.7478
Criterion B	45.16	...	35.4844	58.06	...	54.8480
Criterion C	16.13	...	12.90	...	>.99	25.81	...	38.7128
MRI variables										
T1LV	726.70 (-517.85 to 7249.90)	<.001	952.72 (94.41 to 6800.70)	<.001	.15	832.55 (134.56 to 8854.94)	<.001	1856.80 (-1342.02 to 9432.80)	<.001	.10
T2LV	466.30 (-3467.60 to 10408.40)	.02	183.1 (-11203.8 to 7249.8)	.39	.44	2265.9 (-303.30 to 12754.40)	<.001	2986.90 (-9773.30 to 13226.50)	<.001	.17
BPF	-1.33 (-4.79 to 2.00)	<.001	-2.36 (-6.25 to 0.55)	<.001	.09	-1.78 (-6.99 to 1.29)	<.001	-3.16 (-6.87 to 2.37)	<.001	.004
NAWM mean	0.61 (-1.55 to 3.10)	.001	0.08 (-2.81 to 2.23)	.84	.09	0.04 (-1.76 to 1.9)	.84	0.001 (-2.77 to 3.570)	.68	.74
MTR	1 (-1 to 2)	<.001	0 (-3 to 3)	.44	.05	0 (-1 to 2)	.06	0 (-3 to 2)	>.99	.34
NAWM PL MTR	-0.001 (-0.017 to 0.016)	.70	-0.003 (-0.025 to 0.013)	.049	.26	-0.003 (-0.022 to 0.016)	.04	-0.004 (-0.027 to 0.017)	.12	.90

Abbreviations: AI, Ambulation Index; BPF, brain parenchymal fraction; EDSS, Expanded Disability Status Scale; ellipses, not applicable; MRI, magnetic resonance imaging; MSFC, Multiple Sclerosis Functional Composite; MTR, magnetization transfer ratio; NAWM, normal-appearing white matter; 9-HPT, 9-Hole Peg Test; PASAT, Paced Auditory Serial Addition Test; PH, peak height; PL, peak location (mean PL and PH are MTR histogram variables); T1LV, T1-weighted lesion volume; T2LV, T2-weighted lesion volume.

^an=25.

^bMedian change (range).

^cWilcoxon test.

^dSigned rank test.

^eAll clinical changes (except changes in the EDSS score) were considered from month 6 of the trial. Sample sizes are 32 for the interferon beta-1b group and 31 for the placebo group. For the MSFC z score and subscores, negative changes imply clinical worsening. For the EDSS and AI scores, positive changes imply clinical worsening.

^fDepending on the amount of change of EDSS score, we defined responders and nonresponders according to 3 different criteria. For criteria A and B, we used the χ^2 test to calculate P values. For criterion C, we used the Fisher exact test to calculate P values.

Table 3. Changes in the Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Test Scores Over Time

Test	Change From Trial Baseline to 5-Year-Without-Treatment Follow-up				
	Interferon Beta-1b ^a		Placebo ^b		Comparison Between Treatment Arms, P Value ^e
	Change ^c	P Value ^d	Change ^c	P Value ^d	
Spatial Recall Test	-1 (-7 to 7)	.43	-1 (-10 to 7)	.15	.54
Spatial Recall Test: delayed recall	0 (-4 to 4)	.56	-1 (-6 to 3)	.03	.04
Spatial Recall Test: total	-1 (-9 to 11)	.61	-2 (-15 to 8)	.09	.28
SDMT	-4 (-13 to 13)	.13	-5 (-22 to 5)	<.001	.20
WLGT	-3 (-12 to 6)	.004	-5 (-22 to 6)	<.001	.05
Selective Reminding Test	3 (-21 to 35)	.19	-4 (-23 to 26)	.96	.35

Abbreviations: SDMT, Symbol Digit Modalities Test; WLGT, Word List Generation Test.

^an=30.

^bn=29.

^cMedian (range).

^dWilcoxon test.

^eSigned rank test.

achieve high levels of lower limb dysfunction at earlier stages of the disease.⁶

Furthermore, after 5 years without treatment, patients in the placebo group showed lower NAWM MTR measures and a trend toward a lower BPF. It is known that lower NAWM MTR measures chiefly reflect higher levels of demyelination in the NAWM (ie, outside the lesions),³⁵ and a lower BPF probably reflects a higher degree of neuroaxonal loss³⁶ in the entire brain. Instead, the MRI measures directly related to lesions were not significantly different between treatment arms after 5 years without treatment, although significant differences had been observed in those variables during the trial.⁸ This finding suggests a delayed effect of interferon beta-1b treatment on nonlesional tissue, which might be observed years after treatment termination, in contrast to a rapid but brief beneficial effect on lesion variables. The clinical underpinnings of this time shift in observed MRI beneficial effects have yet to be determined.

Changes from the end of the trial to the 5-year-without-treatment follow-up also were investigated to detect possible delayed effects of interferon beta-1b. We failed to demonstrate different behavior in the 2 treatment arms in terms of clinical evolution after the trial. However, MRI measures, such as BPF and NAWM MTR, showed borderline significant differences between groups, favoring the interferon beta-1b arm and suggesting some treatment effect on nonlesional tissue, which might be seen even after years of treatment termination.

However, because a 2-year treatment input could be too short to observe delayed effects after 5 years without treatment, the investigation of changes from trial baseline to the 5-year-without-treatment follow-up was performed. No significant differences were seen between treatment arms in worsening scores on the EDSS or MSFC. Nevertheless, the interferon beta-1b group showed better evolution than the placebo group regarding verbal delayed memory and verbal fluency, an aspect of the executive function. Along the same lines and during the same period, the placebo group developed significantly more brain atrophy than the interferon beta-1b group. However, from the present data it is not possible to determine whether the delayed beneficial effect of interferon beta-1b on brain atrophy represents the pathologic substrate of clinically observed neuropsychological effects of interferon beta-1b.

Finally, the in-trial total number of ALs correlated with worsening EDSS score from trial termination to 5-year-without-treatment follow-up. This is relevant because one of the most remarkable effects of interferon beta-1b during the trial was the reduction of ALs,⁸ which indicates that, even in PPMS, in which the role of lesion load is less clear than in relapse-onset MS,⁴ inflammatory activity could indeed play a part in the accrual of disability, as previously suggested.^{37,38} Moreover, it seems that it is precisely the presence of new or enlarging lesions that determines most of the clinical progression, as noted in the 5-year assessment of the PPMS Magnetic Imaging in Multiple Sclerosis cohort.³⁷ Our findings also agreed with those of the recently published trial with rituximab in PPMS,⁹ in which some positive treatment effect was observed in younger patients with inflammatory lesions.

We also confirmed the safety profile of interferon beta-1b and provided the longest follow-up of a cohort

of patients with PPMS from a clinical trial, to our knowledge. The interpretation of these results is reinforced by the high proportion of patients who participated in this extension study. However, some patients, probably the most disabled ones, dropped out of the study. Therefore, the remaining, less disabled group might not have been fully representative of the whole population. Although the negative results of previous trials on PPMS have been attributed to the lack of progression of the study population,⁷ the exact impact of dropouts on our results cannot be known with certainty.

Another limitation is that no gadolinium-enhanced imaging was performed, reducing the possibility of knowing the degree of inflammatory activity at baseline and therefore preventing us from investigating its influence on all subsequent analyses. Furthermore, several statistical tests were performed, placing us in jeopardy of committing a type I error at a much higher rate than 0.05, which is also a limitation to this study. Nevertheless, considering the exploratory nature of this study, we thought it was not appropriate to adjust for multiple comparisons.³⁹

In conclusion, our results showed a modest but beneficial effect of interferon beta-1b on clinical variables and on the MRI measures reflecting nonlesional damage 5 years after trial termination. This finding, together with the fact that in-trial lesion activity was associated with progression of disease as measured by worsening EDSS scores after trial termination, provides some evidence that immunomodulation could be explored still further in the search for an effective treatment for PPMS.

Accepted for Publication: March 19, 2011.

Correspondence: Xavier Montalban, PhD, Clinical Neuroimmunology Unit, Multiple Sclerosis Centre of Catalonia, Autonomous University of Barcelona, Centre d'Anàlisi i Recerca en Neuroimatge i Esclerosi Múltiple-Vall d'Hebron University Hospital, Escola Universitària d'Infermeria 2^a planta, Passeig de la Vall d'Hebron 119-129, 08035 Barcelona, Spain (xavier.montalban@unic-em.com).

Author Contributions: *Study concept and design:* Montalban, Tintoré, Nos, and Rovira. *Acquisition of data:* Montalban, Tintoré, Nos, Río, Aymerich, Brieva, Téllez, Galán, and Rovira. *Analysis and interpretation of data:* Tur, Montalban, Río, Aymerich, Perkal, Comabella, Galán, Calle, Sastre-Garriga, and Rovira. *Drafting of the manuscript:* Tur. *Critical revision of the manuscript for important intellectual content:* Montalban, Tintoré, Nos, Río, Aymerich, Brieva, Téllez, Perkal, Comabella, Galán, Calle, Sastre-Garriga, and Rovira. *Statistical analysis:* Calle. *Study supervision:* Montalban, Perkal, Sastre-Garriga, and Rovira. **Financial Disclosure:** Dr Tur was funded by the Multiple Sclerosis International Federation (Ian McDonald Fellowship) and has received honoraria and support for travel from the Serono Symposia International Foundation and sanofi-aventis. Dr Montalban serves on scientific advisory boards for Novartis AG, Teva Pharmaceutical Industries Ltd, Merck Serono S.A., Biogen Idec, and Bayer Schering Pharma; has received funding for travel and speaker honoraria from Novartis AG, Teva Pharmaceutical Industries Ltd, Merck Serono S.A., Biogen Idec, sanofi-aventis, and Bayer Schering Pharma; serves on the

editorial boards of *Multiple Sclerosis Journal*, *Journal of Neurology*, *The International MS Journal*, *Revista de Neurología*, and *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*; serves as a consultant to Bayer Schering Pharma, Biogen Idec, Merck Serono S.A., Teva Pharmaceutical Industries Ltd, sanofi-aventis, Novartis AG, Almirall S.A., and Eli Lilly and Company; has received research support for clinical trials from Genentech Inc, Genzyme Corporation, Wyeth, and the organizations for which she has served as a consultant, and receives research support from the Fundació Esclerosi Múltiple. Dr Tintoré has served on scientific advisory boards for Teva Pharmaceutical Industries Ltd, Novartis AG, and sanofi-aventis and has received funding for travel and speaker honoraria from Bayer Schering Pharma, Merck Serono S.A., Teva Pharmaceutical Industries Ltd, sanofi-aventis, Biogen Idec, and Novartis AG. Dr Rovira serves on the editorial board of the *American Journal of Neuroradiology* and *Neuroradiology* and has received speaker honoraria from Bayer Schering Pharma, sanofi-aventis, Bracco S.p.A., Merck Serono S.A., Teva Pharmaceutical Industries Ltd, and Biogen Idec; receives research support from Bayer Schering Pharma; and serves as a consultant for Novartis AG.

Funding/Support: The present study was sponsored by Schering España S.A.

Online-Only Material: The eTables are available at <http://www.archneuro.com>.

Additional Contributions: We thank all patients for their participation in the trial and in the extension; we extend special thanks to the nurses (María José Vicente, BN, and Rosalía Horno, BN), without whom this study never would have been performed.

REFERENCES

- Kappos L; European Study Group on Interferon β -1b in Secondary Progressive MS. Placebo-controlled multicentre randomised trial of interferon β -1b in treatment of secondary progressive multiple sclerosis. *Lancet*. 1998;352(9139):1491-1497.
- Panitch H, Miller A, Paty D, Weinshenker B; North American Study Group on Interferon beta-1b in Secondary Progressive MS. Interferon beta-1b in secondary progressive MS: results from a 3-year controlled study. *Neurology*. 2004;63(10):1788-1795.
- Cohen JA, Cutter GR, Fischer JS, et al; IMPACT Investigators. Benefit of interferon β -1a on MSFC progression in secondary progressive MS. *Neurology*. 2002;59(5):679-687.
- Thompson AJ, Polman CH, Miller DH, et al. Primary progressive multiple sclerosis. *Brain*. 1997;120(pt 6):1085-1096.
- Thompson AJ, Montalban X, Barkhof F, et al. Diagnostic criteria for primary progressive multiple sclerosis: a position paper. *Ann Neurol*. 2000;47(6):831-835.
- Leary SM, Miller DH, Stevenson VL, Brex PA, Chard DT, Thompson AJ. Interferon β -1a in primary progressive MS: an exploratory, randomized, controlled trial. *Neurology*. 2003;60(1):44-51.
- Wolinsky JS, Narayana PA, O'Connor P, et al; PROMiSe Trial Study Group. Glatiramer acetate in primary progressive multiple sclerosis: results of a multinational, multicenter, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Neurol*. 2007;61(1):14-24.
- Montalban X, Sastre-Garriga J, Tintoré M, et al. A single-center, randomized, double-blind, placebo-controlled study of interferon beta-1b on primary progressive and transitional multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2009;15(10):1195-1205.
- Hawker K, O'Connor P, Freedman MS, et al; OLYMPUS Trial Group. Rituximab in patients with primary progressive multiple sclerosis: results of a randomized double-blind placebo-controlled multicenter trial. *Ann Neurol*. 2009;66(4):460-471.
- Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an Expanded Disability Status Scale (EDSS). *Neurology*. 1983;33(11):1444-1452.
- Cutter GR, Baier ML, Rudick RA, et al. Development of a multiple sclerosis functional composite as a clinical trial outcome measure. *Brain*. 1999;122(pt 5):871-882.
- Río J, Rovira A, Tintoré M, et al. Relationship between MRI lesion activity and response to IFN- β in relapsing-remitting multiple sclerosis patients. *Mult Scler*. 2008;14(4):479-484.
- Chiu AW, Richert N, Ehrmantraut M, et al. Heterogeneity in response to interferon beta in patients with multiple sclerosis: a 3-year monthly imaging study. *Arch Neurol*. 2009;66(1):39-43.
- Río J, Comabella M, Montalban X. Predicting responders to therapies for multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol*. 2009;5(10):553-560.
- Bosma LV, Kragt JJ, Brieva L, et al. The search for responsive clinical endpoints in primary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2009;15(6):715-720.
- Bohannon RW, Smith MB. Interrater reliability of a modified Ashworth scale of muscle spasticity. *Phys Ther*. 1987;67(2):206-207.
- Beck AT, Ward CH, Mendelson M, Mock J, Erbaugh J. An inventory for measuring depression. *Arch Gen Psychiatry*. 1961;4:561-571.
- Krupp LB, LaRocca NG, Muir-Nash J, Steinberg AD. The fatigue severity scale: application to patients with multiple sclerosis and systemic lupus erythematosus. *Arch Neurol*. 1989;46(10):1121-1123.
- Pollard WE, Bobbitt RA, Bergner M, Martin DP, Gilson BS. The Sickness Impact Profile: reliability of a health status measure. *Med Care*. 1976;14(2):146-155.
- Lublin FD, Whitaker JN, Eidelman BH, Miller AE, Arnason BG, Burks JS. Management of patients receiving interferon beta-1b for multiple sclerosis: report of a consensus conference. *Neurology*. 1996;46(1):12-18.
- Bramanti P, Sessa E, Rifici C, et al. Enhanced spasticity in primary progressive MS patients treated with interferon beta-1b. *Neurology*. 1998;51(6):1720-1723.
- Walther EU, Hohlfeld R. Multiple sclerosis: side effects of interferon beta therapy and their management. *Neurology*. 1999;53(8):1622-1627.
- Knobler RL. Systemic interferon therapy of multiple sclerosis: the pros. *Neurology*. 1988;38(7)(suppl 2):58-61.
- Jacobs LD, Beck RW, Simon JH, et al; CHAMPS Study Group. Intramuscular interferon beta-1a therapy initiated during a first demyelinating event in multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2000;343(13):898-904.
- Fischer JS, Jak AJ, Kniker JE, Rudick RA, Cutter GR. *Administration and Scoring Manual for the Multiple Sclerosis Functional Composite Measure (MSFC)*. 1st ed. London, England: UniTECH Communications; 1999.
- Lechner-Scott J, Kappos L, Hofman M, et al. Can the Expanded Disability Status Scale be assessed by telephone? *Mult Scler*. 2003;9(2):154-159.
- Rao SM, Leo GJ, Bernardin L, Unverzagt F. Cognitive dysfunction in multiple sclerosis. I: frequency, patterns, and prediction. *Neurology*. 1991;41(5):685-691.
- Plummer DL. A display and analysis tool for medical images [in Italian]. *Riv Neuroradiol*. 1992;9:489-495.
- Aymerich FX, Sobrevilla P, Montseny E, Gil J, Rovira A. Fuzzy approach to lesion load measurements in T1-weighted images. *Mult Scler*. 2001;7(1)(suppl):67.
- Aymerich FX, Sobrevilla P, Montseny E, Alonso J, Gil J, Rovira A. Application of an automatic segmentation algorithm to brain atrophy assessment in multiple sclerosis. *Rev Neurol (Paris)*. 2000;156(S3):103-104.
- Molyneux PD, Miller DH, Filippi M, et al. Visual analysis of serial T2-weighted MRI in multiple sclerosis: intra- and interobserver reproducibility. *Neuroradiology*. 1999;41(12):882-888.
- Río J, Nos C, Tintoré M, et al. Defining the response to interferon- β in relapsing-remitting multiple sclerosis patients. *Ann Neurol*. 2006;59(2):344-352.
- Cohen JA, Cutter GR, Fischer JS, et al. Use of the multiple sclerosis functional composite as an outcome measure in a phase 3 clinical trial. *Arch Neurol*. 2001;58(6):961-967.
- Goodkin DE, Rudick RA, Vanderbrug Medendorp S, et al. Low-dose (7.5 mg) oral methotrexate reduces the rate of progression in chronic progressive multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 1995;37(1):30-40.
- Schmierer K, Scaravilli F, Altmann DR, Barker GJ, Miller DH. Magnetization transfer ratio and myelin in postmortem multiple sclerosis brain. *Ann Neurol*. 2004;56(3):407-415.
- Miller DH, Barkhof F, Frank JA, Parker GJM, Thompson AJ. Measurement of atrophy in multiple sclerosis: pathological basis, methodological aspects and clinical relevance. *Brain*. 2002;125(pt 8):1676-1699.
- Sastre-Garriga J, Ingle GT, Rovaris M, et al. Long-term clinical outcome of primary progressive MS: predictive value of clinical and MRI data. *Neurology*. 2005;65(4):633-635.
- Ingle GT, Sastre-Garriga J, Miller DH, Thompson AJ. Is inflammation important in early PPMS? a longitudinal MRI study. *J Neural Neurosurg Psychiatry*. 2005;76(9):1255-1258.
- Rothman KJ. No adjustments are needed for multiple comparisons. *Epidemiology*. 1990;1(1):43-46.

VII. DISCUSIÓN DE LOS PRINCIPALES HALLAZGOS

Los trabajos que conforman esta tesis son tres estudios independientes sobre dos cohortes de pacientes con EMPP que tienen enfoques y objetivos distintos, pero cuya última finalidad fue la misma: aumentar nuestro conocimiento sobre el sustrato patológico último del aumento de la discapacidad.

