



Universitat Autònoma de Barcelona

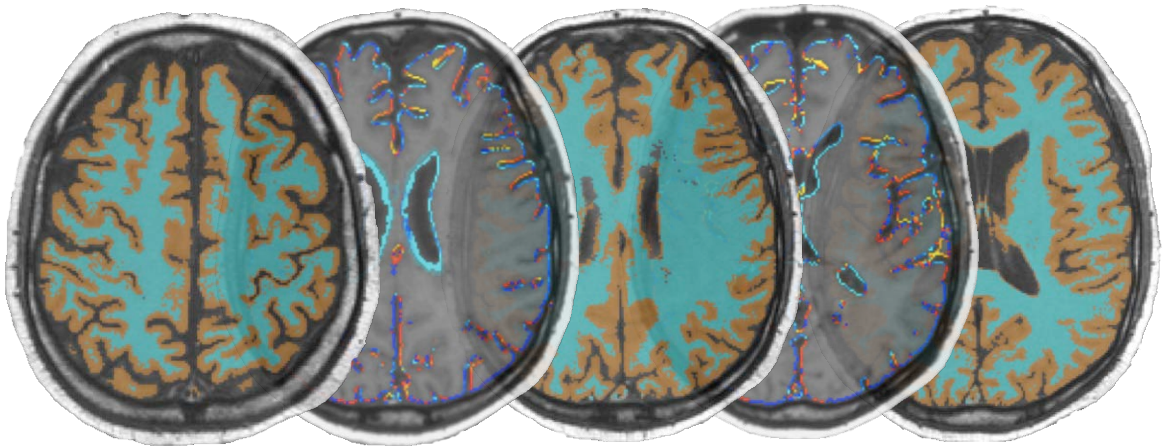
ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

TESIS DOCTORAL

Estudio del efecto de pseudoatrofia cerebral
en pacientes con esclerosis múltiple
remitente-recurrente



Angela Vidal Jordana

Directores

Xavier Montalban

Jaume Sastre-Garriga



Universitat Autònoma
de Barcelona

TESIS DOCTORAL

ESTUDIO DEL EFECTO DE PSEUDOATROFIA CEREBRAL EN PACIENTES CON ESCLEROSIS MÚLTIPLE REMITENTE- RECURRENTE

Doctorando

Angela Vidal Jordana

Directores

Prof. Xavier Montalban Gairín

Dr. Jaume Sastre Garriga

Tutor

Prof. Vicent Fonollosa i Pla

Programa de Doctorado en Medicina

Universitat Autònoma de Barcelona

Departamento de Medicina – Facultad de Medicina

Barcelona, Marzo de 2016

*A ti, por venir a este mundo con
confianza ciega y regalarnos cada día
tu inocente sonrisa*

AGRADECIMIENTOS

*“Caminante, son tus huellas
el camino y nada más;
caminante, no hay camino,
se hace camino al andar.
Caminante no hay camino
sino estelas en la mar”
Antonio Machado*

Y en este caminar que hoy me lleva a finalizar mi tesis doctoral, son muchas las personas que me habéis acompañado, guiado y que de alguna manera me habéis ayudado a llegar a este punto, para continuar el camino. Con la esperanza de no olvidarme de nadie, quiero agradecer, cronológicamente, a todos que habéis aparecido en la senda de mi vida.

A mi familia, a mi madre, mi padre y mi hermano. Por apoyarme, por educarme, por estar allí para levantarme, incluso cuando no nos dejemos. Mamá, gracias por inculcarme los valores del esfuerzo, el trabajo y la constancia, los cuales me han permitido llegar hasta aquí.

A mi abuela, que faltó pronto. A mi abuelo, por el orgullo incondicional hacia su nieta, “¡que es médico!”, por su apoyo en el verano del MIR, por poder compartir juntos algunos de los momentos de descanso, que hizo que todo fuera mucho más llevadero.

A mi tía, mis primas y mi primo. Por todos los veranos y los buenos (y no tan buenos) momentos compartidos. Porque juntos hacemos piña.

A mis profesores del colegio, que creyeron que yo era capaz.

A mis amigas, las “Vilas”, porque juntas hacemos un equipo insuperable. Por todas las experiencias compartidas, por estar siempre dispuestas a despejarnos la mente cuando volvíamos de estudiar, por esperarnos a la salida del examen MIR, por todas aquellas primeras veces que hemos vivido juntas. Vuestra compañía ha allanado los caminos más abruptos. ¡Gracias!.

A mis profesores de medicina que me inculcaron las ganas de conocer más. A los compañeros de carrera, pocos pero bien avenidos, supimos disfrutar como nadie de lo que según decían iban a ser “unos años muy duros”. Porque después de tantos tiempo, sólo me quedan buenos recuerdos de todo aquello que compartimos.

A los neurólogos del Hospital de Sant Pau, que me formaron como profesional y como persona. En especial a Joan Martí, por inculcarme el gusanito de la investigación,

aunque después no me quedara con él “desatascando tuberías”. A Raquel Delgado, por empujarme hacia lo “alto de la montaña”.

A mis compañeros de residencia, una segunda familia mientras estuvimos allí. A Isa y María, las mejores co-Rs que pude tener, en la distancia os recuerdo cada día. A Jordi, Sergi, Eugenia, Dani, Luis, Marc y Aida un ejemplo de adjuntos, *resis* mayores y pequeños con los que fue un placer compartir interconsultas, guardias, consultas externas y otras actividades extracurriculares. Por hacer mejores los momentos difíciles. Volvería sin pensarlo a repetir la residencia con vosotros. Gracias.

A Alex, por tu apoyo incondicional, por estar siempre ahí, por responder siempre con una sonrisa y un abrazo, por creer en mi, por apoyarme, por hacerme desviar del camino del trabajo hacia el sendero de la vida. Por hacerme disfrutar cada día. Por haberme animado a la aventura que hoy compartimos en casa, el mejor regalo que nadie me podría haber dado.

Y al final del camino, cerca del desvío hacia la tesis doctoral, llego por fin al Cemcat. Son muchos los miembros de esta gran familia, imposible nombrar a todos sin dejarme a nadie, ha sido un placer trabajar con todos y cada uno de vosotros estos últimos años. Mar gràcies pels teus consells i el teu suport, gràcies per confiar. Susana, Joaquín e Ingrid, gracias por todos los momentos compartidos, especialmente los de Plaza Molina, el despacho 5 o Avenida Gaudí, espero que no se acaben y sean muchos más.

A los compañeros de resonancia magnética, Alex, Cristina y Deborah, sin los cuales este trabajo (y tantos otros!) no sería posible. Deborah, gràcies per la teva bona disposició i per fer-ho tot més fàcil, tant en l'àmbit professional com en el personal.

A los pacientes, por enseñarme tanto de la enfermedad y de la capacidad de superación. A vosotros, sin los cuales el trabajo no sólo no se hubiera realizado, sino que no tendría sentido.

Y por último, aunque por descontado, no por ello menos importante, quería agradecer muy especialmente a mis directores de tesis, a quienes admiro y respeto. Jaume gràcies per endinsar-me en el mon de la volumetria cerebral, per la teva guia i per la teva paciència, pels teus *inputs* i per estar sempre disposat a revisar els resultats (una vegada, una altra i una altra si cal!). Xavier, gràcies per la teva imparable empenta, per la teva guia en el camí de l'excel·lència, per treure el millor de nosaltres i fer-me créixer com a professional. Xavier i Jaume, gràcies als dos per la confiança que veu depositar en mi des de el primer moment. Gràcies per creure en mi.

GLOSARIO

AG	Acetato de glatirámero
AL	Alemtuzumab
BET	<i>Brain extraction tool</i>
BPF	Fracción de volumen cerebral (<i>brain parenchyma fraction</i>)
BPV	Volumen de parénquima cerebral (<i>brain parenchyma volume</i>)
DE	Desviación estándar
DIS	Diseminación en espacio (<i>dissemination in space</i>)
DIT	Diseminación en tiempo (<i>dissemination in time</i>)
DMF	Dimetilfumarato
DP	Densidad protónica
EDSS	Escala de Expandida del Estado de Discapacidad (<i>Expanded Disability Status Scale</i>)
EM	Esclerosis múltiple
EMA	Agencia Europea del Medicamento (<i>European Medicines Agency</i>)
EMRR	Esclerosis múltiple remitente - recurrente
FLIRT	<i>FMRIB's Linear Image Registration Tool</i>
FNG	Fingolimod
FSL	<i>FMRIB Software Library</i>
Gd	Gadolinio
Gd-	Ausencia de realce tras la administración de gadolinio
Gd+	Presencia de realce tras la administración de gadolinio
GMF	Fracción de sustancia gris (<i>grey matter fraction</i>)
GMPC	Porcentaje de cambio de sustancia gris (<i>grey matter percentage change</i>)
IFN- β	Interferon beta
im	Intramuscular
LCR	Líquido cefalorraquídeo
mg	Miligramos
N.A.	No aportado
n.s.	No significativo
NAT	Natalizumab
p	Valor de p o de significación estadística
PBVC	Porcentaje de cambio de volumen cerebral (<i>percentage brain volume change</i>)

RM	Resonancia Magnética
SB	Sustancia blanca
sc	Subcutáneo
SCA	Síndrome clínico aislado
SG	Sustancia gris
SIENA	<i>Structural Image Evaluation, using Normalization, of Atrophy</i>
SIENAX	<i>Structural Image Evaluation, using Normalization, of Atrophy Cross-Sectional</i>
SNC	Sistema nervioso central
SPM	<i>Statistical Parametric Mapping</i>
TAB	Tasa anualizada de brotes
TE	Tiempo de eco
TI	Tiempo de inversión
TR	Tiempo de repetición
ug	microgramos
VC	Volumen cerebral
vs	Versus
WMF	Fracción de sustancia blanca (<i>white matter fraction</i>)
WMPC	Porcentaje de cambio de sustancia blanca (<i>white matter percentage change</i>)

NOTA: algunas abreviaturas se han mantenido en su idioma original (inglés) por ser las de uso común

INDICE

INTRODUCCIÓN	17
1. Definición, epidemiología y etiopatogenia	19
2. Clínica e historia natural	20
3. Diagnóstico y diagnóstico diferencial	23
4. Tratamiento	28
4.1. Interferón beta	28
4.2. Acetato de glatirámero	29
4.3. Natalizumab	30
4.4. Fingolimod	33
4.5. Teriflunomida	33
4.6. Dimetilfumarato	34
4.7. Alemtuzumab	35
4.8. Resumen tratamientos	36
5. Resonancia magnética	37
5.1. Estudio del volumen cerebral	37
5.2. Atrofia cerebral en la EMRR	38
5.3. Impacto de los tratamientos sobre la atrofia cerebral	39
HIPÓTESIS	51
OBJETIVOS	55
MATERIAL Y MÉTODOS	59
1. Participantes	61
2. Evaluaciones Clínicas	61
3. Resonancia Magnética cerebral	61
3.1. Generalidades	61
3.2. Estudio del cambio de volumen cerebral en ambas cohortes	63
3.3. Adquisición y post-procesado de las imágenes de ambas cohortes	68
4. Análisis estadístico	73
4.1. Análisis estadístico de la cohorte de pacientes tratados con natalizumab (primera cohorte)	73
4.2. Análisis estadístico de la cohorte de pacientes tratados con interferón beta (segunda cohorte)	74

RESULTADOS	77
1. Primera cohorte: pacientes tratados con natalizumab	79
1.1. Resultados de atrofia cerebral global	80
1.2. Resultados de atrofia cerebral regional: sustancia gris y sustancia blanca	81
1.3. Estudio de la influencia de la actividad inflamatoria en la pérdida de volumen cerebral	81
1.4. Correlaciones clínico-radiológicas	84
2. Segunda cohorte: pacientes tratados con interferón beta	84
2.1. Resultados de atrofia cerebral global y regional: sustancia gris y sustancia blanca	85
2.2. Estudio de la influencia de la actividad inflamatoria en la pérdida de volumen cerebral	88
DISCUSIÓN	91
1. Particularidades de las cohortes analizadas	93
1.1. Características clínico-demográficas de las cohortes	93
1.2. Modelo para el estudio de la pseudoatrofia cerebral	94
2. Evolución del volumen cerebral global y regional bajo tratamiento	95
3. Limitaciones	100
CONCLUSIONES	103
BIBLIOGRAFÍA	107
PUBLICACIONES	119
Pacientes tratados con natalizumab	121
Pacientes tratados con interferón beta	131
Artículo de revisión: efecto de los tratamientos para la esclerosis múltiple remitente-recurrente sobre la atrofia cerebral	141

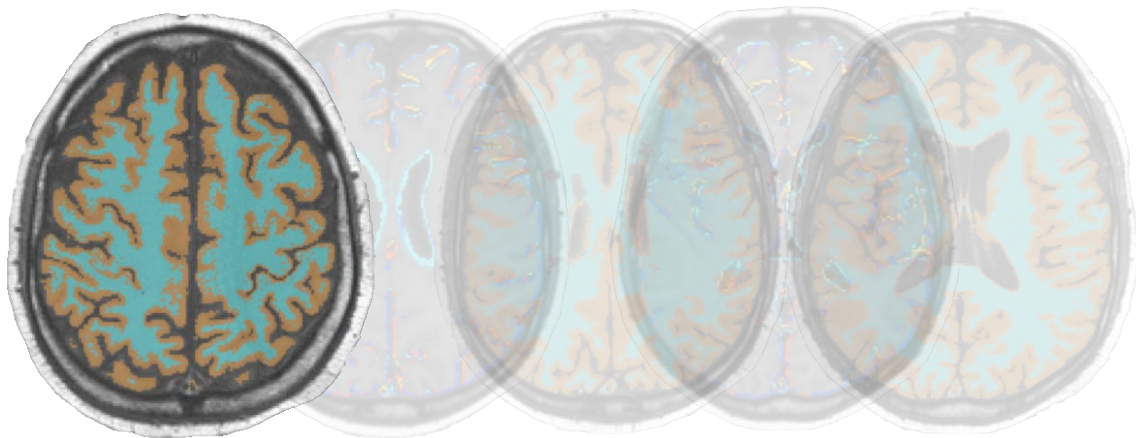
ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Manifestaciones clínicas de la esclerosis múltiple	22
Tabla 2. Manifestaciones clínicas de la esclerosis múltiple avanzada	23
Tabla 3. Criterios radiológicos de diseminación en espacio y tiempo	25
Tabla 4. Diagnóstico diferencial en la esclerosis múltiple	26
Tabla 5. Datos clínicos atípicos o <i>red-flags</i> en la esclerosis múltiple	27
Tabla 6. Principios activos aprobados para el tratamiento de la esclerosis múltiple remitente-recurrente	31
Tabla 7. Eficacia clínica y principales efectos adversos de los diferentes principios activos para el tratamiento de la esclerosis múltiple remitente-recurrente	32
Tabla 8. Efecto de los tratamientos sobre el volumen cerebral: datos de ensayos clínicos randomizados fase III	46
Tabla 9. Clasificación de los pacientes de la segunda cohorte (tratamiento con interferón beta)	73
Tabla 10. Características basales de la cohorte de pacientes tratados con natalizumab	79
Tabla 11. Datos clínico-radiológicos durante el seguimiento en la cohorte de pacientes tratados con natalizumab	80
Tabla 12. Análisis de regresión lineal multivariado para la cohorte de pacientes tratados con natalizumab	84
Tabla 13. Características basales de la cohorte de pacientes tratados con interferón beta	85
Tabla 14. Primer modelo de regresión lineal para la cohorte de pacientes tratados con interferón beta	88
Tabla 15. Segundo modelo de regresión lineal para la cohorte de pacientes tratados con interferón beta	89

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fenotipos de esclerosis múltiple	20
Figura 2. Resonancia magnética cerebral y medular en la esclerosis múltiple	24
Figura 3. Diagnóstico de esclerosis múltiple	25
Figura 4. Extracción del tejido cerebral y la superficie externa del hueso craneal mediante la herramienta <i>Brain Extraction Tool</i> (BET)	65
Figura 5. Registro de las imágenes al espacio común mediante la herramienta <i>FMRIB's Linear Image Registration Tool</i>	66
Figura 6. Análisis de cambio de volumen cerebral	67
Figura 7. Segmentación del tejido cerebral mediante el programa SPM	69
Figura 8. Máscaras tisulares obtenidas tras la segmentación del tejido cerebral mediante el programa SPM	69
Figura 9. Esquema de la adquisición y post-procesado de las imágenes para la cohorte 1: pacientes tratados con natalizumab (A) y para la cohorte 2: pacientes tratados con interferón beta (B)	72
Figura 10. Cambio de volumen cerebral global durante el primer y segundo año de tratamiento con natalizumab para toda la cohorte de pacientes (A) y en función de la presencia o ausencia de lesiones que realzan con gadolinio en la RM cerebral basal (B)	82
Figura 11. Cambio de volumen de sustancia gris y sustancia blanca cerebral durante el primer año de tratamiento con natalizumab	83
Figura 12. Cambio de volumen cerebral global, de sustancia gris y sustancia blanca en pacientes tratados con interferón	86
Figura 13. Cambio de volumen cerebral de sustancia blanca (A) y sustancia gris (B) en pacientes tratados con interferón en los cuatro grupos definidos	87

INTRODUCCIÓN



INTRODUCCIÓN

1. Definición, epidemiología y etiopatogenia

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad crónica, inflamatoria e inmunomediada que afecta a la mielina y los axones del sistema nervioso central (SNC). Es una enfermedad que se manifiesta principalmente en adultos jóvenes, entre los 20-40 años de edad, con una predominancia del género femenino^{1,2}.

En los últimos años se ha descrito un aumento de la incidencia y prevalencia de la EM en diferentes regiones³, que se ha constatado también en nuestro medio⁴. En España, actualmente la incidencia de EM es de entre 4,1 a 5,3 casos por cada 100.000 habitantes año, con una prevalencia de 60 a 80 casos por 100.000 habitantes, según los estudios publicados en los últimos 10 años⁵. De este modo, España, tradicionalmente considerada como una zona de riesgo bajo para desarrollar la enfermedad, se situaría actualmente en una zona de riesgo medio según los estudios de epidemiología clásicos⁶.

La etiopatogenia de la EM no se conoce con exactitud; la hipótesis más aceptada hoy en día es que se trata de una enfermedad con una etiología multifactorial en la que se combinan factores genéticos y ambientales^{1,2}. Así, sobre individuos con una susceptibilidad genética determinada, actuarían diversos factores ambientales (infección por el virus de Epstein-Barr, tabaco, vitamina D, etc.) que favorecerían el desarrollo de la enfermedad^{2,7}. En cuanto a la patogenia, brevemente, el proceso se iniciaría con el paso de linfocitos activados a través de la barrera hemato-encefálica, gracias a la sobreexpresión de moléculas de adhesión linfocitaria en el endotelio vascular de la misma. Una vez en el SNC, estos linfocitos activados reaccionarían frente a los diferentes antígenos presentes en las células y estructuras del SNC secretando citoquinas proinflamatorias que mantendrían la respuesta inflamatoria. La consecuencia última de este proceso inmunológico es la formación de la placa esclerótica en la que, en función de si se trata de una placa activa o crónica, se observarían diferentes grados de desmielinización, remielinización, daño axonal y celular (oligodendrocitos, astrocitos y neuronas principalmente)^{1,2,8}.

2. Clínica e historia natural

La clínica de la EM consiste en diversos síntomas y signos de disfunción neurológica que variarán en función del área del SNC afectada (tablas 1 y 2). Según la forma de instauración y/o resolución (ya sea completa o parcial) de estos síntomas, clásicamente se establecieron 4 fenotipos de EM: remitente-recurrente (EMRR), secundaria progresiva con o sin brotes añadidos, primaria progresiva y progresiva con brotes⁹. Recientemente esta clasificación se ha modificado de forma que ha desaparecido el concepto de esclerosis múltiple progresiva con brotes y se ha añadido el síndrome clínico aislado (SCA) como un nuevo fenotipo de la enfermedad¹⁰ (figura 1). Además, la enfermedad se clasifica en activa o no activa en función de la presencia o ausencia de actividad clínica (brotes o progresión de la discapacidad) y/o radiológica (aparición de nuevas lesiones o lesiones que realzan con contraste)¹⁰.

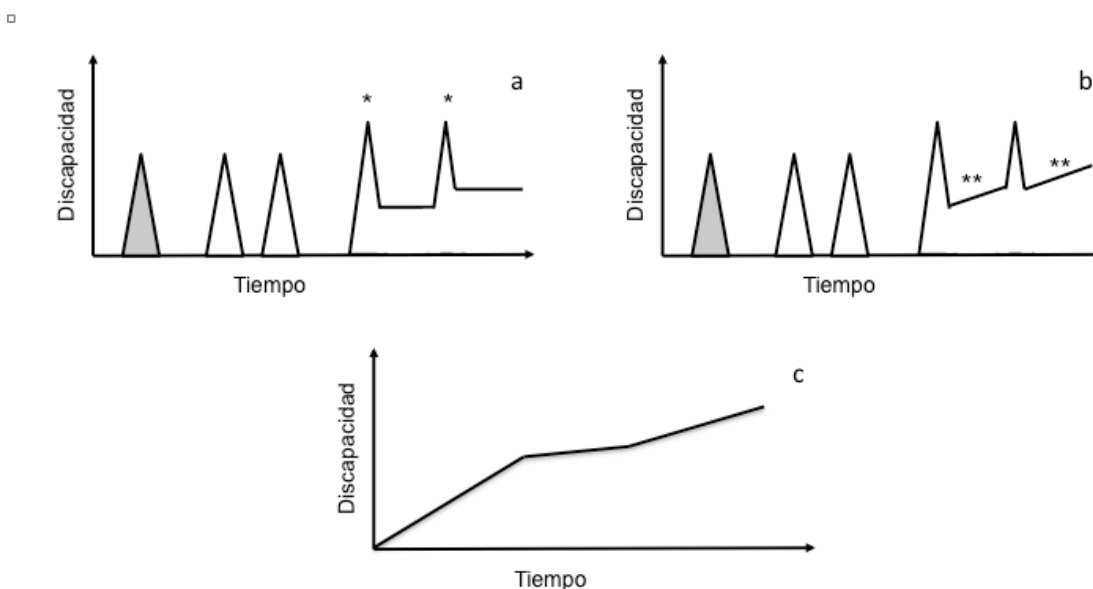


Figura 1. Fenotipos de esclerosis múltiple. La figura muestra los diferentes fenotipos de esclerosis múltiple. En el caso de la esclerosis múltiple remitente-recurrente (a), tras el primer evento o síndrome clínico aislado (gris claro), se suceden una serie de empeoramientos neurológicos que constituyen los brotes (o recurrencias), tras los cuales se produce una mejoría (o remisión) que puede ser completa o parcial (marcada esta última con *). Tras este periodo inicial puede aparecer una progresión mantenida de los síntomas neurológicos (marcada con **) con o sin brotes sobreañadidos; esta fase constituye la esclerosis múltiple secundaria progresiva (b). En el caso de esclerosis múltiple primaria progresiva (c), se observa una progresión mantenida de los síntomas neurológicos desde el inicio. En función de la presencia de actividad clínica (presencia de brotes o de progresión confirmada a los tres meses) y/o radiológica, estos tres fenotipos pueden clasificarse en: enfermedad activa o no activa. *Adaptado de Lublin et al*^{9,10}.

La EMRR supone el 80-85% de los casos de EM y cursa típicamente con brotes o recurrencias que se definen como la aparición de síntomas y signos neurológicos de instauración insidiosa, que persisten más de 24 horas, en ausencia de fiebre o infección. La primera manifestación o brote de la enfermedad se denomina SCA^{2,11} (figura 1). El SCA no es más que un evento de disfunción neurológica transitorio que por definición es aislado en el tiempo, es decir, tras haber realizado una anamnesis minuciosa, no se detectan síntomas neurológicos previos sugestivos de una enfermedad inflamatorio-desmielinizante del SNC¹¹. La clínica del brote, y por tanto también del SCA, dependerá de la topografía de la lesión; típicamente la EM suele manifestarse en forma de neuritis óptica, mielitis transversa incompleta o un síndrome tronco-encefálico (tabla 1). La EMRR también puede presentarse con otros síntomas menos frecuentes que en raras ocasiones pueden constituir la primera manifestación de la enfermedad como por ejemplo el trastorno cognitivo o las crisis comiciales (tabla 1)¹¹. La recuperación de los brotes podrá ser completa, posiblemente más frecuente en las fases más iniciales de la enfermedad, o incompleta, habitualmente en fases más avanzadas de la enfermedad (figura 1). En el caso de una recuperación incompleta, a la que puede asociarse con el paso de los años una progresión de la discapacidad, aparecerán diversos síntomas y signos neurológicos que traducen las secuelas debidas al daño irreversible de diferentes regiones del SNC (tabla 2)².

Tras la aparición de un SCA, el riesgo de desarrollar EM vendrá determinado principalmente por la presencia de lesiones en la resonancia magnética (RM) cerebral^{2,11}. Entre el 60-80% de los pacientes que presenten lesiones típicas de una enfermedad inflamatorio-desmielinizante tipo EM en la RM cerebral inicial (figura 2), terminarán desarrollando la enfermedad en el seguimiento a largo plazo, mientras que sólo desarrollarán EM el 10-20% de los pacientes que presenten una RM cerebral inicial normal¹¹⁻¹⁴. Otros factores clínico-demográficos y biológicos, tales como una edad temprana de inicio de la enfermedad, el sexo femenino, la raza no caucásica, la presencia de bandas oligoclonales en líquido cefalorraquídeo (LCR) o un mayor número de sistemas funcionales afectados en el momento del SCA, se han relacionado también con el riesgo de conversión a EM¹¹. Sin embargo, cuando se realiza un análisis multivariado (en el que se tienen en cuenta un gran número de los posibles factores implicados en el pronóstico de la enfermedad) únicamente la edad de inicio más temprana, la presencia de bandas oligoclonales en LCR, y el número de lesiones en la RM cerebral inicial parecen aumentar el riesgo de desarrollar EM¹⁴.