En los dos primeros estudios, donde se trabajó la misma cohorte desde dos puntos de vista diferentes, la búsqueda de ese sustrato último se expuso de forma directa en los objetivos de cada uno de ellos y las herramientas de imagen utilizadas permitieron adentrarnos en los pormenores de cada tejido, ofreciendo la posibilidad de examinar la SG de forma independiente de la SB y de las lesiones visibles. En cambio, en el tercer trabajo, donde los parámetros de imagen empleados no hicieron posible un examen tan detallado del daño tisular como en los dos primeros -no se investigaron parámetros específicos de SG- el análisis de dicho sustrato patológico se realizó a través de una situación privilegiada, derivada de la presencia de una intervención inmune en la mitad de los participantes cinco años atrás. Esta situación de privilegio -hasta donde llega nuestro conocimiento, a día de hoy, no hay ningún estudio de seguimiento a tan largo plazo de una cohorte que haya participado en un ensayo clínico en esta forma de la enfermedad como el que presentamos- multiplicó la posibilidad de hallar explicaciones plausibles sobre el incremento de la discapacidad.

Si bien de cada trabajo se extraen conclusiones independientes, que para nada necesitan de los dos otros trabajos para ser comprendidas, es asimismo cierto que tales conclusiones comparten aspectos cruciales que justifican una discusión conjunta. El hecho de que dichas conclusiones sean, además, complementarias hace aún más atractiva esta discusión conjunta. La **FIGURA VII-1** muestra de forma esquemática el diseño de cada uno de los trabajos.

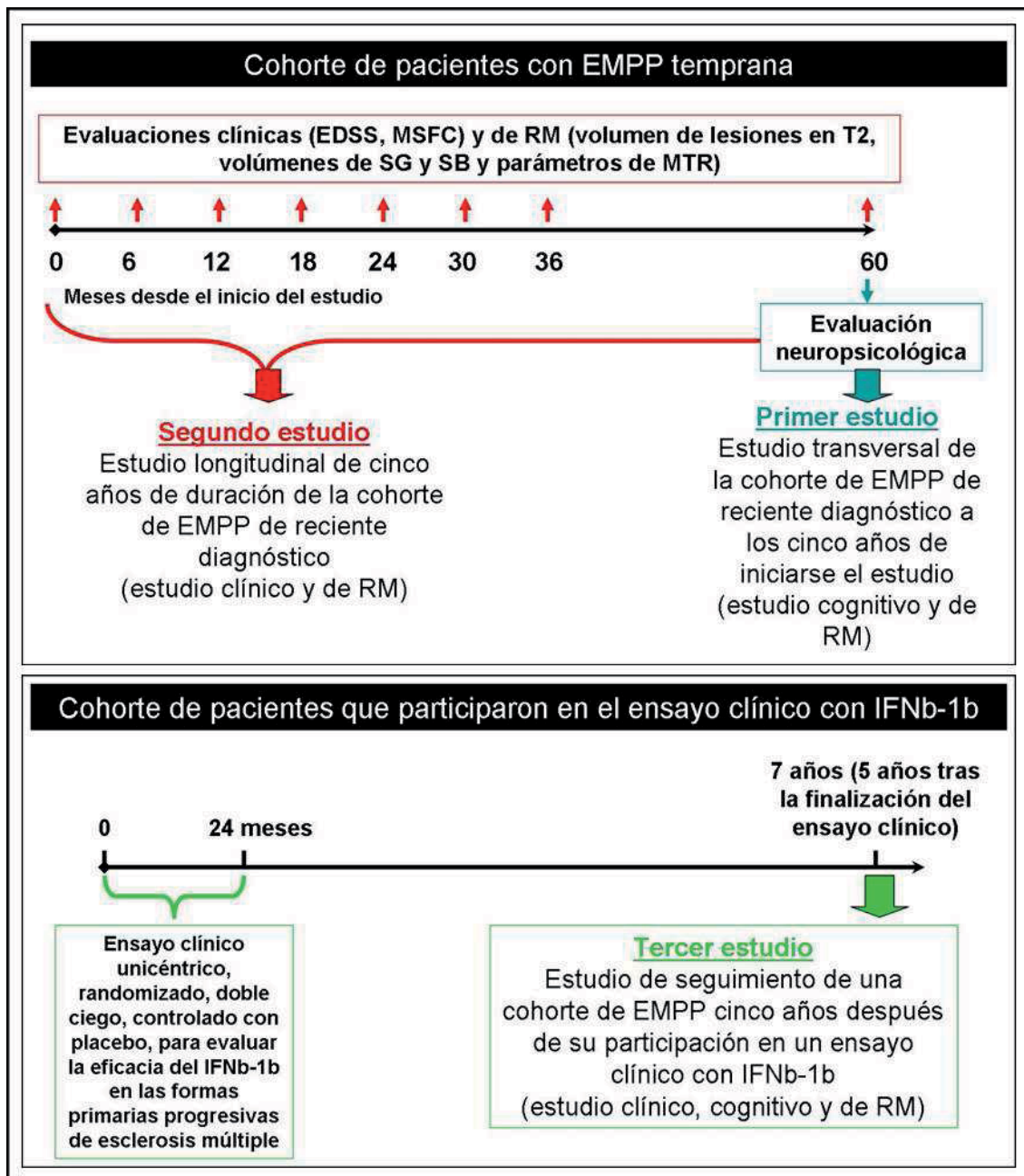


FIGURA VII-1. Esquema de los tres estudios de este trabajo. El primer y el segundo estudios fueron realizados sobre la misma cohorte, la cohorte londinense (*Queen Square, Institute of Neurology, London, UK*) y el tercero fue realizado sobre la cohorte de Barcelona. Abreviaturas: EDSS: *Expanded Disability Status Scale*; IFNb-1b: interferón beta-1b; MSFC: *Multiple Sclerosis Functional Composite*; RM: resonancia magnética.

El primer trabajo es un estudio transversal de una cohorte de pacientes con EMPP. En él se analizaron datos de RM y neuropsicológicos en una cohorte que había participado en un gran estudio longitudinal, siendo el análisis que presentamos aquel realizado a los cinco años de haberse iniciado dicho estudio longitudinal. Cabe mencionar aquí que la cohorte inicial había sido

seleccionada por estar formada por pacientes con EMPP temprana, es decir, por pacientes diagnosticados dentro de los cinco primeros años desde el inicio de los síntomas. El análisis que presentamos, no obstante, se realizó cuando la cohorte tenía ya una EMPP *establecida* (no temprana) y esencialmente muestra la supremacía de la afectación de la SG a la hora de explicar los síntomas cognitivos. El motivo de exponer este trabajo en primer lugar es que su diseño transversal y su menor complejidad estadística lo hacen ideal como introductorio de los otros dos.

El segundo trabajo es un estudio longitudinal a cinco años de la cohorte de EMPP que luego participó en el estudio transversal cognitivo correspondiente al primer estudio. En este segundo trabajo la principal conclusión es que el abordaje global del daño cerebral es la estrategia idónea para investigar la aparición de la discapacidad irreversible. Es decir, el estudio muestra que contemplar el daño ocurrido en la SB y el que tiene lugar en la SG de forma conjunta mejora significativamente la explicación del deterioro clínico en comparación a contemplar estos daños por separado.

Finalmente, el tercer trabajo supone el estudio de la cohorte de pacientes que participó en el ensayo clínico con IFN β -1b para formas primarias progresivas llevado a cabo en la Unidad de Neuroinmunología Clínica del Hospital Vall d'Hebron entre los años 1998 y 2000, cinco años después de haber finalizado éste. En este trabajo, de una gran complejidad por el número de factores a tener en cuenta, la conclusión principal es que la intervención inmune en la EMPP puede ser todavía explorada como estrategia terapéutica válida en estos pacientes. Para llegar a esta conclusión nos basamos en el hecho de que, tras cinco años de finalizar el tratamiento, se observaron ciertos indicios de eficacia del fármaco en cuanto a parámetros clínicos y de RM, estos últimos relacionados con la afectación del tejido de apariencia normal, concretamente, con la afectación de la SBAN; además, observamos que la actividad inflamatoria durante el ensayo clínico se correlacionó con la aparición posterior de discapacidad irreversible.

Así pues, y considerando los tres trabajos como partes de un todo, podemos decir que de ellos se derivan cuatro hallazgos importantes,

abriéndose así cuatro grandes líneas de discusión. La primera de ellas haría referencia al papel crucial de la SG en la discapacidad en las formas primarias progresivas. La segunda reflejaría la importancia, también en la aparición de discapacidad irreversible, de la afectación de la SB, tanto en forma de lesiones visibles como de daño microscópico en la SBAN, elementos probablemente muy relacionados entre ellos. Como un tercer punto de discusión tendríamos que la intervención inmune capaz de modificar, incluso en formas primarias progresivas, el volumen de lesiones y la SBAN, puede tener efectos beneficiosos desde un punto de vista clínico. Finalmente, y a modo de conclusión de los puntos anteriores, la cuarta línea de discusión estaría en relación con la necesidad de que toda investigación encaminada a conocer el sustrato patológico de la progresión de la discapacidad tenga en cuenta tanto la afectación de la SG como la de la SB, procesos ambos cruciales y probablemente en parte independientes el uno del otro. De la misma manera, en la búsqueda de tratamientos para ralentizar o incluso detener la aparición irreversible de discapacidad, es posible que solo aquellos abordajes terapéuticos que consigan frenar ambos procesos resulten ser eficaces.

1. La afectación de la sustancia gris

La afectación de la sustancia gris tiene un papel crucial en la aparición de discapacidad irreversible en la EMPP

Tanto el primer como el segundo estudios de esta tesis ponen de manifiesto que la afectación de la SG es crucial para la aparición de discapacidad irreversible en la EMPP. No obstante, es en el primero de estos, el estudio transversal cognitivo, donde queda más claramente expuesta esta idea. Así, los parámetros de RM que reflejaban daño en la SG, concretamente los parámetros de MTR (media, moda o pico asociado a la moda) de la SG, fueron los que mejor se correlacionaron:

- A) con el índice global de rendimiento cognitivo, que es una medida que da una información general del estado cognitivo del individuo (Penny et

al., 2010).

B) con las puntuaciones del *Hayling test* (Burgess PW. and Shallice T., 1997), el único test de función ejecutiva que mostró diferencias entre pacientes y controles.

C) con el empeoramiento estimado del cociente intelectual (CI) verbal, calculado mediante la extracción del CI verbal en el momento de la evaluación neuropsicológica al CI premórbido estimado mediante el test *NART* (Nelson HE., 1982).

En nuestro estudio se crearon tantos modelos como test neuropsicológicos fueron estudiados y se vio que para cada modelo tan solo una variable de RM resultaba ser significativa. Entonces, mediante el cálculo del CCP para cada una de las variables incluidas en todos y cada uno de los modelos, se pudo estudiar la contribución relativa del parámetro de RM de cada uno de ellos en el resultado de los diferentes test neuropsicológicos. Así pues, en aquellos modelos donde el parámetro de RM incluido reflejaba daño en la SG, el CCP correspondiente a dicho parámetro de RM era mayor que el correspondiente a los otros parámetros de RM de los otros modelos estadísticos, reflejando así el papel crucial del daño en la SG en la sintomatología cognitiva, probablemente superior al papel del daño en otros tejidos del SNC.

Además, observamos cómo la contribución nociva de dicho daño en la SG resultaba ser superior a la contribución beneficiosa de los años de educación recibidos. En cambio, esta circunstancia no se dio para otros modelos estadísticos en los que intervenía la afectación de la SBAN o el volumen de lesiones visibles.

De esta manera, poniendo de relieve la importancia de la SG en la función cognitiva de los pacientes con EMPP, apoyamos lo descrito en trabajos previos llevados a cabo no solo con EMPP (Penny et al., 2010) u otras formas de EM (Amato et al., 2007; Calabrese et al., 2009a; Morgen et al., 2006; Riccitelli et al., 2010), sino también con controles sanos (Burzynska et al., 2011). Concretamente, un estudio realizado con la misma cohorte de pacientes

que la utilizada en nuestro primer trabajo, mostró que la afectación de la SG en momentos muy precoces de la enfermedad podía predecir la aparición de disfunción ejecutiva a los cinco años (Penny et al., 2010). Así pues, los resultados obtenidos en este primer trabajo fueron de alguna manera esperados, sobre todo teniendo en cuenta que en la EM la SG parece deteriorarse a un ritmo superior al ritmo de deterioro de la SBAN (Fisher et al., 2008; Fisniku et al., 2008b; Rudick et al., 2009; Tedeschi et al., 2009), como también observamos en nuestros resultados. Posteriormente a la publicación de los estudios de esta tesis, otros trabajos han continuado mostrando que la integridad de la SG es decisiva a la hora de preservar la función cognitiva en los pacientes con EM (Batista et al., 2011; Roosendaal et al., 2011; Till et al., 2011).

Otro punto a discutir aquí es si existe una asociación relativamente específica entre el daño en la SG y la alteración de las de funciones ejecutivas, tal como sugieren nuestros resultados. Si bien este aspecto es mucho más difícil de demostrar que la relación entre SG y afectación cognitiva, hay en la literatura alguna evidencia de que tal especificidad podría realmente existir (Burzynska et al., 2011). En este sentido, en un trabajo reciente, realizado en una población sana, se ha descrito una asociación entre la preservación de la estructura cortical de regiones específicas con una mejor realización en diversas tareas relativas a las funciones ejecutivas (Burzynska et al., 2011). No obstante, son sin duda necesarios más estudios en esta dirección, con más individuos, en los que se administren baterías neuropsicológicas amplias que evalúen las funciones ejecutivas y en los que se usen técnicas de RM con marcadores más específicos del daño en la SG, como la determinación de glutamato mediante espectroscopía por RM de alto campo (3T o 7T) (Stephenson et al., 2011) o el estudio de la atrofia regional de la SG, mediante la técnica de *Voxel Based Morphometry* (Good et al., 2001).

Por otra parte, a pesar de que pueda existir una relación entre funciones ejecutivas y SG, es posible que la afectación de dicha SG tenga asimismo influencia en otras esferas de la cognición, tal como observamos en los nuestros pacientes con EMPP temprana que participaron en el estudio

longitudinal de cinco años de duración y tal como se ha sugerido en la literatura (Roosendaal et al., 2009; Roosendaal et al., 2011; Sastre-Garriga et al., 2009). En nuestro estudio longitudinal con EMPP temprana, si bien no se observaron cambios significativos en el PASAT a lo largo de los cinco años, sí se observó que los pacientes con una peor evolución temporal en este test presentaban un mayor deterioro en parámetros relativos a la SG, concretamente, en la moda de MTR de la SG. No obstante, los cambios en el volumen de lesiones también se correlacionaron con los cambios en el PASAT en este mismo periodo. Dado que por el tipo de modelo estadístico usado no se pudo discernir cuál de las dos variables de RM predominaba sobre la otra a la hora de explicar cambios concomitantes del PASAT, no podemos saber si los cambios en ambos tejidos (SG y lesiones) se habrían comportado como elementos independientes a la hora de explicar un empeoramiento en el test cognitivo, o bien los cambios en uno de ellos habrían anulado a los cambios en el otro. El motivo por el cual nuestros modelos estadísticos longitudinales no pudieron discernir cuál de las dos variables de RM predominaba sobre la otra a la hora de explicar los cambios concurrentes en el PASAT (y en ninguna otra variable clínica) fue que, en estos modelos estadísticos utilizados en esta parte de nuestro estudio (análisis de regresión lineal de modelo mixto), la variable de RM se tomó como la variable dependiente y el tiempo y la variable clínica se tomaron como variables independientes. Así pues, acabamos teniendo tantos modelos como variables de RM, pero en ningún caso reunimos dos variables de RM en el mismo modelo longitudinal. Sin duda, este es un punto que puede explorarse en futuros trabajos, donde los modelos que se creen tengan en cuenta las diferentes variables de RM a la vez, de cara a conocer cuál de ellas es la que predominantemente explica los cambios clínicos acontecidos durante el mismo periodo de tiempo.

De todas maneras, de haber sido capaces de comparar tales parámetros de RM directamente, en el caso de que se hubiesen anulado mutuamente o en el caso de que uno hubiese anulado al otro, ello habría querido decir que ambos parámetros de RM, al compartir en gran medida su variabilidad (o su varianza, en términos estadísticos), habrían estado probablemente muy relacionados entre ellos, tanto desde un punto de vista estadístico como

biológico, tal como parece que ocurre en las formas de EM de inicio en brotes (Roosendaal et al., 2011). Concretamente, Roosendaal et al. (2011) encontraron, en un estudio de más de 800 pacientes con EM predominantemente de inicio en brotes, en el que el volumen de SG, por otra parte el parámetro que mejor explicaba la discapacidad cognitiva y física, estaba significativamente relacionado con el volumen de lesiones en T1 y en T2.

Otros parámetros de RM que denotan afectación de la SG, como la pérdida de volumen, también se han asociado a la afectación cognitiva en la EM (Amato et al., 2007; Morgen et al., 2006). No obstante, nosotros no identificamos, en ninguno de nuestros estudios, variables relacionadas con la pérdida de volumen de la SG que predijeran la discapacidad cognitiva. Si bien ello podría significar que la afectación de la SG en la EMPP es sobre todo cualitativa, más que cuantitativa, y está dominada por una extensa desmielinización asociada a una amplia inflamación meníngea (Geurts and Barkhof, 2008; Kutzelnigg et al., 2005), esto no deja de ser una suposición.

En formas secundarias progresivas de la enfermedad también puede observarse inflamación meníngea. Ésta consiste en la presencia de folículos de células B y, aparte de asociarse a una intensa desmielinización cortical, también se ha asociado a la pérdida de somas neuronales (neurodegeneración), con la subsiguiente pérdida de volumen cortical (Magliozzi et al., 2010). Así pues, no habría sido descabellado hallar, en nuestros pacientes, a la vez que indicios de desmielinización de la SG, indicios de atrofia de este tejido. Todo ello revela la necesidad de más investigaciones en este sentido.

Pero el papel preponderante de la afectación de la SG en la EMPP no solo se puso de manifiesto a la hora de explicar los síntomas cognitivos de la enfermedad, sino también en la explicación de la discapacidad física. En el estudio longitudinal de la EMPP temprana, los parámetros de RM que denotaban afectación de la SG en el momento basal, concretamente los parámetros de MTR, junto con el VLT2, fueron aquellos parámetros que mejor predijeron la aparición de discapacidad irreversible medida por el TWT.