Según estudios de historia natural de la enfermedad en pacientes no tratados, tras 20 años de evolución, alrededor de un 80% de los pacientes entrarán en una fase progresiva, con o sin actividad clínico-radiológica sobreañadida^{11,15,16} (figura 1). Entre los factores pronósticos relacionados con el desarrollo de discapacidad a largo plazo se encuentran: sexo masculino^{14,16}, edad más avanzada en el momento del SCA^{14,16}, tasa de brotes inicial elevada^{15,16}, tiempo hasta el segundo brote corto¹⁵, presencia de bandas oligoclonales en el LCR¹⁴ y un mayor número de lesiones en la RM cerebral inicial¹⁴.

Tabla 1. Manifestaciones clínicas de la esclerosis múltiple

Manifestaciones clínicas de los brotes	
Nervio óptico	Pérdida visión monocular, dolorosa
Medula espinal	Hemiparesia con respeto facial, mono / paraparesia Hipoestesia, disestesia, parestesias Disfunción esfínter urinario y/o fecal
Tronco-encéfalo y cerebelo	Diplopia, oscilopsia Vértigo Ataxia de la marcha, disimetría Temblor de intención, temblor postural Paresia y/o hipoestesia facial Síndrome cruzado
Hemisferio cerebral	Hemiparesia facio-braquio-crural Hemihipoestesia facio-braquio-crural
Otras manifestaciones clínicas	
	Síntomas paroxísticos
	Crisis comiciales
	Trastorno cognitivo

La tabla muestra las manifestaciones clínicas más típicas que pueden aparecer en pacientes afectados de una EMRR y que constituyen los brotes o recurrencias de la enfermedad. Los síntomas se han clasificado en función de la topografía del sistema nervioso central afectada. *Adaptado de Compston et al².*

Tabla 2. Manifestaciones clínicas de la esclerosis múltiple avanzada

Manifestaciones clínicas tardías en la EM	
Vía piramidal	Paresia Espasmos dolorosos Rigidez Marcha espástica
Vía sensitiva	Hipoestesia, disestesia
Medula espinal	Monoparesia, hemiparesia o paraparesia Disfunción esfínter urinario y/o fecal Disfunción sexual
Tronco-encéfalo	Estrabismo Disartria Disfagia Marcha atáxica
Cerebral	Trastorno del estado del ánimo Trastorno cognitivo
Otros	Dolor neuropático Fatiga Sensibilidad a la temperatura Síndrome pseudobulbar

La tabla lista las manifestaciones clínicas tardías o secuelas que pueden aparecer en pacientes con esclerosis múltiple avanzada; los síntomas se han clasificado en función de la topografía del sistema nervioso central afectada. *Adaptado de Compston et al.²*

3. Diagnóstico y diagnóstico diferencial

Dada la ausencia de una prueba de laboratorio específica, el diagnóstico de EM se establece cuando se cumplen una serie de criterios diagnósticos. Los criterios diagnósticos han ido evolucionando a lo largo de los años¹⁷⁻²⁰, pero en todos ellos el diagnóstico de EM se basa en confirmar la afectación de dos o más áreas del SNC (diseminación en espacio) en diferentes momentos evolutivos de la enfermedad (diseminación en tiempo). En los criterios diagnósticos clásicos, existían diversos grados de certeza basados en la clínica del paciente y en los resultados de pruebas paraclínicas como los potenciales evocados o la presencia de bandas oligoclonales en

LCR¹⁷. Así, para establecer el diagnóstico de EM clínicamente definida (el de mayor certeza diagnóstica), el neurólogo debía esperar a que el paciente presentara dos o más brotes de la enfermedad, lo que retrasaba enormemente el diagnóstico. Los criterios diagnósticos más recientes, permiten demostrar la presencia de diseminación en espacio y tiempo mediante RM¹⁸⁻²⁰. Los criterios de diseminación en espacio y tiempo por RM han ido evolucionando a lo largo de estos años para permitir un diagnóstico cada vez más rápido y seguro. De hecho, con los criterios diagnósticos actuales (2010), el diagnóstico de EM se podría establecer desde el momento que el paciente presenta un SCA^{20,21}. Así, si en la RM cerebral realizada tras un SCA el paciente presenta lesiones típicas de una enfermedad inflamatorio-desmielinizante del SNC (figura 2) y cumple criterios de diseminación en espacio y tiempo (tabla 3) se puede confirmar ya el diagnóstico de EM (figura 3).

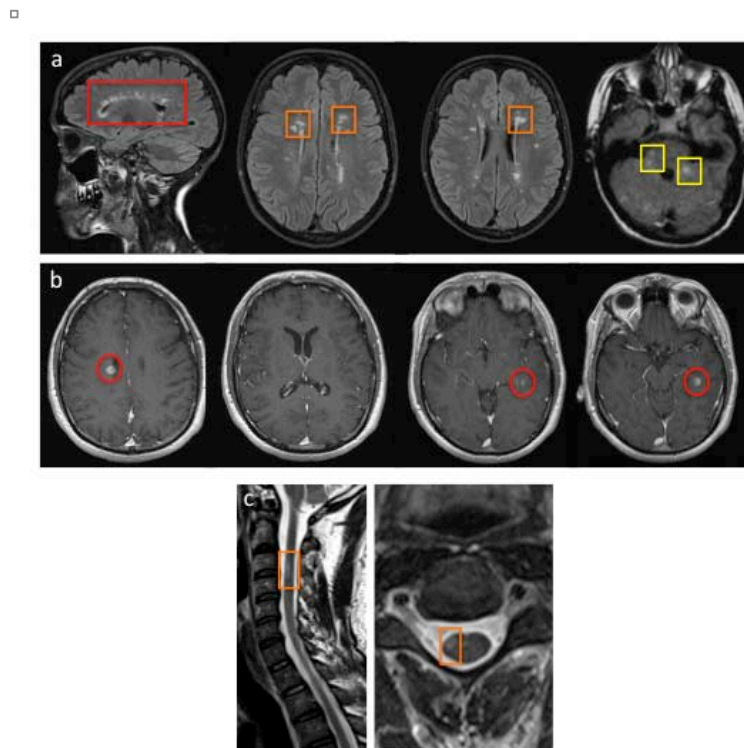


Figura 2. Resonancia magnética cerebral y medular en la esclerosis múltiple. La figura muestra las lesiones típicas de esclerosis múltiple que se observan en las secuencias potenciadas en T2 (a), en las secuencias potenciadas en T1 tras administración de contraste paramagnético (b) y en la médula espinal (c). Las lesiones típicamente afectan a la sustancia blanca cerebral, son ovoideas, hiperintensas en secuencias potenciadas en T2 (a), afectan frecuentemente al cuerpo calloso (rectángulo rojo) y a nivel cerebral se localizan en tres zonas típicas que permiten establecer el diagnóstico de diseminación en espacio: yuxtacorticales, periventriculares (cuadrados naranjas), e infratentoriales (cuadrados amarillos). En las secuencias potenciadas en T1, tras la administración de contraste paramagnético (b), las lesiones que se hayan formado más recientemente presentaran un realce, en este caso nodular (círculo rojo). En la médula espinal (c), las lesiones típicas de esclerosis múltiple ocupan habitualmente menos de un cuerpo vertebral de longitud y menos de la mitad del diámetro antero-posterior de la médula, localizándose frecuentemente en la periferia de la misma (rectángulo naranja).

Tabla 3. Criterios radiológicos de diseminación en espacio y tiempo

Diseminación en espacio	Diseminación en tiempo
Presencia de ≥ 1 lesión en al menos 2 de estas 4 áreas del SNC: <ul style="list-style-type: none"> - Periventricular - Yuxtacortical - Infratentorial ^a - Médula espinal ^a 	Presencia de una lesión nueva en secuencias potenciadas en T2 o presencia de una lesión que realza tras la administración de gadolinio en una RM de control, comparada con una RM previa Presencia simultánea de lesiones asintomáticas que realzan y lesiones que no realzan tras la administración de gadolinio en cualquier momento

La tabla muestra los criterios radiológicos de diseminación en espacio y tiempo actuales (2010)²⁰. ^a En el caso de que un paciente presente un SCA de tronco encéfalo o médula espinal la lesión sintomática debe excluirse y no tenerse en cuenta para aplicar los criterios diagnósticos. *Adaptado de Polman et al*²⁰.

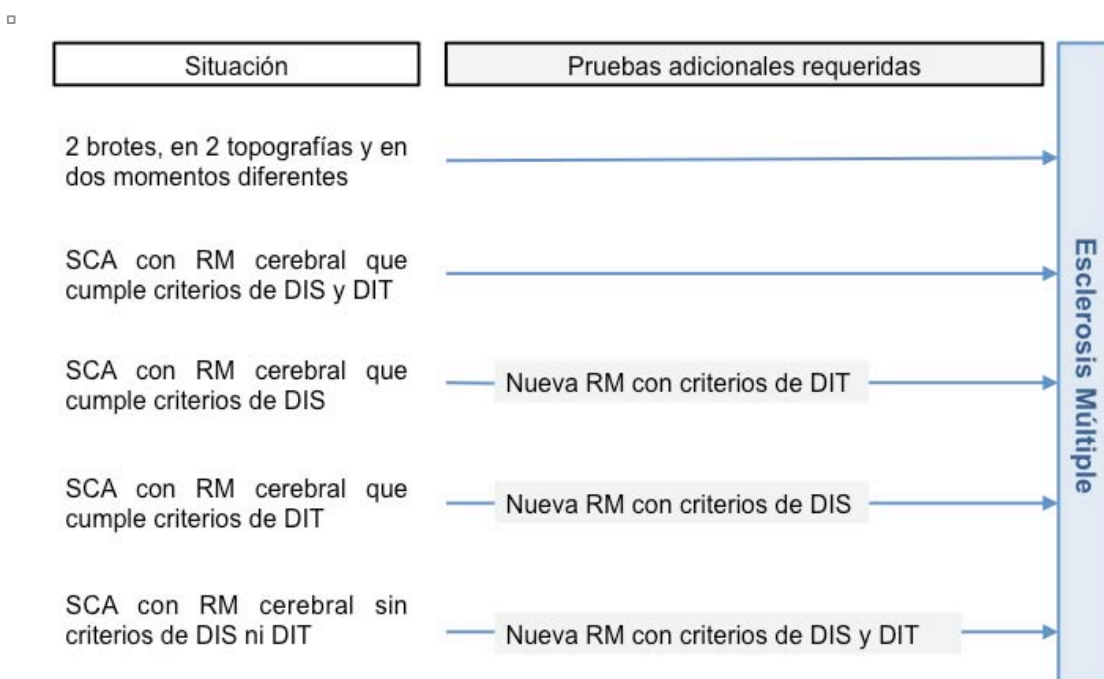


Figura 3. Diagnóstico de esclerosis múltiple. La figura muestra las situaciones a partir de las cuales se puede llegar al diagnóstico de EM, así como las pruebas adicionales requeridas. *SCA: síndrome clínico aislado; RM: resonancia magnética; DIS: diseminación en espacio por las siglas en inglés dissemination in space; DIT: diseminación en tiempo por las siglas en inglés dissemination in time.* *Adaptado de Montalban et al*²¹ y de *Polman et al*²⁰.

Es importante recalcar que los criterios diagnósticos deben aplicarse únicamente en pacientes que presenten síntomas y signos característicos de un SCA, ya que estos criterios se basan en los hallazgos radiológicos descritos en cohortes prospectivas de

pacientes con estas características²¹. Además, debemos recordar que la EM es un diagnóstico de exclusión; es decir, antes de establecer el diagnóstico, se deben haber descartado razonablemente otras patologías que cursen con semiología clínica y radiológica similar^{2,11,22}. A grandes rasgos, deberán descartarse otras patologías inflamatorias del SNC, patologías inflamatorias sistémicas con afectación del SNC y patologías no inflamatorias del SNC (tabla 4). El neurólogo por tanto, debe estar familiarizado con esta enfermedad y estar alerta ante posibles características clínico-radiológicas atípicas y que deben hacer sospechar otras etiologías (tabla 5)²².

Tabla 4. Diagnóstico diferencial en la esclerosis múltiple

<i>Patologías inflamatorias del SNC</i>
Encefalomiелitis aguda diseminada
Neuromielitis óptica
Mielitis transversa idiopática
Enfermedad de Susac
Vasculitis cerebral primaria
<i>Patologías inflamatorias sistémicas con afectación del SNC</i>
Vasculitis de mediano y pequeño vaso
Sarcoidosis
Enfermedad de Behcet
Síndrome de Sjögren
Lupus eritematoso sistémico
<i>Patologías no inflamatorias del SNC</i>
Patología vascular cerebral (isquemia, CADASIL, etc.)
Enfermedades metabólicas (leucodistrofias, déficit vitamínicos)
Enfermedades infecciosas (HIV, HTLV, sífilis, etc.)
Síndromes genéticos ^a (neuropatía óptica de Leber, ataxias hereditarias, leucodistrofias, CADASIL, etc)

La tabla lista las principales etiologías que deben descartarse en aquellos pacientes en los que se sospecha una esclerosis múltiple. ^a Los síndromes genéticos deben tenerse en cuenta especialmente en aquellos pacientes que presentan síntomas progresivos desde el inicio. *Abreviaturas, en orden alfabético: CADASIL: Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy; HIV: virus de la inmunodeficiencia humana, HTLV: virus linfotrópicos de células T del ser humano; SNC: sistema nervioso central. Adaptado de Compston et al².*

Tabla 5. Datos clínicos atípicos o *red-flags* en la esclerosis múltiple

<i>Nervio óptico</i>
Afectación sincrona bilateral
Ausencia de dolor o dolor persistente que no mejora
Agudeza visual gravemente / persistentemente comprometida
Pérdida de agudeza visual progresiva
Hemorragias y exudados graves
Vitritis y neurorretinitis
<i>Tronco-encéfalo o cerebelo</i>
Oftalmoplejia completa
Afectación del III pc aislada
Afectación ocular o bulbar fluctuante
Neuropatía del V pc progresiva
Sordera
Signos de afectación de territorios vasculares
<i>Médula espinal</i>
Mielitis transversa completa
Lesión anterior medular
Síndrome de cauda equina
Síndrome de Brown-Sequard completo
Arreflexia
Paraparesia espástica progresiva y simétrica o ataxia sensitiva progresiva
Retención urinaria aguda / Incontinencia fecal
<i>Hemisferios cerebrales</i>
Encefalopatía
Ceguera cortical
Hemianopsia

La tabla lista, clasificada en función del área afectada, los principales signos y síntomas neurológicos atípicos o *red-flags* que deben hacer sospechar otra etiología diferente de la esclerosis múltiple. *Adaptado de Miller et al*^{11,22}.

4. Tratamiento

Actualmente existen 7 principios activos aprobados por la Agencia Europea del Medicamento (EMA) y la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios para el tratamiento de la EMRR, con diferentes indicaciones. Cinco de los principios activos (interferón beta, acetato de glatirámico, teriflunomida, dimetilfumarato y alemtuzumab) están aprobados como tratamiento de primera línea; los otros dos (natalizumab y fingolimod) sólo se pueden administrar como tratamiento de segunda línea (pacientes que no hayan presentado respuesta a un tratamiento previo) o como tratamiento de primera línea siempre y cuando se trate de una EMRR agresiva y se cumplan unas características clínico-radiológicas determinadas (tabla 6). Todos estos tratamientos han demostrado disminuir la actividad (tanto clínica como radiológica) de la enfermedad y son capaces por tanto de modificar el curso de la misma (tabla 7). En este apartado, por cuestiones de espacio y extensión, se presentan únicamente los datos más relevantes de eficacia publicados en los ensayos clínicos fase III de los tratamientos aprobados por la EMA para el manejo del paciente con EMRR en Junio de 2015.

4.1. Interferón beta

El interferón beta (IFN- β), una citoquina con propiedades antivíricas, antiproliferativas e inmunomoduladoras²³, fue el primer tratamiento que demostró reducir el número de brotes y el desarrollo de nuevas lesiones en la RM cerebral. Existen cuatro formulaciones englobadas dentro de este grupo que difieren no sólo a nivel molecular sino también en su posología (tabla 6): interferón beta 1a subcutáneo, interferón beta 1a intramuscular, interferón beta 1b subcutáneo e interferón pegilado beta 1a subcutáneo (IFN- β 1a sc, IFN- β 1a im, IFN- β 1b sc y pegIFN- β 1a sc respectivamente). Comparado con placebo, las 3 formulaciones clásicas (IFN- β 1a sc, IFN- β 1a im, IFN- β 1b sc) demostraron reducir entre un 27% y 33% la tasa anualizada de brotes (TAB), redujeron el riesgo de desarrollar discapacidad confirmada a los 3 meses (excepto para el tratamiento con IFN- β 1b sc) (tabla 7) y redujeron significativamente la aparición de nuevas lesiones en secuencias potenciadas en T2²⁴⁻²⁷.

Recientemente, mediante la adición de una cadena de polietilenglicol al IFN- β , se ha desarrollado una nueva formulación de interferón: el interferón pegilado (pegIFN- β 1a sc). Brevemente, la pegilación cambia las propiedades farmacodinámicas y farmacocinéticas de la molécula de forma que se encuentra biológicamente activa durante más tiempo y permite por tanto reducir la frecuencia de administración del

tratamiento (tabla 6). En un ensayo clínico fase III de un año de duración y comparado con placebo, el pegIFN- β demostró una eficacia clínica (27% de reducción de la TAB y una reducción del 38% en el riesgo de progresión de la discapacidad confirmada a los 3 meses) y radiológica (reducción en el número de lesiones nuevas en secuencias potenciadas en T2 y reducción en el número de lesiones que realzan tras la administración de gadolinio) similar a las descritas para las formulaciones clásicas²⁸ (tabla 7).

4.2. Acetato de glatirámero

El acetato de glatirámero (AG), un péptido de cuatro aminoácidos con un complejo mecanismo de acción basado en la inducción de tolerancia, expresión de citoquinas antiinflamatorias, expansión de células T reguladoras y alteración de las células presentadoras de antígenos²⁹, demostró también su eficacia en el tratamiento de pacientes con EMRR en un ensayo clínico fase III^{30,31}. En este ensayo clínico³⁰, y en su posterior periodo de extensión ciego³¹, comparado con placebo el tratamiento con AG redujo en un 29% y 32% respectivamente la TAB y, aunque el riesgo de progresión de la discapacidad confirmada a los 3 meses fue menor en el grupo tratado, esta diferencia no fue estadísticamente significativa (tabla 7). Otro estudio evaluó los parámetros de eficacia radiológica demostrando que, comparado con placebo, el AG redujo el número de lesiones que realzan tras la administración de gadolinio así como el número de lesiones nuevas en secuencias potenciadas en T2³². Recientemente la EMA ha aprobado la formulación de 40 mg de AG que permite una frecuencia de administración de dosis más espaciada (cada 48 horas). Esta formulación demostró, en un ensayo clínico fase III, datos de eficacia clínicos y radiológicos similares a los descritos anteriormente³³.

Dos ensayos clínicos más recientes compararon la eficacia clínica de IFN- β vs AG en pacientes con EMRR: las dos formulaciones de IFN- β sc evaluadas (IFN- β 1b e IFN- β 1a) presentaron la misma eficacia clínica y radiológica que el AG^{34,35}. El último ensayo clínico realizado con estos principios activos evaluó la utilidad de realizar terapia combinada (IFN- β 1a im + AG) frente a monoterapia con cualquiera de las dos formulaciones³⁶. Aunque la terapia combinada demostró ser segura, no se obtuvo ningún beneficio clínico ni radiológico que justifique a día de hoy su uso, por lo que ambas formulaciones (IFN- β y AG) siguen administrándose en monoterapia en los pacientes afectados de EMRR (tabla 6).

4.3. Natalizumab

Natalizumab fue el primer anticuerpo monoclonal aprobado para el tratamiento de la EMRR. Ejerce su mecanismo de acción mediante el bloqueo selectivo de la subunidad VLA-4 de la integrina alfa4, una molécula de adhesión que se expresa en la superficie de los leucocitos. La integrina alfa4 es necesaria para la migración de los leucocitos a través de la barrera hematoencefálica, por lo que su bloqueo impedirá la entrada de estas células al SNC³⁷. El tratamiento con natalizumab fue aprobado tras demostrar en dos ensayos clínicos fase III su eficacia sobre parámetros clínicos y radiológicos de la enfermedad^{38,39}. El ensayo clínico AFFIRM evaluaba el tratamiento en monoterapia, siendo los pacientes aleatorizados a placebo o natalizumab³⁸, mientras que el ensayo clínico SENTINEL evaluó el tratamiento con natalizumab como terapia *add-on* al IFN- β 1a im³⁹. En ambos ensayos clínicos, tras un año de seguimiento, el tratamiento con natalizumab redujo significativamente la TAB en un 54% y 68% en pacientes tratados con terapia combinada o en monoterapia respectivamente. Al finalizar ambos ensayos clínicos, tras dos años de seguimiento, el tratamiento con natalizumab redujo significativamente el riesgo de progresión de la discapacidad confirmada a los 3 meses en un 24% y 42% en pacientes tratados con terapia combinada o en monoterapia respectivamente^{38,39} (tabla 7). A nivel radiológico, al año del inicio del tratamiento, natalizumab redujo significativamente en un 89% (en el ensayo clínico SENTINEL) y en un 92% (en el ensayo clínico AFFIRM) el número medio de lesiones que realzan tras la administración de gadolinio y en un 83% (en ambos ensayos clínicos) el número medio de lesiones nuevas en secuencias potenciadas en T2 a los dos años de tratamiento³⁸⁻⁴¹.

El tratamiento con natalizumab se ha asociado con un mayor riesgo de desarrollar leucoencefalopatía multifocal progresiva, una infección oportunista causada por el virus John Cunningham (JC)⁴²⁻⁴⁴. Hoy en día, el riesgo de desarrollar esta infección puede estratificarse en función de una serie de datos: número de dosis, tratamiento inmunosupresor previo e índice de anticuerpos frente al virus JC^{45,46}. Sin embargo, el tratamiento de esta grave complicación es limitado⁴⁷, por lo que el uso de natalizumab ha quedado restringido a pacientes que, a pesar de un tratamiento previo, presentan actividad inflamatoria de la enfermedad (tratamiento de segunda línea) o bien para pacientes que presentan una enfermedad agresiva de inicio (tratamiento de primera línea) (tabla 6).

Tabla 6. Principios activos aprobados para el tratamiento de la esclerosis múltiple remitente-recurrente

Principio Activo	Nombre Comercial	Frecuencia y vía de administración	Año de aprobación (EMA)
Fármacos de primera línea ^a			
Interferón beta	Betaferon ®	Subcutáneo Cada 48 horas	1995
	Avonex ®	Intramuscular 1 vez/semana	1997
	Rebif ®	Subcutáneo 3 veces/semana	1998
	Extavia ®	Subcutáneo Cada 48 horas	2008
Interferón beta pegilado	Plegridy ®	Subcutáneo Cada 2 semanas	2014
Acetato de glatirámico	Copaxone ®	Subcutáneo Cada 24 horas	1997
		Subcutáneo Cada 48 horas	2014
Dimetilfumarato	Tecfidera ®	Oral Cada 12 horas ^c	2014
Teriflunomida	Aubagio ®	Oral Cada 24 horas	2013
Alemtuzumab	Lemtrada ®	Endovenoso Anual ^d	2013
Fármacos de segunda línea ^b			
Natalizumab	Tysabri ®	Endovenoso Cada 4 semanas	2006
Fingolimod	Gilenya ®	Oral Cada 24 horas	2011

^a Los fármacos de primera línea son aquellos que pueden administrarse como primera opción a todos los pacientes con diagnóstico de EMRR (posteriormente, según las agencias reguladoras propias, cada país puede establecer una serie de criterios clínicos y/o radiológicos específicos que deben cumplirse antes de poder prescribir estos medicamentos). ^b Según la EMA, los fármacos englobados dentro de este grupo deben administrarse cuando se ha producido un fracaso terapéutico (definido por la presencia de al menos un brote y al menos 9 lesiones en secuencias potenciadas en T2 o una lesión que realza tras la administración de gadolinio en la RM, a pesar de estar recibiendo tratamiento inmunomodulador) o bien como tratamiento de primera línea en caso de una enfermedad grave definida como la presencia de 2 o más brotes discapacitantes en el año previo y con al menos una lesión activa que realce tras la administración de gadolinio en la RM. ^c Existen dos dosis (120 y 240 mg) para realizar el escalado inicial progresivo de dosis. ^d La pauta de administración es de dos ciclos endovenosos, el primero de 5 días y tras un año del mismo se administran 3 días de tratamiento, en casos seleccionados la pauta de 3 días puede repetirse si fuera necesario. *Abreviaturas, en orden alfabético: EMA: Agencia europea del medicamento; EMRR: esclerosis múltiple remitente-recurrente; RM: resonancia magnética.*

Tabla 7. Eficacia clínica y principales efectos adversos de los diferentes principios activos para el tratamiento de la esclerosis múltiple remitente-recurrente

Principio activo	Reducción TAB ^a	Reducción del riesgo de discapacidad confirmada ^a	Efectos Adversos ^b
Interferon beta	27% a 33%	30% a 38% ¹	Reacción local a la inyección, cuadro pseudogripal, linfopenia, alteraciones hepáticas
Acetato de glatirámero	29 a 32%	No significativo	Reacción local a la inyección, cuadro sistémico
Natalizumab	68%	42%	Leucocitosis, alteraciones hepáticas, reacción de hipersensibilidad, leucoencefalopatía multifocal progresiva
Fingolimod	48% a 54%	30% ²	Linfopenia, alteraciones hepáticas, infecciones, alteración del ritmo cardíaco, edema de mácula
Teriflunomida	31% a 36%	30 a 31% ³	Alteraciones hepáticas, adelgazamiento y caída del cabello, hipertensión arterial, neuropatía periférica
Dimetilfumarato	44% a 53%	38% ²	Alteraciones gastrointestinales, rubefacción, linfopenia
Alemtuzumab	49% a 54% ⁴	42% ^{2,4}	Reacción a la infusión, linfopenia, infecciones, enfermedades autoinmunes

^a Salvo que se indique, los datos presentados son los resultados evaluados frente a placebo, para la dosis comercializada y en monoterapia. En el caso de reducción del riesgo de progresión de la discapacidad confirmada a los 3 meses, estos datos hacen referencia al período de duración del ensayo clínico. ^b Se enumeran los principales efectos adversos de cada principio activo. ¹ Para las formulaciones de interferón beta 1a (im y sc) ² Únicamente uno de los ensayos clínicos demostró diferencias significativas en la reducción del riesgo de progresión de la discapacidad confirmada a los 3 meses. ³ Datos significativos para la dosis de 14 mg, no para la de 7 mg. ⁴ Frente a comparador activo con interferón beta 1a sc; la progresión de la discapacidad se confirmó a los 6 meses (y no a los 3 meses).

4.4. Fingolimod

Fingolimod fue el primer tratamiento oral aprobado para el manejo de pacientes con EMRR tras demostrar en tres ensayos clínicos fase III su eficacia frente a placebo así como frente a un comparador activo (IFN- β 1a im)⁴⁸⁻⁵⁰. Es un análogo de la esfingosina y actúa como agonista del receptor esfingosina 1-fosfato bloqueando la egrésión linfocitaria de los nódulos linfáticos; de esta manera se producirá una linfopenia selectiva en sangre periférica y una disminución del número de linfocitos autoreactivos que penetren en el SNC⁵¹. El tratamiento con 0,5 mg al día de fingolimod (la dosis que finalmente se ha comercializado) redujo en un 50% la TAB en los tres ensayos clínicos (reducción del 54% y 48% frente a placebo en los ensayos clínicos FREEDOMS⁴⁸ y FREEDOMS II⁴⁹ respectivamente; reducción del 51% frente a IFN- β 1a im en el ensayo clínico TRANSFORMS⁵⁰). En cuanto a los parámetros de discapacidad, únicamente el ensayo clínico FREEDOMS demostró reducir el riesgo de progresión de la discapacidad confirmada a los 3 meses comparado con placebo⁴⁸ (tabla 7). El tratamiento con fingolimod también demostró ser eficaz en reducir la actividad radiológica de la enfermedad: en los tres ensayos clínicos, el brazo de 0,5 mg al día de fingolimod presentó un porcentaje significativamente mayor de pacientes que no desarrollaron lesiones nuevas en secuencias potenciadas en T2 ni presentaron lesiones que realzan tras la administración de gadolinio en la RM cerebral realizada al año⁵⁰ y a los dos años^{48,49} del inicio del tratamiento.

En cuanto a la seguridad del tratamiento con fingolimod, debido a la ubicuidad del receptor esfingosina 1-fosfato en diversos órganos y tejidos, se describieron algunos efectos adversos que, aunque infrecuentes, son potencialmente graves (alteraciones del ritmo cardíaco, infecciones y edema de macula entre otros). Probablemente por este motivo, la EMA aprobó el tratamiento con fingolimod con las mismas indicaciones detalladas anteriormente para el tratamiento con natalizumab (tabla 6).

4.5. Teriflunomida

Teriflunomida es un fármaco oral recientemente aprobado para el tratamiento de la EMRR que actúa inhibiendo la enzima dihidroorato deshidrogenasa⁵². Se trata de un enzima mitocondrial involucrado en la síntesis de novo de las pirimidinas, las cuales son esenciales para la correcta división de las células que se encuentran en estado proliferativo. Así, la teriflunomida ejerce su papel sobre el sistema inmunológico disminuyendo la capacidad proliferativa de los linfocitos B y T activados, sin actuar sobre los linfocitos (u otra células hematológicas) en estado quiescente⁵². Los ensayos

clínicos fase III TEMSO y TOWER compararon dos dosis de teriflunomida (7 y 14 mg) frente a placebo^{53,54}. Ambas dosis redujeron significativamente la TAB en comparación con placebo (reducción del 31% en el ensayo clínico TEMSO para ambas dosis de teriflunomida, 22% y 36% en el ensayo clínico TOWER para las dosis de 7 y 14 mg de teriflunomida respectivamente). La dosis de 14 mg, pero no la de 7 mg, redujo de forma significativa la progresión de la discapacidad neurológica al final de ambos estudios: comparado con placebo, un menor porcentaje de pacientes que recibieron teriflunomida 14 mg presentaron progresión de la discapacidad confirmada a los 3 meses (reducción del riesgo del 30% y del 31% en el ensayo clínico TEMSO y TOWER respectivamente) (tabla 7). En el ensayo clínico TEMSO se analizaron también parámetros radiológicos de eficacia, confirmando de nuevo un efecto favorable para la teriflunomida frente a placebo, con un efecto de dosis: reducción del 39% y 67% del volumen lesional en secuencias potenciadas en T2 para el tratamiento con 7 y 14 mg respectivamente y una reducción del 57% y del 80% del número de lesiones que realizan tras la administración de gadolinio para la dosis de 7 y 14 mg respectivamente⁵³.

En el ensayo clínico TENERE realizado en pacientes con EMRR, se utilizó IFN- β 1a sc como comparador activo⁵⁵. En este estudio, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos fármacos en el objetivo principal: tiempo hasta el fallo del tratamiento, definido como presencia de un brote o abandono permanente de la medicación por cualquier causa. Al final del estudio el 49% de los pacientes que recibieron teriflunomida 7 mg, el 38% de los que recibieron teriflunomida 14 mg y el 42% de los que recibieron IFN- β 1a sc presentaron fallo de tratamiento. No hubo diferencias estadísticamente significativas en la TAB (objetivo secundario del estudio) para la dosis de 14 mg comparada con el IFN- β 1a sc, pero sí para el brazo de 7 mg de tratamiento (TAB de 0,41 para la dosis de 7 mg, 0,26 para la dosis de 14 mg y 0,22 para el brazo de tratamiento con IFN- β 1a sc).

Debido a las diferencias en cuanto a los parámetros de eficacia entre ambas dosis del fármaco, la EMA aprobó finalmente la dosis de 14 mg para el tratamiento de pacientes con EMRR (tabla 6).

4.6. Dimetilfumarato

Dimetilfumarato, un derivado del ácido fumárico, es el tercer fármaco oral aprobado para el tratamiento de la EMRR (tabla 6). Dimetilfumarato posee por un lado un efecto inmunomodulador y por otro reduce el estrés oxidativo celular gracias a la activación

de la vía Nrf2^{56,57}. Dos ensayos clínicos fase III demostraron su eficacia en el tratamiento de pacientes con EMRR; en ambos ensayos clínicos (DEFINE y CONFIRM) se evaluaron dos dosis de dimetilfumarato frente al placebo, añadiéndose un brazo de referencia activo (AG) en el ensayo CONFIRM^{58,59}. En los dos ensayos clínicos, y comparado con placebo, la dosis de 240 mg/12h (la dosis finalmente aprobada) demostró una reducción significativa en la TAB de alrededor del 50% (reducción del 53% y del 44% en los estudios DEFINE y CONFIRM respectivamente)^{58,59}. En el ensayo CONFIRM, comparado con placebo, la reducción de la TAB en el brazo aleatorizado a AG fue del 29% ($p < 0,02$) y no hubieron diferencias estadísticamente significativas con la dosis de 240 mg/12h; sin embargo la aleatorización al brazo de AG no fue ciega, por lo que la interpretación de dichos resultados debe realizarse con cautela⁵⁹. En el ensayo clínico DEFINE, pero no en el CONFIRM, dimetilfumarato demostró reducir en un 38% el riesgo de progresión de la discapacidad confirmada a los 3 meses^{58,59} (tabla 7). Comparado con placebo, en ambos ensayos clínicos la dosis de 240 mg/12h de dimetilfumarato mejoró también diversos parámetros de actividad radiológica: a los dos años de tratamiento se observa una reducción del 74% y 90% en el número de lesiones que realzan tras la administración de gadolinio en el ensayo clínico CONFIRM y DEFINE respectivamente, y una reducción del 71% y 85% en el número de lesiones nuevas en secuencias potenciadas en T2 en el ensayo clínico CONFIRM y DEFINE respectivamente^{58,59}.

Tras evaluar los datos de eficacia y seguridad de ambos ensayos clínicos, la EMA aprobó recientemente el tratamiento con dimetilfumarato como tratamiento de primera línea para los pacientes con EMRR (tabla 6).

4.7. Alemtuzumab

Alemtuzumab es un anticuerpo monoclonal humanizado contra el antígeno CD52, de administración endovenosa; es el segundo anticuerpo monoclonal aprobado para el tratamiento de la EMRR (tabla 6). El tratamiento con alemtuzumab produce una depleción de las células portadoras de este antígeno: linfocitos B y T, células *natural killer*, la mayoría de monocitos, y macrófagos y la mayoría de granulocitos excepto los neutrófilos⁶⁰. La depleción linfocitaria es duradera, y la reconstitución del sistema inmune no se empieza a producir hasta los 6 y 12 meses de tratamiento para los linfocitos B y T respectivamente⁶⁰. Alemtuzumab demostró su eficacia como fármaco de primera y segunda línea frente a un comparador activo (IFN- β 1a sc) en dos ensayos clínicos fase III: CARE-MS-I (para pacientes *naïve* o que nunca habían

recibido un tratamiento previo)⁶¹ y CARE-MS-II (para pacientes que habían presentado fallo a un tratamiento inmunomodulador previo)⁶². En ambas situaciones clínicas, y comparado con IFN- β 1a sc, tras dos años de tratamiento, alemtuzumab redujo la TAB en alrededor de un 50% (54,9% en pacientes *naïve* y 49,4% en pacientes con fallo a otro tratamiento previo). En cuanto a la reducción de la discapacidad confirmada a los 6 meses, alemtuzumab demostró ser más eficaz que IFN- β 1a sc en el ensayo clínico CARE-MS-II (reducción del riesgo de progresión de la discapacidad del 42%) pero no en el CARE-MS-I (pacientes *naïve*)^{61,62} (tabla 7). En ambos ensayos clínicos, el tratamiento con alemtuzumab también demostró ser más eficaz que IFN- β 1a sc en los parámetros radiológicos de actividad de la enfermedad: un menor porcentaje de pacientes presentó nuevas lesiones en secuencias potenciadas en T2 y/o lesiones que realzan tras la administración de gadolinio^{61,62}.

La EMA aprobó recientemente el tratamiento con alemtuzumab para el manejo de pacientes con EMRR (tabla 6). A pesar de su gran eficacia, el tratamiento con alemtuzumab conlleva un elevado porcentaje de efectos adversos, algunos de ellos potencialmente graves si no son diagnosticados a tiempo. Por este motivo, tras la administración de alemtuzumab, el paciente debe seguir un riguroso calendario de controles analíticos mensuales durante 4 años tras el último ciclo de tratamiento. Entre los efectos adversos más relevantes, se encuentran las reacciones a la infusión en la práctica totalidad de los pacientes, la aparición de infecciones en un alto porcentaje de pacientes, y trastornos autoinmunitarios (tiroidopatías y purpura trombocitopénica en un 20-30% y 1% de los pacientes respectivamente)⁶¹⁻⁶³.

4.8. Resumen tratamientos

En resumen, con 7 principios activos aprobados para el tratamiento de la EMRR, el amplio abanico de posibilidades terapéuticas nos permite como neurólogos seleccionar el mejor fármaco para un paciente concreto, individualizando por tanto al máximo la prescripción terapéutica.

Todos los tratamientos disponibles para la EMRR han demostrado ser eficaces para controlar la actividad clínica de la enfermedad (reducción del 27% al 68% de la TAB frente a placebo y reducción del 30% al 40% del riesgo de progresión de la discapacidad confirmada a los 3 meses) así como la actividad radiológica de la enfermedad (reduciendo tanto el número de lesiones nuevas en secuencias potenciadas en T2 como el número de lesiones que realzan tras la administración de gadolinio). El perfil de seguridad es específico para cada uno de los fármacos (tabla

7). La decisión terapéutica deberá ser siempre consensuada entre médico y paciente, teniendo en cuenta, tanto la gravedad de la enfermedad, los datos de eficacia y seguridad de cada principio activo así como las preferencias del paciente.

5. Resonancia magnética

5.1. Estudio del volumen cerebral

La atrofia cerebral se puede medir de forma sencilla mediante técnicas cualitativas calculando, por ejemplo, el aumento de líquido cefalorraquídeo en los ventrículos laterales y/o la pérdida de estructuras cerebrales. Sin embargo, estas medidas, habitualmente realizadas mediante inspección visual por un radiólogo experto, son poco reproducibles y fiables. Por este motivo, actualmente el estudio del volumen cerebral (VC) se realiza mediante una serie de técnicas cuantitativas desarrolladas específicamente con el objetivo de estimar el VC que existe en un momento determinado (estudios transversales) o el cambio de VC que ocurre en un intervalo de tiempo concreto y determinado por el investigador (estudios longitudinales), en diferentes sujetos como por ejemplo en los pacientes con esclerosis múltiple^{64,65}.

Existen diferentes técnicas cuantitativas que permiten calcular el cambio de VC, y se clasifican de diferentes maneras en función (a) del grado de intervención del operador y (b) del método empleado para obtener la medida de volumen cerebral^{64,65}.

a. Grado de intervención del operador: técnicas manuales, semi-automáticas o automáticas

Las técnicas manuales dependen en su totalidad del operador, aunque cuentan con la ventaja que habitualmente no requieren de programas informáticos muy complejos, actualmente apenas se utilizan debido al riesgo de introducir errores o sesgos así como por su escasa reproducibilidad. Las técnicas semi-automáticas y, especialmente, las completamente automáticas sustituyen hoy en día a estas técnicas manuales. Las técnicas automáticas, al no depender del operador más que para ajustar algunos parámetros si así se requiere, han demostrado ser fiables y tener una alta reproducibilidad⁶⁶.

b. Método empleado para obtener la medida de volumen cerebral: métodos basados en la segmentación o en el registro

Las técnicas que emplean el primer método, el basado en la segmentación o *segmentation-based methods*, permiten cuantificar el VC global y regional (sustancia

gris y sustancia blanca) de un paciente en un momento dado; son por tanto, las técnicas que habitualmente se emplean en los estudios transversales. Existen diferentes técnicas basadas en la segmentación⁶⁷; todas ellas, a grandes rasgos, realizan una extracción del contenido intracraneal y, utilizando diferencias en la intensidad de señal de voxel así como en la localización del mismo, separarán el contenido intracraneal en parénquima y “no parénquima” cerebral (habitualmente LCR). La medida que se obtiene con estas técnicas es la proporción de espacio intracraneal ocupado por tejido cerebral, obteniendo la fracción de parénquima cerebral (BPF por sus siglas en inglés, *brain parenchymal fraction*), fracción de sustancia gris (GMF por sus siglas en inglés, *grey matter fraction*) o fracción de sustancia blanca cerebral (WMF por sus siglas en inglés, *white matter fraction*). Los programas informáticos, basados en la segmentación, más utilizados en el estudio del VC en pacientes con esclerosis múltiple son el *Statistical Parametric Mapping* (SPM) o el *Structural Imaging Evaluation, using Normalization, of Atrophy Cross-Sectional* (SIENAX).

Las técnicas que emplean el segundo método, basado en el registro o *registration-based methods*, permiten cuantificar directamente el cambio de VC mediante la sustracción de dos imágenes; estas técnicas, por tanto, se utilizan principalmente en estudios longitudinales. Existen diferentes técnicas que emplean este método⁶⁷, las cuales, a grandes rasgos, realizan un registro a un espacio común de las imágenes a estudiar y detectan áreas de cambios de intensidad de señal. El programa informático, basado en el registro, más utilizado en el estudio del VC en pacientes con esclerosis múltiple es *Structural Imaging Evaluation, using Normalization, of Atrophy* (SIENA). La medida que se deriva de este programa es el porcentaje de cambio de volumen cerebral (PBVC por sus siglas en inglés, *percentage brain volume change*).

5.2. Atrofia cerebral en la EMRR

Como se ha comentado previamente, la patogenia de la EM es compleja e implica una serie de procesos de inflamación, desmielinización, gliosis y daño axonal, que en última instancia pueden llevar a un daño tisular irreversible y al desarrollo de atrofia cerebral⁸ con la subsiguiente pérdida de VC. La pérdida de VC en pacientes con EMRR se puede medir mediante las técnicas automáticas que se han descrito anteriormente y que han demostrado ser precisas y reproducibles⁶⁶.

Utilizando estas técnicas, se ha demostrado que en los pacientes con EM se produce una pérdida de VC de 0,5% a 1% al año⁶⁸⁻⁷⁰, que esta pérdida es mayor que la que se

observa en controles sanos⁶⁹ y que ocurre a la misma velocidad independientemente de la forma clínica de la enfermedad⁷⁰, estando ya presente en las fases más iniciales de la misma⁷¹⁻⁷⁴. De hecho, tras presentar un SCA, una mayor pérdida de VC, especialmente de sustancia gris (SG), confiere un mayor riesgo de desarrollar EM en el seguimiento a corto plazo⁷¹⁻⁷⁴. Por otro lado, en los pacientes con EMRR, la pérdida de VC global, y especialmente de SG, se ha asociado con el grado de discapacidad medida con la escala expandida del estado de discapacidad (EDSS) en diferentes momentos evolutivos de la enfermedad (al año, a los 5 y 20 años del SCA)^{73,75-77}.

Además de asociarse con el grado de discapacidad concurrente, la pérdida de VC detectada tempranamente durante el seguimiento predice el grado de discapacidad a largo plazo. De este modo, en un estudio longitudinal se demostró que los pacientes que presentaron una mayor pérdida de VC durante los primeros dos años de seguimiento alcanzaron un mayor grado de discapacidad tras diez años de seguimiento⁷⁸. En el análisis multivariado de este estudio, la pérdida de VC durante los primeros dos años y el cambio de volumen lesional fueron las variables radiológicas que mejor predijeron el desarrollo de discapacidad neurológica tras diez años de seguimiento⁷⁸.

5.3. Impacto de los tratamientos sobre la atrofia cerebral

De los trabajos mencionados en el anterior apartado, se deduce que la medición del VC tanto global como regional (SG y sustancia blanca – SB –) en pacientes con EMRR es clínicamente relevante pues se relaciona, a corto y largo plazo, con diferentes parámetros de discapacidad. Por ese motivo, uno de los objetivos de los tratamientos para la EM debería ser, no sólo el de reducir la actividad clínico-radiológica de la enfermedad, sino también el de reducir la pérdida de VC que ocurre de forma inevitable en los pacientes afectados de EM. De este modo, la mayoría de los ensayos clínicos han incorporado, generalmente como objetivo secundario, la medida de atrofia cerebral o VC como una medida de eficacia terapéutica⁷⁹. Paralelamente, con los tratamientos que llevan más tiempo comercializados, se han realizado también numerosos estudios abiertos no controlados que estudian los cambios de VC que ocurren en pacientes con EMRR que reciben algún tipo de tratamiento inmunomodulador. En este apartado se resumen los hallazgos más relevantes sobre el impacto de los diferentes tratamientos, aprobados actualmente para el manejo de la EMRR, en la atrofia cerebral (tabla 8). La mayoría de los estudios mencionados utilizarán los programas descritos previamente (SIENA / SPM) y sus respectivas medidas (PBVC / BPF).

a. Interferón beta y acetato de glatirámero

a.1. Interferón beta: ensayos clínicos

El ensayo clínico de IFN- β 1a im fue el primero en presentar datos sobre el efecto del tratamiento en la atrofia cerebral en pacientes con EMRR⁸⁰. Comparado con placebo, durante el primer año de tratamiento, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas en la pérdida de VC. Sin embargo, durante el segundo año de tratamiento, los pacientes tratados con IFN- β 1a im presentaron una menor pérdida de VC que el grupo aleatorizado a recibir placebo (-0,23% en el grupo de pacientes tratados con IFN- β 1a vs -0,51% en el grupo de pacientes que recibieron placebo, $p=0,03$) (tabla 8). Cuando los autores compararon la velocidad de pérdida de VC que ocurría durante el primer y segundo año de tratamiento, encontraron que en los pacientes aleatorizados al grupo de tratamiento activo con IFN- β 1a im, pero no en el grupo placebo, la pérdida de VC ocurría a una velocidad diferente, siendo más acelerada durante el primer año de tratamiento. Posteriormente, el estudio Europeo de comparación de dosis⁸¹ evaluó los cambios en el VC durante los primeros 3 años tras iniciar tratamiento con IFN- β 1a im. y publicó resultados similares: durante el primer año de tratamiento con IFN- β , y especialmente durante los primeros cuatro meses, se producía una gran pérdida de VC.

Ambos trabajos^{80,81} analizaron la presencia de actividad inflamatoria al inicio del tratamiento como posible efecto de confusión en la posterior pérdida de VC, obteniendo resultados parcialmente concordantes. En el primer estudio⁸⁰ los autores demostraron una correlación entre el número de lesiones que realizan tras la administración de gadolinio (Gd+) a nivel basal y la pérdida de VC que ocurría durante el estudio, pero no pudieron demostrar una correlación significativa entre el cambio de volumen de lesiones Gd+ y el cambio de VC durante el mismo período de tiempo. Mientras que en el segundo trabajo⁸¹, los autores demostraron que la pérdida de VC observada durante los primeros meses de tratamiento ocurría de forma paralela al descenso en el número de lesiones Gd+.

El ensayo clínico PRISMS, que evaluaba dos dosis de IFN- β 1a sc vs placebo para el tratamiento de pacientes con EMRR, analizó el cambio de VC únicamente en la fase de extensión del estudio a 8 años⁸². Teniendo en cuenta que al final de la fase de extensión únicamente el 72% de los pacientes continuaban recibiendo tratamiento con IFN- β 1a sc, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos de tratamiento en la pérdida de VC que ocurría desde el inicio del estudio

hasta la última visita. Sin embargo, es importante mencionar que durante la fase inicial de doble-ciego (primeros dos años), así como al cambiar de placebo a tratamiento activo en la fase abierta (del 2º al 4º año del estudio), la pérdida de VC fue mayor en el grupo de pacientes que recibieron la dosis más alta (44 µg) de IFN-β 1a sc.

Hasta la fecha, los resultados del efecto de IFN-β 1b sobre el VC en los ensayos clínicos no han sido publicados.

a.2. Acetato de Glatirámero: ensayos clínicos

El primer estudio con AG que presentó datos sobre atrofia cerebral fue el realizado con una subcohorte de pacientes que participaron en un ensayo clínico multicéntrico⁸³. En esta pequeña cohorte de pacientes, y durante los dos años que duró el ensayo, el tratamiento con AG redujo significativamente la pérdida de VC frente al grupo que recibió placebo⁸³. El análisis inicial del ensayo clínico Europeo-Canadiense, que midió la pérdida de VC en una porción central del cerebro con una técnica semi-automática de segmentación, no detectó diferencias entre el grupo placebo y el tratamiento con AG⁸⁴. Un análisis posterior del mismo ensayo clínico⁸⁵, utilizando otra técnica (SIENA), demostró que el AG tenía un efecto beneficioso en prevenir la pérdida de VC a los 18 meses de su inicio; este efecto se observaba principalmente en la fase abierta del estudio, en aquellos pacientes que habían iniciado el tratamiento precozmente. Sin embargo, estas diferencias no se mantuvieron a largo plazo (5 años de seguimiento)⁸⁶. Finalmente, el ensayo clínico FORTE, que evaluaba dos dosis de AG (20 vs 40 mg diarios) no encontró diferencias estadísticamente significativas en la pérdida de VC entre ambas dosis⁸⁷.

a.3. Interferón beta y acetato de glatirámero: ensayos clínicos comparativos

Tres ensayos clínicos han comparado diferentes formulaciones de IFN-β y AG; todos ellos han presentado datos sobre atrofia cerebral³⁴⁻³⁶. Un estudio demostró que el AG era superior al IFN-β 1a sc en reducir la pérdida de VC³⁵; los otros dos ensayos clínicos no observaron diferencias en la evolución del VC entre ambos tratamientos^{34,36}. Vale la pena mencionar que, en los tres ensayos clínicos, la mayor parte de la pérdida de VC ocurrió durante los primeros 6 a 12 meses tras el inicio del tratamiento activo.

a.4. Interferón beta y acetato de glatirámero: estudios abiertos observacionales

Los primeros estudios abiertos sobre la pérdida de VC en pacientes en tratamiento con IFN-β no incluyeron un grupo control y utilizaron ambas formulaciones

subcutáneas de IFN- β (1a y 1b)^{88,89}. Ambos estudios observaron que tras el inicio del tratamiento con IFN- β se producía una mayor pérdida de VC durante los primeros meses para posteriormente enlentecerse, especialmente a partir de los dos años de tratamiento. En uno de los estudios⁸⁸, se observó que la pérdida de VC que ocurría durante los primeros 6 años de tratamiento se correlacionaba de forma moderada con el empeoramiento en el EDSS durante el mismo período de tiempo; sin embargo, los autores no encontraron ninguna variable radiológica precoz (medida en la RM cerebral realizada a los dos años del inicio del tratamiento) que pudiera predecir la discapacidad a largo plazo. La mayoría de los estudios abiertos más recientes⁹⁰⁻⁹² incluyeron un grupo control de pacientes que no querían iniciar tratamiento inmunomodulador. A pesar de las limitaciones de los estudios abiertos observacionales, comparado con el grupo control, los tratamientos analizados (IFN- β y AG) demostraron reducir tanto la pérdida de VC global⁹⁰⁻⁹² como de SG^{90,91}. Dos de estos trabajos compararon los dos principios activos: el primer estudio demostró que el tratamiento con IFN- β era significativamente mejor en reducir la patología de SG (especialmente la aparición de nuevas lesiones corticales)⁹¹, mientras que el segundo estudio demostró que el tratamiento con AG fue superior en prevenir la pérdida de VC global⁹².