Además, fueron los cambios en los parámetros de MTR de la SG, junto con los cambios en el VLT2 a lo largo de los años, prácticamente los únicos parámetros de RM que mostraron una correlación con la aparición de discapacidad irreversible a lo largo de los cinco años que duró el estudio. Como excepción debe mencionarse que los cambios observados en el NHPT a lo largo del tiempo fueron también explicados por los cambios en los parámetros de MTR de la SBAN. Sin duda, esto podría dar pie a otro trabajo, en el que se investigara por qué los empeoramientos clínicos medidos por el NHPT pudieron explicarse por los cambios estructurales ocurridos en todos los tejidos, mientras que los empeoramientos en el resto de parámetros clínicos solamente pudieron explicarse por los cambios en uno u otro tejido, pero no en todos. Tal vez ello quiera decir que el NHPT es el más sensible de los parámetros clínicos disponibles, el que mejor detecta la progresión de la enfermedad en el caso de que ésta realmente se dé, tal como han apuntado diversos autores (Cohen et al., 2002; Goodkin et al., 1995; Leary et al., 2003) y tal como sugieren nuestros resultados, ya que fue precisamente en el NHPT donde se vieron las diferencias entre aquellos pacientes que habían recibido placebo y aquellos que habían recibido IFNb-1b cinco años atrás.

Una limitación común al primer y al segundo trabajos fue que debido a cuestiones metodológicas no pudimos saber si la afectación de la SG que estábamos constatando reflejaba daño en los ganglios basales o bien en el córtex cerebral. No obstante, sabiendo que la alteración de los parámetros de MTR refleja principalmente desmielinización, es probable que las alteraciones observadas en la SG derivasen de la presencia de lesiones corticales -o áreas de desmielinización cortical-, cuya asociación con el deterioro cognitivo en otras formas de la enfermedad es bien conocida (Calabrese et al., 2009a; Mike et al., 2011), siendo prácticamente imposibles de detectar mediante las técnicas de RM utilizadas en los trabajos de esta tesis (Geurts et al., 2005). Futuros estudios en este campo, capaces de separar la afectación de la SG cortical de aquella que ocurre en la SG profunda, relacionada también con el deterioro cognitivo en la EM (Batista et al., 2011; Till et al., 2011), ayudarán a descubrir, mediante planteamientos prospectivos, las verdaderas consecuencias de las lesiones corticales en las formas primarias progresivas

de la enfermedad.

Si bien con los trabajos de esta tesis podemos decir con cierta seguridad que la afectación cualitativa de la SG es importante a la hora de determinar la aparición de la discapacidad, lo que no podemos saber es hasta qué punto este daño en la SG es el sustrato patológico directo del deterioro clínico, por ejemplo causando la muerte de neuronas cruciales para una determinada función física o cognitiva. Así pues, tal deterioro clínico podría también producirse a través de otras vías nocivas intermedias secundarias a la existencia de una SG defectuosa, como por ejemplo a través de la potenciación de vías glutamatérgicas -en oposición a las vías GABA-érgicas-, o a través de la pérdida de interneuronas, alterando de esta manera la conectividad entre áreas cerebrales (Stadelmann, 2011). Además, desde un punto de vista teórico podría incluso llegar a pensarse que la afectación de la SG es tan solo un epifenómeno en el contexto de otro proceso patológico de base y que su relación con la discapacidad no es de ninguna manera una relación de causa-efecto, ni directa ni indirectamente. Es cierto que nuestros trabajos no permiten aclarar tampoco este punto, pero dicha posibilidad resulta, cuanto menos, improbable, dadas las crecientes evidencias de que procesos intrínsecos de la SG, como la reorganización cortical, parecen tener una repercusión en la sintomatología del paciente con EM, especialmente en su capacidad cognitiva (Filippi et al., 2010; Loitfelder et al., 2011).

En relación con el fenómeno de reorganización cortical mencionado arriba, existe otro aspecto interesante que quedaría para futuros debates que haría referencia a la pregunta de hasta qué punto la plasticidad neuronal, concretamente la reorganización cortical, contribuye a mitigar las consecuencias negativas derivadas de la alteración de la SG, ya sea cualitativa o cuantitativa. Cada vez hay más estudios que hablan de que no es tanto el daño en sí lo que provoca la aparición de la discapacidad, sino que ésta aparecería tras una claudicación de los mecanismos de reorganización tisular cerebral (Filippi et al., 2010; Filippi and Rocca, 2004; Loitfelder et al., 2011). Así pues, es posible que si nosotros hubiésemos sido capaces de investigar y detectar fenómenos de reorganización cortical, además de las alteraciones

estructurales que encontramos mediante las técnicas utilizadas, y hubiésemos podido ajustar nuestros modelos de regresión por dichos fenómenos de reorganización, posiblemente habríamos mejorado las correlaciones halladas entre los parámetros de RM y los parámetros clínicos. Por ello, futuros trabajos encaminados a estudiar el sustrato patológico de los diferentes síntomas que aparecen en la EMPP deberían incorporar secuencias que permitiesen tener en cuenta estos fenómenos de reorganización cortical y poder así establecer el rol que juegan en la progresión de la discapacidad.

2. La afectación de la sustancia blanca

La afectación de la sustancia blanca es también elemento imprescindible para el desarrollo de discapacidad irreversible

La afectación de la SB en la EM en general viene dada tanto por la presencia de lesiones visibles en secuencias convencionales (generalmente secuencias potenciadas en T2), como por la presencia de daño microscópico en el tejido que tiene una apariencia normal cuando se mira a través de dichas secuencias. Estas dos formas de afectación, aunque son diferentes, están íntimamente relacionadas y poseen en común rasgos patológicos específicos que no se dan en la afectación de la SG (Bo et al., 2003), como la presencia de infiltrados perivasculares, generalmente a expensas de linfocitos T CD8+ y macrófagos (Babbe et al., 2000) -aunque también pueden verse linfocitos T CD4+ y linfocitos B (Frieze and Fugger, 2009)- y de desmielinización, que aparece como consecuencia de una intensa fagocitosis de la mielina por parte de las células macrofágicas. En cambio, la inflamación como tal es infrecuente en las lesiones corticales, donde la desmielinización probablemente se dé como consecuencia de un proceso más amplio de inflamación meníngea, tal como se menciona anteriormente (Bo et al., 2003; Geurts and Barkhof, 2008; Hulst and Geurts, 2011; Reynolds et al., 2011).

Además, tanto en las lesiones visibles como en la SBAN tiene lugar un daño axonal que se asocia de forma importante al grado de inflamación, ya sea ésta de carácter macroscópico observable y cuantificable mediante RM

(lesiones visibles) (Frischer et al., 2009) o bien se trate de una inflamación difusa, no detectable mediante RM y que ocurre en gran parte independiente de la macroscópica (afectación de la SBAN) (Kutzelnigg et al., 2005). Las vías por las cuales el daño axonal tiene lugar en regiones donde se asienta la inflamación del tejido son complejas y no del todo conocidas, aunque es posible que tanto mecanismos directos, de carácter tóxico, sobre el axón, como mecanismos indirectos, vehiculizados por la disfunción de alguna de sus estructuras, estén implicados en dicho daño axonal (Stadelmann, 2011).

Una consecuencia directa de este hecho -o sea de que las lesiones visibles y el daño en la SBAN compartan muchas de sus características patológicas- es que ambos fenómenos se van a dar, probablemente con una alta frecuencia, a la vez en el mismo individuo. Desde un punto de vista práctico y especialmente si nos disponemos a analizar datos de RM, esta circunstancia puede tener gran relevancia: puede comportar que a la hora de correlacionar el volumen de lesiones o los parámetros que reflejan un daño en la SBAN con la discapacidad, nos encontremos con que la variabilidad (la varianza estadística, si miramos los datos numéricos de los parámetros) que comparten estos parámetros de RM sea tan alta que estemos ante una situación de colinearidad, donde ninguno de dichos parámetros sea capaz de explicar de forma independiente el grado de discapacidad. Sin embargo, de darse este fenómeno, ello no querrá decir que los parámetros de RM que describen el daño de la SB sean incapaces de predecir o explicar tal discapacidad, sino que estamos, probablemente, ante un fenómeno de ‘solapamiento’ de procesos patológicos, requiriéndose pues una lectura crítica de los resultados.

Con los tres trabajos de la presente tesis, pero especialmente con el estudio longitudinal de la cohorte de EMPP temprana y el estudio de seguimiento de los pacientes que participaron en el ensayo clínico con IFN β -1b, ponemos de manifiesto la importancia de la SB a la hora de explicar la discapacidad y cómo la presencia de lesiones visibles y la afectación microscópica del tejido de apariencia normal están probablemente relacionadas.

2.1. Las lesiones visibles

Nuestros resultados demuestran que existe una relación entre la presencia de lesiones visibles en secuencias potenciadas en T2 y la aparición de discapacidad irreversible.

El volumen de lesiones en T2 fue el parámetro de RM que mejor explicó la afectación de la memoria diferida, apoyando el papel de las lesiones visibles en la afectación cognitiva sugerido en otros estudios (Bellmann-Strobl et al., 2009; Penny et al., 2010). Una explicación de estos resultados podría ser que las lesiones, al asentarse en zonas periventriculares, estuviesen interrumpiendo fibras comisurales y asociativas importantes. En este sentido, se ha llegado a proponer la EM como una enfermedad caracterizada por una desconexión funcional entre la SG cortical y la SG profunda, pudiendo dicha desconexión jugar un papel relevante en la sintomatología de la enfermedad (Bodini et al., 2012; Calabrese and Penner, 2007; He et al., 2009).

Dado que en los modelos finales del primer estudio el volumen de lesiones en T2 fue el parámetro que mejor predijo las puntuaciones en el test de memoria, en la versión diferida, cabe preguntarse si existe una relación específica entre la afectación del lenguaje y la carga de lesiones, ya que las otras funciones cognitivas parecieron estar mejor explicadas por otros parámetros de RM diferentes del volumen lesional. Sin duda, este punto será difícil de responder. De todas maneras, nosotros proponemos que para acabar de estudiar el rol de la carga de lesiones en la afectación cognitiva, y concretamente sobre el lenguaje, se investigue si la presencia de lesiones de forma asimétrica, en pacientes cuya carga asienta sobre todo en el hemisferio no dominante, sigue teniendo este efecto deletéreo sobre el lenguaje.

Nuestros resultados también mostraron que, en aquellos pacientes con una EMPP temprana, la carga de lesiones en el momento basal predecía el aumento del EDSS en los cinco años posteriores. No obstante, esta capacidad de predicción desapareció en el momento que tuvimos en cuenta también la afectación de la SBAN, es decir, al incluir, en el mismo modelo de predicción, los parámetros de MTR relativos a la SBAN. Posiblemente, ello sea un reflejo

de este fenómeno de 'solapamiento' mencionado antes, traduciendo la presencia de una íntima relación entre las lesiones visibles y la afectación de la SBAN, en lugar de estar indicando una incapacidad real de estos parámetros para predecir el aumento de discapacidad.

Cuando se trató de predecir el aumento de la discapacidad según el TWT, no obstante, el VLT2 sí se consolidó como un marcador independiente del empeoramiento clínico, incluso cuando todos los factores que habían podido predecir el aumento de la discapacidad de forma individual se incluían en el mismo modelo. En el modelo resultante final se incluyeron dos parámetros de MTR de la SG (la moda y el pico máximo asociado a la moda de MTR de la SG) junto con el volumen de lesiones, todo medido a nivel basal, y los tres factores continuaron prediciendo los cambios en el TWT a lo largo de los cinco años posteriores. Además, la capacidad del modelo para predecir los cambios clínicos mejoró de forma significativa cuando los tres factores fueron contemplados, en comparación con la capacidad de predicción del modelo cuando éste solo contenía uno de los tres. Sin duda, éste fue el hallazgo principal del trabajo, no solo porque puso de manifiesto la necesidad de que las evaluaciones del SNC en pacientes con EM fueran globales, sino también porque reflejó la relativa independencia entre los procesos que atañen a la SB y aquellos que atañen a la SG en esta enfermedad.

Siguiendo con la asociación entre la carga de lesiones visibles y los procesos patológicos que subyacen al aumento irreversible de discapacidad, nuestros datos también mostraron cómo los aumentos en el VLT2 a lo largo de los cinco años que duró el estudio longitudinal con EMPP temprana se correlacionaron con el empeoramiento clínico en el mismo periodo de tiempo. Curiosamente, fue el VLT2 el único parámetro de RM cuyo cambio se correlacionó de forma significativa con el empeoramiento en todas las escalas clínicas utilizadas, es decir, el EDSS, el TWT, el NHPT y el PASAT. Con estos resultados corroboramos lo que otros autores habían ya apuntado, que la actividad inflamatoria a nivel macroscópico, la que es visible con secuencias más convencionales de RM, aunque menor que en otras formas de la enfermedad (Thompson et al., 1991; Thompson et al., 1997; Thompson et al.,

1990), está también presente en la EMPP y que su presencia tiene relevancia clínica (Ingle et al., 2005; Khaleeli et al., 2010; Penny et al., 2010; Sastre-Garriga et al., 2005c).

Finalmente, gracias al estudio de seguimiento de los pacientes con EMPP que habían participado en el ensayo clínico cinco años atrás, pudimos explorar otro aspecto importante de las lesiones visibles en T2, esto es, las lesiones visibles como elemento modificable mediante la intervención terapéutica. Este aspecto es importante si tenemos en cuenta que tal modificación podría tener una repercusión clínica positiva a largo plazo. Las consecuencias derivadas de la intervención inmune se discutirán más adelante.

2.2. La afectación de la sustancia blanca de apariencia normal

Nuestros resultados ponen de manifiesto que la SBAN se afecta en la EMPP y que su afectación es clínicamente relevante.

Aunque en el estudio cognitivo transversal el tejido que mostró más relaciones significativas con afectaciones en dominios cognitivos concretos fue la SG, la SBAN también resultó tener su papel. En este primer trabajo vimos que el volumen de SBAN fue el parámetro de RM más estrechamente asociado a la realización del SDMT, el único test de atención y velocidad de procesamiento de la información que mostró diferencias significativas entre los pacientes y los controles sanos del estudio. Volúmenes más bajos de SBAN se asociaron a un peor rendimiento en el SDMT, por lo que es posible que la pérdida axonal en comisuras y fibras asociativas juegue un papel en este aspecto cognitivo, tal como otros autores ya han sugerido (Mesaros et al., 2009). No obstante, con los trabajos que conforman esta tesis no podemos contestar taxativamente tal hipótesis. Futuros estudios que permitan investigar, de forma combinada, la pérdida de volumen de la SBAN y la afectación de los principales tractos cerebrales mediante técnicas de DTI, ayudarán a conocer si la atrofia de la SBAN afecta específicamente a aquellos circuitos implicados en la atención y tareas relacionadas, como el sistema reticular activador (sistema

reticular ascendente-descendente) (Hodges J., 2007).

Tal como se ha explicado más arriba, en el estudio longitudinal con EMPP temprana también pusimos de manifiesto la relevancia clínica de la afectación de la SBAN, mostrando además cómo ese probable fenómeno de ‘solapamiento’ de procesos patológicos hizo que los parámetros de MTR de la SBAN fueran incapaces de predecir el aumento de la discapacidad de forma independiente del volumen de lesiones. Dicho esto, si pensamos que la afectación de SBAN y la presencia de lesiones visibles están tan íntimamente relacionadas que cuando se da una se da la otra también y viceversa, se podría llegar a aventurar que no tiene demasiada importancia, desde un punto de vista práctico, saber cuál de esos dos elementos es el sustrato patológico de la discapacidad. No obstante, probablemente ello no ocurra siempre así. Es decir, en ocasiones puede ocurrir que cambios patológicos en la SBAN no se acompañen de cambios en el volumen de lesiones visibles. En este sentido, se ha propuesto que una vez tiene lugar un insulto agudo en el axón, tras un proceso inflamatorio también agudo, dicho axón puede poner en marcha toda una serie de cambios estructurales, entre ellos una degeneración anterógrada y retrógrada, que ocurren prácticamente de forma independiente de la presencia de lesiones activas (Kutzelnigg et al., 2005; Reynolds et al., 2011). Solo por este motivo estaría ya justificado el intentar descubrir hasta dónde el sustrato último de la discapacidad se debe a una u otra forma de afectación de la SB. Asimismo, puesto que ambas formas tienen una base patológica parcialmente diferente, es de esperar que su potencial tratamiento se haga eco de esa diferencia.

3. La intervención inmune en la esclerosis múltiple primaria progresiva

La intervención inmune podría ser de utilidad también en la esclerosis múltiple primaria progresiva

En la evaluación de los pacientes que participaron en el ensayo clínico con IFN β -1b, realizada cinco años después de haber cesado la intervención directa del fármaco, observamos que la carga lesional se había igualado entre los dos

grupos de tratamiento. Sin embargo, la SBAN del grupo que había recibido el fármaco activo parecía estar aún bajo la influencia inmunomoduladora. Es decir, en este estudio de seguimiento, los valores correspondientes a los parámetros de MTR de dicho tejido fueron superiores (mejores) en el grupo de IFNb-1b que en el grupo placebo, reflejando dichos parámetros de MTR sobre todo el estado de (des)mielinización del tejido pero también el daño axonal del mismo.

Tratando de explicar el porqué de estos hallazgos, podría ser que esas diferencias observadas entre grupos fueran una consecuencia del efecto beneficioso del fármaco sobre la carga lesional durante el ensayo. En este sentido, dicho efecto podría haber mitigado, mediante la reducción de la cantidad de lesiones visibles, posteriores daños en el citoesqueleto o en la función del axón, evitando así también una mayor degeneración anterógrada o retrógrada secundaria (Stadelmann, 2011). Además, cada vez hay más evidencias de que las lesiones inflamatorias de la EM, tanto agudas como crónicas, a través de la producción de radicales libres de oxígeno, pueden causar una disfunción mitocondrial de los axones, que puede ser, a su vez, altamente perjudicial para las funciones básicas de los mismos (Cicarelli et al., 2010b; Dutta et al., 2006). Así pues, es posible que por lo menos parte de esta cascada de acontecimientos nocivos derivados de la actividad inflamatoria se haya también evitado con el fármaco inmunomodulador.

No obstante, otras explicaciones de nuestros resultados podrían, hipotéticamente, haber sido posibles. Por ejemplo, podría ser que el IFNb-1b, tras ser administrado durante dos años, hubiese provocado cambios relevantes en el sistema inmunitario que hubiesen inducido una modulación de los mecanismos proinflamatorios, como por ejemplo cambios en la expresión de genes relacionados con la respuesta al IFNb, tal como sugirió un estudio con un modelo animal de EM en el que el IFNb fue capaz de actuar sobre la expresión génica de los macrófagos de la médula ósea (Galligan et al., 2010). Si ello hubiese ocurrido así, podríamos decir que estamos ante un efecto más directo pero retardado del fármaco, que parecería haber promovido la remielinización o la recuperación funcional de axones afectados. Por otra parte,

también a modo de hipótesis, podría plantearse, como posibilidad, que en aquellos pacientes que recibieron IFNb-1b, éste hubiese provocado cambios sobre una microglía probablemente activada y que ello hubiese conducido a posteriores efectos beneficiosos sobre la SBAN (Howell et al., 2010). De todas maneras, si bien todas estas explicaciones podrían llegar a ser ciertas desde un punto de vista teórico (Stadelmann, 2011), no dejan de ser meramente especulativas, puesto que carecemos de datos que las apoyen, siendo necesarios más estudios en este aspecto.

Asimismo, en el último trabajo vimos que, considerando el periodo de estudio de forma global, desde el inicio del ensayo clínico hasta la evaluación a los cinco años de finalizar el mismo, los pacientes que habían recibido IFNb-1b presentaban una mayor FPC, es decir, una menor atrofia cerebral, que los pacientes del grupo placebo. Este aspecto es especialmente interesante porque durante el ensayo lo que se observó fue una pérdida de volumen cerebral en el grupo de IFNb-1b que se orientó como una posible pseudoatrofia, ocasionada por la reducción en el volumen lesional a consecuencia del tratamiento. Así pues, los resultados de este estudio vendrían a indicar que lo que se observó durante el ensayo fue, efectivamente, una pseudoatrofia y no una atrofia real, puesto que no solo se ha recuperado con el tiempo, sino que se ha invertido, observándose más atrofia en los sujetos del grupo placebo. Si bien no podemos saber si esas diferencias en la FPC estriban en diferencias de volumen de la SG o de la SBAN, lo que sí podemos decir es que no estriban solamente en un aumento de lesiones en el grupo que había estado expuesto al IFNb-1b. Para hacer esta afirmación nos basamos en que, aunque es cierto que tras finalizar en ensayo el grupo que había recibido IFNb-1b ‘recuperó’ parte de su carga lesional, las diferencias entre los dos grupos en cuanto a los cambios en los volúmenes lesionales no llegaron a ser estadísticamente significativas. En cambio, las diferencias entre los cambios en la FPC sí lo fueron.

Desde un punto de vista clínico, lo que pudimos observar fue que, a los cinco años de haber finalizado el ensayo, los pacientes que habían recibido IFNb-1b presentaban mejores resultados en cuanto al NHPT y a un test que

evaluaba un aspecto de las funciones ejecutivas, concretamente la fluencia verbal (test de evocación categorial lexico-semántica o *Word List Generation test*). Sin embargo, es difícil decir, con los datos obtenidos en este estudio, hasta qué punto los cambios clínicos observados se debieron a uno u otro de los cambios que tuvieron lugar a nivel patológico. Además, en nuestro trabajo no se examinó el papel concreto de la afectación de la SG, por lo que no podemos saber de qué manera ésta podría haberse modificado por el efecto del fármaco inmunomodulador y hasta qué punto alteraciones de la SG podrían haberse correlacionado con la discapacidad y concretamente con la afectación cognitiva, tal como se vio en el primero de los estudios de esta tesis, el estudio transversal.

Finalmente, es oportuno mencionar que uno de los hallazgos más importantes del estudio fue que la actividad inflamatoria durante el ensayo, concretamente la cantidad de lesiones activas, se correlacionó con la evolución del EDSS en los cinco años posteriores. Durante el ensayo, se habían considerado lesiones activas todas aquellas lesiones agrandadas o nuevas que habían aparecido durante los dos años que duró éste. Aunque es cierto que este análisis se realizó sobre toda la cohorte, no solamente sobre el grupo que recibió IFNb-1b, este hallazgo es de relevancia, ya que durante el ensayo el fármaco había sido capaz de modificar la carga de lesiones visibles, incluyendo las activas.

A modo de resumen, podemos decir que desde un punto de vista patológico el tratamiento tuvo un claro efecto beneficioso a corto plazo a expensas de una reducción de las lesiones visibles, aunque este mecanismo beneficioso pareció acabar cuando finalizó la exposición al fármaco; y un efecto a largo plazo, a expensas de cambios en el tejido de apariencia normal, especialmente en la SB, que fueron observados tras haber cedido la exposición a la droga inmunomoduladora. Desde un punto de vista clínico, si se quiere, el panorama es aún más complejo. Aunque tenemos constancia de una cierta repercusión positiva de la intervención inmune a largo plazo, reflejada en parámetros clínicos como el NHPT o parámetros neuropsicológicos, los mecanismos fisiopatológicos por los que se produce tal repercusión positiva,

con los datos presentes, no los podemos explicar.

En cualquier caso, los indicios de eficacia observados nos permiten hoy elucubrar que quizás la intervención inmune no sea una opción desechable sino una opción aún válida para formas primarias progresivas. De hecho, hay en marcha dos estudios con moléculas diseñadas para regular el sistema inmunitario que nos permitirán conocer mejor el alcance que dicha intervención tiene, sobre todo desde un punto de vista clínico.

4. Abordaje global

Tanto el abordaje de la investigación del sustrato patológico de la discapacidad como el abordaje terapéutico para evitar la progresión clínica deben contemplar las dos grandes líneas de afectación patológica, es decir, la afectación de la sustancia blanca y la afectación de la sustancia gris

Cada vez hay más evidencia de que en la EM, pero sobre todo en las formas progresivas, incluyendo la EMPP, coexisten dos grandes procesos patológicos diferentes: uno que afecta a la SG y otro que afecta a la SB. El que afecta a la SB puede ocurrir, a su vez, en forma de inflamación aguda y visible mediante técnicas convencionales de RM, que se asocia a una desmielinización y un daño axonal agudos (Frischer et al., 2009; Reynolds et al., 2011), o en forma de inflamación menos visible a simple vista, que acarrea también una desmielinización y un daño axonal, y que se da -por lo menos parcialmente- de forma independiente de las lesiones visibles (Kutzelnigg et al., 2005; Reynolds et al., 2011).

La SG, si bien puede también dañarse mediante un proceso directamente relacionado con la afectación de la SB, mediante degeneración anterógrada o retrógrada, tiene como particularidad que su alteración puede aparecer de forma relativamente autónoma respecto de las formas de afectación de la SB, como por ejemplo en forma de una extensa desmielinización secundaria a una inflamación meníngea amplia, a la que se ha

hecho referencia en páginas anteriores (Geurts and Barkhof, 2008; Reynolds et al., 2011). Finalmente, y de forma más teórica que real, la SG podría también estar sujeta a un proceso esencialmente degenerativo primario, no de carácter inflamatorio-desmielinizante, como ocurre en determinadas demencias, aunque esta opción es poco plausible a día de hoy (Geurts and Barkhof, 2008; Reynolds et al., 2011).

Con nuestros trabajos ponemos de manifiesto la presencia de estas dos formas principales de afectación, la de la SG y la de la SB, o tres, si consideramos el daño en SBAN y la presencia de lesiones visibles como fenómenos parcialmente independientes. Aún más, ponemos de manifiesto que todas esas formas de daño son cruciales para el desarrollo de discapacidad irreversible y que sus roles a la hora de determinar la aparición de dicha discapacidad, aunque relacionados, son diferentes.

Aunque la afectación de la SBAN y la presencia de lesiones visibles mostraron de forma explícita en el segundo estudio de esta tesis estar íntimamente relacionadas, el resto de resultados de los trabajos aquí expuestos son sobre todo una manifestación de la independencia, en mayor o menor grado, de los tipos de afectación tisular: comenzando por los resultados del estudio transversal cognitivo, donde cada tejido fue capaz de predecir un tipo de afectación concreta, sugiriendo que, si algún grado de colinearidad existía entre los parámetros de RM, éste no era suficiente como para impedir que hubiese un tejido predominante en la explicación del síntoma cognitivo; siguiendo por la indiscutible complementariedad, en el estudio longitudinal de pacientes con EMPP temprana, del daño en la SG y la presencia de lesiones visibles a la hora de explicar el aumento de la discapacidad física - probablemente la mejor muestra de independencia de roles que observamos en nuestros datos-; y acabando por las evidencias mostradas en el estudio de seguimiento de los pacientes que participaron en el ensayo con IFNb-1b, donde la intervención inmune provocó cambios en las lesiones visibles a corto plazo y cambios en el tejido de apariencia normal a largo plazo. En este punto podría especularse que, aunque ambos fenómenos probablemente respondieron a un *continuum* de la acción del fármaco, ambos se dieron de forma esencialmente

independiente, ya que uno dejó de estar presente (lesiones) para ceder el paso al otro (SBAN), en el momento que cesó la acción directa de la intervención inmune. No obstante, es indudable que hacen falta más estudios en este sentido y que lo que aquí se menciona es tan solo una hipótesis de lo que pudo haber ocurrido, a nivel patológico, tras la administración del fármaco.

Según la literatura, en las formas de EM de inicio en brotes también puede darse esta relativa independencia entre las formas de daño cerebral, tal como se ha visto plasmado en varios trabajos prospectivos de envergadura (Fisher et al., 2008; Fisniku et al., 2008a; Fisniku et al., 2008b). En ellos, tal independencia se puso de manifiesto sobre todo a medida que el tiempo avanzaba, haciéndose totalmente evidente en las formas secundarias progresivas de la enfermedad, donde la afectación de la SG mostró una superioridad clara sobre la afectación de la SB a la hora de explicar el deterioro clínico progresivo de los pacientes. Es muy probable, pues, que en las formas primarias progresivas, donde la carga de lesiones es, por lo general, menor que en las formas de inicio en brotes (Thompson et al., 1997), esta independencia sea todavía más exagerada. Un indicio de ello podría provenir, de forma indirecta, de los trabajos realizados en una cohorte europea, en el contexto del grupo MAGNIMS (*Magnetic Resonance in MS*), donde se vio que, si bien la carga lesional inicial podía predecir el deterioro en el EDSS durante los siguientes cinco años (Sastre-Garriga et al., 2005c), esta capacidad de predicción desaparecía cuando se contemplaba el aumento del EDSS en los siguientes diez años (Khaleeli et al., 2008b). Pero estos datos no dejan de ser indicios, puesto que en ningún momento se corroboró que tal aumento de discapacidad pudiese predecirse por la alteración en otro tejido que no fuera la presencia de lesiones visibles. Y aquí es donde entra la novedad y la importancia primordial de nuestro estudio longitudinal con pacientes con EMPP temprana, nuestro segundo estudio, donde exponemos de forma directa la independencia de dos procesos patológicos en relación a la aparición de un deterioro clínico irreversible.

Así pues, por todo lo argumentado hasta ahora, nosotros sugerimos que los abordajes futuros encaminados a profundizar en el sustrato último de la

discapacidad deberían tener un carácter global y no perder de vista estas grandes líneas de afectación patológica, para evitar llegar a conclusiones parciales y por tanto erróneas (**FIGURA VII-2**). Cabe mencionar aquí, además, que para evitar incurrir en omisiones graves, que asimismo lleven a conclusiones erróneas, es imprescindible que los estudios futuros sobre discapacidad en la EMPP contemplen la afectación de la médula espinal. Somos conscientes de que esta es una limitación de todos los estudios de esta tesis, así como común a la mayoría de trabajos publicados en EMPP. Por ello, en nuestro grupo hemos puesto en marcha un nuevo proyecto prospectivo en EMPP encaminado a conocer mejor el sustrato patológico de la enfermedad que incluye tanto el estudio cerebral como el estudio del daño medular.

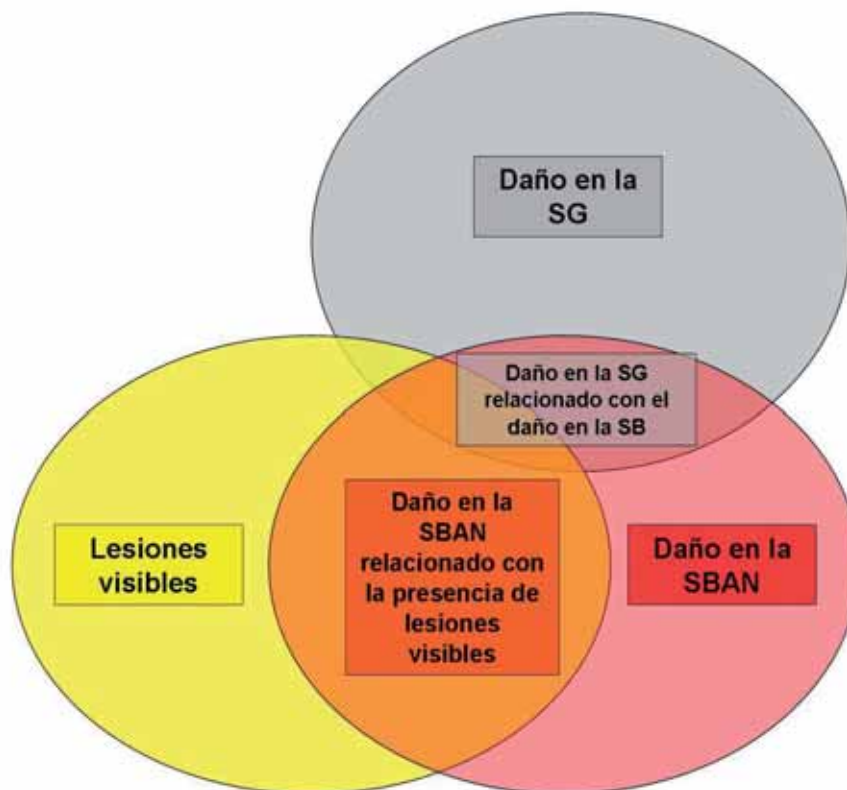


FIGURA VII-2. Formas de daño tisular en la EMPP: propuesta. Esta figura representa de forma teórica las formas de daño tisular que pueden darse en la EMPP y la posible relación entre ellas. El área de cada figura estaría en relación con la variabilidad de la forma de daño que representan en una población de EMPP. El hecho de que estén parcialmente solapadas pretende indicar que en ocasiones dos formas de daño pueden compartir su varianza en la población, es decir, que es posible que se den a la vez en el mismo individuo, lo que puede ocasionar fenómenos de colinearidad cuando se intenta examinar el rol concreto de cada tejido en la aparición de discapacidad, como se indica en el texto. *Abreviaturas:* SB: sustancia blanca; SBAN: sustancia blanca de apariencia normal; SG: sustancia gris.

De la misma manera, y partiendo de la base de que el tratamiento debe hacerse eco de los procesos patológicos subyacentes, parecería lógico pensar que los abordajes terapéuticos de la EM en general y de la EMPP en particular deben también contemplar las principales formas de daño del SNC. No obstante, este punto es controvertido, pues mientras el efecto de los tratamientos actuales de la EM sobre la SB ha sido probado en numerosas ocasiones (Filippi and Rocca, 2011), el efecto sobre la SG ha sido solamente reportado de forma puntual (Pawate et al., 2011; Zivadinov et al., 2007) y necesita ser corroborado. Nosotros hemos podido ver cómo la intervención inmune actuaba frente al daño en la SB, pero poco sabemos sobre la posible actuación del tratamiento sobre la SG. Por otra parte, es difícil conocer, con los datos actuales de la literatura, de qué forma se podría actuar sobre el daño en la SG, teniendo en cuenta la complejidad de su mecanismo de aparición.

Dado que en parte el daño de la SG puede ocurrir como consecuencia del daño en la SB, se podría pensar que una actuación eficaz sobre la SB podría prevenir el deterioro de la SG. No obstante, es probable que ello no sea suficiente para evitar daños clínicamente significativos de la SG, tal como se deduce de los resultados esencialmente negativos de los ensayos clínicos en las formas EMPP (Hawker et al., 2009; Leary et al., 2003; Montalban et al., 2009b; Wolinsky et al., 2007). Sin embargo, también se podría pensar que el fallo de las terapias probadas hasta hoy se debe a un problema de ventana terapéutica, es decir, que las drogas de los ensayos clínicos en pacientes con EMPP se han administrado demasiado tarde, una vez el daño llevaba ya años instaurado. En este sentido, un estudio reciente sobre los efectos del fingolimod en un modelo animal de EM (con una enfermedad recurrente-progresiva - equivalente a una forma secundariamente progresiva de EM-) ha mostrado que este fármaco es incapaz de ralentizar la progresión clínica una vez ésta ya está en marcha (Al-Izki et al., 2011).

Así pues, para concluir, podemos decir que, dada la presencia en la EM -y especialmente en la EMPP- de procesos patológicos importantes que, si bien pueden estar relacionados, probablemente se desarrollan en gran parte de forma independiente el uno del otro, y dado que la contribución de tales

procesos al deterioro clínico irreversible parece ser también independiente, tanto el estudio para profundizar en el sustrato último responsable del aumento de la discapacidad como su abordaje terapéutico deben tenerlos en cuenta. Merece especial mención la SG, cuyos efectos deletéreos de su afectación progresiva son cada vez más conocidos, siendo imperiosa la necesidad de buscar fármacos capaces de detenerla.

CONCLUSIONES

Con esta tesis hemos intentado acercarnos al conocimiento del sustrato patológico del aumento irreversible de la discapacidad en la EMPP. Para ello hemos utilizado técnicas novedosas de RM y hemos explorado las consecuencias a largo plazo de una intervención inmune. Además, de forma concomitante a la realización de los estudios, se ha llevado a cabo un trabajo de revisión bibliográfica que ha ayudado a la elaboración de conclusiones y a la generación de hipótesis de trabajo para futuros estudios.

Las principales conclusiones de la presente tesis podrían exponerse de la siguiente manera:

1. Los parámetros de RM relacionados con el daño en la SG, concretamente, parámetros de MTR de la SG, son los que mejor se correlacionan con la afectación en la mayoría de aspectos cognitivos, destacando la relación entre un menor pico máximo asociado a la moda de MTR de la SG y una mayor disfunción ejecutiva. No obstante, parámetros de RM relativos al daño en otros tejidos, como la atrofia de la SBAN y el volumen de lesiones en T2, también parecen tener relevancia clínica, al asociarse a un mayor deterioro en la capacidad de atención y velocidad de procesamiento de la información y a una menor capacidad de memoria verbal diferida, respectivamente. Todo ello indica que los modelos de predicción del deterioro cognitivo en esta forma de la enfermedad deben incluir evaluaciones amplias de RM, donde se explore tanto la SG como la SB.
2. En fases iniciales de la enfermedad, la carga de lesiones en T2, asentadas en la SB, y el daño en la SG, representado por valores bajos de la moda y el pico máximo asociado a la moda de MTR de la SG, son capaces de predecir, de forma independiente, el aumento de la discapacidad medida por el TWT a medio-largo plazo (a los cinco años), poniendo de manifiesto la complementariedad -y, por tanto, la relativa independencia- del daño tisular que tiene lugar en la SB y aquel que tiene lugar en la SG. Además, un mayor aumento de la carga lesional y

un incremento más rápido del daño en la SG, representado por una disminución más rápida de la media y la moda de la SG, y en la SBAN, representado por una disminución más rápida de la moda de MTR de la SBAN, a lo largo del tiempo parecen asociarse a una progresión más rápida de la discapacidad. Ello pone de relieve nuevamente la importancia de ambas formas de alteración patológica en la EMPP, la que afecta a la SB y aquella que afecta a la SG.

3. En cuanto a las consecuencias a medio-largo plazo de la intervención inmune, podemos decir que, desde un punto de vista patológico, el efecto beneficioso que se había observado a corto plazo (reducción de las lesiones visibles), parece desaparecer cuando finaliza la exposición al fármaco; sin embargo, tras cinco años de cesar la exposición al fármaco, sí parece observarse un efecto beneficioso del fármaco sobre el tejido de apariencia normal, siendo especialmente relevante el efecto sobre las medidas de atrofia cerebral. Desde un punto de vista clínico, la intervención inmune parece comportar también un discreto beneficio a largo plazo (reflejado en el NHPT y parámetros neuropsicológicos), de mecanismo fisiopatológico aún incierto. Además, dado que la presencia de lesiones activas durante el ensayo se correlacionó con el empeoramiento del EDSS en los cinco años posteriores, una eventual actuación sobre la carga lesional durante un determinado periodo de tiempo podría, en teoría, conllevar un efecto beneficioso sobre el EDSS a largo plazo, incluso en la EMPP, aunque nosotros no hemos podido constatar ningún efecto del tratamiento con IFN β -1b sobre el EDSS. Estos resultados, aunque modestos, indican que la intervención inmune en la EMPP puede ser aún tenida en cuenta como estrategia para frenar la aparición de discapacidad irreversible.