Dos estudios han evaluado el papel de la pérdida de VC para predecir respuesta al tratamiento^{93,94}; los autores de estos estudios encontraron que la pérdida de VC global^{93,94} y de SB⁹⁴ durante el primer año de tratamiento con IFN- β incrementó significativamente el riesgo de presentar una mala respuesta al tratamiento a los 3 y 4 años años de su inicio.

b. Natalizumab

b.1. Ensayos clínicos

El tratamiento con natalizumab demostró su eficacia sobre parámetros de RM en dos ensayos clínicos fase III^{40,41}. En cuanto a los datos de atrofia cerebral, ambos estudios publicaron datos similares: comparado con el grupo aleatorizado a recibir placebo, los pacientes que recibieron tratamiento con natalizumab presentaron una pérdida de VC mucho más marcada durante el primer año de tratamiento, mientras que en el segundo año, la pérdida de VC era significativamente menor. Este patrón de pérdida de VC en diferentes velocidades tras el inicio de tratamiento con natalizumab (y que, recordemos, se había descrito ya previamente en algunos estudios con IFN- β ⁸⁰⁻⁸²) fue interpretado por los autores como un efecto de pseudoatrofia inicial (pérdida de VC

debido a la resolución de los procesos inflamatorios existentes antes del inicio del tratamiento) seguido de un efecto tardío protector en la pérdida de VC.

b.2. Estudios abiertos observacionales

De forma similar a lo que se había comunicado en los ensayos clínicos^{40,41}, un estudio observacional⁹⁵ sin grupo control, confirmó que la mayor parte de la pérdida de VC durante el tratamiento con natalizumab ocurre durante los primeros meses tras el inicio del tratamiento; los autores de este trabajo encontraron además, que esta pérdida de VC estaba relacionada con la actividad clínica (número de brotes) previa al inicio del tratamiento⁹⁵. Un segundo estudio observacional, en el que se incluyeron, además de pacientes tratados con natalizumab, pacientes tratados con IFN- β o AG así como pacientes que no recibían ningún tratamiento, demostró que, tras dos años de tratamiento, natalizumab redujo la aparición de nuevas lesiones corticales y la pérdida de grosor cortical⁹⁶. Finalmente, otros autores demostraron que este efecto beneficioso del tratamiento con natalizumab en reducir la pérdida de VC global y volumen cortical se asociaba a un menor deterioro cognitivo⁹⁷.

c. Fingolimod

c.1. Ensayos clínicos

Fingolimod ha sido el primer tratamiento oral aprobado para la EMRR, tras demostrar su eficacia clínica y radiológica en tres ensayos clínicos fase III. En estos ensayos clínicos, fingolimod demostró ser también eficaz en reducir la pérdida de VC⁴⁸⁻⁵⁰. Comparado con placebo, tras dos años de tratamiento, fingolimod redujo significativamente en un 30% y 45% la pérdida de VC. Este efecto beneficioso sobre el VC se produce de forma temprana, siendo ya evidente a los 6 meses de tratamiento^{48,49}, especialmente en pacientes sin presencia de lesiones Gd+ en la RM cerebral basal⁹⁸. Comparado con IFN- β 1a im, los pacientes que recibieron fingolimod presentaron una menor pérdida de VC durante el primer año de tratamiento⁵⁰; este efecto beneficioso sobre la pérdida de VC se mantuvo en el análisis de subgrupos pre-diseñado⁹⁹. En la fase de extensión de este mismo ensayo clínico, los pacientes que cambiaron de IFN- β a fingolimod redujeron la pérdida de VC y no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre la fase inicial y la extensión en los pacientes que continuaron con fingolimod¹⁰⁰.

d. Dimetilfumarato

d.1. Ensayos clínicos

En el ensayo clínico DEFINE, en el que se comparaba dos dosis de dimetilfumarato con placebo, y utilizando una RM cerebral realizada a los 6 meses tras el inicio del fármaco como RM cerebral basal para el estudio del VC, el tratamiento con dimetilfumarato administrado dos veces al día redujo significativamente la pérdida de VC; sorprendentemente, la dosis de tres veces al día no demostró tener ningún impacto sobre el VC¹⁰¹.

El ensayo clínico CONFIRM evaluaba dos dosis de dimetilfumarato e incluía además de un brazo placebo un cuarto brazo de tratamiento activo con AG. En este ensayo clínico, el efecto sobre la pérdida de VC se analizó en diferentes momentos del estudio: desde el inicio a los 2 años de tratamiento y durante el primer y segundo año de tratamiento. A los dos años de tratamiento, los pacientes que recibieron tratamiento con dimetilfumarato dos veces al día presentaron una menor pérdida de VC en comparación con los que fueron aleatorizados a recibir placebo, aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas¹⁰². Durante el segundo año, la misma dosis de dos veces al día redujo significativamente en un 32% la pérdida de VC en comparación con placebo. El resto de brazos de tratamiento (dimetilfumarato tres veces al día y AG) no consiguieron demostrar una reducción significativa del VC, aunque se observó una tendencia a un efecto beneficioso para ambos brazos durante el segundo año de seguimiento¹⁰².

e. Teriflunomida

e.1. Ensayos clínicos

Para el tratamiento con teriflunomida, se han publicado los datos sobre atrofia cerebral en el ensayo clínico fase III TEMSO: comparado con placebo, ninguna de las dos dosis de teriflunomida (7 y 14 mg) pudo demostrar una reducción significativa en la pérdida de VC global^{53,103} pero sí sobre la pérdida de SB¹⁰³, de forma que los pacientes aleatorizados a recibir tratamiento con teriflunomida presentaron una menor pérdida de SB en comparación con los que recibieron placebo. De la misma manera que ocurrió para el ensayo clínico con AG^{84,85}, al reanalizar los datos de VC con otra técnica (SIENA) se observó que ambas dosis de teriflunomida redujeron la pérdida de VC global al año y a los dos años de tratamiento¹⁰⁴.

f. Alemtuzumab

f.1. Ensayos clínicos

Los efectos del tratamiento con alemtuzumab (el segundo anticuerpo monoclonal aprobado para el tratamiento de pacientes afectados de EMRR) se analizaron por primera vez en el ensayo clínico fase II (CAMSS223)⁶³ y posteriormente en dos ensayos clínicos fase III (CARE-MS-I y CARE-MS-II)^{61,62}. Comparado con IFN- β 1a sc., alemtuzumab redujo significativamente la pérdida de VC. El efecto beneficioso de alemtuzumab sobre la pérdida de VC fue más marcado en el grupo de pacientes que no habían recibido ningún tratamiento previo (reducción del 42% vs 24% en los pacientes que habían recibido previamente algún otro tratamiento para la EM)⁶¹.

g. Resumen del efecto de los tratamientos sobre la pérdida de volumen cerebral

En resumen, la mayor parte de los fármacos disponibles actualmente para tratar la EMRR han demostrado poseer un efecto beneficioso sobre la pérdida de VC. Sin embargo, en algunos casos no se han podido demostrar diferencias significativas, especialmente durante los primeros meses tras el inicio del tratamiento. En este sentido, es importante tener en cuenta que la presencia de inflamación debida a la enfermedad, tiene un impacto sobre la medida de VC. Los pacientes que inician un tratamiento, ya sea en contexto de un ensayo clínico o en la práctica clínica habitual, suelen ser pacientes con importante actividad clínica (en forma de brotes) y radiológica (con lesiones que realzan tras la administración de gadolinio en la RM cerebral). La resolución de esta inflamación dará lugar una pérdida de VC inicial más acelerada durante los primeros meses de tratamiento; este fenómeno se ha descrito como el efecto de pseudoatrofia⁷⁹. De esta forma, los tratamientos con un efecto importante sobre la inflamación, pueden producir, durante los primeros meses de tratamiento, descensos de VC más marcados que el placebo que, al menos en parte, pueden no estar relacionados con un daño tisular real sino ser debidos a la resolución de la inflamación. El estudio y comprensión del fenómeno de pseudoatrofia cerebral en los pacientes con EMRR que inician tratamiento inmunomodulador es relevante para poder interpretar correctamente el efecto de los fármacos sobre el VC así como la relación entre los cambios de VC y los parámetros de discapacidad en pacientes que inician un tratamiento inmunomodulador.

Tabla 8. Efecto de los tratamientos sobre el volumen cerebral: datos de ensayos clínicos randomizados fase III

Ensayo Clínico	Medida ^a	Efecto global ^{b, e}	Efecto inmediato ^{c, e}	Efecto tardío ^{d, e}
<i>Interferón beta 1a</i>				
AVONEX pivota ⁸⁰	Cambio de BPF	0 a 2 años: sin diferencias significativas	0 a 1 año: sin diferencias significativas	1 a 2 años: 55% de reducción para el brazo de IFN
PRISMS ⁸²	Cambio de BPV	NA ⁽¹⁾	NA	NA
<i>Acetato de glatirámero</i>				
Ensayo clínico Eur-Can ^{85,86}	PBVC (SIENA)	0 a 9 meses: sin diferencias significativas	0 a 9 meses: sin diferencias significativas	NA ⁽²⁾
Ensayo clínico USA ⁸³	Cambio de BPF	0 a 2 años: 77% reducción en el brazo de AG ⁽³⁾	NA	NA
FORTE ⁸⁷⁽⁴⁾	PBVC (SIENA)	0 a 1 año: sin diferencias significativas	Ver efecto global	NA
<i>Interferón beta 1a y acetato de glatirámero⁽⁵⁾</i>				
REGARD ³⁵	PBVC (SIENA)	0 a 2 años: 13% reducción en el brazo de AG	0 a 1 años: 8% reducción en el brazo de AG ⁽⁶⁾	1 a 2 años: 22% reducción en el brazo de AG ⁽⁶⁾
BEYOND ³⁴	PBVC (SIENA)	0 a 2 años: sin diferencias significativas	0 a 1 año: mayor pérdida de volumen cerebral en el brazo de IFN ⁽⁷⁾	1 a 2 años y 2 a 3 años: no diferencias significativas
COMBIRx ³⁶	Cambio de GMF, WMF y LCR	0 a 3 años: sin diferencias significativas	NA	NA

Ensayo Clínico	Medida ^a	Efecto global ^{b, e}	Efecto inmediato ^{c, e}	Efecto tardío ^{d, e}
<i>Natalizumab</i>				
AFFIRM ⁴⁰	Cambio de BPF	0 a 2 años: sin diferencias significativas	0 a 1 año: mayor pérdida de volumen cerebral (40%) en el brazo de NAT	1 a 2 años: 44% reducción en el brazo de NAT
SENTINEL ⁴¹	Cambio de BPF	0 a 2 años: sin diferencias significativas	0 a 1 año: mayor pérdida de volumen cerebral (19%) en el brazo de NAT ⁽⁸⁾	1 a 2 años: 23% reducción en el brazo de NAT
<i>Fingolimod</i> ⁽⁹⁾				
FREEDOMS ^{50,98}	PBVC (SIENA)	0 a 2 años: 35% reducción en el brazo de FNG (0,5 mg)	0 a 6 meses: 35% reducción en el brazo de FNG (0,5 mg) 0 a 1 año: 23% reducción en el brazo de FNG (0,5 mg)	1 a 2 años: 44% reducción en el brazo de FNG (0,5 mg)
TRANSFORMS ^{48,99}	PBVC (SIENA)	0 a 1 año: 31% reducción en el brazo de FNG (0,5 mg)	Ver efecto global	NA ⁽¹⁰⁾
FREEDOMS II ⁴⁹	PBVC (SIENA)	0 a 2 años: 33% reducción en el brazo de FNG (0,5 mg)	0 a 6 meses: 36% reducción en el brazo de FNG (0,5 mg) 0 a 1 año: 40% reducción en el brazo de FNG (0,5 mg)	1 a 2 años: 28% reducción en el brazo de FNG (0,5 mg)

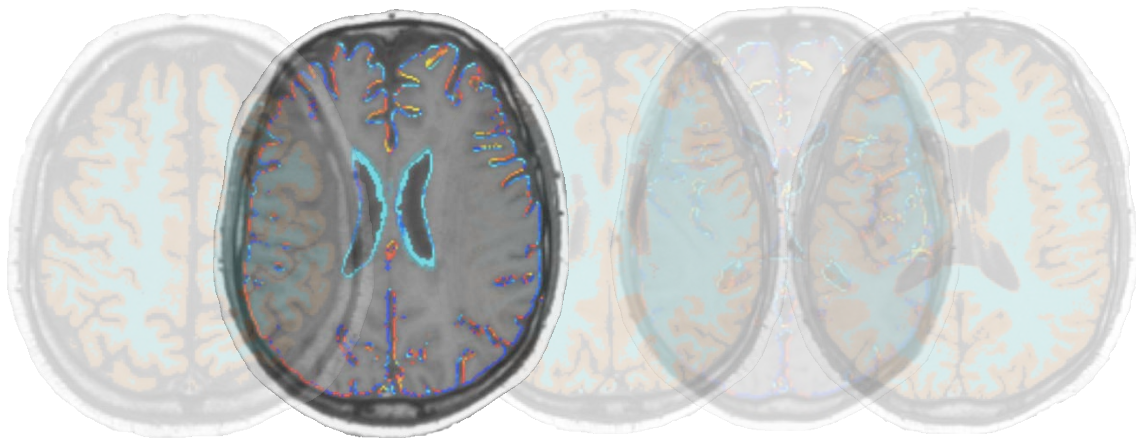
Ensayo Clínico	Medida ^a	Efecto global ^{b, e}	Efecto inmediato ^{c, e}	Efecto tardío ^{d, e}
<i>Dimetilfumarato</i>				
DEFINE ¹⁰¹	PBVC (SIENA)	6 meses a 2 años: 30% reducción en el brazo de DMF 2v/día; sin diferencias significativas para el brazo de 3v/día	NA	NA
CONFIRM ¹⁰²	PBVC (SIENA)	0 a 2 años: 30% reducción en el brazo de DMF 2v/día ⁽¹¹⁾ ; sin diferencias significativas para el brazo de 3v/día ni de AG	0 a 1 año: sin diferencias significativas	1 a 2 años: 32% reducción en el brazo de DMF 2v/día; 32% reducción en el brazo de 3v/día ⁽¹²⁾ y 29% reducción en el brazo de AG ⁽¹³⁾
<i>Teriflunomida</i>				
TEMSO ¹⁰³	Cambio de BPF, GMF y WMF	0 a 2 años: sin diferencias significativas ⁽¹⁴⁾	NA	NA
<i>Alemtizumab</i>				
CARE-MS-I ⁶¹	Cambio de BPF	0 a 2 años: 42% reducción en el brazo de AL	NA	NA
CARE-MS-II ⁶²	Cambio de BPF	0 a 2 años: 24% reducción en los brazos de AL ⁽¹⁵⁾	NA	NA

La tabla detalla los efectos sobre el volumen cerebral de los diferentes principios activos para tratar la EMRR en orden de aprobación por parte de la EMA.^a Si no se detalla el programa utilizado no se describía o bien se utilizaron programas propios.^b Efecto global: efecto sobre el volumen cerebral durante toda la duración del ensayo clínico, se aportan datos únicamente de la fase doble ciego.^c Efecto inmediato: efecto sobre el volumen cerebral durante los primeros 6-12 meses del ensayo clínico, se aportan datos únicamente de la fase doble ciego.^d Efecto tardío: efecto sobre el volumen cerebral tras los 12 primeros meses del ensayo clínico, se aportan datos únicamente de la fase doble ciego.^e Si el artículo original no describía el porcentaje de reducción de pérdida de VC, éste se calculó con la siguiente fórmula: 1 - (volumen absoluto de pérdida de VC para el brazo de tratamiento / volumen absoluto de pérdida de VC para el brazo placebo).

Se aportan únicamente datos para el período de 0 a 6 años (incluyendo fase abierta del ensayo clínico); durante ese período no se detectaron diferencias significativas.⁽²⁾ Se aportan datos de la fase abierta del ensayo clínico (9 a 18 meses); durante ese período se observó un efecto positivo para el brazo de AG con inicio temprano (en la fase doble ciego).⁽³⁾ Datos aportados para una subcohorte de 27 pacientes del ensayo clínico.⁽⁴⁾ Ensayo clínico de comparación de dos dosis de AG: 20 vs 40 mg de AG.⁽⁵⁾ Ensayos clínicos en los que se comparan ambos principios activos (REGARD: sc IFN- β -1a 44 μ g vs GA; BEYOND: sc IFN- β -1b 500 μ g vs sc IFN- β -1b 250 μ g vs GA) o bien se evalúa el efecto de terapia combinada con ambos fármacos (COMBIRX: im IFN- β -1a vs GA vs im IFN- β -1a+GA).⁽⁶⁾ No se aporta valor de p.⁽⁷⁾ Datos aportados únicamente en una gráfica, sin números exactos, por lo que no puede calcularse el porcentaje de reducción de pérdida de VC.⁽⁸⁾ p=0,058.⁽⁹⁾ Se aportan únicamente los datos de la dosis de 0,5mg de FNG (dosis finalmente comercializada).⁽¹⁰⁾ Se aportan datos de la fase abierta del ensayo clínico (de 12 a 24 meses); durante ese período se observó un 51% de reducción en el brazo de FNG 0,5 mg.⁽¹¹⁾ p=0,064.⁽¹²⁾ p=0,075.⁽¹³⁾ p=0,08.⁽¹⁴⁾ No se detectaron diferencias para el cambio de BPF, si para el cambio de WMF, favoreciendo al brazo de TFN; en un análisis posterior.⁽¹⁵⁾ Para ambas dosis de AL combinadas (12 y 24 mg).

Abreviaturas, en orden alfabético: AG: acetato de glatirámico; AL: alemtuzumab; BPF: fracción de parénquima cerebral; BPV: volumen de parénquima cerebral; DMF: dimetil fumarato; EMA: agencia europea del medicamento; EMRR: esclerosis múltiple remitente-recurrente; FNG: fingolimod; GMF: fracción de sustancia gris; IFN: interferón; mg: miligramos; LCR: líquido céfaloraquídeo; NAT: nataizumab; NA: no aportado; PBVC: porcentaje de cambio de volumen cerebral; sc: subcutáneo; SIENA: Structural Imaging Evaluation, using Normalization, of Atrophy; WMF: fracción de sustancia blanca

HIPÓTESIS



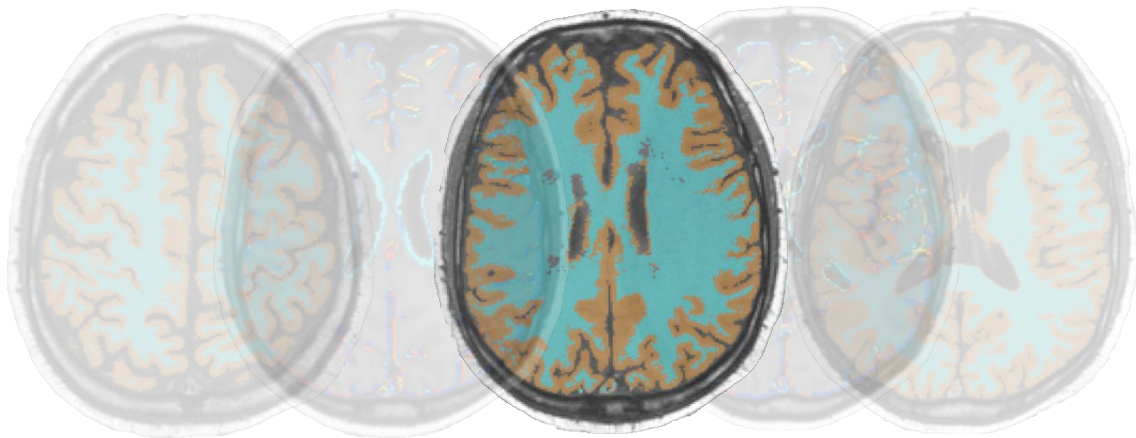
HIPÓTESIS

Este proyecto de tesis doctoral se diseñó para dar respuesta a algunas de las incógnitas relacionadas con el cambio de volumen cerebral que ocurre en los pacientes con esclerosis múltiple remitente-recurrente que inician tratamiento inmunomodulador con natalizumab e interferón beta. Más concretamente se centra en el estudio y conocimiento del efecto de pseudoatrofia cerebral en los pacientes que inician tratamiento con natalizumab e interferón beta, con el objetivo último de comprender mejor la dinámica del cambio de volumen cerebral en estas circunstancias y poder ofrecer mejores herramientas de monitorización clínica y radiológica a nuestros pacientes. Para ello nos planteamos las siguientes hipótesis de trabajo:

1. El cambio de volumen cerebral global que ocurre durante el primer año de tratamiento con natalizumab e interferón beta se relacionará con la presencia de actividad inflamatoria basal o pre-tratamiento. Además, en los pacientes tratados con natalizumab, pensamos que el cambio de volumen cerebral global será mayor durante el primer año de tratamiento respecto al segundo.

2. El cambio de volumen cerebral observado durante el primer año de tratamiento con natalizumab e interferón beta, afectará de forma diferente a la sustancia gris y sustancia blanca cerebral, especialmente en los pacientes con presencia de actividad inflamatoria basal o pre-tratamiento. Concretamente, nuestra hipótesis es que la presencia de actividad inflamatoria basal o pre-tratamiento afectará la evolución del volumen de sustancia blanca cerebral durante el primer año de tratamiento, mientras que no modificará la evolución del volumen de sustancia gris cerebral.

OBJETIVOS



OBJETIVOS

Los objetivos que se definieron para confirmar las hipótesis de trabajo de esta tesis doctoral fueron los siguientes:

1. Investigar y cuantificar el cambio de volumen cerebral global que se produce durante el primer y segundo^a año tras el inicio del tratamiento con natalizumab e interferón beta.

2. Definir la presencia de actividad inflamatoria basal o pre-tratamiento en los pacientes que vayan a iniciar un tratamiento con natalizumab e interferón beta. Esta actividad inflamatoria se cuantificará mediante el número de lesiones que realzan tras la administración de gadolinio en la RM cerebral realizada antes del inicio del tratamiento.

3. Investigar la relación existente entre la presencia de lesiones que realzan tras la administración de gadolinio en la RM cerebral basal o pre-tratamiento y los cambios de volumen cerebral global observados durante el primer y segundo^a año de tratamiento con natalizumab e interferón beta.

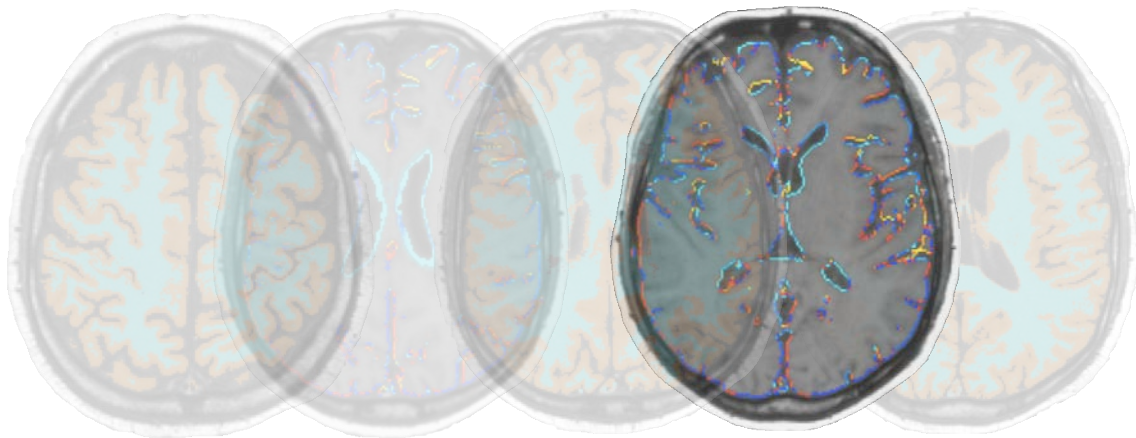
4. Investigar si existen diferencias en el cambio de volumen cerebral global que se produce durante el primer y segundo año tras el inicio de tratamiento con natalizumab.

5. Investigar y cuantificar el cambio de volumen de sustancia blanca y sustancia gris que se produce durante el primer año tras el inicio del tratamiento con natalizumab e interferón beta.

6. Investigar la relación existente entre la presencia de lesiones que realzan tras la administración de gadolinio en la RM cerebral basal o pre-tratamiento y los cambios de volumen de sustancia blanca y volumen de sustancia gris observados durante el primer año de tratamiento con natalizumab e interferón beta.

^a Sólo en la cohorte de pacientes tratados con natalizumab

MATERIAL Y MÉTODOS



MATERIAL Y MÉTODOS

1. Participantes

Para la realización de esta tesis doctoral se utilizaron dos cohortes de pacientes; en ambas se incluyeron pacientes con diagnóstico de esclerosis múltiple remitente-recurrente que habían iniciado tratamiento modificador de la enfermedad en el Centro de Esclerosis Múltiple de Cataluña (Cemcat) en el Hospital Universitario Vall d'Hebron.

En la primera cohorte, se incluyeron 45 pacientes que iniciaron tratamiento con natalizumab; en la segunda cohorte, se incluyeron 105 pacientes que iniciaron tratamiento con interferón beta. Todos los pacientes incluidos en el estudio fueron seguidos prospectivamente, recogándose variables clínicas y radiológicas de todos ellos.