Barcelona, junio de 2012

CONCLUSIONS

With this thesis we have tried to increase our knowledge of the pathological processes underlying the accrual of irreversible disability in PPMS. For this purpose, we have used novel MRI techniques and explored the long-term clinical and MRI consequences of a two-year immune intervention (with IFN β -1b), five years after its cessation, in a cohort of patients with PPMS. Moreover, we have carried out a thorough review of the literature that has helped us to draw conclusions from our results and generate new hypothesis for future studies.

The main conclusions of this thesis are:

1. The MRI parameters that most closely correlate with cognitive impairment are those related to GM damage, more specifically, GM MTR parameters. It must be highlighted the strong association between lower GM peak height MTR and a poorer performance on tasks related to executive functions. Nonetheless, MRI parameters related to NAWM damage (lower NAWM volume) or T2 lesion load also seem to play a role in the appearance of cognitive impairment. Therefore, models that aim at predicting cognitive impairment in PPMS should include comprehensive MRI assessments of both GM and WM.
2. At early stages of the disease, baseline T2 lesion load and GM damage (low GM peak location and peak height MTR) are independent predictors of medium/long-term clinical progression (as measured by TWT), i.e. at five years of follow-up. Besides, a greater progression rate correlated with a steeper increase in T2 lesion load and a faster appearance of GM damage (a faster decline in GM mean and peak location MTR) or NAWM damage (a faster decline in NAWM peak location MTR). All this suggests that T2 lesions and GM damage are both crucial to clinical deterioration, and that the combined assessment of both types of brain damage is useful in predicting progression in PPMS.
3. With regard to medium/long-term consequences of an immune

intervention, from a pathological point of view, the short-term effects of IFN β -1b treatment (T2 lesion load reduction) seem to disappear after treatment cessation, whereas some beneficial effects may still be seen in the normal appearing brain tissue, in particular in brain atrophy, even five years after the direct exposure to treatment has finished. From a clinical point of view, the immune intervention might also entail some beneficial effects (in NHPT and neuropsychological parameters) in the long run, as we could observe five years after treatment cessation and for which we do not have a pathophysiological explanation yet. Besides, since in-trial T2 lesion activity correlated with EDSS progression after trial termination, the IFN β -1b effects on T2 lesions during the in-trial period might have also been beneficial to EDSS evolution over the following years. However, this could not be confirmed in our study and more investigations are therefore needed. Thus, in spite of our results being modest, they provide some evidence that immunomodulation could be further explored as a therapeutic strategy for patients with PPMS.

Barcelona, June 2012

BIBLIOGRAFÍA

- (1998) Placebo-controlled multicentre randomised trial of interferon beta-1b in treatment of secondary progressive multiple sclerosis. European Study Group on interferon beta-1b in secondary progressive MS. *Lancet* 352:1491-1497
- Agosta F, Absinta M, Sormani MP, Ghezzi A, Bertolotto A, Montanari E, Comi G, Filippi M (2007) In vivo assessment of cervical cord damage in MS patients: a longitudinal diffusion tensor MRI study. *Brain* 130:2211-2219
- Agosta F, Benedetti B, Rocca MA, Valsasina P, Rovaris M, Comi G, Filippi M (2005) Quantification of cervical cord pathology in primary progressive MS using diffusion tensor MRI. *Neurology* 64:631-635
- Agosta F, Valsasina P, Absinta M, Sala S, Caputo D, Filippi M (2009) Primary progressive multiple sclerosis: tactile-associated functional MR activity in the cervical spinal cord. *Radiology* 253:209-215
- Al-Izki S, Pryce G, Jackson SJ, Giovannoni G, Baker D (2011) Immunosuppression with FTY720 is insufficient to prevent secondary progressive neurodegeneration in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Mult Scler* 17:939-948
- Amato MP, Portaccio E, Goretti B, Zipoli V, Battaglini M, Bartolozzi ML, Stromillo ML, Guidi L, Siracusa G, Sorbi S, Federico A, De SN (2007) Association of neocortical volume changes with cognitive deterioration in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Arch Neurol* 64:1157-1161
- Anderson JM, Patani R, Reynolds R, Nicholas R, Compston A, Spillantini MG, Chandran S (2010) Abnormal tau phosphorylation in primary progressive multiple sclerosis. *Acta Neuropathol* 119:591-600
- Aymerich FX, Sobrevilla P, Montseny E, Alonso J, Gili J, Rovira A (2000) Application of an automatic segmentation algorithm to brain atrophy assessment in multiple sclerosis. *Revue Neurologique* S3:103-104
- Aymerich FX, Sobrevilla P, Montseny E, Gili J, Rovira A (2001) Fuzzy approach to lesion load measurements in T1-weighted images. *Mult Scler* 7:87
- Babbe H, Roers A, Waisman A, Lassmann H, Goebels N, Hohlfeld R, Friese M, Schroder R, Deckert M, Schmidt S, Ravid R, Rajewsky K (2000) Clonal expansions of CD8(+) T cells dominate the T cell infiltrate in active multiple sclerosis lesions as shown by micromanipulation and single cell polymerase chain reaction. *J Exp Med* 192:393-404
- Barker GJ, Tofts PS, Gass A (1996) An interleaved sequence for accurate and reproducible clinical measurement of magnetization transfer ratio. *Magn Reson Imaging* 14:403-411
- Barkhof F, McGowan JC, van Waesberghe JH, Grossman RI (1998) Hypointense multiple sclerosis lesions on T1-weighted spin echo magnetic resonance images: their contribution in understanding multiple sclerosis evolution. *J Neurol*

- Basser PJ, Pierpaoli C (1996) Microstructural and physiological features of tissues elucidated by quantitative-diffusion-tensor MRI. *J Magn Reson B* 111:209-219
- Batista S, Zivadinov R, Hoogs M, Bergsland N, Heininen-Brown M, Dwyer MG, Weinstock-Guttman B, Benedict RH (2011) Basal ganglia, thalamus and neocortical atrophy predicting slowed cognitive processing in multiple sclerosis. *J Neurol*
- Beck AT, Ward CH, Mendelson M, Mock J, Erbaugh J (1961) An inventory for measuring depression. *Arch Gen Psychiatry* 4:561-571
- Bellmann-Strobl J, Wuerfel J, Aktas O, Dorr J, Wernecke KD, Zipp F, Paul F (2009) Poor PASAT performance correlates with MRI contrast enhancement in multiple sclerosis. *Neurology* 73:1624-1627
- Bieniek M, Altmann DR, Davies GR, Ingle GT, Rashid W, Sastre-Garriga J, Thompson AJ, Miller DH (2006) Cord atrophy separates early primary progressive and relapsing remitting multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 77:1036-1039
- Bjartmar C, Kidd G, Mork S, Rudick R, Trapp BD (2000) Neurological disability correlates with spinal cord axonal loss and reduced N-acetyl aspartate in chronic multiple sclerosis patients. *Ann Neurol* 48:893-901
- Bo L, Vedeler CA, Nyland H, Trapp BD, Mork SJ (2003) Intracortical multiple sclerosis lesions are not associated with increased lymphocyte infiltration. *Mult Scler* 9:323-331
- Bodini B, Battaglini M, De SN, Khaleeli Z, Barkhof F, Chard D, Filippi M, Montalban X, Polman C, Rovaris M, Rovira A, Samson R, Miller D, Thompson A, Ciccarelli O (2010) T2 lesion location really matters: a 10 year follow-up study in primary progressive multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*
- Bodini B, Cercignani M, Khaleeli Z, Miller DH, Ron M, Penny S, Thompson AJ, Ciccarelli O (2012) Corpus callosum damage predicts disability progression and cognitive dysfunction in primary-progressive MS after five years. *Hum Brain Mapp*
- Bodini B, Khaleeli Z, Cercignani M, Miller DH, Thompson AJ, Ciccarelli O (2009) Exploring the relationship between white matter and gray matter damage in early primary progressive multiple sclerosis: an in vivo study with TBSS and VBM. *Hum Brain Mapp* 30:2852-2861
- Bohannon RW, Smith MB (1987) Interrater reliability of a modified Ashworth scale of muscle spasticity. *Phys Ther* 67:206-207
- Booth DR, Arthur AT, Teutsch SM, Bye C, Rubio J, Armati PJ, Pollard JD, Heard RN, Stewart GJ (2005) Gene expression and genotyping studies implicate the interleukin 7 receptor in the pathogenesis of primary progressive multiple

sclerosis. *J Mol Med* 83:822-830

- Bramow S, Frischer JM, Lassmann H, Koch-Henriksen N, Lucchinetti CF, Sorensen PS, Laursen H (2010) Demyelination versus remyelination in progressive multiple sclerosis. *Brain* 133:2983-2998
- Brink BP, Veerhuis R, Breij EC, van d, V, Dijkstra CD, Bo L (2005) The pathology of multiple sclerosis is location-dependent: no significant complement activation is detected in purely cortical lesions. *J Neuropathol Exp Neurol* 64:147-155
- Bruck W, Lucchinetti C, Lassmann H (2002) The pathology of primary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler* 8:93-97
- Burgess PW., Shallice T. (1997) *The Hayling and Brixton Tests*. Bury St Edmunds, Suffolk
- Burzynska AZ, Nagel IE, Preuschhof C, Gluth S, Backman L, Li SC, Lindenberger U, Heekeren HR (2011) Cortical thickness is linked to executive functioning in adulthood and aging. *Hum Brain Mapp*
- Calabrese M, Agosta F, Rinaldi F, Mattisi I, Grossi P, Favaretto A, Atzori M, Bernardi V, Barachino L, Rinaldi L, Perini P, Gallo P, Filippi M (2009a) Cortical lesions and atrophy associated with cognitive impairment in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Arch Neurol* 66:1144-1150
- Calabrese M, Battaglini M, Giorgio A, Atzori M, Bernardi V, Mattisi I, Gallo P, De SN (2010a) Imaging distribution and frequency of cortical lesions in patients with multiple sclerosis. *Neurology* 75:1234-1240
- Calabrese M, Filippi M, Gallo P (2010b) Cortical lesions in multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol* 6:438-444
- Calabrese M, Rocca MA, Atzori M, Mattisi I, Bernardi V, Favaretto A, Barachino L, Romualdi C, Rinaldi L, Perini P, Gallo P, Filippi M (2009b) Cortical lesions in primary progressive multiple sclerosis: a 2-year longitudinal MR study. *Neurology* 72:1330-1336
- Calabrese P, Penner IK (2007) Cognitive dysfunctions in multiple sclerosis--a "multiple disconnection syndrome"? *J Neurol* 254 Suppl 2:II18-II21
- Camp SJ, Stevenson VL, Thompson AJ, Ingle GT, Miller DH, Borrás C, Brochet B, Dousset V, Falautano M, Filippi M, Kalkers NF, Montalban X, Polman CH, Langdon DW (2005) A longitudinal study of cognition in primary progressive multiple sclerosis. *Brain* 128:2891-2898
- Camp SJ, Stevenson VL, Thompson AJ, Miller DH, Borrás C, Auriacombe S, Brochet B, Falautano M, Filippi M, Herisse-Dulo L, Montalban X, Parricira E, Polman CH, de SJ, Langdon DW (1999) Cognitive function in primary progressive and transitional progressive multiple sclerosis: a controlled study with MRI correlates. *Brain* 122 (Pt 7):1341-1348
- Ceccarelli A, Rocca MA, Valsasina P, Rodegher M, Falini A, Comi G, Filippi M (2010)

Structural and functional magnetic resonance imaging correlates of motor network dysfunction in primary progressive multiple sclerosis. *Eur J Neurosci* 31:1273-1280

Ceccarelli A, Rocca MA, Valsasina P, Rodegher M, Pagani E, Falini A, Comi G, Filippi M (2009) A multiparametric evaluation of regional brain damage in patients with primary progressive multiple sclerosis. *Hum Brain Mapp* 30:3009-3019

Cettomai D, Pulicken M, Gordon-Lipkin E, Salter A, Frohman TC, Conger A, Zhang X, Cutter G, Balcer LJ, Frohman EM, Calabresi PA (2008) Reproducibility of optical coherence tomography in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 65:1218-1222

Charcot JM (1868) Histologie de la sclérose en plaques. *Gaz Hop (Paris)* 41:554-558

Charcot JM (1877) Lectures on the disease of the nervous system. Translated by Sigerson G. pp 157-222.

Chard DT, Griffin CM, McLean MA, Kapeller P, Kapoor R, Thompson AJ, Miller DH (2002) Brain metabolite changes in cortical grey and normal-appearing white matter in clinically early relapsing-remitting multiple sclerosis. *Brain* 125:2342-2352

Ciccarelli O, Altmann DR, McLean MA, Wheeler-Kingshott CA, Wimpey K, Miller DH, Thompson AJ (2010a) Spinal cord repair in MS: does mitochondrial metabolism play a role? *Neurology* 74:721-727

Ciccarelli O, Toosy AT, De SN, Wheeler-Kingshott CA, Miller DH, Thompson AJ (2010b) Assessing neuronal metabolism in vivo by modeling imaging measures. *J Neurosci* 30:15030-15033

Ciccarelli O, Toosy AT, Marsden JF, Wheeler-Kingshott CM, Miller DH, Matthews PM, Thompson AJ (2006) Functional response to active and passive ankle movements with clinical correlations in patients with primary progressive multiple sclerosis. *J Neurol* 253:882-891

Coffeen CM, McKenna CE, Koeppen AH, Plaster NM, Maragakis N, Mihalopoulos J, Schwankhaus JD, Flanigan KM, Gregg RG, Ptacek LJ, Fu YH (2000) Genetic localization of an autosomal dominant leukodystrophy mimicking chronic progressive multiple sclerosis to chromosome 5q31. *Hum Mol Genet* 9:787-793

Cohen JA, Barkhof F, Comi G, Hartung HP, Khatri BO, Montalban X, Pelletier J, Capra R, Gallo P, Izquierdo G, Tiel-Wilck K, de VA, Jin J, Stites T, Wu S, Aradhye S, Kappos L (2010) Oral fingolimod or intramuscular interferon for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 362:402-415

Cohen JA, Cutter GR, Fischer JS, Goodman AD, Heidenreich FR, Jak AJ, Kniker JE, Kooijmans MF, Lull JM, Sandroock AW, Simon JH, Simonian NA, Whitaker JN (2001) Use of the multiple sclerosis functional composite as an outcome measure in a phase 3 clinical trial. *Arch Neurol* 58:961-967

Cohen JA, Cutter GR, Fischer JS, Goodman AD, Heidenreich FR, Kooijmans MF,

- Sandrock AW, Rudick RA, Simon JH, Simonian NA, Tsao EC, Whitaker JN (2002) Benefit of interferon beta-1a on MSFC progression in secondary progressive MS. *Neurology* 59:679-687
- Coles AJ, Compston DA, Selmaj KW, Lake SL, Moran S, Margolin DH, Norris K, Tandon PK (2008) Alemtuzumab vs. interferon beta-1a in early multiple sclerosis. *N Engl J Med* 359:1786-1801
- Compston AC (2006) *McAlpine's Multiple Sclerosis*, 4th edn. Churchill Livingstone Elsevier, Philadelphia
- Compston DA, Batchelor JR, McDonald WI (1976) B-lymphocyte alloantigens associated with multiple sclerosis. *Lancet* 2:1261-1265
- Confavreux C, Aimard G, Devic M (1980) Course and prognosis of multiple sclerosis assessed by the computerized data processing of 349 patients. *Brain* 103:281-300
- Confavreux C, Vukusic S (2006b) Age at disability milestones in multiple sclerosis. *Brain* 129:595-605
- Confavreux C, Vukusic S (2006a) Natural history of multiple sclerosis: a unifying concept. *Brain* 129:606-616
- Confavreux C, Vukusic S, Moreau T, Adeleine P (2000) Relapses and progression of disability in multiple sclerosis. *N Engl J Med* 343:1430-1438
- Conn HO, Rossle M, Levy L, Glocker FX (2006) Portosystemic myelopathy: spastic paraparesis after portosystemic shunting. *Scand J Gastroenterol* 41:619-625
- Costello F, Hodge W, Pan YI, Eggenberger E, Freedman MS (2010) Using retinal architecture to help characterize multiple sclerosis patients. *Can J Ophthalmol* 45:520-526
- Cottrell DA, Kremenutzky M, Rice GP, Koopman WJ, Hader W, Baskerville J, Ebers GC (1999) The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. 5. The clinical features and natural history of primary progressive multiple sclerosis. *Brain* 122 (Pt 4):625-639
- Coughlan AK., Hollows AK. (1985) *The Adult Memory and Information Processing Battery*. Leeds
- Cutter GR, Baier ML, Rudick RA, Cookfair DL, Fischer JS, Petkau J, Syndulko K, Weinshenker BG, Antel JP, Confavreux C, Ellison GW, Lublin F, Miller AE, Rao SM, Reingold S, Thompson A, Willoughby E (1999) Development of a multiple sclerosis functional composite as a clinical trial outcome measure. *Brain* 122 (Pt 5):871-882
- Dalmau J, Rosenfeld MR (2008) Paraneoplastic syndromes of the CNS. *Lancet Neurol* 7:327-340
- De Andrés AC, Esquivel A, de Villoria JG, Graus F, Sanchez-Ramon S (2006)

Unusual magnetic resonance imaging and cerebrospinal fluid findings in paraneoplastic cerebellar degeneration: a sequential study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 77:562-563