El estudio fue aprobado por el Comité Ético del Institut de Recerca del Hospital Universitario Vall d'Hebron y los pacientes dieron su consentimiento informado.

2. Evaluaciones Clínicas

Todos los pacientes de ambas cohortes fueron evaluados por un grupo de neurólogos expertos en esclerosis múltiple. Se recogieron datos sobre la historia previa al inicio del tratamiento, tales como: fecha del primer síntoma de la enfermedad (SCA), número de brotes durante el año previo al inicio del tratamiento y puntuación de la escala de discapacidad EDSS en el momento de iniciar el tratamiento.

Una vez iniciado el tratamiento todos los pacientes realizaron un seguimiento clínico prospectivo de forma regular: cada 3 meses en el caso del tratamiento con natalizumab (primera cohorte) o cada 6 meses en el caso de tratamiento con interferón beta (segunda cohorte). Durante el período que el paciente estuvo en tratamiento se recogió información sobre las siguientes variables: número de brotes y puntuación de la escala de discapacidad EDSS durante el tratamiento.

3. Resonancia Magnética cerebral

3.1. Generalidades

La RM permite, mediante el uso de campos magnéticos y ondas de radiofrecuencia, obtener imágenes de gran calidad de secciones finas (imágenes tomográficas) de diferentes tejidos del organismo como por ejemplo el cerebro.

Los receptores, y posteriormente emisores, de estos campos magnéticos y ondas de radiofrecuencia en el interior del cuerpo humano son los protones de hidrógeno, presentes en las moléculas de agua que conforman el organismo. El núcleo del átomo de hidrogeno contiene un único protón, con carga positiva, y además tiene una propiedad llamada *spin* que le hace comportarse como un pequeño imán. De forma resumida, el campo magnético que se generará sobre el sujeto, gracias al uso de imanes de diferentes potencias (entre 0,5 a 7 Tesla), hará que los protones de hidrogeno del organismo se alineen en concordancia con el campo magnético del equipo de RM (estado paralelo o de baja energía). Posteriormente, el pulso de radiofrecuencia emitido por el mismo equipo causará que los protones de hidrógeno absorban energía y se alineen momentáneamente en la dirección contraria al del campo magnético (estado anti-paralelo o de alta energía) creando un campo magnético transversal. Cuando el pulso de radiofrecuencia cesa, los protones se relajarán y volverán a su estado basal o paralelo, alineados en concordancia con el campo magnético. En este momento de relajación de los protones, ocurren dos fenómenos: por un lado, los protones del tejido que estamos estudiando recuperan la magnetización longitudinal (tiempo de relajación T1) y por otro deben perder o ceder la magnetización transversal adquirida (tiempo de relajación T2). Tanto el cambio de dirección del campo magnético como su posterior recuperación o relajación de los protones, produce una energía la cual emite una señal que será registrada mediante la antena o *coil* del mismo equipo. Por último, mediante diferentes algoritmos y procesos computarizados, se creará una imagen anatómica a partir de las señales recibidas.

El contraste de la imagen, o la escala de grises en la que se visualizará finalmente la imagen y que nos permitirá distinguir los diferentes tejidos, depende de: la densidad de protones de un tejido, los tiempos de relajación T1 y T2, y los parámetros de adquisición de la imagen. Las dos primeras propiedades (densidad de protones y tiempos de relajación) son intrínsecas de cada tejido, y dependiendo del momento en que adquiramos la imagen vamos a obtener un tipo de imagen u otra. Teniendo en cuenta estas propiedades intrínsecas de cada tejido, podemos modificar los parámetros de la secuencia de pulsos emitidos por el aparato de RM para obtener imágenes con diferentes contrastes. Los parámetros más importantes son el tiempo de repetición (TR) o el tiempo que transcurre entre dos pulsos de excitación y el tiempo de eco (TE) o el tiempo que transcurre entre el pulso de excitación y la aparición del eco. Así, modificando estos tiempos podemos obtener las imágenes más frecuentemente utilizadas en el ámbito de la neurología: densidad protónica (DP), imágenes potenciadas en T1 e imágenes potenciadas en T2. La DP depende,

exclusivamente, de la cantidad absoluta de protones de hidrogeno del tejido. Dado que el agua, con sus átomos de hidrogeno, es el principal componente del organismo humano, las imágenes en DP suelen ser de bajo contraste. Sin embargo, las imágenes potenciadas en T1 o T2 son imágenes de alto contraste. Las imágenes potenciadas en T1 están orientadas al estudio de la anatomía cerebral (en nuestro caso) y se utilizan para valorar la morfología cerebral; existen diferentes técnicas de adquisición así como la posibilidad de realizar adquisiciones tridimensionales con cortes muy finos, que son las que habitualmente se utilizan para los estudios volumétricos cerebrales. Por el contrario, las imágenes potenciadas en T2 son más sensibles para detectar una patología y están más relacionadas con la fisiopatología, por lo que habitualmente se utiliza este tipo de imágenes para los estudios de función cerebral.

Clásicamente, las técnicas de RM se empleaban para la detección de patología cerebral permitiendo, por ejemplo en el caso de la esclerosis múltiple, detectar el número, localización y morfología de las señales o lesiones de la sustancia blanca cerebral. Este análisis cualitativo permite establecer el diagnóstico precoz de una enfermedad, pero en la mayoría de los casos no permite comprender o medir con exactitud el proceso biológico subyacente. Por este motivo en los últimos años se han desarrollado nuevas técnicas, no sólo en la adquisición de la imagen, sino principalmente también en el post-procesado de la misma. Estas nuevas técnicas permiten un análisis cuantitativo, funcional o microestructural de la imagen obtenida permitiendo así estudiar y comprender mejor la patogenia y evolución de la enfermedad. De todas las técnicas cuantitativas de RM desarrolladas en los últimos años detallaremos a continuación, por ser las que se utilizaran en esta tesis doctoral, las técnicas que permiten medir el cambio de volumen cerebral.

3.2. Estudio del cambio de volumen cerebral en ambas cohortes

Como se ha mencionado previamente en la introducción, existen diferentes técnicas cuantitativas automáticas que permiten estudiar el cambio de VC global y regional que ocurre en un sujeto. A continuación, y para una mejor comprensión de los datos presentados, se describe con más detalle la metodología de las dos técnicas cuantitativas utilizadas en esta tesis doctoral:

a. Structural Image Evaluation, using Normalization, of Atrophy (SIENA)

Se trata de una técnica automática, basada en el registro, que permite calcular el cambio de VC que ocurre en un período determinado de tiempo estimando el PBVC entre dos imágenes de un mismo sujeto, tomadas en dos momentos diferentes. Para

obtener la medida de PBVC, el programa SIENA, parte de la *FMRIB Software Library* (FSL), utiliza una serie de herramientas incluidas en esta librería¹⁰⁵. Los diferentes pasos del post-procesado de las imágenes de RM cerebrales se pueden resumir de la siguiente manera:

a.1. Extracción del tejido cerebral. El primer paso será diferenciar y extraer o separar el tejido cerebral del resto de estructuras contenidas en la imagen a analizar. Para ello, la herramienta de la librería FSL *Brain Extraction Tool* (BET) modelará la superficie de la imagen, siguiendo unos parámetros y una estructura preestablecida, hasta que ésta se ajuste perfectamente a la superficie cerebral. Mediante la herramienta BET obtendremos como resultado dos máscaras binarias: la imagen cerebral (que incluirá el cerebelo y el tronco cerebral y excluirá las áreas no cerebrales tales como los ojos y senos paranasales) y la superficie externa del hueso craneal (figura 4).

a.2. Extracción del hueso craneal. La estimación del hueso craneal es de suma importancia para el cálculo de los cambios de volumen cerebral puesto que actuará como factor de normalización. En el caso de los estudios longitudinales, la máscara de hueso craneal, al tratarse de una estructura con forma y tamaño constante para un mismo individuo, servirá de referencia y restringirá el cambio de escala en el momento de registrar las dos imágenes al espacio común (siguiente paso del post-procesado de las imágenes). La superficie externa del hueso craneal, visible en tonos oscuros o de baja intensidad en imágenes potenciadas en T1, se detecta automáticamente mediante la herramienta BET. Así, a partir de la estimación de la superficie cerebral, se realiza una búsqueda de la posición óptima de la superficie externa del hueso craneal. El punto más distante del cerebro con menor intensidad, se tomará como el punto en el que se localiza la superficie externa del hueso craneal (figura 4).

a.3. Registro de ambas imágenes. Para obtener las diferencias de volumen cerebral entre dos imágenes, éstas deben estar previamente alineadas y dispuestas en el mismo espacio; esto se conseguirá gracias al registro de ambas imágenes a un espacio común. Es importante, durante este paso de registro, que no se produzca un cambio de escala de las imágenes, pues la medida final de PBVC podría verse infra o supra estimada. En este proceso de registro se utilizará la herramienta de la librería FSL *FMRIB's Linear Image Registration Tool* (FLIRT) (figura 5). Esta herramienta utilizará las dos máscaras obtenidas en el paso anterior: la máscara de la superficie cerebral servirá para optimizar el desplazamiento y rotación de las imágenes a analizar, la máscara del hueso craneal se utilizará para optimizar el grado en el que se escalan y se distorsionan las imágenes (recordemos que como se ha mencionado

anteriormente, el hueso craneal constituye una estructura constante en un mismo individuo, por lo que restringirá los cambios de escala que se realicen sobre las imágenes). Para que las dos imágenes cerebrales de un paciente, sobre las que se analizará el cálculo final de PBVC, sufran el mismo grado de distorsión, ambas imágenes serán manipuladas y transformadas a una posición o ‘espacio’ intermedio entre ambas denominado ‘espacio común’. Tras este paso, las imágenes intermedias obtenidas en todos los pasos descritos hasta ahora se desestiman y se aplicarán las transformaciones necesarias para el registro de las imágenes a las dos imágenes originales y a las dos máscaras cerebrales. Estas cuatro imágenes (las dos imágenes originales y las dos máscaras cerebrales, registradas al ‘espacio común’) serán las que pasaran al siguiente paso.

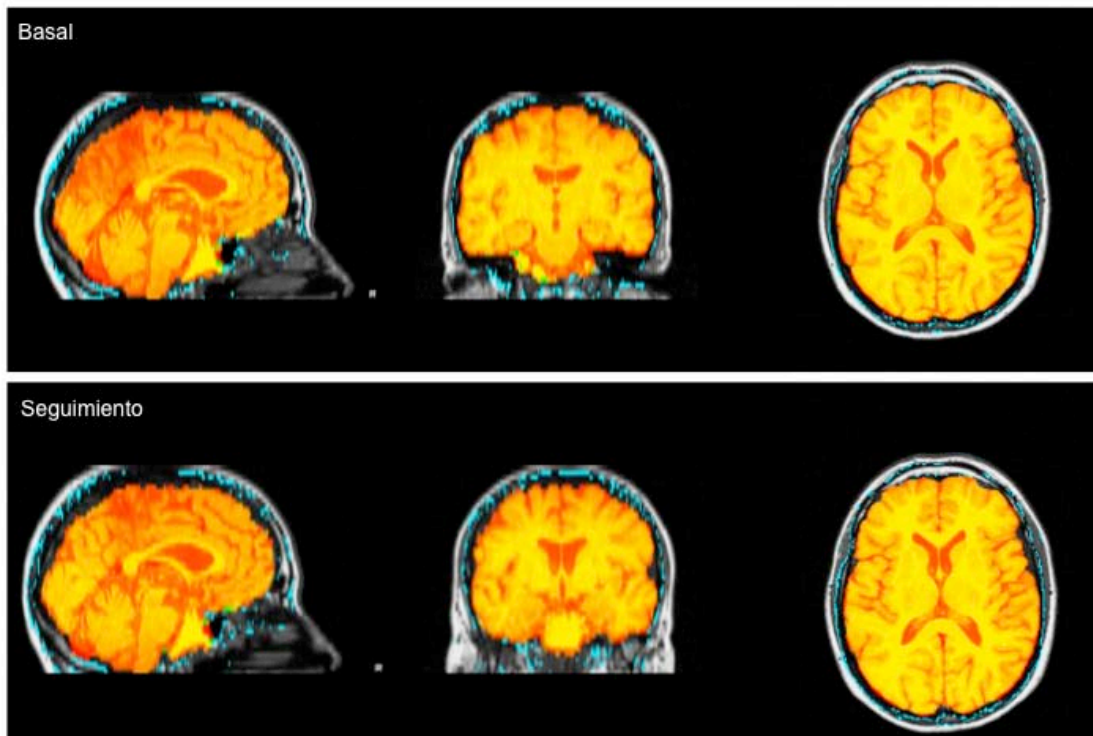


Figura 4. Extracción del tejido cerebral y la superficie externa del hueso craneal mediante la herramienta *Brain Extraction Tool* (BET). La figura muestra la máscara de tejido cerebral (naranja) y la superficie externa del hueso craneal (azul) obtenidas tras aplicar la herramienta BET del programa SIENA para un mismo paciente en dos momentos diferentes (basal y seguimiento).

a.4. Combinación de imágenes ('masking'). Las dos máscaras binarias, registradas en el espacio común en el anterior paso, se combinarán en una única máscara cerebral. Esta máscara cerebral se aplicará a cada una de las imágenes originales, registradas también en el espacio común, con el objetivo de evitar que

pequeñas diferencias en la segmentación de las imágenes cerebrales sean detectadas como cambio de volumen cerebral. Las dos nuevas imágenes cerebrales registradas en el espacio común y con la aplicación de la máscara cerebral combinada, entrarán en el paso final para el cálculo del cambio de volumen.

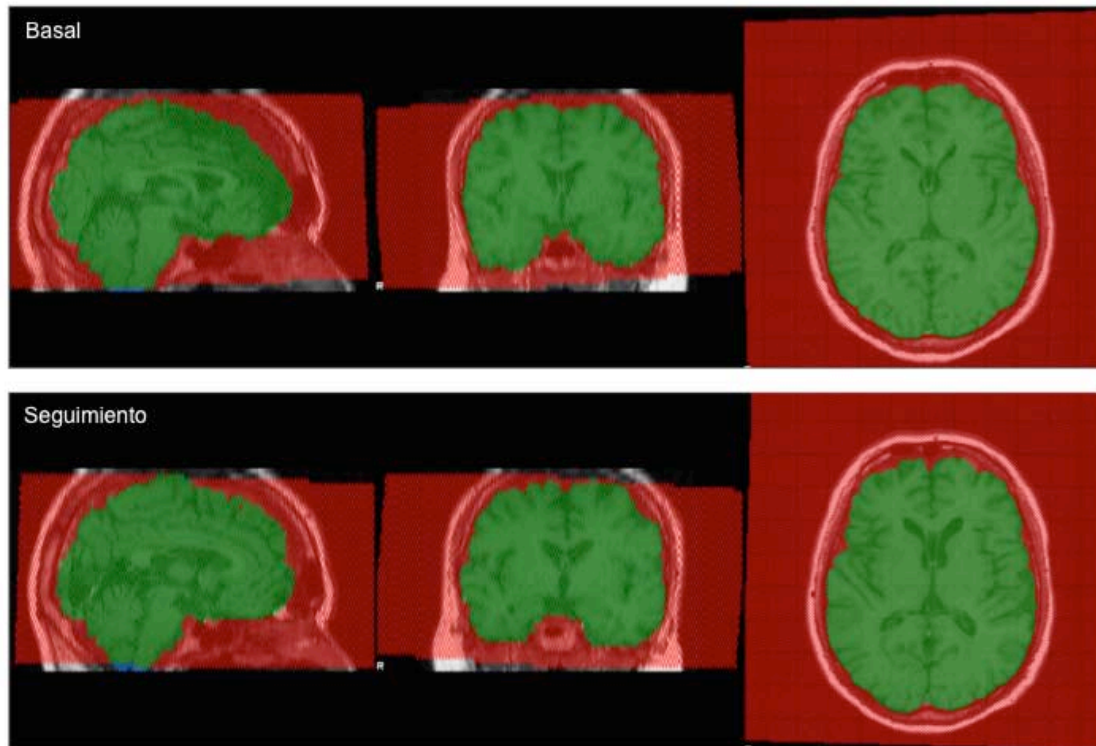


Figura 5. Registro de las imágenes al espacio común mediante la herramienta *FMRIB's Linear Image Registration Tool (FLIRT)*. La figura muestra en rojo el espacio común de las dos imágenes obtenidas en diferentes momentos (basal y seguimiento) para un mismo sujeto. En verde se muestra la intersección entre ambas imágenes.

a.5. Análisis de cambio de volumen cerebral. Finalmente, las dos imágenes originales, registradas en el espacio común y con la misma máscara cerebral aplicada, serán segmentadas para separar nuevamente las estructuras cerebrales de las no cerebrales. A partir de los puntos de la superficie cerebral, el programa SIENA estima el movimiento o cambio que se ha producido de una imagen (o momento) a la otra; la dirección hacia donde se dirige la superficie de cambio determina si se está produciendo atrofia o crecimiento cerebral. Este proceso se realiza para cada punto de la superficie cerebral, permitiendo (tras una serie de cálculos y correcciones por el número de puntos de superficie analizados, el número de vóxeles y el área de los vóxeles que conforman cada uno de los puntos de superficie), el cálculo del PBVC entre las dos imágenes o los dos momentos analizados (figura 6).

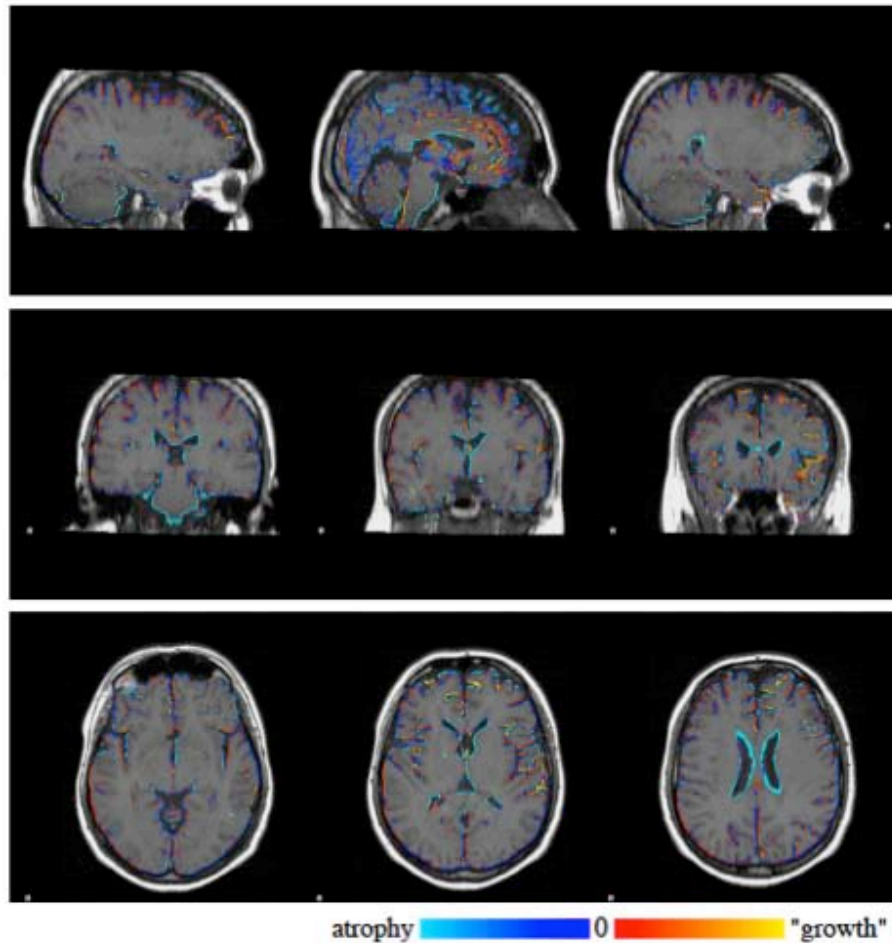


Figura 6. Análisis de cambio de volumen cerebral. La figura muestra el cambio o movimiento que se ha producido en cada uno de los puntos de la superficie cerebral entre las dos imágenes analizadas de un mismo paciente. Como indica la escala de colores en el pie de la imagen, aquellas zonas en las que se haya producido una disminución o pérdida de volumen cerebral serán marcadas en diferentes tonalidades de azul (atrofia), mientras que aquellas zonas en las que se produzca un aumento de volumen cerebral serán marcadas en diferentes tonalidades de rojos (crecimiento). Además de las imágenes mostradas para una inspección visual, el programa nos arrojará una medida numérica de porcentaje de cambio de volumen cerebral para cada uno de los sujetos.

b. Statistical Parametric Mapping (SPM)

El programa SPM fue desarrollado en el Laboratorio de Imagen Funcional del University College de Londres para el análisis de imágenes cerebrales. Es un conjunto de herramientas, de código abierto y libre, que se ejecuta en el entorno del programa MATLAB. Se trata de una técnica automática, basada en la segmentación que, utilizando mapas de probabilidad de los tejidos, nos permitirá clasificar el tejido cerebral en sustancia gris, sustancia blanca y líquido cefalorraquídeo¹⁰⁶. Además, aunque no ha sido utilizado en esta tesis doctoral, el programa incluye un paquete estadístico, que mediante la comparación voxel a voxel permite estudiar diferencias locales en la composición cerebral que pueden existir entre diferentes sujetos (en el

caso de estudios transversales) o entre un mismo sujeto (en el caso de estudios longitudinales).

Para poder llevar a cabo el análisis volumétrico con este programa, se requiere un post-procesado de las imágenes de RM cerebral que se detalla brevemente a continuación:

b.1. Normalización espacial de las imágenes. El primer paso consiste en transformar cada una de las imágenes al mismo espacio estereotáctico. Esto se conseguirá registrando cada una de las imágenes a un mismo *template* o cerebro de referencia. Mediante una transformación de las coordenadas de la imagen original al espacio anatómico común, se consigue ajustar la posición, orientación y tamaño craneal de cada sujeto al *template*. Es importante destacar que con este proceso no se pretende conseguir que todas las estructuras craneales se correspondan exactamente con las del *template*, ya que entonces no seríamos capaces de detectar diferencias entre los sujetos.

b.2. Segmentación de los diferentes tejidos. A partir de las imágenes normalizadas, los diferentes tejidos que componen el cerebro (sustancia gris, sustancia blanca y líquido cefalorraquídeo) son identificados y extraídos utilizando mapas de probabilidad de tejidos (provistos por el Instituto Neurológico de Montreal) (figura 7). De manera resumida, en función de la intensidad de cada vóxel así como de los colindantes, de la localización de los mismos y tras haber corregido o modulado las diferencias volumétricas debidas al paso de normalización previo, a cada vóxel de la imagen de RM cerebral normalizada se le conferirá una probabilidad de 0 a 1 de pertenecer a un tipo de tejido cerebral. Por convención, los vóxeles con una probabilidad mayor de 0,5 de pertenecer a un tejido son asignados a esa máscara, creándose así máscaras binarias de sustancia gris, sustancia blanca y líquido cefalorraquídeo con sus respectivos valores numéricos (número de vóxeles que conforman esa máscara o tejido) (figura 8).

3.3. Adquisición y post-procesado de las imágenes de ambas cohortes

A todos los pacientes incluidos en ambas cohortes se les realizó una RM cerebral durante los tres meses previos al inicio del tratamiento (RM basal) y una RM cerebral al año del inicio del fármaco (figura 9). En la primera cohorte, pacientes tratados con natalizumab, se les realizaba también (por cuestiones de seguridad indicadas en la práctica clínica habitual) una nueva RM cerebral a los dos años del inicio del tratamiento que se incluyó también en el estudio volumétrico (figura 9).

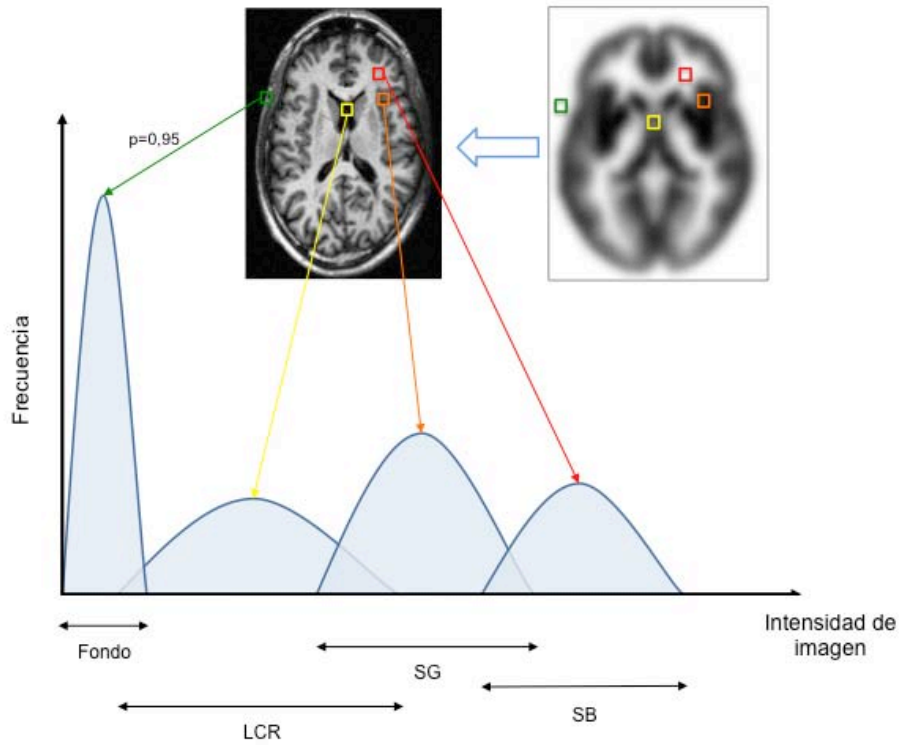


Figura 7. Segmentación del tejido cerebral mediante el programa SPM. La figura esquematiza la forma en que el programa SPM realiza la segmentación del tejido cerebral. Tras normalizar al espacio común, a cada vóxel de RM (cuadrados de colores) se le asigna una probabilidad de 0 a 1 de pertenecer a un tejido cerebral en función de la intensidad de señal de ese vóxel, de la intensidad de señal de los vóxeles colindantes y de su localización para lo cual se aplica el mapa de probabilidad de tejidos del instituto neurológico de Montreal (imagen de la derecha). *Abreviaturas, en orden alfabético: LCR: líquido cefalorraquídeo; SG: sustancia gris; SB: sustancia blanca.*

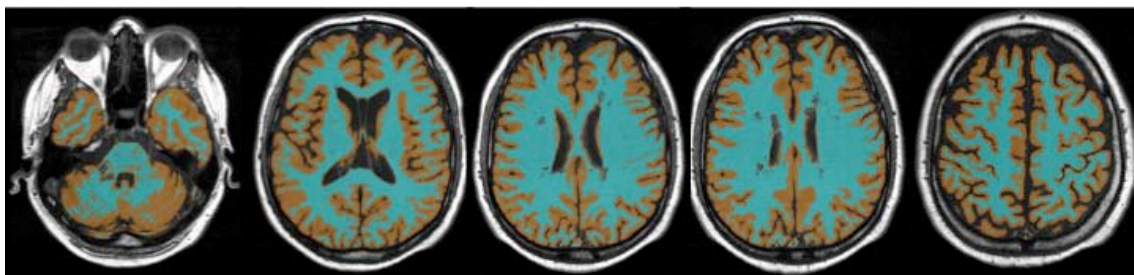


Figura 8. Máscaras tisulares obtenidas tras la segmentación del tejido cerebral mediante el programa SPM. La figura muestra un ejemplo de las máscaras tisulares binarizadas que se obtienen tras realizar la segmentación del tejido cerebral con el programa SPM superpuestas sobre las imágenes potenciadas en T1; en este caso la sustancia gris está representada en naranja y la sustancia blanca en azul claro. En el caso de la esclerosis múltiple, existen lesiones en la sustancia blanca que requieren un tratamiento previo especial para evitar que sean clasificadas de forma errónea como parte del tejido cerebral. En este caso, las lesiones fueron previamente identificadas y marcadas creando una máscara lesional que fue incluida, junto con la secuencia potenciada en T1, en el procesado de la imagen (en el ejemplo, las lesiones en sustancia blanca se visualizan en un tono gris oscuro en la primera, tercera y cuarta imagen empezando a contar desde la izquierda).

Las especificaciones técnicas de las imágenes obtenidas para cada cohorte se detallan a continuación:

a. Pacientes tratados con natalizumab (primera cohorte)

Todas las imágenes se realizaron en un escáner de 1,5 T, utilizando una técnica estándar con correcto reposicionamiento para permitir el análisis visual comparativo. Se realizaron las siguientes secuencias:

- Secuencia de densidad protónica, potenciada en T2
- Secuencia *spin-echo* potenciada en T1 con adquisición pre y post-administración de gadolinio (dosis de 0,2 mmol/kg); TR: 600 ms, TE: 15 ms, NEX 2. Se obtuvieron 46 secciones axiales continuas con un grosor de 3 mm; matriz adquirida de 192 x 256; tamaño de vóxel 1,4 x 1,4 mm³. Se utilizaron las imágenes potenciadas en T1 sin contraste y el programa SIENA para obtener el PBVC para el primer y segundo año de tratamiento con natalizumab. El programa SPM5 (versión 5 del SPM) se utilizó para segmentar la SB y la SG. Para evitar errores de clasificación de las lesiones focales de sustancia blanca, hipointensas en secuencias potenciadas en T1, como tejido cerebral o LCR, se utilizaron máscaras de lesión (de naturaleza binaria) obtenidas semiautomáticamente mediante el programa informático JIM por un técnico entrenado. Se obtuvieron valores de SB y SG para cada paciente y cada momento (basal y al año del inicio del fármaco). Para obtener los volúmenes normalizados de los tejidos cerebrales cada volumen cerebral obtenido fue dividido por el volumen total intracraneal (la suma de SB, SG, LCR y lesiones), obteniendo una fracción de SB (WMF, por las siglas en inglés *white matter fraction*) o de SG (GMF, por las siglas en inglés *grey matter fraction*) para cada paciente y cada momento (basal y al año). Finalmente, a partir de estos valores se calculó el porcentaje de cambio de SB (WMPC, por las siglas en inglés *white matter percentage change*) y SG (GMPC, por las siglas en inglés *grey matter percentage change*) mediante la fórmula: [(fracción de volumen final - fracción de volumen inicial) / fracción de volumen inicial] x 100 (figura 9).

b. Pacientes tratados con interferón beta (segunda cohorte)

Todas las imágenes se realizaron en un escáner de 1,5 T, utilizando una técnica estándar con correcto reposicionamiento para permitir el análisis visual comparativo.

Se realizaron las siguientes secuencias:

- Secuencia *spin-echo* potenciada en densidad protónica y T2.

- Secuencia *spin-echo* potenciada en T1 con adquisición pre y post-administración de Gd (0,2 mmol/kg); TR 600 ms, TE 15 ms, NEX 2. Se obtuvieron 46 secciones axiales continuas con un grosor de 3 mm; matriz adquirida de 192 x 256; tamaño de vóxel 1,4 x 1,4 mm³. Se utilizaron las imágenes potenciadas en T1 sin contraste y el programa SIENA para obtener el PBVC para el primer año de tratamiento con interferón beta. El programa SPM8 (versión 8 del SPM) se utilizó para segmentar la SB y la SG. Para evitar errores de clasificación de las lesiones focales de sustancia blanca, hipointensas en secuencias potenciadas en T1, como tejido cerebral o LCR, se utilizaron máscaras de lesión (de naturaleza binaria) obtenidas semiautomáticamente mediante el programa informático JIM por un técnico entrenado. Se obtuvieron valores de SB y SG para cada paciente y cada momento (basal y al año). A partir de estos valores se calculó el porcentaje de cambio de SB (WMPC) y SG (GMPC) mediante la fórmula: $[(\text{valor de volumen final} - \text{valor de volumen inicial}) / \text{valor de volumen inicial}] \times 100$ (figura 9).

c. Variables radiológicas recogidas

Un neurorradiólogo experto en EM cuantificó el número de lesiones que realizaban tras la administración de gadolinio en la RM cerebral basal así como en las RM cerebrales de seguimiento. El mismo neurorradiólogo calculó el número de lesiones nuevas en secuencias potenciadas en T2 en las RM cerebrales de seguimiento.

Para poder analizar la influencia de la actividad inflamatoria basal (previa al inicio del tratamiento) sobre el posterior cambio de volumen cerebral, la variable numérica de lesiones que realizan tras la administración de gadolinio (lesiones Gd+) en la RM cerebral basal fue dicotomizada, permitiendo clasificar a los pacientes en función de la presencia / ausencia de lesiones Gd+ a nivel basal. Además, en el caso de la segunda cohorte, debido a que un porcentaje no desdeñable de pacientes continuaban presentando actividad inflamatoria en la RM cerebral realizada un año después del inicio del tratamiento con interferón beta, definimos cuatro grupos de pacientes en función de la presencia o ausencia de lesiones Gd+ en ambas RM cerebrales: A. pacientes sin lesiones Gd+ en la RM cerebral basal y con presencia de lesiones Gd+ en la RM cerebral de seguimiento, B. pacientes con presencia de lesiones Gd+ en la RM cerebral basal y en la RM cerebral de seguimiento, C. pacientes sin lesiones Gd+ en la RM cerebral basal ni en la RM cerebral de seguimiento y D. pacientes con

lesiones Gd+ en la RM cerebral basal y sin lesiones Gd+ en la RM cerebral de seguimiento (tabla 9).

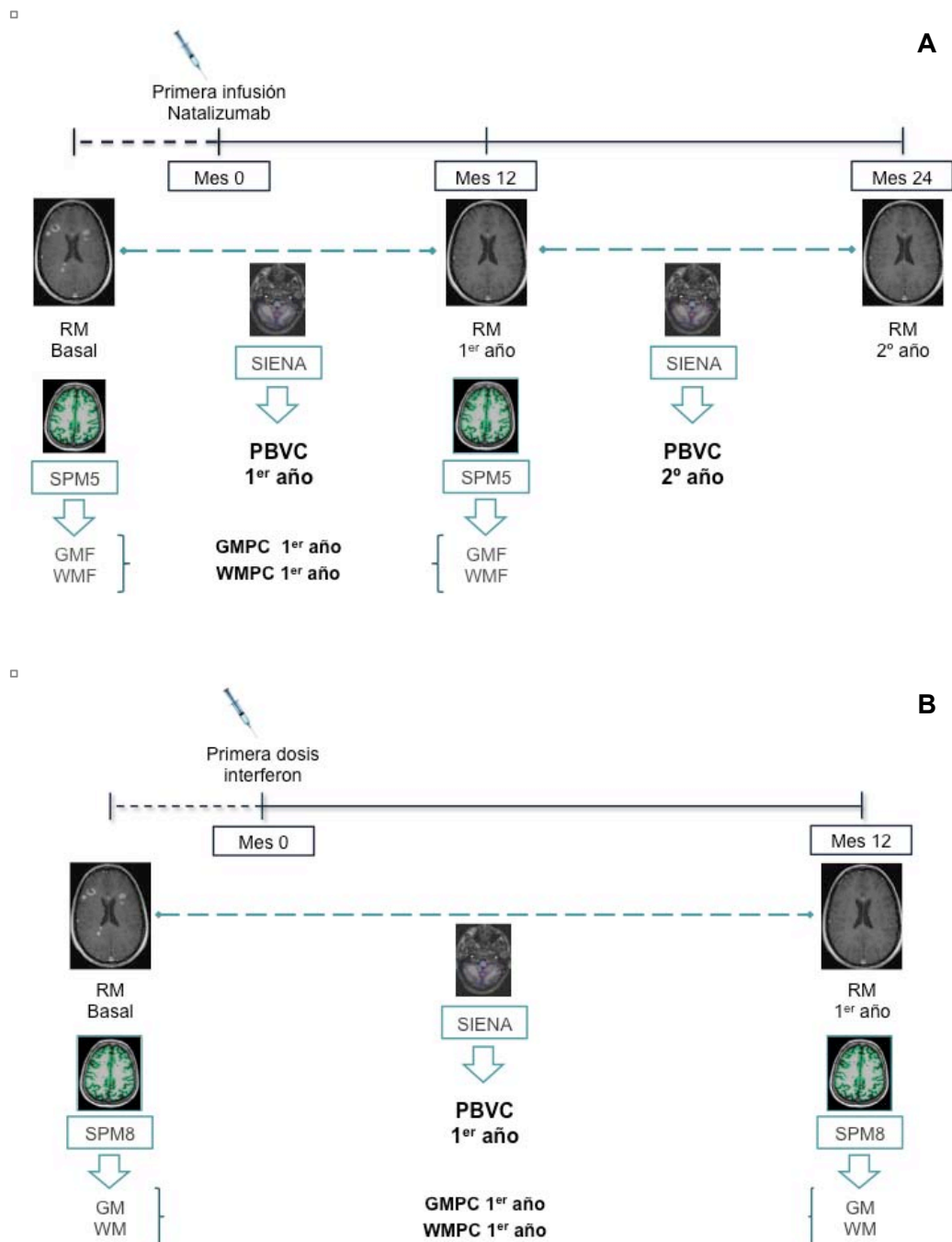


Figura 9. Esquema de la adquisición y post-procesado de las imágenes para la cohorte 1: pacientes tratados con natalizumab (A) y para la cohorte 2: pacientes tratados con interferón beta (B). La figura muestra el esquema de los momentos de adquisición de las RM cerebrales en ambas cohortes analizadas, el programa aplicado durante el post-procesado de las imágenes y los diferentes volúmenes cerebrales obtenidos. *Abreviaturas, en orden alfabético:* GM: sustancia gris; GMPC: porcentaje de cambio de sustancia gris; PBVC: porcentaje de cambio de volumen cerebral; SIENA: Structural Image Evaluation, using Normalization, of Atrophy; SPM: Statistical Parametric Mapping; WM: sustancia blanca; WMPC: porcentaje de cambio de sustancia blanca.

Tabla 9. Clasificación de los pacientes de la segunda cohorte (tratamiento con interferón beta)

	RM cerebral basal	RM cerebral de seguimiento
A	Gd negativo	Gd positivo
B	Gd positivo	Gd positivo
C	Gd negativo	Gd negativo
D	Gd positivo	Gd negativo

La tabla muestra la clasificación de los pacientes de la segunda cohorte en función de la presencia de lesiones que realzan tras la administración de gadolinio (Gd) en la RM cerebral basal (previa al inicio del tratamiento) y en la RM cerebral de control o seguimiento (realizada un año después del inicio del tratamiento)

4. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS; Chicago, Illinois) versión 20 para Mac OsX.

En ambas cohortes, primero se aplicó la prueba de Kolmogorov-Smirnov y de Shapiro-Wilk para comprobar si las variables a analizar seguían una distribución normal. De la misma manera, en ambas cohortes se utilizaron medidas descriptivas apropiadas para las variables sociodemográficas y clínicas en el momento de la inclusión en el estudio.

El nivel de significación estadística se fijó (para ambos estudios) en un valor de p menor de 0,05.

4.1. Análisis estadístico de la cohorte de pacientes tratados con natalizumab (primera cohorte)

Para el estudio del cambio de volumen cerebral global, utilizamos la prueba T de Student para muestras relacionadas para analizar si existían diferencias en el cambio de volumen cerebral en los dos períodos considerados (primer y segundo año). Para explorar si existía una correlación entre el número de lesiones Gd+ y el cambio de volumen cerebral global durante el primer y segundo año de tratamiento, utilizamos el análisis de correlación de Spearman. Mediante la prueba T de Student para muestras independientes analizamos si el cambio de volumen cerebral global que ocurría en un mismo período de tiempo era diferente entre los pacientes con y sin presencia de inflamación a nivel basal. Para estudiar si existían diferencias en el cambio de volumen cerebral que ocurría en los dos períodos considerados (primer y segundo

año) en pacientes con y sin presencia de inflamación a nivel basal, utilizamos la prueba T de Student para muestras relacionadas.

Para analizar el cambio de volumen de SG y SB, utilizamos la prueba T de Student para una muestra para comprobar si el cambio de volumen cerebral que ocurría durante el período analizado era significativo. Mediante la prueba T de Student para muestras independientes analizamos si el cambio de volumen de SG y SB que ocurría durante el primer año era diferente entre los pacientes con y sin presencia de inflamación a nivel basal.

Realizamos un análisis de regresión lineal para estudiar la influencia de la presencia de lesiones Gd+ en el cambio de volumen cerebral. Se realizó un modelo de regresión lineal para cada una de las siguientes variables dependientes: porcentaje de cambio de volumen cerebral global para el primer año, porcentaje de cambio de volumen cerebral global para el segundo año, porcentaje de cambio de sustancia gris para el primer año y porcentaje de cambio de sustancia blanca para el primer año. En el modelo se incluyeron las siguientes variables independientes: edad, presencia de lesiones que realzan con contraste en la RM cerebral basal y haber recibido tratamiento con corticoides el mes previo a la RM cerebral basal o entre ambas RM cerebrales. Para cada variable independiente incluida en el modelo se aporta: *a. el coeficiente beta* o coeficiente de regresión parcial estandarizado que define la ecuación y que indica la cantidad de cambio (estandarizado) que se producirá en la variable dependiente por cada cambio de unidad en la variable independiente, *b. la correlación parcial* que indica el grado de relación existente entre cada variable independiente y la variable dependiente tras eliminar de ambas el efecto debido al resto de variables independientes y *c. el valor de p* en el caso de alcanzar la significación estadística.

Por último, para comprobar la existencia de asociaciones entre los parámetros clínicos y la volumetría cerebral utilizamos el análisis de correlación de Spearman.

4.2. Análisis estadístico de la cohorte de pacientes tratados con interferón beta (segunda cohorte)

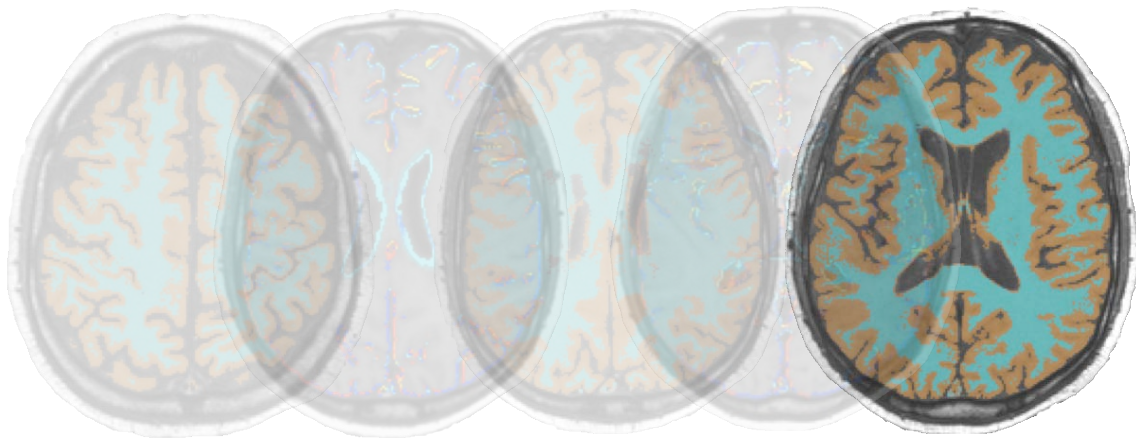
Para el estudio del cambio de volumen cerebral global, el cambio de volumen de SG y el cambio de volumen de SB, utilizamos la prueba T de Student para una muestra para analizar si el cambio que ocurría durante el primer año de tratamiento con interferón era significativo. Mediante la prueba T de Student para muestras independientes analizamos si el cambio de volumen cerebral global, el cambio de volumen de SG y el

cambio de volumen de SB que ocurría durante el primer año de tratamiento con interferón era diferente entre los pacientes con y sin inflamación a nivel basal.

Debido a que un elevado porcentaje de pacientes presentaba actividad inflamatoria en la RM cerebral de seguimiento (un año tras el inicio de tratamiento con interferón), la prueba T de Student para una muestra se realizó en los cuatro grupos de pacientes que se han detallado previamente (tabla 9).

Finalmente, para analizar la influencia de la presencia de lesiones Gd+ en el cambio de volumen cerebral, realizamos dos modelos de regresión lineal; en ambos modelos las variables dependientes incluidas fueron: porcentaje de cambio de volumen cerebral global durante el primer año, porcentaje de cambio de sustancia gris durante el primer año y porcentaje de cambio de sustancia blanca durante el primer año. En el primer modelo, o modelo de inflamación, se incluyeron como variables independientes únicamente las variables radiológicas relacionadas con la inflamación (número de lesiones Gd+ en la RM cerebral basal y número de lesiones Gd+ en la RM cerebral de control). En el segundo modelo se añadieron a estas variables de inflamación otras variables independientes que pueden influir en el cambio de volumen cerebral como la edad y la duración de la enfermedad. Para cada variable independiente incluida en el modelo se aporta: *a. el coeficiente beta* o coeficiente de regresión parcial estandarizado que define la ecuación y que indica la cantidad de cambio (estandarizado) que se producirá en la variable dependiente por cada cambio de unidad en la variable independiente, *b. la correlación parcial* que indica el grado de relación existente entre cada variable independiente y la variable dependiente tras eliminar de ambas el efecto debido al resto de variables independientes y *c. el valor de p* en el caso de alcanzar la significación estadística.

RESULTADOS



RESULTADOS

1. Primera cohorte: pacientes tratados con natalizumab

Incluimos en el estudio 45 pacientes que habían sido tratados con natalizumab durante al menos 2 años en nuestro centro. Tras realizar el análisis volumétrico con los programas SIENA y SPM5, revisamos los resultados obtenidos de la segmentación de los diferentes tejidos intracraneales. Seis pacientes fueron excluidos debido a errores de segmentación, por lo que finalmente se analizaron los datos volumétricos de 39 pacientes. Las características basales de la cohorte incluida se detallan en la tabla 10; no existieron diferencias estadísticamente significativas en las características basales respecto a toda la cohorte de pacientes tratados con natalizumab en nuestro centro.

Durante los dos años de seguimiento de estos pacientes, se recogieron datos de actividad clínico-radiológica de la enfermedad que se detallan en la tabla 11.

Tabla 10. Características basales de la cohorte de pacientes tratados con natalizumab

	n= 39
Edad al inicio del tratamiento con natalizumab (media; DE)	34,95 (8,75)
Género (mujeres) (n; %)	28 (71,8)
Duración de la enfermedad (años) (media; rango)	10,98 (1,88-32,68)
Tratamiento previo con otros fármacos (n; %)	39 (100)
1 fármaco	24 (61,5)
2 fármacos	10 (25,6)
> 2 fármacos	5 (12,9)
Tratamiento inmunosupresor previo (n; %)	6 (15,4)
Pacientes con presencia de lesiones Gd+ (n; %)	22 (56,4)
Número de lesiones Gd+ (mediana; rango)	1 (0-40)
Brotos durante el año previo (mediana; rango)	2 (0-6)
Puntuación basal en la escala EDSS (mediana; rango)	4,0 (1,5-6,0)

Abreviaturas, en orden alfabético: DE: desviación estándar, EDSS: escala expandida del estado de discapacidad; Gd+: lesiones que realzan tras la administración de gadolinio

Tabla 11. Datos clínico-radiológicos durante el seguimiento en la cohorte de pacientes tratados con natalizumab

Primer año de seguimiento	
Pacientes que presentaron un brote (n; %)	11 (28,2)
Cambio en la puntuación en la escala EDSS (media, DE)	-0,29 (0,98)
Pacientes con nuevas lesiones en secuencias T2 (n; %)	20 (51,3)
Pacientes con presencia de lesiones Gd+ (n; %)	0 (0)
Segundo año de seguimiento	
Pacientes que presentaron un brote (n; %)	13 (33,3)
Cambio en la puntuación en la escala EDSS (media, DE)	+0,18 (0,64)
Pacientes con nuevas lesiones en secuencias T2 (n; %)	2 (5,1)
Pacientes con presencia de lesiones Gd+ (n; %)	1 (2,5)

Abreviaturas, en orden alfabético: DE: desviación estándar, EDSS: escala expandida del estado de discapacidad; Gd+: lesiones que realzan tras la administración de gadolinio

1.1. Resultados de atrofia cerebral global

Para toda la cohorte de pacientes, la pérdida de volumen cerebral durante el primer año de tratamiento con natalizumab fue mayor que la pérdida de volumen cerebral que ocurrió durante el segundo año de tratamiento (PBVC para el primer año -1,10% – DE 1,43% – vs PBVC para el segundo año -0,51% – DE 0,96% –, $p=0,037$) (figura 10).

El número de lesiones Gd+ en la RM cerebral basal se correlacionó con la pérdida de volumen cerebral durante el primer año de tratamiento, pero no durante el segundo (Rho= -0,411, $p= 0,009$ para el primer año; Rho= 0,050, $p= 0,763$ para el segundo año).

Al analizar el cambio de volumen cerebral global que ocurría durante los dos años de tratamiento con natalizumab en función de la presencia o ausencia de lesiones Gd+ en la RM cerebral basal, encontramos que los pacientes con presencia de actividad inflamatoria en la RM cerebral basal presentaron una mayor pérdida de volumen cerebral durante el primer año de tratamiento en comparación con los pacientes que no presentaban lesiones Gd+ a nivel basal (-1,55% – DE 1.59% – para los pacientes con lesiones Gd+ vs -0,53% – DE 0,98% – para los pacientes sin lesiones Gd+;

$p=0,026$). Durante el segundo año, no se detectaron diferencias significativas en el PBVC entre ambos grupos ($p=0,480$) (figura 10).

En consonancia, en los pacientes con presencia de lesiones Gd+ en la RM basal, la pérdida de volumen cerebral ocurrió a una velocidad diferente durante los dos años de tratamiento, siendo el PBVC mayor durante el primer año respecto al segundo (-1.55% – DE 1.59% – para el primer año vs -0.41% – DE 1.01% – en el segundo; $p=0.005$). Por el contrario, en los pacientes con ausencia de lesiones Gd+ en la RM cerebral basal, el PBVC fue similar durante los dos años de tratamiento (-0.53% – DE 0.98% – para el primer año vs -0.64% – DE 0.92% – en el segundo; $p=0.781$) (figura 10).

1.2. Resultados de atrofia cerebral regional: sustancia gris y sustancia blanca

Para toda la cohorte analizada, durante el primer año de tratamiento con natalizumab, observamos un aumento, no significativo, del volumen de SG (GMPC: $+1,15\%$, DE $4,92\%$; $p=0,151$) y una pérdida significativa del volumen de SB (WMPC: $-1,72\%$, DE $4,3\%$; $p=0,017$) (figura 11).

Al analizar el cambio de volumen cerebral regional en función de la presencia de lesiones Gd+ en la RM cerebral basal, observamos una tendencia a una mayor pérdida de volumen de SB durante el primer año de tratamiento en aquellos pacientes con actividad inflamatoria respecto a los que no presentaban lesiones Gd+ en la RM cerebral basal (WMPC: $-2,81\%$ – DE $4,01\%$ – para los pacientes con lesiones Gd+ vs $0,31\%$ – DE 4.36% – para los pacientes sin lesiones Gd+; $p=0,071$). El cambio de volumen de SG fue similar para los dos grupos de pacientes (GMPC: $+1,56\%$ – DE $5,13\%$ – para los pacientes con lesiones Gd+ vs $+0,62\%$ – DE $4,73\%$ – para los pacientes sin lesiones Gd+; $p=0,563$) (figura 11).