- Dehmeshki J, Chard DT, Leary SM, Watt HC, Silver NC, Tofts PS, Thompson AJ, Miller DH (2003) The normal appearing grey matter in primary progressive multiple sclerosis: a magnetisation transfer imaging study. *J Neurol* 250:67-74
- DeLuca GC, Williams K, Evangelou N, Ebers GC, Esiri MM (2006) The contribution of demyelination to axonal loss in multiple sclerosis. *Brain* 129:1507-1516
- Denney DR, Lynch SG, Parmenter BA (2008) A 3-year longitudinal study of cognitive impairment in patients with primary progressive multiple sclerosis: speed matters. *J Neurol Sci* 267:129-136
- Dujmovic I, Mesaros S, Pekmezovic T, Levic Z, Drulovic J (2004) Primary progressive multiple sclerosis: clinical and paraclinical characteristics with application of the new diagnostic criteria. *Eur J Neurol* 11:439-444
- Dutta R, McDonough J, Yin X, Peterson J, Chang A, Torres T, Gudz T, Macklin WB, Lewis DA, Fox RJ, Rudick R, Mirnics K, Trapp BD (2006) Mitochondrial dysfunction as a cause of axonal degeneration in multiple sclerosis patients. *Ann Neurol* 59:478-489
- Dziedzic T, Metz I, Dallenga T, Konig FB, Muller S, Stadelmann C, Bruck W (2010) Wallerian degeneration: a major component of early axonal pathology in multiple sclerosis. *Brain Pathol* 20:976-985
- Eldridge R, Anayiotos CP, Schlesinger S, Cowen D, Bever C, Patronas N, McFarland H (1984) Hereditary adult-onset leukodystrophy simulating chronic progressive multiple sclerosis. *N Engl J Med* 311:948-953
- Enzinger C, Ropele S, Smith S, Strasser-Fuchs S, Poltrum B, Schmidt H, Matthews PM, Fazekas F (2004) Accelerated evolution of brain atrophy and "black holes" in MS patients with APOE-epsilon 4. *Ann Neurol* 55:563-569
- Enzinger C, Ropele S, Strasser-Fuchs S, Kapeller P, Schmidt H, Poltrum B, Schmidt R, Hartung HP, Fazekas F (2003) Lower levels of N-acetylaspartate in multiple sclerosis patients with the apolipoprotein E epsilon4 allele. *Arch Neurol* 60:65-70
- Evangelou N, DeLuca GC, Owens T, Esiri MM (2005) Pathological study of spinal cord atrophy in multiple sclerosis suggests limited role of local lesions. *Brain* 128:29-34
- Filippi M, Bozzali M, Horsfield MA, Rocca MA, Sormani MP, Iannucci G, Colombo B, Comi G (2000) A conventional and magnetization transfer MRI study of the cervical cord in patients with MS. *Neurology* 54:207-213
- Filippi M, Campi A, Martinelli V, Pereira C, Scotti G, Comi G (1995) Transitional progressive multiple sclerosis: MRI and MTI findings. *Acta Neurol Scand*

- Filippi M, Horsfield MA, Morrissey SP, MacManus DG, Rudge P, McDonald WI, Miller DH (1994) Quantitative brain MRI lesion load predicts the course of clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis. *Neurology* 44:635-641
- Filippi M, Rocca MA (2004) Cortical reorganisation in patients with MS. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 75:1087-1089
- Filippi M, Rocca MA (2011) MR imaging of multiple sclerosis. *Radiology* 259:659-681
- Filippi M, Rocca MA, Benedict RH, DeLuca J, Geurts JJ, Rombouts SA, Ron M, Comi G (2010) The contribution of MRI in assessing cognitive impairment in multiple sclerosis. *Neurology* 75:2121-2128
- Fischer JS, Jak AJ, Kniker JE, Rudick RA, Cutter GR (1999) Administration and scoring manual for the MS Functional Composite measure (MSFC)., 2nd (2001) edn. UNITECH Communications, US
- Fisher E, Lee JC, Nakamura K, Rudick RA (2008) Gray matter atrophy in multiple sclerosis: a longitudinal study. *Ann Neurol* 64:255-265
- Fisher JB, Jacobs DA, Markowitz CE, Galetta SL, Volpe NJ, Nano-Schiavi ML, Baier ML, Frohman EM, Winslow H, Frohman TC, Calabresi PA, Maguire MG, Cutter GR, Balcer LJ (2006) Relation of visual function to retinal nerve fiber layer thickness in multiple sclerosis. *Ophthalmology* 113:324-332
- Fisniku LK, Brex PA, Altmann DR, Miszkiet KA, Benton CE, Lanyon R, Thompson AJ, Miller DH (2008a) Disability and T2 MRI lesions: a 20-year follow-up of patients with relapse onset of multiple sclerosis. *Brain* 131:808-817
- Fisniku LK, Chard DT, Jackson JS, Anderson VM, Altmann DR, Miszkiet KA, Thompson AJ, Miller DH (2008b) Gray matter atrophy is related to long-term disability in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 64:247-254
- Flanagan EP, McKeon A, Lennon VA, Kearns J, Weinschenker BG, Krecke KN, Matiello M, Keegan BM, Mokri B, Aksamit AJ, Pittock SJ (2011) Paraneoplastic isolated myelopathy: clinical course and neuroimaging clues. *Neurology* 76:2089-2095
- Friese MA, Fugger L (2009) Pathogenic CD8(+) T cells in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 66:132-141
- Frischer JM, Bramow S, Dal-Bianco A, Lucchinetti CF, Rauschka H, Schmidbauer M, Laursen H, Sorensen PS, Lassmann H (2009) The relation between inflammation and neurodegeneration in multiple sclerosis brains. *Brain* 132:1175-1189
- Furby J, Hayton T, Anderson V, Altmann D, Brenner R, Chataway J, Hughes R, Smith K, Miller D, Kapoor R (2008) Magnetic resonance imaging measures of brain and spinal cord atrophy correlate with clinical impairment in secondary

progressive multiple sclerosis. *Mult Scler* 14:1068-1075

Galligan CL, Pennell LM, Murooka TT, Baig E, Majchrzak-Kita B, Rahbar R, Fish EN (2010) Interferon-beta is a key regulator of proinflammatory events in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Mult Scler* 16:1458-1473

Geurts JJ, Barkhof F (2008) Grey matter pathology in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 7:841-851

Geurts JJ, Bo L, Pouwels PJ, Castelijns JA, Polman CH, Barkhof F (2005) Cortical lesions in multiple sclerosis: combined postmortem MR imaging and histopathology. *AJNR Am J Neuroradiol* 26:572-577

Geurts JJ, Bo L, Roosendaal SD, Hazes T, Daniels R, Barkhof F, Witter MP, Huitinga I, van der V (2007) Extensive hippocampal demyelination in multiple sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 66:819-827

Giorgio A, Stromillo ML, Rossi F, Battaglini M, Hakiki B, Portaccio E, Federico A, Amato MP, De Santis SN (2011) Cortical lesions in radiologically isolated syndrome. *Neurology* 77:1896-1899

Goertsches R, Baranzini SE, Morcillo C, Nos C, Camina M, Oksenberg JR, Montalban X, Comabella M (2008) Evidence for association of chromosome 10 open reading frame (C10orf27) gene polymorphisms and multiple sclerosis. *Mult Scler* 14:412-414

Good CD, Johnsrude IS, Ashburner J, Henson RN, Friston KJ, Frackowiak RS (2001) A voxel-based morphometric study of ageing in 465 normal adult human brains. *Neuroimage* 14:21-36

Goodkin DE, Rudick RA, VanderBrug MS, Daughtry MM, Schwetz KM, Fischer J, Van DC (1995) Low-dose (7.5 mg) oral methotrexate reduces the rate of progression in chronic progressive multiple sclerosis. *Ann Neurol* 37:30-40

Hawker K, O'Connor P, Freedman MS, Calabresi PA, Antel J, Simon J, Hauser S, Waubant E, Vollmer T, Panitch H, Zhang J, Chin P, Smith CH (2009) Rituximab in patients with primary progressive multiple sclerosis: results of a randomized double-blind placebo-controlled multicenter trial. *Ann Neurol* 66:460-471

He Y, Dagher A, Chen Z, Charil A, Zijdenbos A, Worsley K, Evans A (2009) Impaired small-world efficiency in structural cortical networks in multiple sclerosis associated with white matter lesion load. *Brain* 132:3366-3379

Healy BC, Ali EN, Guttmann CR, Chitnis T, Glanz BI, Buckle G, Houtchens M, Stazzone L, Moodie J, Berger AM, Duan Y, Bakshi R, Khoury S, Weiner H, Ascherio A (2009) Smoking and disease progression in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 66:858-864

Henderson AP, Trip SA, Schlottmann PG, Altmann DR, Garway-Heath DF, Plant GT, Miller DH (2008) An investigation of the retinal nerve fibre layer in progressive multiple sclerosis using optical coherence tomography. *Brain* 131:277-287

- Hernan MA, Jick SS, Logroscino G, Olek MJ, Ascherio A, Jick H (2005) Cigarette smoking and the progression of multiple sclerosis. *Brain* 128:1461-1465
- Hodges J. (2007) *Cognitive assessment for clinicians*, 2nd ed. edn New York
- Hommes OR, Sorensen PS, Fazekas F, Enriquez MM, Koelmel HW, Fernandez O, Pozzilli C, O'Connor P (2004) Intravenous immunoglobulin in secondary progressive multiple sclerosis: randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 364:1149-1156
- Howell OW, Reeves CA, Nicholas R, Carassiti D, Radotra B, Gentleman SM, Serafini B, Aloisi F, Roncaroli F, Magliozzi R, Reynolds R (2011) Meningeal inflammation is widespread and linked to cortical pathology in multiple sclerosis. *Brain* 134:2755-2771
- Howell OW, Rundle JL, Garg A, Komada M, Brophy PJ, Reynolds R (2010) Activated microglia mediate axoglial disruption that contributes to axonal injury in multiple sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 69:1017-1033
- Huijbregts SC, Kalkers NF, de Sonneville LM, de G, V, Polman CH (2006) Cognitive impairment and decline in different MS subtypes. *J Neurol Sci* 245:187-194
- Huijbregts SC, Kalkers NF, de Sonneville LM, de G, V, Reuling IE, Polman CH (2004) Differences in cognitive impairment of relapsing remitting, secondary, and primary progressive MS. *Neurology* 63:335-339
- Hulst HE, Geurts JJ (2011) Gray matter imaging in multiple sclerosis: what have we learned? *BMC Neurol* 11:153
- Ingle GT, Sastre-Garriga J, Miller DH, Thompson AJ (2005) Is inflammation important in early PPMS? a longitudinal MRI study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 76:1255-1258
- Ingle GT, Stevenson VL, Miller DH, Leary SM, Rovaris M, Barkhof F, Brochet B, Dousset V, Filippi M, Montalban X, Kalkers NF, Polman CH, Rovira A, Thompson AJ (2002) Two-year follow-up study of primary and transitional progressive multiple sclerosis. *Mult Scler* 8:108-114
- Ingle GT, Stevenson VL, Miller DH, Thompson AJ (2003) Primary progressive multiple sclerosis: a 5-year clinical and MR study. *Brain* 126:2528-2536
- Inglese M, Park SJ, Johnson G, Babb JS, Miles L, Jaggi H, Herbert J, Grossman RI (2007) Deep gray matter perfusion in multiple sclerosis: dynamic susceptibility contrast perfusion magnetic resonance imaging at 3 T. *Arch Neurol* 64:196-202
- Jagessar SA, Smith PA, Blezer E, Delarasse C, Pham-Dinh D, Laman JD, Bauer J, Amor S, 't HB (2008) Autoimmunity against myelin oligodendrocyte glycoprotein is dispensable for the initiation although essential for the progression of chronic encephalomyelitis in common marmosets. *J Neuropathol Exp Neurol* 67:326-340

- Jaiser SR, Winston GP (2010) Copper deficiency myelopathy. *J Neurol* 257:869-881
- Jersild C, Svejgaard A, Fog T (1972) HL-A antigens and multiple sclerosis. *Lancet* 1:1240-1241
- Julian L, Merluzzi NM, Mohr DC (2007) The relationship among depression, subjective cognitive impairment, and neuropsychological performance in multiple sclerosis. *Mult Scler* 13:81-86
- Kalkers NF, Barkhof F, Bergers E, van SR, Polman CH (2002) The effect of the neuroprotective agent riluzole on MRI parameters in primary progressive multiple sclerosis: a pilot study. *Mult Scler* 8:532-533
- Kappos L, Antel J, Comi G, Montalban X, O'Connor P, Polman CH, Haas T, Korn AA, Karlsson G, Radue EW (2006) Oral fingolimod (FTY720) for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 355:1124-1140
- Kappos L, Radue EW, O'Connor P, Polman C, Hohlfeld R, Calabresi P, Selmaj K, Agoropoulou C, Leyk M, Zhang-Auberson L, Burtin P (2010) A placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 362:387-401
- Karantanas AH, Markonis A, Bisbiyiannis G (2000) Subacute combined degeneration of the spinal cord with involvement of the anterior columns: a new MRI finding. *Neuroradiology* 42:115-117
- Khaleeli Z, Altmann DR, Cercignani M, Ciccarelli O, Miller DH, Thompson AJ (2008a) Magnetization transfer ratio in gray matter: a potential surrogate marker for progression in early primary progressive multiple sclerosis. *Arch Neurol* 65:1454-1459
- Khaleeli Z, Cercignani M, Audoin B, Ciccarelli O, Miller DH, Thompson AJ (2007a) Localized grey matter damage in early primary progressive multiple sclerosis contributes to disability. *Neuroimage* 37:253-261
- Khaleeli Z, Ciccarelli O, Manfredonia F, Barkhof F, Brochet B, Cercignani M, Dousset V, Filippi M, Montalban X, Polman C, Rovaris M, Rovira A, Sastre-Garriga J, Vellinga M, Miller D, Thompson A (2008b) Predicting progression in primary progressive multiple sclerosis: a 10-year multicenter study. *Ann Neurol* 63:790-793
- Khaleeli Z, Ciccarelli O, Mizskiel K, Altmann D, Miller DH, Thompson AJ (2010) Lesion enhancement diminishes with time in primary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler* 16:317-324
- Khaleeli Z, Sastre-Garriga J, Ciccarelli O, Miller DH, Thompson AJ (2007b) 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* 78:1076-1082
- Kidd D, Thompson PD, Day BL, Rothwell JC, Kendall BE, Thompson AJ, Marsden CD,

- McDonald WI (1998) Central motor conduction time in progressive multiple sclerosis. Correlations with MRI and disease activity. *Brain* 121 (Pt 6):1109-1116
- Kidd D, Thorpe JW, Kendall BE, Barker GJ, Miller DH, McDonald WI, Thompson AJ (1996) MRI dynamics of brain and spinal cord in progressive multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 60:15-19
- Koch M, Kingwell E, Rieckmann P, Tremlett H (2009) The natural history of primary progressive multiple sclerosis. *Neurology* 73:1996-2002
- Koch M, van HA, Uyttenboogaart M, De KJ (2007) Cigarette smoking and progression in multiple sclerosis. *Neurology* 69:1515-1520
- Koch M, Zhao Y, Yee I, Guimond C, Kingwell E, Rieckmann P, Sadovnick D, Tremlett H (2010) Disease onset in familial and sporadic primary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler* 16:694-700
- Kovacs GG, Hoftberger R, Majtenyi K, Horvath R, Barsi P, Komoly S, Lassmann H, Budka H, Jakab G (2005) Neuropathology of white matter disease in Leber's hereditary optic neuropathy. *Brain* 128:35-41
- Kremenetzky M, Cottrell D, Rice G, Hader W, Baskerville J, Koopman W, Ebers GC (1999) The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. 7. Progressive-relapsing and relapsing-progressive multiple sclerosis: a re-evaluation. *Brain* 122 (Pt 10):1941-1950
- Kremenetzky M, Rice GP, Baskerville J, Wingerchuk DM, Ebers GC (2006) The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study 9: observations on the progressive phase of the disease. *Brain* 129:584-594
- Krupp LB, LaRocca NG, Muir-Nash J, Steinberg AD (1989) The fatigue severity scale. Application to patients with multiple sclerosis and systemic lupus erythematosus. *Arch Neurol* 46:1121-1123
- Kumar N, Ahlskog JE, Klein CJ, Port JD (2006) Imaging features of copper deficiency myelopathy: a study of 25 cases. *Neuroradiology* 48:78-83
- Kurtzke JF (1983) Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 33:1444-1452
- Kutzelnigg A, Lassmann H (2006) Cortical demyelination in multiple sclerosis: a substrate for cognitive deficits? *J Neurol Sci* 245:123-126
- Kutzelnigg A, Lucchinetti CF, Stadelmann C, Bruck W, Rauschka H, Bergmann M, Schmidbauer M, Parisi JE, Lassmann H (2005) Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. *Brain* 128:2705-2712
- Laird NM, Ware JH (1982) Random-effects models for longitudinal data. *Biometrics* 38:963-974
- Laule C, Vavasour IM, Zhao Y, Traboulsee AL, Oger J, Vavasour JD, Mackay AL, Li

- DK (2010) Two-year study of cervical cord volume and myelin water in primary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler* 16:670-677
- Leary SM, Miller DH, Stevenson VL, Brex PA, Chard DT, Thompson AJ (2003) Interferon beta-1a in primary progressive MS: an exploratory, randomized, controlled trial. *Neurology* 60:44-51
- Lechner-Scott J, Kappos L, Hofman M, Polman CH, Ronner H, Montalban X, Tintore M, Frontoni M, Buttinelli C, Amato MP, Bartolozzi ML, Versavel M, Dahlke F, Kapp JF, Gibberd R (2003) Can the Expanded Disability Status Scale be assessed by telephone? *Mult Scler* 9:154-159
- Leech S, Kirk J, Plumb J, McQuaid S (2007) Persistent endothelial abnormalities and blood-brain barrier leak in primary and secondary progressive multiple sclerosis. *Neuropathol Appl Neurobiol* 33:86-98
- Ley K, Laudanna C, Cybulsky MI, Nourshargh S (2007) Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. *Nat Rev Immunol* 7:678-689
- Loitfelder M, Fazekas F, Petrovic K, Fuchs S, Ropele S, Wallner-Blazek M, Jehna M, Aspeck E, Khalil M, Schmidt R, Neuper C, Enzinger C (2011) Reorganization in cognitive networks with progression of multiple sclerosis: insights from fMRI. *Neurology* 76:526-533
- Losseff NA, Webb SL, O'Riordan JI, Page R, Wang L, Barker GJ, Tofts PS, McDonald WI, Miller DH, Thompson AJ (1996) Spinal cord atrophy and disability in multiple sclerosis. A new reproducible and sensitive MRI method with potential to monitor disease progression. *Brain* 119 (Pt 3):701-708
- Lovas G, Szilagyi N, Majtenyi K, Palkovits M, Komoly S (2000) Axonal changes in chronic demyelinated cervical spinal cord plaques. *Brain* 123 (Pt 2):308-317
- Lublin FD, Reingold SC (1996) Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. *Neurology* 46:907-911
- Lucchinetti C, Bruck W (2004) The pathology of primary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler* 10 Suppl 1:S23-S30
- Lucchinetti C, Bruck W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann H (2000) Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol* 47:707-717
- Lucchinetti C, Bruck W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann H (1999) A quantitative analysis of oligodendrocytes in multiple sclerosis lesions. A study of 113 cases. *Brain* 122 (Pt 12):2279-2295
- Lucchinetti CF, Popescu BF, Bunyan RF, Moll NM, Roemer SF, Lassmann H, Bruck W, Parisi JE, Scheithauer BW, Giannini C, Weigand SD, Mandrekar J,