1.3. Estudio de la influencia de la actividad inflamatoria en la pérdida de volumen cerebral

En el análisis de regresión lineal, tomando como variable dependiente el cambio de volumen cerebral global y ajustando por la edad y haber recibido tratamiento corticoideo, encontramos que la presencia de lesiones Gd+ en la RM cerebral basal se asoció con los cambios de PBVC que ocurrían durante el primer año pero no durante el segundo (correlación parcial – r_p – para el primer año = $-0,38$; $p=0,022$) (tabla 12).

Realizando el mismo análisis de regresión lineal, tomando como variables dependientes los cambios en volumen de SG y SB durante el primer año de tratamiento, y ajustando por las mismas variables independientes anteriormente mencionadas, encontramos que la presencia de lesiones Gd+ en la RM cerebral basal

se asoció con el cambio de volumen de SB cerebral durante el primer año ($r_p = -0,37$; $p = 0,026$), pero no con el cambio de volumen de SG cerebral (tabla 12).

Tabla 12. Análisis de regresión lineal multivariado para la cohorte de pacientes tratados con natalizumab

	Coefficiente Beta	Correlación parcial	p
Dependiente: PBVC primer año			
<i>Edad (años)</i>	-0,102	-0,098	n.s.
<i>Presencia de lesiones Gd+ RM cerebral basal</i>	-0,387	-0,380	0,022
<i>Tratamiento corticoideo previo a la RM basal</i>	-0,197	-0,201	n.s.
<i>Tratamiento corticoideo entre ambas RM</i>	-0,023	-0,024	n.s.
Dependiente: PBVC segundo año			
<i>Edad (años)</i>	0,074	0,067	n.s.
<i>Presencia de lesiones Gd+ RM cerebral basal</i>	0,137	0,135	n.s.
<i>Tratamiento corticoideo previo a la RM basal</i>	0,089	0,086	n.s.
<i>Tratamiento corticoideo entre ambas RM</i>	-0,120	-0,113	n.s.
Dependiente: WMPC primer año			
<i>Edad (años)</i>	-0,236	-0,233	n.s.
<i>Presencia de lesiones Gd+ RM cerebral basal</i>	-0,357	-0,371	0,026
<i>Tratamiento corticoideo previo a la RM basal</i>	-0,336	-0,346	n.s.
<i>Tratamiento corticoideo entre ambas RM</i>	0,113	0,120	n.s.
Dependiente: GMPC primer año			
<i>Edad (años)</i>	0,112	0,101	n.s.
<i>Presencia de lesiones Gd+ RM cerebral basal</i>	0,127	0,125	n.s.
<i>Tratamiento corticoideo previo a la RM basal</i>	0,153	0,148	n.s.
<i>Tratamiento corticoideo entre ambas RM</i>	-0,080	-0,076	n.s.

Abreviaturas, en orden alfabético: Gd+: lesiones que realzan tras la administración de gadolinio; GMPC: porcentaje de cambio de sustancia gris; n.s.: no significativo; p: valor de p o de significación estadística; PBVC: porcentaje de cambio de volumen cerebral; WMPC: porcentaje de cambio de sustancia blanca

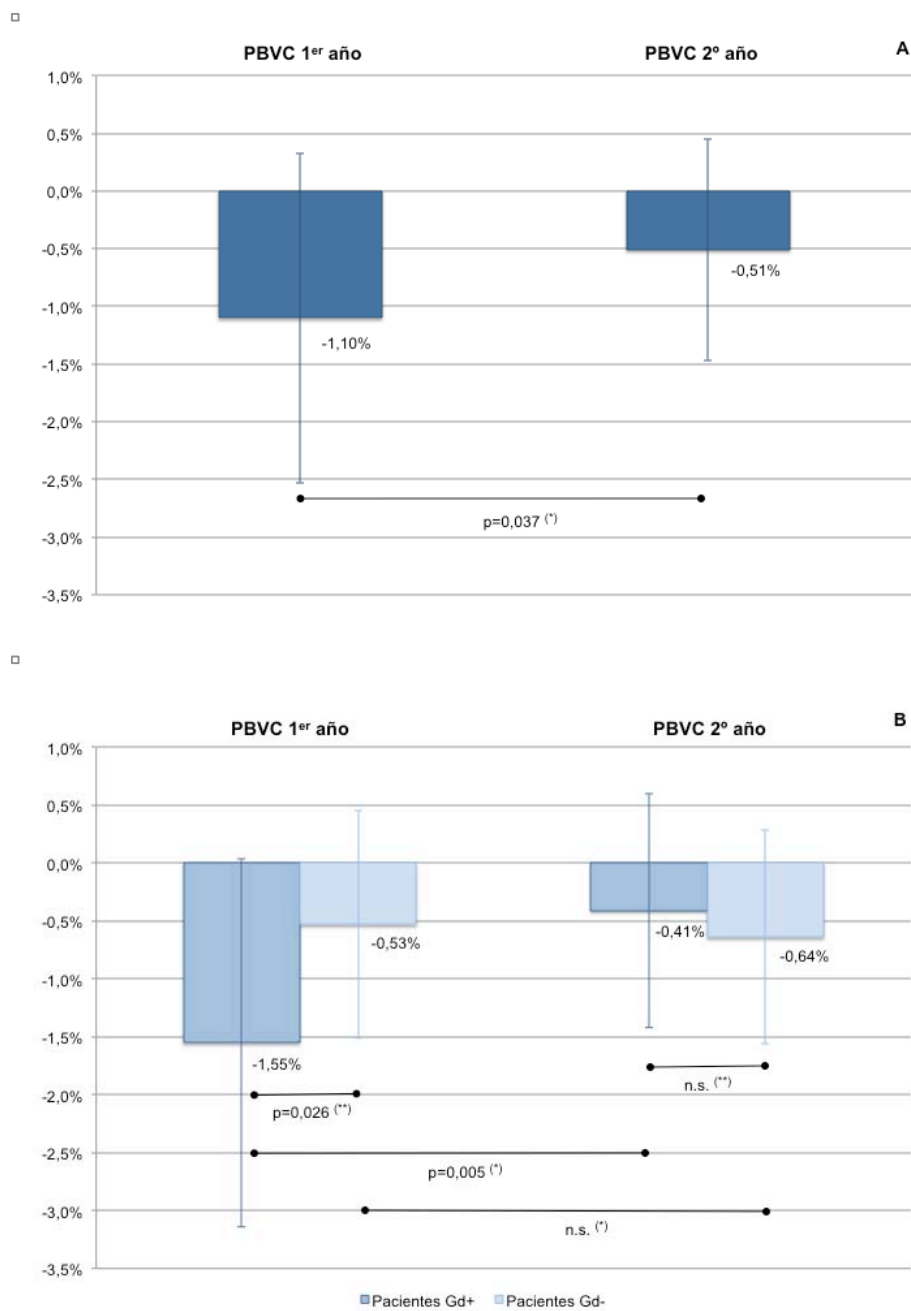


Figura 10. Cambio de volumen cerebral global durante el primer y segundo año de tratamiento con natalizumab para toda la cohorte de pacientes (A) y en función de la presencia o ausencia de lesiones que realzan tras la administración de gadolinio en la RM cerebral basal (B). La figura muestra el porcentaje de pérdida de volumen cerebral (PBVC) durante los dos primeros años de tratamiento con natalizumab para toda la cohorte de pacientes analizada (n=39) y en función de la presencia o ausencia de lesiones que realzan tras la administración de gadolinio en la RM cerebral basal (Gd+/Gd-). ^(*) Prueba T de Student para muestras relacionadas. ^(**) Prueba T de Student para muestras independientes. Las barras de error representan 1 desviación estándar.

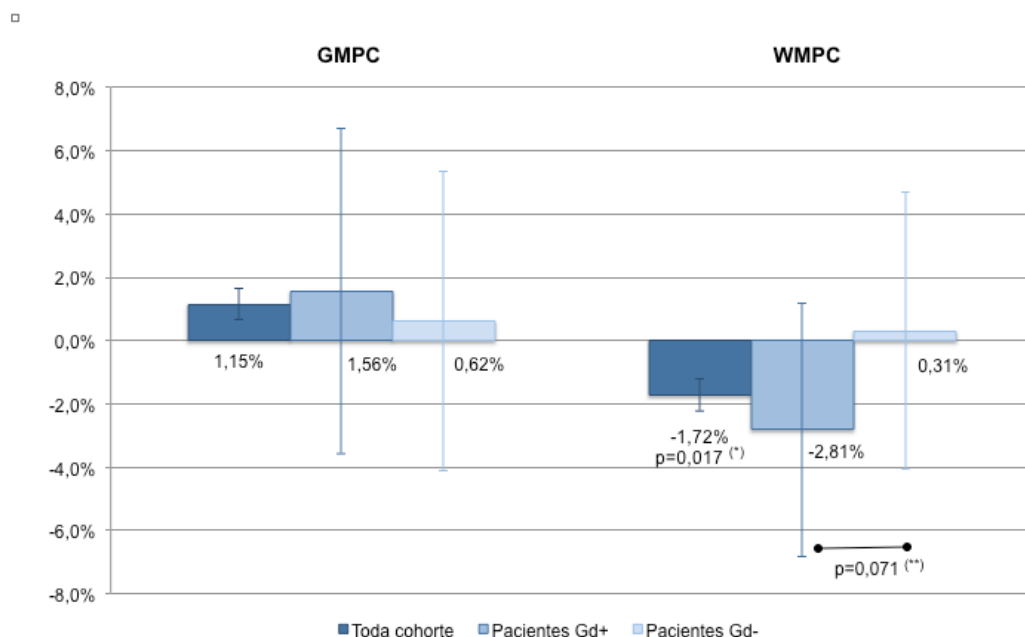


Figura 11. Cambio de volumen de sustancia gris y sustancia blanca cerebral durante el primer año de tratamiento con natalizumab. La figura muestra el porcentaje de pérdida de sustancia gris (GMPC) y el porcentaje de pérdida de sustancia blanca (WMPC) para toda la cohorte de pacientes y en función de la presencia o ausencia de lesiones que realizan tras la administración de gadolinio en la RM cerebral basal. (*) Prueba T de Student para una muestra. (**) Prueba T de Student para muestras independientes. Las barras de error representan 1 desviación estándar.

1.4 Correlaciones clínico-radiológicas

Ninguno de los cambios de volumen cerebral observados durante el primer y segundo año de tratamiento se correlacionaron con el cambio en el EDSS durante el mismo período de tiempo. El número de lesiones Gd+ en la RM cerebral basal se correlacionó con los cambios que se producían en el EDSS durante el primer año (de forma que, a mayor número de lesiones Gd+, mayor descenso – o mejoría – del EDSS), pero no durante el segundo año de tratamiento con natalizumab (Rho= -0,503, p= 0,001 para el primer año; Rho= 0,098, p= 0,57 para el segundo).

2. Segunda cohorte: pacientes tratados con interferón beta

Incluimos en el estudio 105 pacientes que habían sido tratados con interferón beta en nuestro centro. Tras realizar el análisis volumétrico con el programa SPM8, revisamos los resultados obtenidos de la segmentación de los diferentes tejidos intracraneales. Diecinueve pacientes fueron excluidos debido a errores de segmentación y dos pacientes por presentar valores extremos en el número de lesiones Gd+ en la RM cerebral basal (30 y 68 lesiones Gd+, lo que representaba valores por encima de 2 DE de la media), por lo que finalmente analizamos los datos volumétricos de 84 pacientes.

Las características demográficas y clínicas basales de la cohorte incluida se detallan en la tabla 13. Cuarenta y nueve pacientes (58,3%) presentaban lesiones Gd+ en la RM cerebral basal y 16 (19%) en la RM cerebral de control realizada un año después del inicio del tratamiento.

Tabla 13. Características basales de la cohorte de pacientes tratados con interferón beta

	n= 84
Edad al inicio del tratamiento con interferón (media; DE)	33,6 (8,7)
Género (mujeres) (n; %)	68 (81)
Duración de la enfermedad (años) (media; rango)	4,3 (0,27-14,37)
Pacientes con presencia de lesiones Gd+ (n; %)	49 (58,3)
Número de lesiones Gd+ (mediana; rango)	1 (0-18)
Brotos durante el año previo (mediana; rango)	1,5 (1-3,5)
Puntuación basal en la escala EDSS (mediana; rango)	1,5 (0-6)

Abreviaturas, en orden alfabético: DE: desviación estándar, EDSS: escala expandida del estado de discapacidad; Gd+: lesiones que realzan tras la administración de gadolinio

2.1. Resultados de atrofia cerebral global y regional: sustancia gris y sustancia blanca

Para toda la cohorte, durante el primer año de tratamiento, la media de PBVC, GMPC y WMPC fue -0,74% (DE 1,15%; $p < 0,001$), -0,79% (DE 2,05%; $p = 0,001$), y -0,11% (DE 2,71%; $p = 0,712$) respectivamente (figura 12).

Al analizar la pérdida de volumen cerebral en función de la presencia de actividad inflamatoria medida con la presencia de lesiones Gd+ en la RM cerebral basal, encontramos que la pérdida tanto de volumen cerebral global (PBVC) como de SG y SB cerebral (GMPC y WMPC) fue mayor en los pacientes que presentaban lesiones Gd+ a nivel basal, aunque esta diferencia no alcanzó la significación estadística (figura 12).

Dado que hasta el 19% de los pacientes presentaba actividad inflamatoria en la RM cerebral de control realizada un año tras el inicio del tratamiento con interferón beta, y para tener en cuenta este factor, que podría estar influyendo en los resultados observados, realizamos el mismo análisis en los cuatro grupos definidos en función de

la presencia o ausencia de lesiones Gd+ en ambas RM cerebrales (tabla 9). En este subanálisis encontramos que los pacientes con lesiones Gd+ a los 12 meses del inicio del tratamiento (grupos A y B, n=16), presentaban un discreto aumento del volumen de SB cerebral, que fue numéricamente mayor, aunque no de manera estadísticamente significativa, en los pacientes que pasaron a tener lesiones Gd+ durante el seguimiento (WMPC: 0,55% – DE 1,95% para el grupo que pasó de Gd- a Gd+ vs 0,17% – DE 2,67% para el grupo que mantuvo la presencia de lesiones Gd+, p=0,399) (figura 13). Contrariamente, en los pacientes sin lesiones Gd+ a los 12 meses (grupos C y D, n=68), la pérdida de volumen de SB cerebral fue mayor en los pacientes que presentaban lesiones Gd+ en la RM cerebral basal (grupo D, figura 13), aunque esta diferencia no alcanzó la significación estadística (WMPC: -0,38% – DE 3,02% – para los pacientes con Gd+ basal vs 0,02% – DE 2,47% – para los pacientes sin actividad inflamatoria basal, p=0,277).

Al analizar el cambio de volumen de SG en los cuatro grupos, en todos ellos se observó un descenso de este valor, independientemente de la presencia de actividad inflamatoria (lesiones Gd+) en la RM cerebral basal o de control (figura 13).

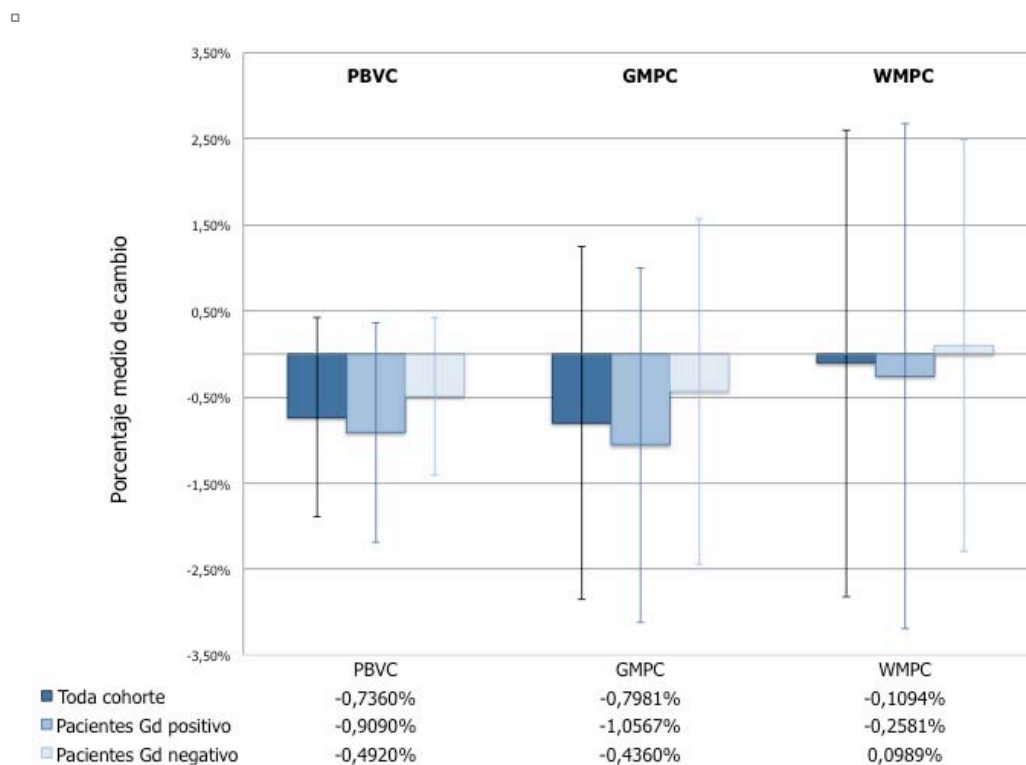


Figura 12. Cambio de volumen cerebral global, de sustancia gris y sustancia blanca en pacientes tratados con interferón. La figura muestra el porcentaje de pérdida de volumen cerebral global (PBVC), el porcentaje de pérdida de sustancia gris (GMPC) y el porcentaje de pérdida de sustancia blanca (WMPC) para toda la cohorte de pacientes y en función de la presencia o ausencia de lesiones que realizan tras la administración de gadolinio en la RM cerebral basal (pacientes Gd positivo y pacientes Gd negativo respectivamente). Las barras de error representan 1 desviación estándar.

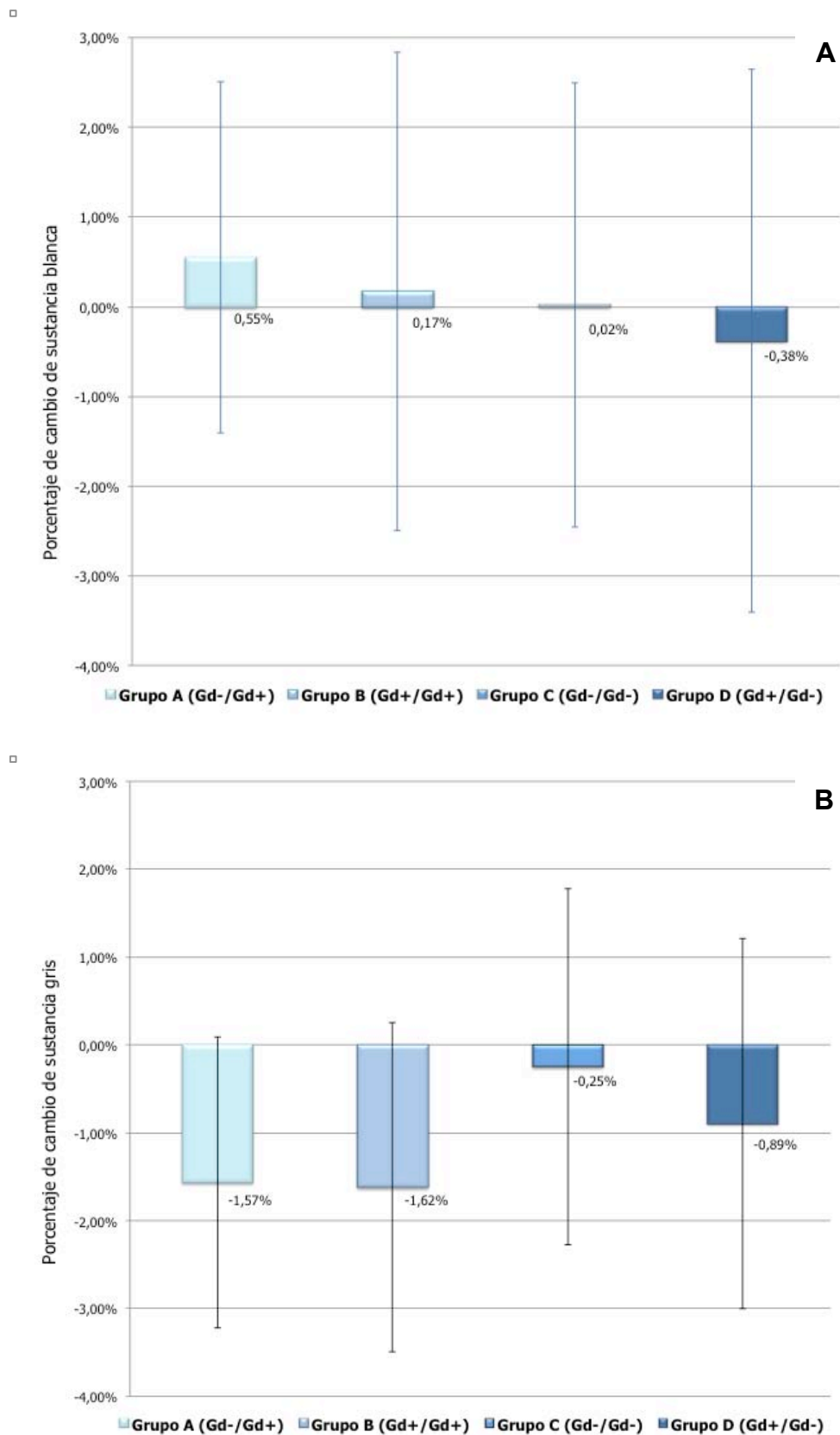


Figura 13. Cambio de volumen cerebral de sustancia blanca (A) y sustancia gris (B) en pacientes tratados con interferón en los cuatro grupos definidos. La figura muestra el porcentaje de pérdida de sustancia blanca (WMPC) y el porcentaje de pérdida de sustancia gris (GMPC) en los cuatro grupos definidos según la presencia o ausencia de lesiones que realzan tras la administración de gadolinio (Gd+ y Gd-, respectivamente) en ambas RM cerebrales (tabla 9). Las barras de error representan 1 desviación estándar.

2.2. Estudio de la influencia de la actividad inflamatoria en la pérdida de volumen cerebral

En el primer modelo de regresión lineal, que evalúa únicamente los parámetros radiológicos de inflamación, controlando por el número de lesiones Gd+ en la RM cerebral de control a los 12 meses del inicio del tratamiento, encontramos que el número de lesiones Gd+ en la RM cerebral inicial se asoció con la pérdida de volumen cerebral global y la pérdida de volumen de SB ($p < 0,001$ y $p = 0,004$, respectivamente), pero no con la pérdida de volumen de SG ($p = 0,694$) (tabla 14). Esta asociación continuó siendo significativa en el segundo modelo de regresión lineal en el que se incluyeron otras variables relevantes para la pérdida de volumen cerebral tales como la edad y la duración de la enfermedad (tabla 15).

Tabla 14. Primer modelo de regresión lineal para la cohorte de pacientes tratados con interferón beta

	Coefficiente Beta	Correlación parcial	p
Dependiente: PBVC			
<i>Número de lesiones Gd+ en la RM cerebral basal</i>	-0,407	-0,408	<0,001
<i>Número de lesiones Gd+ en la RM cerebral control</i>	-0,086	-0,092	n.s.
Dependiente: GMPC			
<i>Número de lesiones Gd+ en la RM cerebral basal</i>	-0,043	-0,044	n.s.
<i>Número de lesiones Gd+ en la RM cerebral control</i>	-0,135	-0,135	n.s.
Dependiente: WMPC			
<i>Número de lesiones Gd+ en la RM cerebral basal</i>	-0,308	-0,309	0,004
<i>Número de lesiones Gd+ en la RM cerebral control</i>	0,105	0,110	n.s.

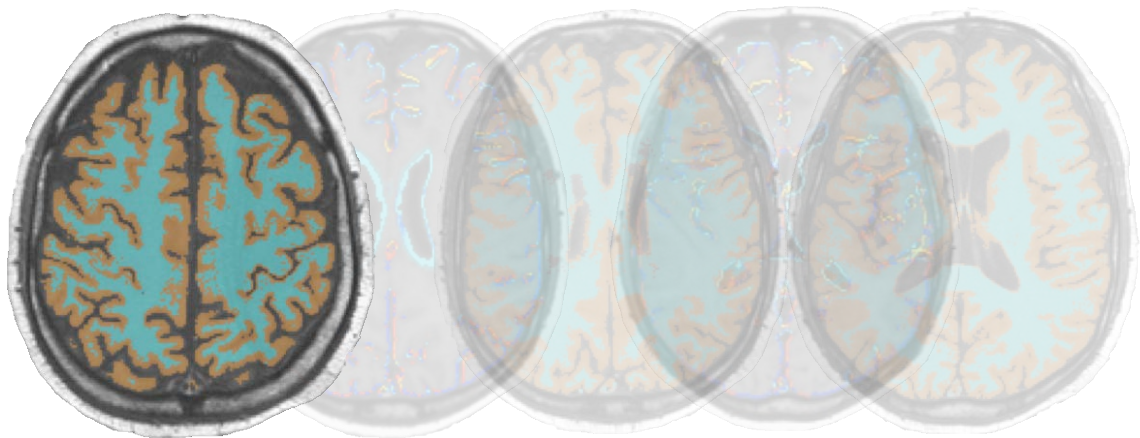
Abreviaturas, en orden alfabético: Gd+: lesiones que realizan tras la administración de gadolinio; GMPC: porcentaje de cambio de sustancia gris; n.s.: no significativo; p: valor de p o de significación estadística; PBVC: porcentaje de cambio de volumen cerebral; RM: resonancia magnética; WMPC: porcentaje de cambio de sustancia blanca.