- Ransohoff RM (2011) Inflammatory cortical demyelination in early multiple sclerosis. *N Engl J Med* 365:2188-2197
- Lukes A, Mun-Bryce S, Lukes M, Rosenberg GA (1999) Extracellular matrix degradation by metalloproteinases and central nervous system diseases. *Mol Neurobiol* 19:267-284
- Magliozzi R, Columba-Cabezas S, Serafini B, Aloisi F (2004) Intracerebral expression of CXCL13 and BAFF is accompanied by formation of lymphoid follicle-like structures in the meninges of mice with relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmunol* 148:11-23
- Magliozzi R, Howell O, Vora A, Serafini B, Nicholas R, Puopolo M, Reynolds R, Aloisi F (2007) Meningeal B-cell follicles in secondary progressive multiple sclerosis associate with early onset of disease and severe cortical pathology. *Brain* 130:1089-1104
- Magliozzi R, Howell OW, Reeves C, Roncaroli F, Nicholas R, Serafini B, Aloisi F, Reynolds R (2010) A Gradient of neuronal loss and meningeal inflammation in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 68:477-493
- Martinez-Caceres EM, Espejo C, Brieva L, Pericot I, Tintore M, Saez-Torres I, Montalban X (2002) Expression of chemokine receptors in the different clinical forms of multiple sclerosis. *Mult Scler* 8:390-395
- McAlpine D, Compston N (1952) Some aspects of the natural history of disseminated sclerosis. *Q J Med* 21:135-167
- McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, McFarland HF, Paty DW, Polman CH, Reingold SC, Sandberg-Wollheim M, Sibley W, Thompson A, van den NS, Weinshenker BY, Wolinsky JS (2001) Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol* 50:121-127
- McDonnell GV, Cabrera-Gomez J, Calne DB, Li DK, Oger J (2003) Clinical presentation of primary progressive multiple sclerosis 10 years after the incidental finding of typical magnetic resonance imaging brain lesions: the subclinical stage of primary progressive multiple sclerosis may last 10 years. *Mult Scler* 9:204-209
- McDonnell GV, Mawhinney H, Graham CA, Hawkins SA, Middleton D (1999) A study of the HLA-DR region in clinical subgroups of multiple sclerosis and its influence on prognosis. *J Neurol Sci* 165:77-83
- Mendoza G, Marti-Fabregas J, Kulisevsky J, Escartin A (1994) Hepatic myelopathy: a rare complication of portacaval shunt. *Eur Neurol* 34:209-212
- Mesaros S, Rocca MA, Riccitelli G, Pagani E, Rovaris M, Caputo D, Ghezzi A, Capra R, Bertolotto A, Comi G, Filippi M (2009) Corpus callosum damage and

cognitive dysfunction in benign MS. *Hum Brain Mapp* 30:2656-2666

- Mike A, Glanz BI, Hildenbrand P, Meier D, Bolden K, Liguori M, Dell'Oglio E, Healy BC, Bakshi R, Guttmann CR (2011) Identification and clinical impact of multiple sclerosis cortical lesions as assessed by routine 3T MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol* 32:515-521
- Miller DH, Barkhof F, Frank JA, Parker GJ, Thompson AJ (2002) Measurement of atrophy in multiple sclerosis: pathological basis, methodological aspects and clinical relevance. *Brain* 125:1676-1695
- Miller DH, Khan OA, Sheremata WA, Blumhardt LD, Rice GP, Libonati MA, Willmer-Hulme AJ, Dalton CM, Miszkiel KA, O'Connor PW (2003) A controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 348:15-23
- Miller DH, Leary SM (2007) Primary-progressive multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 6:903-912
- Miller DH, Weinshenker BG, Filippi M, Banwell BL, Cohen JA, Freedman MS, Galetta SL, Hutchinson M, Johnson RT, Kappos L, Kira J, Lublin FD, McFarland HF, Montalban X, Panitch H, Richert JR, Reingold SC, Polman CH (2008) Differential diagnosis of suspected multiple sclerosis: a consensus approach. *Mult Scler* 14:1157-1174
- Minderhoud JM, van der Hoeven JH, Prange AJ (1988) Course and prognosis of chronic progressive multiple sclerosis. Results of an epidemiological study. *Acta Neurol Scand* 78:10-15
- Moffett JR, Ross B, Arun P, Madhavarao CN, Namboodiri AM (2007) N-Acetylaspartate in the CNS: from neurodiagnostics to neurobiology. *Prog Neurobiol* 81:89-131
- Molyneux PD, Miller DH, Filippi M, Yousry TA, Radu EW, Ader HJ, Barkhof F (1999) Visual analysis of serial T2-weighted MRI in multiple sclerosis: intra- and interobserver reproducibility. *Neuroradiology* 41:882-888
- Montalban X, Sastre-Garriga J, Filippi M, Khaleeli Z, Tellez N, Vellinga MM, Tur C, Brochet B, Barkhof F, Rovaris M, Miller DH, Polman CH, Rovira A, Thompson AJ (2009a) Primary progressive multiple sclerosis diagnostic criteria: a reappraisal. *Mult Scler* 15:1459-1465
- Montalban X, Sastre-Garriga J, Tintore M, Brieva L, Aymerich FX, Rio J, Porcel J, Borrás C, Nos C, Rovira A (2009b) A single-center, randomized, double-blind, placebo-controlled study of interferon beta-1b on primary progressive and transitional multiple sclerosis. *Mult Scler* 15:1195-1205
- Morgen K, Sammer G, Courtney SM, Wolters T, Melchior H, Blecker CR, Oschmann P, Kaps M, Vaitl D (2006) Evidence for a direct association between cortical atrophy and cognitive impairment in relapsing-remitting MS. *Neuroimage* 30:891-898

- Nelson HE. (1982) The National Adult Reading Test Windsor, Berks.
- Nijeholt GJ, van Walderveen MA, Castelijns JA, van Waesberghe JH, Polman C, Scheltens P, Rosier PF, Jongen PJ, Barkhof F (1998) Brain and spinal cord abnormalities in multiple sclerosis. Correlation between MRI parameters, clinical subtypes and symptoms. *Brain* 121 (Pt 4):687-697
- Ormerod IE, McDonald WI (1984) Multiple sclerosis presenting with progressive visual failure. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 47:943-946
- Patsalides A, Knopman J, Santillan A, Tsiouris AJ, Riina H, Gobin YP (2011) Endovascular treatment of spinal arteriovenous lesions: beyond the dural fistula. *AJNR Am J Neuroradiol* 32:798-808
- Pawate S, Wang L, Song Y, Sriram S (2011) Analysis of T2 Intensity by Magnetic Resonance Imaging of Deep Gray Matter Nuclei in Multiple Sclerosis Patients: Effect of Immunomodulatory Therapies. *J Neuroimaging*
- Pelfrey CM, Cotleur AC, Zamor N, Lee JC, Fox RJ (2006) Immunological studies of mitoxantrone in primary progressive MS. *J Neuroimmunol* 175:192-199
- Penny S, Khaleeli Z, Cipelotti L, Thompson A, Ron M (2010) Early imaging predicts later cognitive impairment in primary progressive multiple sclerosis. *Neurology* 74:545-552
- Perez F, Anne O, Debruxelles S, Menegon P, Lambrecq V, Lacombe D, Martin-Negrier ML, Brochet B, Goizet C (2009) Leber's optic neuropathy associated with disseminated white matter disease: a case report and review. *Clin Neurol Neurosurg* 111:83-86
- Plummer DL (1992) Dispimage: Un mezzo di analisi e presentazione per iconografia medica (Dispimage: a display and analysis tool for medical images). *Riv Neuroradiol* 5:1715-1720
- Pohlau D, Przuntek H, Sailer M, Bethke F, Koehler J, Konig N, Heesen C, Spath P, Andresen I (2007) Intravenous immunoglobulin in primary and secondary chronic progressive multiple sclerosis: a randomized placebo controlled multicentre study. *Mult Scler* 13:1107-1117
- Pollard WE, Bobbitt RA, Bergner M, Martin DP, Gilson BS (1976) The Sickness Impact Profile: reliability of a health status measure. *Med Care* 14:146-155
- Polman CH, O'Connor PW, Havrdova E, Hutchinson M, Kappos L, Miller DH, Phillips JT, Lublin FD, Giovannoni G, Wajgt A, Toal M, Lynn F, Panzara MA, Sandrock AW (2006) A randomized, placebo-controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 354:899-910
- Polman CH, Reingold SC, Banwell B, Clanet M, Cohen JA, Filippi M, Fujihara K, Havrdova E, Hutchinson M, Kappos L, Lublin FD, Montalban X, O'Connor P, Sandberg-Wollheim M, Thompson AJ, Waubant E, Weinschenker B, Wolinsky JS (2011) Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 Revisions to the

McDonald criteria. *Ann Neurol* 69:292-302

Polman CH, Reingold SC, Edan G, Filippi M, Hartung HP, Kappos L, Lublin FD, Metz LM, McFarland HF, O'Connor PW, Sandberg-Wollheim M, Thompson AJ, Weinshenker BG, Wolinsky JS (2005) Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria". *Ann Neurol* 58:840-846

Poser CM, Paty DW, Scheinberg L, McDonald WI, Davis FA, Ebers GC, Johnson KP, Sibley WA, Silberberg DH, Tourtellotte WW (1983) New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Ann Neurol* 13:227-231

Pulicken M, Gordon-Lipkin E, Balcer LJ, Frohman E, Cutter G, Calabresi PA (2007) Optical coherence tomography and disease subtype in multiple sclerosis. *Neurology* 69:2085-2092

Ramio-Torrenta L, Sastre-Garriga J, Ingle GT, Davies GR, Ameen V, Miller DH, Thompson AJ (2006) Abnormalities in normal appearing tissues in early primary progressive multiple sclerosis and their relation to disability: a tissue specific magnetisation transfer study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 77:40-45

Ransohoff RM, Perry VH (2009) Microglial physiology: unique stimuli, specialized responses. *Annu Rev Immunol* 27:119-145

Rao SM, Leo GJ, Bernardin L, Unverzagt F (1991) Cognitive dysfunction in multiple sclerosis. I. Frequency, patterns, and prediction. *Neurology* 41:685-691

Rao SM, Leo GJ, Haughton VM, St Aubin-Faubert P, Bernardin L (1989) Correlation of magnetic resonance imaging with neuropsychological testing in multiple sclerosis. *Neurology* 39:161-166

Rees JH (2006) Paraneoplastic cerebellar degeneration: new insights into imaging and immunology. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 77:427

Revesz T, Kidd D, Thompson AJ, Barnard RO, McDonald WI (1994) A comparison of the pathology of primary and secondary progressive multiple sclerosis. *Brain* 117 (Pt 4):759-765

Reynolds R, Roncaroli F, Nicholas R, Radotra B, Gveric D, Howell O (2011) The neuropathological basis of clinical progression in multiple sclerosis. *Acta Neuropathol* 122:155-170

Riccitelli G, Rocca MA, Pagani E, Rodegher ME, Rossi P, Falini A, Comi G, Filippi M (2010) Cognitive impairment in multiple sclerosis is associated to different patterns of gray matter atrophy according to clinical phenotype. *Hum Brain Mapp*

Rio J, Nos C, Tintore M, Tellez N, Galan I, Pelayo R, Comabella M, Montalban X (2006) Defining the response to interferon-beta in relapsing-remitting multiple sclerosis patients. *Ann Neurol* 59:344-352

Rocca MA, Absinta M, Filippi M (2011) The role of advanced magnetic resonance

imaging techniques in primary progressive MS. *J Neurol*

- Rocca MA, Ceccarelli A, Rodegher M, Misci P, Riccitelli G, Falini A, Comi G, Filippi M (2010a) Preserved brain adaptive properties in patients with benign multiple sclerosis. *Neurology* 74:142-149
- Rocca MA, Colombo B, Falini A, Ghezzi A, Martinelli V, Scotti G, Comi G, Filippi M (2005) Cortical adaptation in patients with MS: a cross-sectional functional MRI study of disease phenotypes. *Lancet Neurol* 4:618-626
- Rocca MA, Iannucci G, Rovaris M, Comi G, Filippi M (2003) Occult tissue damage in patients with primary progressive multiple sclerosis is independent of T2-visible lesions--a diffusion tensor MR study. *J Neurol* 250:456-460
- Rocca MA, Riccitelli G, Rodegher M, Ceccarelli A, Falini A, Falautano M, Meani A, Comi G, Filippi M (2010b) Functional MR imaging correlates of neuropsychological impairment in primary-progressive multiple sclerosis. *AJNR Am J Neuroradiol* 31:1240-1246
- Rocca MA, Valsasina P, Absinta M, Riccitelli G, Rodegher ME, Misci P, Rossi P, Falini A, Comi G, Filippi M (2010c) Default-mode network dysfunction and cognitive impairment in progressive MS. *Neurology* 74:1252-1259
- Roosendaal SD, Bendfeldt K, Vrenken H, Polman CH, Borgwardt S, Radue EW, Kappos L, Pelletier D, Hauser SL, Matthews PM, Barkhof F, Geurts JJ (2011) Grey matter volume in a large cohort of MS patients: relation to MRI parameters and disability. *Mult Scler* 17:1098-1106
- Roosendaal SD, Moraal B, Pouwels PJ, Vrenken H, Castelijns JA, Barkhof F, Geurts JJ (2009) Accumulation of cortical lesions in MS: relation with cognitive impairment. *Mult Scler* 15:708-714
- Rovaris M, Bozzali M, Iannucci G, Ghezzi A, Caputo D, Montanari E, Bertolotto A, Bergamaschi R, Capra R, Mancardi GL, Martinelli V, Comi G, Filippi M (2002) Assessment of normal-appearing white and gray matter in patients with primary progressive multiple sclerosis: a diffusion-tensor magnetic resonance imaging study. *Arch Neurol* 59:1406-1412
- Rovaris M, Bozzali M, Santuccio G, Ghezzi A, Caputo D, Montanari E, Bertolotto A, Bergamaschi R, Capra R, Mancardi G, Martinelli V, Comi G, Filippi M (2001) In vivo assessment of the brain and cervical cord pathology of patients with primary progressive multiple sclerosis. *Brain* 124:2540-2549
- Rovaris M, Bozzali M, Santuccio G, Iannucci G, Sormani MP, Colombo B, Comi G, Filippi M (2000) Relative contributions of brain and cervical cord pathology to multiple sclerosis disability: a study with magnetisation transfer ratio histogram analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 69:723-727
- Rovaris M, Gallo A, Falini A, Benedetti B, Rossi P, Comola M, Scotti G, Comi G, Filippi M (2005a) Axonal injury and overall tissue loss are not related in primary

progressive multiple sclerosis. *Arch Neurol* 62:898-902

- Rovaris M, Gallo A, Valsasina P, Benedetti B, Caputo D, Ghezzi A, Montanari E, Sormani MP, Bertolotto A, Mancardi G, Bergamaschi R, Martinelli V, Comi G, Filippi M (2005b) Short-term accrual of gray matter pathology in patients with progressive multiple sclerosis: an in vivo study using diffusion tensor MRI. *Neuroimage* 24:1139-1146
- Rovaris M, Judica E, Gallo A, Benedetti B, Sormani MP, Caputo D, Ghezzi A, Montanari E, Bertolotto A, Mancardi G, Bergamaschi R, Martinelli V, Comi G, Filippi M (2006) Grey matter damage predicts the evolution of primary progressive multiple sclerosis at 5 years. *Brain* 129:2628-2634
- Rovaris M, Judica E, Sastre-Garriga J, Rovira A, Sormani MP, Benedetti B, Korteweg T, De SN, Khaleeli Z, Montalban X, Barkhof F, Miller DH, Polman C, Thompson AJ, Filippi M (2008) Large-scale, multicentre, quantitative MRI study of brain and cord damage in primary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler* 14:455-464
- Rudick RA, Lee JC, Nakamura K, Fisher E (2009) Gray matter atrophy correlates with MS disability progression measured with MSFC but not EDSS. *J Neurol Sci* 282:106-111
- Rudick RA, Stuart WH, Calabresi PA, Confavreux C, Galetta SL, Radue EW, Lublin FD, Weinstock-Guttman B, Wynn DR, Lynn F, Panzara MA, Sandrock AW (2006) Natalizumab plus interferon beta-1a for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 354:911-923
- Saidha S, Syc SB, Durbin MK, Eckstein C, Oakley JD, Meyer SA, Conger A, Frohman TC, Newsome S, Ratchford JN, Frohman EM, Calabresi PA (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*
- Sajja BR, Narayana PA, Wolinsky JS, Ahn CW (2008) Longitudinal magnetic resonance spectroscopic imaging of primary progressive multiple sclerosis patients treated with glatiramer acetate: multicenter study. *Mult Scler* 14:73-80
- Salvarani C, Brown RD, Jr., Calamia KT, Christianson TJ, Huston J, III, Meschia JF, Giannini C, Miller DV, Hunder GG (2008) Primary CNS vasculitis with spinal cord involvement. *Neurology* 70:2394-2400
- Sampat MP, Berger AM, Healy BC, Hildenbrand P, Vass J, Meier DS, Chitnis T, Weiner HL, Bakshi R, Guttmann CR (2009) Regional white matter atrophy--based classification of multiple sclerosis in cross-sectional and longitudinal data. *AJNR Am J Neuroradiol* 30:1731-1739
- Sastre-Garriga J, Arevalo MJ, Renom M, Alonso J, Gonzalez I, Galan I, Montalban X, Rovira A (2009) Brain volumetry counterparts of cognitive impairment in patients with multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 282:120-124

- Sastre-Garriga J, Comabella M, Brieva L, Rovira A, Tintore M, Montalban X (2004a) Decreased MMP-9 production in primary progressive multiple sclerosis patients. *Mult Scler* 10:376-380
- Sastre-Garriga J, Ingle GT, Chard DT, Cercignani M, Ramio-Torrenta L, Miller DH, Thompson AJ (2005a) Grey and white matter volume changes in early primary progressive multiple sclerosis: a longitudinal study. *Brain* 128:1454-1460
- Sastre-Garriga J, Ingle GT, Chard DT, Ramio-Torrenta L, McLean MA, Miller DH, Thompson AJ (2005b) Metabolite changes in normal-appearing gray and white matter are linked with disability in early primary progressive multiple sclerosis. *Arch Neurol* 62:569-573
- Sastre-Garriga J, Ingle GT, Chard DT, Ramio-Torrenta L, Miller DH, Thompson AJ (2004b) Grey and white matter atrophy in early clinical stages of primary progressive multiple sclerosis. *Neuroimage* 22:353-359
- Sastre-Garriga J, Ingle GT, Rovaris M, Tellez N, Jasperse B, Altmann DR, Benedetti B, Stevenson VL, Cercignani M, Leary SM, Barkhof F, Brochet B, Dousset V, Filippi M, Montalban X, Kalkers NF, Polman CH, Rovira A, Miller DH, Thompson AJ (2005c) Long-term clinical outcome of primary progressive MS: predictive value of clinical and MRI data. *Neurology* 65:633-635
- Sawcer S, Hellenthal G, Pirinen M, Spencer CC, Patsopoulos NA, Moutsianas L, Dilthey A, Su Z, Freeman C, Hunt SE, Edkins S, Gray E, Booth DR, Potter SC, Goris A, Band G, Oturai AB, Strange A, Saarela J, Bellenguez C, Fontaine B, Gillman M, Hemmer B, Gwilliam R, Zipp F, Jayakumar A, Martin R, Leslie S, Hawkins S, Giannoulatou E, D'alfonso S, Blackburn H, Martinelli BF, Liddle J, Harbo HF, Perez ML, Spurkland A, Waller MJ, Mycko MP, Ricketts M, Comabella M, Hammond N, Kockum I, McCann OT, Ban M, Whittaker P, Kempainen A, Weston P, Hawkins C, Widaa S, Zajicek J, Dronov S, Robertson N, Bumpstead SJ, Barcellos LF, Ravindrarajah R, Abraham R, Alfredsson L, Ardlie K, Aubin C, Baker A, Baker K, Baranzini SE, Bergamaschi L, Bergamaschi R, Bernstein A, Berthele A, Boggild M, Bradfield JP, Brassat D, Broadley SA, Buck D, Butzkueven H, Capra R, Carroll WM, Cavalla P, Celius EG, Cepok S, Chiavacci R, Clerget-Darpoux F, Clysters K, Comi G, Cossburn M, Cournu-Rebeix I, Cox MB, Cozen W, Cree BA, Cross AH, Cusi D, Daly MJ, Davis E, de Bakker PI, Debouverie M, D'hooghe MB, Dixon K, Dobosi R, Dubois B, Ellinghaus D, Elovaara I, Esposito F, Fontenille C, Foote S, Franke A, Galimberti D, Ghezzi A, Glessner J, Gomez R, Gout O, Graham C, Grant SF, Guerini FR, Hakonarson H, Hall P, Hamsten A, Hartung HP, Heard RN, Heath S, Hobart J, Hoshi M, Infante-Duarte C, Ingram G, Ingram W, Islam T, Jagodic M, Kabesch M, Kermode AG, Kilpatrick TJ, Kim C, Klopp N, Koivisto K, Larsson M, Lathrop M, Lechner-Scott JS, Leone MA, Leppa V, Liljedahl U, Bomfim IL, Lincoln RR, Link J, Liu J, Lorentzen AR, Lupoli S, Macciardi F, Mack T, Marriotti M, Martinelli V, Mason D, McCauley JL, Mentch F, Mero IL, Mihalova T, Montalban X, Mottershead J, Myhr KM, Naldi P, Ollier W, Page A, Palotie A, Pelletier J, Piccio L, Pickersgill T, Piehl F, Pobywajlo S, Quach HL, Ramsay PP, Reunanen M, Reynolds R, Rioux JD, Rodegher M, Roesner S, Rubio JP, Ruckert IM, Salvetti M, Salvi E, Santaniello A, Schaefer CA, Schreiber S,

Schulze C, Scott RJ, Sellebjerg F, Selmaj KW, Sexton D, Shen L, Simms-Acuna B, Skidmore S, Sleiman PM, Smestad C, Sorensen PS, Sondergaard HB, Stankovich J, Strange RC, Sulonen AM, Sundqvist E, Syvanen AC, Taddeo F, Taylor B, Blackwell JM, Tienari P, Bramon E, Tourbah A, Brown MA, Tronczynska E, Casas JP, Tubridy N, Corvin A, Vickery J, Jankowski J, Villoslada P, Markus HS, Wang K, Mathew CG, Wason J, Palmer CN, Wichmann HE, Plomin R, Willoughby E, Rautanen A, Winkelmann J, Wittig M, Trembath RC, Yaouanq J, Viswanathan AC, Zhang H, Wood NW, Zuvich R, Deloukas P, Langford C, Duncanson A, Oksenberg JR, Pericak-Vance MA, Haines JL, Olsson T, Hillert J, Ivinson AJ, De Jager PL, Peltonen L, Stewart GJ, Hafler DA, Hauser SL, McVean G, Donnelly P, Compston A (2011) Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis. *Nature* 476:214-219

Scalfari A, Neuhaus A, Daumer M, Ebers GC, Muraro PA (2011) Age and disability accumulation in multiple sclerosis. *Neurology* 77:1246-1252

Scheid R, Voltz R, Briest S, Kluge R, von Cramon DY (2006) Clinical insights into paraneoplastic cerebellar degeneration. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 77:529-530

Schirmer L, Antel JP, Bruck W, Stadelmann C (2010) Axonal loss and neurofilament phosphorylation changes accompany lesion development and clinical progression in multiple sclerosis. *Brain Pathol*

Schmalstieg WF, Keegan BM, Weinshenker BG (2012) Solitary sclerosis: Progressive myelopathy from solitary demyelinating lesion. *Neurology* 78:540-544

Schmierer K, Parkes HG, So PW, An SF, Brandner S, Ordidge RJ, Yousry TA, Miller DH (2010) High field (9.4 Tesla) magnetic resonance imaging of cortical grey matter lesions in multiple sclerosis. *Brain* 133:858-867

Schmierer K, Scaravilli F, Altmann DR, Barker GJ, Miller DH (2004) Magnetization transfer ratio and myelin in postmortem multiple sclerosis brain. *Ann Neurol* 56:407-415

Schneider A, Araujo GW, Trajkovic K, Herrmann MM, Merkler D, Mandelkow EM, Weissert R, Simons M (2004) Hyperphosphorylation and aggregation of tau in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Biol Chem* 279:55833-55839

Schuster J, Sundblom J, Thuresson AC, Hassin-Baer S, Klopstock T, Dichgans M, Cohen OS, Raininko R, Melberg A, Dahl N (2011) Genomic duplications mediate overexpression of lamin B1 in adult-onset autosomal dominant leukodystrophy (ADLD) with autonomic symptoms. *Neurogenetics* 12:65-72

Seewann A, Kooi EJ, Roosendaal SD, Pouwels PJ, Wattjes MP, van d, V, Barkhof F, Polman CH, Geurts JJ (2012) Postmortem verification of MS cortical lesion detection with 3D DIR. *Neurology* 78:302-308

Sellebjerg F, Bornsen L, Khademi M, Krakauer M, Olsson T, Frederiksen JL, Sorensen PS (2009) Increased cerebrospinal fluid concentrations of the chemokine

CXCL13 in active MS. *Neurology* 73:2003-2010

- Sepulcre J, Sastre-Garriga J, Cercignani M, Ingle GT, Miller DH, Thompson AJ (2006) Regional gray matter atrophy in early primary progressive multiple sclerosis: a voxel-based morphometry study. *Arch Neurol* 63:1175-1180
- Sijens PE, Mostert JP, Oudkerk M, De KJ (2006) (1)H MR spectroscopy of the brain in multiple sclerosis subtypes with analysis of the metabolite concentrations in gray and white matter: initial findings. *Eur Radiol* 16:489-495
- Smith A. (1982) *Symbol Digit Modalities Test (SDMT) Manual (Revised)*. Los Angeles
- Smith SM, Jenkinson M, Johansen-Berg H, Rueckert D, Nichols TE, Mackay CE, Watkins KE, Ciccarelli O, Cader MZ, Matthews PM, Behrens TE (2006) Tract-based spatial statistics: voxelwise analysis of multi-subject diffusion data. *Neuroimage* 31:1487-1505
- Snaith RP, Zigmond AS (1986) The hospital anxiety and depression scale. *Br Med J (Clin Res Ed)* 292:344
- Sola P, Mandrioli J, Simone AM, Ferraro D, Bedin R, Annecca R, Venneri MG, Nichelli PF, Merelli E (2011) Primary progressive versus relapsing-onset multiple sclerosis: presence and prognostic value of cerebrospinal fluid oligoclonal IgM. *Mult Scler* 17:303-311
- Sombekke MH, Arteta D, van de Wiel MA, Crusius JB, Tejedor D, Killestein J, Martinez A, Pena AS, Polman CH, Uitdehaag BM (2010) Analysis of multiple candidate genes in association with phenotypes of multiple sclerosis. *Mult Scler* 16:652-659
- Sombekke MH, van d, V, Kragt JJ, Nielsen JM, Guzel H, Visser A, Oudejans CB, Crusius JB, Pena AS, Vrenken H, Polman CH, Killestein J (2011) Relevance of IL7R genotype and mRNA expression in Dutch patients with multiple sclerosis. *Mult Scler* 17:922-930
- Stadelmann C (2011) Multiple sclerosis as a neurodegenerative disease: pathology, mechanisms and therapeutic implications. *Curr Opin Neurol* 24:224-229
- Stephenson MC, Gunner F, Napolitano A, Greenhaff PL, Macdonald IA, Saeed N, Vennart W, Francis ST, Morris PG (2011) Applications of multi-nuclear magnetic resonance spectroscopy at 7T. *World J Radiol* 3:105-113
- Stevenson VL, Leary SM, Losseff NA, Parker GJ, Barker GJ, Husmani Y, Miller DH, Thompson AJ (1998) Spinal cord atrophy and disability in MS: a longitudinal study. *Neurology* 51:234-238
- Stevenson VL, Miller DH, Leary SM, Rovaris M, Barkhof F, Brochet B, Dousset V, Filippi M, Hintzen R, Montalban X, Polman CH, Rovira A, de SJ, Thompson AJ (2000) One year follow up study of primary and transitional progressive multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 68:713-718
- Stevenson VL, Miller DH, Rovaris M, Barkhof F, Brochet B, Dousset V, Dousset V,

- Filippi M, Montalban X, Polman CH, Rovira A, de SJ, Thompson AJ (1999) Primary and transitional progressive MS: a clinical and MRI cross-sectional study. *Neurology* 52:839-845
- Strauss E., Sherman EMS., Spreen O. (2006) *A Compendium of Neuropsychological Tests: Administration, Norms, and Commentary*, 2nd ed. edn USA
- Stuve O, Kita M, Pelletier D, Fox RJ, Stone J, Goodkin DE, Zamvil SS (2004) Mitoxantrone as a potential therapy for primary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler* 10 Suppl 1:S58-S61
- Summers M, Fisniku L, Anderson V, Miller D, Cipelotti L, Ron M (2008a) Cognitive impairment in relapsing-remitting multiple sclerosis can be predicted by imaging performed several years earlier. *Mult Scler* 14:197-204
- Summers M, Swanton J, Fernando K, Dalton C, Miller DH, Cipelotti L, Ron MA (2008b) Cognitive impairment in multiple sclerosis can be predicted by imaging early in the disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 79:955-958
- Swanton JK, Rovira A, Tintore M, Altmann DR, Barkhof F, Filippi M, Huerga E, Miszkiele KA, Plant GT, Polman C, Rovaris M, Thompson AJ, Montalban X, Miller DH (2007) MRI criteria for multiple sclerosis in patients presenting with clinically isolated syndromes: a multicentre retrospective study. *Lancet Neurol* 6:677-686
- Tallantyre EC, Bo L, Al-Rawashdeh O, Owens T, Polman CH, Lowe J, Evangelou N (2009) Greater loss of axons in primary progressive multiple sclerosis plaques compared to secondary progressive disease. *Brain* 132:1190-1199
- Tallantyre EC, Bo L, Al-Rawashdeh O, Owens T, Polman CH, Lowe JS, Evangelou N (2010) Clinico-pathological evidence that axonal loss underlies disability in progressive multiple sclerosis. *Mult Scler* 16:406-411
- Tedeschi G, Dinacci D, Comerci M, Lavorgna L, Savettieri G, Quattrone A, Livrea P, Patti F, Morra VB, Servillo G, Orefice G, Paciello M, Prinster A, Coniglio G, Bonavita S, Di CA, Bellacosa A, Valentino P, Quarantelli M, Brunetti A, Salemi G, D'Amelio M, Simone I, Salvatore M, Bonavita V, Alfano B (2009) Brain atrophy evolution and lesion load accrual in multiple sclerosis: a 2-year follow-up study. *Mult Scler* 15:204-211
- Tellez N, Comabella M, Julia E, Rio J, Tintore M, Brieva L, Nos C, Montalban X (2006) Fatigue in progressive multiple sclerosis is associated with low levels of dehydroepiandrosterone. *Mult Scler* 12:487-494
- Terasaki PI, Park MS, Opelz G, Ting A (1976) Multiple sclerosis and high incidence of a B lymphocyte antigen. *Science* 193:1245-1247
- Thompson A (2004) Overview of primary progressive multiple sclerosis (PPMS): similarities and differences from other forms of MS, diagnostic criteria, pros and cons of progressive diagnosis. *Mult Scler* 10 Suppl 1:S2-S7

- Thompson AJ, Hutchinson M, Brazil J, Feighery C, Martin EA (1986) A clinical and laboratory study of benign multiple sclerosis. *Q J Med* 58:69-80
- Thompson AJ, Kermode AG, MacManus DG, Kendall BE, Kingsley DP, Moseley IF, McDonald WI (1990) Patterns of disease activity in multiple sclerosis: clinical and magnetic resonance imaging study. *BMJ* 300:631-634
- Thompson AJ, Kermode AG, MacManus DG, Kingsley DP, Kendall BE, Moseley IF, McDonald WI (1989) Pathogenesis of progressive multiple sclerosis. *Lancet* 1:1322-1323
- Thompson AJ, Kermode AG, Wicks D, MacManus DG, Kendall BE, Kingsley DP, McDonald WI (1991) Major differences in the dynamics of primary and secondary progressive multiple sclerosis. *Ann Neurol* 29:53-62
- Thompson AJ, Montalban X, Barkhof F, Brochet B, Filippi M, Miller DH, Polman CH, Stevenson VL, McDonald WI (2000) Diagnostic criteria for primary progressive multiple sclerosis: a position paper. *Ann Neurol* 47:831-835
- Thompson AJ, Polman CH, Miller DH, McDonald WI, Brochet B, Filippi MM, X, de SJ (1997) Primary progressive multiple sclerosis. *Brain* 120 (Pt 6):1085-1096
- Till C, Ghassemi R, ubert-Broche B, Kerbrat A, Collins DL, Narayanan S, Arnold DL, Desrocher M, Sled JG, Banwell BL (2011) MRI correlates of cognitive impairment in childhood-onset multiple sclerosis. *Neuropsychology* 25:319-332
- Tofts P (2007) *Quantitative MRI of the Brain. Measuring changes caused by disease*, 4th edn. John Wiley and Sons Ltd., Chichester, West Sussex, England
- Tremlett H, Paty D, Devonshire V (2005) The natural history of primary progressive MS in British Columbia, Canada. *Neurology* 65:1919-1923
- Tur C, Khaleeli Z, Ciccarelli O, Altmann DR, Cercignani M, Miller DH, Thompson AJ (2011a) Complementary roles of grey matter MTR and T2 lesions in predicting progression in early PPMS. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 82:423-428
- Tur C, Montalban X, Tintore M, Nos C, Rio J, Aymerich FX, Brieva L, Tellez N, Perkal H, Comabella M, Galan I, Calle D, Sastre-Garriga J, Rovira A (2011b) Interferon Beta-1b for the Treatment of Primary Progressive Multiple Sclerosis: Five-Year Clinical Trial Follow-up. *Arch Neurol* 68:1421-1427
- Tur C, Penny S, Khaleeli Z, Altmann DR, Cipelotti L, Ron M, Thompson AJ, Ciccarelli O (2011c) Grey matter damage and overall cognitive impairment in primary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler* 17:1324-1332
- Tur, Wheeler-Kingshott CA, Altmann DR, Miller DH, Thompson AJ, Ciccarelli O (2011d) Spatial variability and changes of metabolite concentrations in the cortico-spinal tract in multiple sclerosis using coronal CSI (manuscript under review).
- Turetschek K, Wunderbaldinger P, Bankier AA, Zontsich T, Graf O, Mallek R, Hittmair K (1998) Double inversion recovery imaging of the brain: initial experience and

comparison with fluid attenuated inversion recovery imaging. *Magn Reson Imaging* 16:127-135

Ukkonen M, Vahvelainen T, Hamalainen P, Dastidar P, Elovaara I (2009) Cognitive dysfunction in primary progressive multiple sclerosis: a neuropsychological and MRI study. *Mult Scler* 15:1055-1061

Ukkonen M, Wu K, Reipert B, Dastidar P, Elovaara I (2007) Cell surface adhesion molecules and cytokine profiles in primary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler* 13:701-707

van Waesberghe JH, Kamphorst W, De Groot CJ, van Walderveen MA, Castelijns JA, Ravid R, Nijeholt GJ, van d, V, Polman CH, Thompson AJ, Barkhof F (1999) Axonal loss in multiple sclerosis lesions: magnetic resonance imaging insights into substrates of disability. *Ann Neurol* 46:747-754

van dE, I, Boden B, Dattola V, Knol DL, Filippi M, Kappos L, Fazekas F, Wagner K, Pohl C, Sandbrink R, Polman CH, Uitdehaag BM, Barkhof F (2010) Cerebral atrophy as outcome measure in short-term phase 2 clinical trials in multiple sclerosis. *Neuroradiology* 52:875-881

van HJ, Brink BP, de Vries HE, van d, V, Bo L (2007) The blood-brain barrier in cortical multiple sclerosis lesions. *J Neuropathol Exp Neurol* 66:321-328

Vasconcelos CC, Fernandez O, Leyva L, Thuler LC, Alvarenga RM (2009) Does the DRB1*1501 allele confer more severe and faster progression in primary progressive multiple sclerosis patients? HLA in primary progressive multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 214:101-103

Vercellino M, Plano F, Votta B, Mutani R, Giordana MT, Cavalla P (2005) Grey matter pathology in multiple sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 64:1101-1107

Victor M, Ropper AH (2001) *Adams and Victor's Principles of Neurology*, Seventh Edition edn

Vide AT, Marques AM, Costa JD (2011) MRI findings in subacute combined degeneration of the spinal cord in a patient with restricted diet. *Neurol Sci*

Wechsler DA (1981) *Wechsler Adult Intelligence Test-Revised* London

Weinshenker BG, Bass B, Rice GP, Noseworthy J, Carriere W, Baskerville J, Ebers GC (1989a) The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. I. Clinical course and disability. *Brain* 112 (Pt 1):133-146

Weinshenker BG, Bass B, Rice GP, Noseworthy J, Carriere W, Baskerville J, Ebers GC (1989b) The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. 2. Predictive value of the early clinical course. *Brain* 112 (Pt 6):1419-1428

Weinshenker BG, Santrach P, Bissonet AS, McDonnell SK, Schaid D, Moore SB, Rodriguez M (1998) Major histocompatibility complex class II alleles and the

course and outcome of MS: a population-based study. *Neurology* 51:742-747

Wolinsky JS, Narayana PA, O'Connor P, Coyle PK, Ford C, Johnson K, Miller A, Pardo L, Kadosh S, Ladkani D (2007) Glatiramer acetate in primary progressive multiple sclerosis: results of a multinational, multicenter, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Neurol* 61:14-24

Wolinsky JS, Shochat T, Weiss S, Ladkani D (2009) Glatiramer acetate treatment in PPMS: why males appear to respond favorably. *J Neurol Sci* 286:92-98

Zettl UK, Kuhlmann T, Bruck W (1998) Bcl-2 expressing T lymphocytes in multiple sclerosis lesions. *Neuropathol Appl Neurobiol* 24:202-208

Zivadinov R, Locatelli L, Cookfair D, Srinivasaraghavan B, Bertolotto A, Ukmar M, Bratina A, Maggiore C, Bosco A, Grop A, Catalan M, Zorzon M (2007) Interferon beta-1a slows progression of brain atrophy in relapsing-remitting multiple sclerosis predominantly by reducing gray matter atrophy. *Mult Scler* 13:490-501