Tabla 15. Segundo modelo de regresión lineal para la cohorte de pacientes tratados con interferón beta

	Coefficiente Beta	Correlación parcial	p
Dependiente: PBVC			
<i>Edad (años)</i>	0,016	0,015	n.s.
<i>Duración de la enfermedad (años)</i>	0,049	0,050	n.s.
<i>Número de lesiones Gd+ en la RM cerebral basal</i>	-0,395	-0,383	<0,001
<i>Número de lesiones Gd+ en la RM cerebral control</i>	-0,082	-0,086	n.s.
Dependiente: GMPC			
<i>Edad (años)</i>	0,143	0,121	n.s.
<i>Duración de la enfermedad (años)</i>	-0,064	-0,059	n.s.
<i>Número de lesiones Gd+ en la RM cerebral basal</i>	-0,010	-0,010	n.s.
<i>Número de lesiones Gd+ en la RM cerebral control</i>	-0,097	-0,094	n.s.
Dependiente: WMPC			
<i>Edad (años)</i>	-0,235	-0,209	n.s.
<i>Duración de la enfermedad (años)</i>	0,131	0,128	n.s.
<i>Número de lesiones Gd+ en la RM cerebral basal</i>	-0,360	-0,347	0,002
<i>Número de lesiones Gd+ en la RM cerebral control</i>	0,044	0,046	n.s.

Abreviaturas, en orden alfabético: Gd+: lesiones que realizan tras la administración de gadolinio; GMPC: porcentaje de cambio de sustancia gris; n.s.: no significativo; p: valor de p o de significación estadística; PBVC: porcentaje de cambio de volumen cerebral; RM: resonancia magnética; WMPC: porcentaje de cambio de sustancia blanca.

DISCUSIÓN



DISCUSIÓN

Los trabajos que conforman esta tesis doctoral se han realizado en dos cohortes prospectivas, independientes, de pacientes que inician tratamiento inmunomodulador con natalizumab e interferón beta con el objetivo de aumentar nuestro conocimiento sobre el fenómeno de pseudoatrofia cerebral. Para ello, en ambas cohortes se estudió la evolución de la pérdida de VC global y regional durante los primeros meses tras iniciar tratamiento con natalizumab (primera cohorte) o interferón beta (segunda cohorte) y se analizó su relación con la actividad inflamatoria inicial (previa al inicio del fármaco) medida con el número de lesiones que realzan tras la administración de gadolinio en la RM cerebral.

Los principales resultados de ambos trabajos se detallan a continuación:

- a. En pacientes tratados con natalizumab e interferón beta, la pérdida de volumen cerebral global durante el primer año de tratamiento se relaciona con la presencia y el número de lesiones activas en la RM cerebral basal; además, en pacientes tratados con natalizumab, la pérdida de volumen cerebral global es mayor durante el primer año que durante el segundo.
- b. En pacientes tratados con natalizumab e interferón beta, la pérdida de volumen de sustancia blanca durante el primer año de tratamiento se relaciona con la presencia y número de lesiones activas en la RM cerebral basal.
- c. En pacientes tratados con natalizumab e interferón beta, la pérdida de volumen de sustancia gris durante el primer año de tratamiento ocurre de forma independiente a la presencia y número de lesiones activas en la RM cerebral basal.

1. Particularidades de las cohortes analizadas

Antes de proceder a la discusión detallada de los resultados obtenidos, y para una mejor comprensión de los mismos, es importante remarcar algunas particularidades de las cohortes analizadas.

1.1. Características clínico-demográficas de las cohortes

Los dos trabajos de esta tesis doctoral se han llevado a cabo sobre cohortes prospectivas de pacientes que inician tratamiento en nuestro centro. Si nos fijamos en las características basales de ambas cohortes (tablas 10 y 13), podemos observar que, si bien no se han realizado comparaciones directas entre ambas cohortes, las

características demográficas y clínicas difieren algo entre ellas. Así, los pacientes tratados con interferón beta tienen una menor duración de la enfermedad y una menor puntuación en la escala de discapacidad; ambos parámetros pueden influir en mayor o menor medida en el desarrollo de atrofia cerebral de forma independiente al tratamiento indicado. Sin embargo, como se discutirá posteriormente en las limitaciones del trabajo, creemos que esto no resta relevancia a los resultados de esta tesis doctoral. En ella se estudia la relación entre el cambio de volumen cerebral durante los primeros meses tras el inicio de un fármaco inmunomodulador y la presencia de actividad inflamatoria al inicio del mismo medida con parámetros radiológicos. Además, con el objetivo de controlar por todas las variables clínicas relevantes para el desarrollo de atrofia cerebral, en ambas cohortes se ha realizado un análisis de regresión lineal donde se han incluido como variables independientes los factores clínicos mencionados, confirmando así los resultados obtenidos en el análisis bivariado.

En ambos casos, los tratamientos se prescriben y se inician en pacientes activos tanto clínica como radiológicamente. Sin embargo, es importante recordar que las indicaciones terapéuticas son diferentes: interferón beta es un tratamiento de primera línea mientras que el tratamiento con natalizumab se administra principalmente en aquellos pacientes que hayan presentado un fracaso terapéutico. La respuesta al fármaco, y por tanto la evolución clínica, y especialmente radiológica, de ambas cohortes será diferente. Estas diferencias entre ambas cohortes influirán, como se menciona en el siguiente apartado, en un mejor o peor ajuste del modelo para estudiar el efecto de la pseudoatrofia cerebral.

1.2. Modelo para el estudio de la pseudoatrofia cerebral

Debido a su importante efecto antiinflamatorio, con una reducción frente a placebo de las lesiones que realzan tras la administración de gadolinio en el primer año de tratamiento de un 92%^{38,40}, la cohorte de pacientes tratada con natalizumab constituye un modelo único para el estudio de la pseudoatrofia cerebral. Así, de forma similar a los datos de eficacia que se han publicado en los ensayos clínicos^{38,40}, al año del inicio del tratamiento ninguno de los pacientes incluidos en la primera cohorte presentaba lesiones activas en la RM cerebral de control. Esta desaparición tan marcada de la actividad inflamatoria en la totalidad de los pacientes facilita estudiar la relación entre la actividad inflamatoria basal y los cambios volumétricos cerebrales que ocurren durante el primer año de tratamiento, sin tener que controlar por el estado de la inflamación durante el seguimiento.

En el caso de la segunda cohorte, pacientes que inician tratamiento con interferón beta, si bien un buen número de pacientes presenta una resolución de la actividad inflamatoria, hasta el 19% presenta lesiones que realzan tras la administración de gadolinio en la RM cerebral de control realizada al año del inicio del tratamiento y la evolución de la actividad inflamatoria en esta cohorte es mucho más heterogénea. Por este motivo el análisis se realizó, además de para toda la cohorte, en cuatro grupos definidos según la presencia / ausencia de actividad inflamatoria en las RM cerebrales basal y de control (tabla 9). De la misma manera, el análisis de regresión lineal para estudiar la asociación entre la evolución del volumen cerebral y la actividad inflamatoria basal, se realizó controlando también por este factor y se incluyó siempre en el modelo el número de lesiones activas en la RM cerebral de control. Por todo ello, se puede deducir que la cohorte de pacientes tratados con interferón no constituye un modelo tan perfecto para el estudio de la pseudoatrofia como lo es la cohorte de pacientes tratados con natalizumab. Dicho esto, y tras haber optimizado el modelo al máximo como se acaba de mencionar, los resultados obtenidos en esta cohorte de pacientes van en paralelo con los hallados en la primera, reforzando la verosimilitud de los mismos.

2. Evolución del volumen cerebral global y regional bajo tratamiento

Los dos trabajos presentados en esta tesis doctoral demuestran que los cambios de VC global y de SB cerebral que ocurren durante el primer año de tratamiento se relacionan con la actividad inflamatoria basal, mientras que la pérdida de volumen de SG ocurre de forma independiente a la misma. Todo ello sugiere que el fenómeno de pseudoatrofia cerebral se debe principalmente a la afectación de la SB cerebral y que puede predecirse por la presencia de lesiones activas o que realzan con Gd en la RM cerebral basal (previa al inicio del tratamiento).

Este concepto queda claramente expuesto en el primer trabajo realizado con la cohorte de pacientes que inician tratamiento con natalizumab. En esta cohorte, se analizó en una primera instancia, la evolución del VC global durante los primeros dos años de tratamiento y se estudió su relación con parámetros radiológicos de inflamación presentes en el momento de iniciar el tratamiento. De forma similar a lo que se había publicado en el ensayo clínico AFFIRM⁴⁰ y en otro estudio observacional⁹⁵, analizando toda la cohorte en conjunto, la pérdida de VC fue significativamente mayor durante el primer año de tratamiento en comparación con el segundo. Estos hallazgos fueron especialmente marcados en el grupo de pacientes que presentaban lesiones Gd+ en la RM cerebral basal, mientras que para los

pacientes sin actividad inflamatoria la pérdida de VC fue similar durante los dos años del estudio. De hecho, en esta cohorte de pacientes, el número de lesiones Gd+ en la RM cerebral basal se correlacionó con la pérdida de VC durante el primer año de tratamiento, pero no durante el segundo. El VC global durante el segundo año de tratamiento con natalizumab fue similar en ambos grupos de pacientes (con y sin actividad inflamatoria basal) lo que sugeriría que tras la resolución de la inflamación son otros los mecanismos (probablemente más relacionados de manera específica con el proceso fisiopatológico subyacente) responsables de la pérdida de VC.

La relación entre la presencia de actividad inflamatoria, medida a través del recuento de lesiones Gd+ en la RM cerebral, y la subsiguiente pérdida de VC no se había estudiado hasta la fecha en pacientes que reciben tratamiento con natalizumab, pero sí en cohortes de pacientes no tratados¹⁰⁷⁻¹⁰⁹. Nuestros resultados apoyan lo descrito en estas cohortes de pacientes, en las que se demuestra que la pérdida de VC puede verse influenciada por la presencia de lesiones activas¹⁰⁷⁻¹⁰⁹. Concretamente, los trabajos realizados en pacientes con diagnóstico reciente de EMRR y EM primaria progresiva, encontraron que las lesiones Gd+ se correlacionaban y predecían los cambios de volumen de la SB pero no de la SG^{108,109}, sugiriendo que, tras el inicio de un tratamiento inmunomodulador, esta última podría verse menos influida por el efecto de pseudoatrofia.

Con el objetivo de confirmar esta hipótesis y de estudiar si esta mayor pérdida de VC global que se observó durante el primer año de tratamiento era debido a un efecto global o a una pérdida de volumen regional (SB o SG), se realizó la segunda parte del estudio volumétrico en la cohorte de pacientes tratados con natalizumab. Para ello, se procedió a realizar la segmentación de SB y SG de las RM cerebrales basal y del año de seguimiento que permitió calcular el porcentaje de cambio de GMF y WMF que ocurría durante el primer año de tratamiento con natalizumab. Los resultados de esta segunda parte del trabajo indican que la pérdida de VC durante el primer año de tratamiento con natalizumab se debe principalmente a la pérdida de SB cerebral, la cual se relaciona también con la presencia de actividad inflamatoria en la RM cerebral basal. En el análisis de regresión lineal multivariado, se observó que la presencia de lesiones Gd+ en la RM cerebral basal predijo la pérdida de VC global y de SB cerebral pero no de SG. Todos estos hallazgos indican que la pérdida de VC que ocurre tras el inicio de tratamiento con natalizumab se debe a la estabilización de la barrera hematoencefálica y la resolución de la inflamación que está presente en el momento del inicio del tratamiento. Comparado con las lesiones que se localizan en la SB cerebral, las lesiones que afectan la SG contienen un menor número de células inflamatorias¹¹⁰.

Probablemente por este motivo, la medida de volumen de SG se afecta menos por la presencia de actividad inflamatoria previa al inicio del tratamiento.

Teniendo en cuenta que las técnicas utilizadas para estudiar el VC no fueron las mismas y que por tanto no se puede realizar una comparación directa entre ambas medidas, llama la atención que la pérdida de VC global de nuestra cohorte de pacientes es mucho mayor que la descrita en el ensayo clínico AFFIRM⁴⁰ (PBVC en nuestra cohorte: -1,02% durante el primer año y -0,59% durante el segundo; cambio de BPF en el ensayo clínico AFFIRM: -0,56% durante el primer año y -0,24% durante el segundo año) pero similar a la descrita en otro estudio observacional realizado con un menor número de pacientes⁹⁵. Estos hallazgos podrían explicarse, en parte, por el hecho de que la cohorte de pacientes que reciben tratamiento con natalizumab en la práctica clínica habitual, presentan una enfermedad más agresiva y con un mayor número medio de lesiones Gd+ en la RM cerebral basal que aquellos que fueron incluidos en el ensayo clínico (número medio de lesiones Gd+ en nuestra cohorte de 4,9 – DE 4,7 – vs 2,2 – DE 4,7 – en el ensayo clínico). En cuanto a los cambios de VC regional (SB y SG), únicamente un trabajo ha evaluado el efecto del tratamiento con natalizumab sobre la patología cortical, demostrando una reducción en el desarrollo de nuevas lesiones corticales y una disminución de la pérdida de grosor cortical⁹⁶. El aumento, no significativo, de la SG que se observa durante el primer año de tratamiento con natalizumab en la presente tesis doctoral podría ser debido a un efecto neuroprotector del tratamiento⁴⁰, una reducción de la formación de lesiones corticales⁹⁶ (no detectables con las secuencias de RM cerebral utilizadas para este trabajo), una combinación de ambos. Es interesante remarcar que, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas, el mayor aumento de SG se observó en pacientes con actividad inflamatoria previa al inicio del tratamiento. Esto podría sugerir que el efecto beneficioso del tratamiento con natalizumab en la patología cortical sería especialmente relevante en pacientes con una mayor disrupción de la barrera hemato-encefálica. Sin embargo, y como se comentará con más detalle cuando se discutan las limitaciones de esta tesis doctoral, la ausencia de un grupo control hace que no podamos atribuir los cambios observados únicamente al tratamiento con natalizumab.

La atrofia cerebral se ha relacionado con la discapacidad a corto y largo plazo^{73,77,112}. Por ello, en este primer trabajo se analizó también la posible asociación entre la pérdida de VC global y regional durante el primer año de tratamiento y el cambio en la puntuación de la escala de discapacidad durante el mismo período de tiempo. Contrariamente a lo descrito en la literatura^{73,77}, la pérdida de VC durante el primer año

de tratamiento no se asoció con la adquisición de mayor discapacidad durante el mismo período de tiempo. Sin embargo, este trabajo ha demostrado que los cambios en la discapacidad durante el primer año de tratamiento se correlacionan con el número de lesiones Gd+ en la RM cerebral basal. Si bien es cierto que se trata de un período corto de tiempo para observar cambios en la discapacidad, el hecho que no se haya demostrado una asociación con los parámetros volumétricos cerebrales y sí con los parámetros de inflamación, indican que el fenómeno de pseudoatrofia actúa como un posible factor de confusión. Así, aquellos pacientes con mayor actividad inflamatoria basal serán aquellos que presenten una mayor pérdida de VC y a su vez una mejoría en la escala de discapacidad EDSS, debido a la resolución de la inflamación y de los síntomas neurológicos transitorios provocados por la misma.

Las resultados obtenidos con la primera cohorte de pacientes se han confirmado, aunque de forma no tan notoria, en una segunda cohorte independiente en la que se analizaron los cambios volumétricos cerebrales en pacientes que inician tratamiento con interferón beta. Esta segunda parte de la tesis doctoral está centrada únicamente en el efecto de la inflamación basal en el cambio de VC global y regional durante el primer año de tratamiento. En esta segunda cohorte, de forma similar a lo descrito anteriormente para la primera cohorte analizada, observamos que existe una tendencia hacia una mayor pérdida de VC global, de SG y SB cerebral en pacientes que presentaban lesiones Gd+ en el momento de iniciar tratamiento. Debido a que, como se ha comentado previamente, se trata de un modelo en el que durante el seguimiento se observa todavía actividad inflamatoria (hasta un 19% de los pacientes presentaron lesiones Gd+ en la RM cerebral de control), en los análisis realizados posteriormente se controló por esta variable.

Inicialmente, se analizó el cambio de SG y SB cerebral en cuatro grupos definidos en función de la actividad inflamatoria basal y durante el seguimiento (tabla 9 y figura 5). Tras el inicio del tratamiento con interferón beta, el porcentaje de pérdida de SB fue mayor, en aquellos pacientes en los que se resolvió la inflamación inicial (pasaron a no tener lesiones Gd+ en la RM cerebral de control). De hecho, los pacientes en los que se producía la situación contraria y se detectaban lesiones Gd+ en el seguimiento, presentaban un aumento de la SB cerebral (WMPC), especialmente en el grupo de pacientes que no presentaban actividad inflamatoria basal. De manera similar a lo que se ha descrito en la literatura¹¹³, aquellos pacientes con una enfermedad más grave (medida por la presencia de lesiones activas en cualquier momento del seguimiento), presentaron una mayor pérdida de SG (GMPC). De esta forma, los pacientes con

lesiones Gd+ en la RM cerebral basal o al año de haber iniciado tratamiento con interferón beta, presentaron las mayores pérdidas de SG. Si bien es cierto que las diferencias de la pérdida de VC regional entre los cuatro grupos no alcanzaron la significación estadística, esto podría explicarse por el bajo número de pacientes en cada uno de los grupos (A a D) así como por las amplias desviaciones estándar en las medidas de VC regional.

En un segundo análisis se utilizaron dos modelos de regresión lineal para evaluar la relación entre la presencia de actividad inflamatoria basal y el desarrollo de atrofia cerebral. En el primer modelo se tuvieron en cuenta únicamente parámetros radiológicos de inflamación y en el segundo se incluyeron como variables independientes otros factores que pueden estar relacionados con la subsiguiente pérdida de VC como son la edad y el tiempo de evolución de la enfermedad. En línea con los resultados obtenidos en la primera cohorte, ambos modelos de regresión lineal confirman que el número de lesiones Gd+ en la RM cerebral basal predice la pérdida de VC global y la pérdida de SB pero no de SG.

Debido al diseño de este segundo trabajo, y por el hecho de no disponer de RM cerebrales más allá del primer año de tratamiento, no se ha podido evaluar si la pérdida de VC durante el segundo año de tratamiento con interferón beta se hubiera enlentecido tal y como ocurría en la primera cohorte de pacientes. Sin embargo, este fenómeno está ampliamente descrito en la literatura, tanto en los resultados derivados de ensayos clínicos con interferón beta^{80-82,114}, como en dos estudios observacionales^{88,89}, por lo que es de esperar que el comportamiento de esta cohorte de pacientes sería similar.

En cuanto al estudio de la pérdida de VC regional, son pocos los trabajos publicados que evalúan la evolución de la pérdida de SB y SG cerebral bajo tratamiento con interferón beta^{90,91,114} y menos aún los que evalúan el efecto de la inflamación sobre la pérdida de VC^{80,81}. El tratamiento con interferón beta ha demostrado un efecto beneficioso en prevenir la aparición de nuevas lesiones corticales⁹¹, así como en reducir la pérdida de SG cerebral^{90,91,114}. De forma similar a lo que encontramos en nuestra cohorte de pacientes tratados con interferón beta, en un trabajo publicado muy recientemente, los autores encontraron que durante el primer año de tratamiento había una tendencia a una mayor pérdida de SB cerebral en el grupo de pacientes aleatorizado a recibir interferón beta en comparación con placebo, mientras que la evolución de la pérdida de SG fue similar entre ambos grupos¹¹⁴. Los autores de este trabajo sugieren que la pérdida acelerada de VC global que se observa en los pacientes que inician tratamiento con interferón beta es debida principalmente a una

pérdida de SB¹¹⁴. Esta conclusión va en línea con los resultados obtenidos en el segundo trabajo de esta tesis doctoral, los cuales además demuestran una relación entre la actividad inflamatoria basal y la pérdida de SB durante el tratamiento. En este sentido, únicamente dos trabajos han evaluado la relación entre la pérdida de VC global y la actividad inflamatoria medida con el número de lesiones Gd+, obteniendo resultados contradictorios^{80,81}. Sin embargo, a diferencia de los trabajos realizados en esta tesis doctoral, en los que se pretendía evaluar el papel de la inflamación basal en el posterior desarrollo de pérdida de VC, los autores de esos trabajos analizaron la relación entre la pérdida de VC tras el inicio del tratamiento con interferón y la resolución de la actividad inflamatoria durante el mismo período. Tal y como hemos descrito en esta segunda cohorte de pacientes, a pesar del inicio de tratamiento con interferón beta, algunos pacientes persistirán con o desarrollarán lesiones Gd+ en la RM cerebral de control por lo que el estudio de la asociación simultánea entre estas dos variables puede verse alterada.

3. Limitaciones

Los dos trabajos que conforman esta tesis doctoral comparten, además de los resultados expuestos anteriormente, una serie de limitaciones que deben tenerse en cuenta a la hora de interpretar los resultados.

La primera de ellas es que, debido a la falta de un grupo control, no se puede asegurar que todos los cambios de VC que se observan tras el inicio de ambos fármacos sean exclusivamente atribuibles al tratamiento. Sin embargo, este hecho no afecta a la conclusión principal del estudio que indica que la medición de los cambios de VC global y de SB durante los primeros meses tras el inicio de un tratamiento inmunomodulador se ve afectada por la presencia de actividad inflamatoria al inicio del tratamiento.

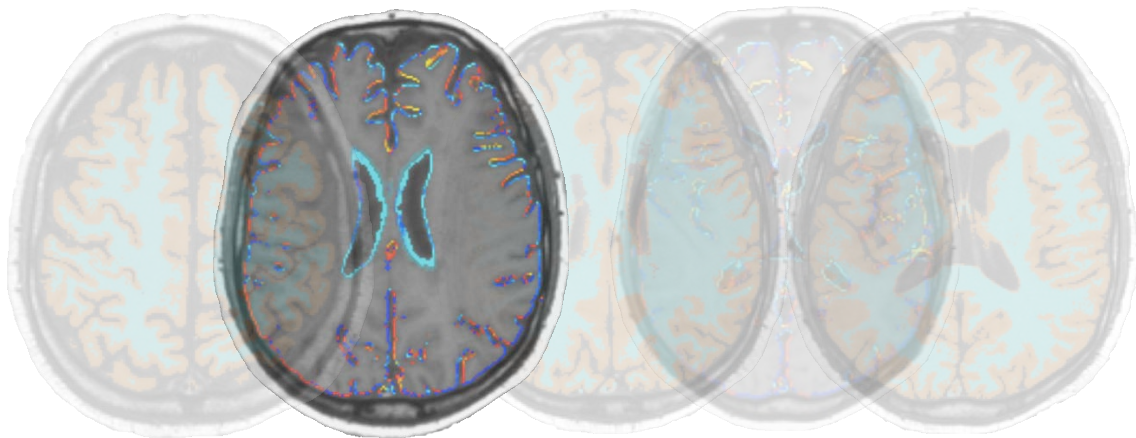
Otra limitación de ambos estudios son los tiempos de realización de las RM cerebrales. Los trabajos realizados con interferón beta⁸¹ y natalizumab⁹⁵ indican que la mayor pérdida de VC debido al fenómeno de pseudoatrofia ocurre durante los primeros meses tras el inicio del fármaco, por lo que posiblemente este fenómeno podría haberse estudiado más detalladamente con una mayor frecuencia de RM cerebrales tras el inicio del tratamiento. Sin embargo, esta tesis doctoral se ha llevado a cabo con dos cohortes de pacientes cuyo calendario de estudios de neuroimagen viene determinado por la práctica clínica habitual. Aun así, el hecho que ambos trabajos hayan confirmado la hipótesis de trabajo con un período de RM cerebral más largo (12 meses), refuerza los resultados obtenidos, los cuales es posible que

hubieran sido aún más evidentes si se hubieran podido estudiar con RM cerebrales realizadas más tempranamente tras el inicio del tratamiento. Por otro lado, en el caso de la segunda cohorte, y de nuevo debido a que se ha realizado en una cohorte de pacientes cuyas exploraciones complementarias vienen determinadas por la práctica clínica habitual, no se dispone de un estudio de neuroimagen más allá de los primeros 12 meses de tratamiento. No obstante, el objetivo de esta segunda cohorte no era estudiar la evolución del cambio de VC durante el tratamiento con interferón beta, sino confirmar la asociación encontrada en la primera cohorte de pacientes entre la pérdida de VC global y de SB que ocurre durante el primer año de tratamiento y la actividad inflamatoria basal.

Debemos tener en cuenta también otros aspectos metodológicos que pueden influir en el cálculo del VC global y regional¹¹¹. En los dos trabajos que conforman esta tesis doctoral se han utilizado secuencias potenciadas en T1 bidimensionales y no una secuencia volumétrica (como podría ser la secuencia MPRAGE – *Magnetization Prepared Rapid Acquisition Gradient Echo* –), considerada como la mejor secuencia para el análisis de cambio de VC cerebral por ser más sensible para detectar cambios longitudinales, especialmente en el análisis específico de SG y SB cerebral¹¹¹. Así mismo, el modo de tratar la presencia de lesiones en SB, mediante la creación de máscaras lesionales con una técnica semi-automática para posteriormente incluirla en el procesado de las imágenes sin realizar un pintado de las mismas, también puede haber influido en parte en el estudio de volumetría regional¹¹¹. Sin embargo, el hecho de que hayamos detectado tanto cambios longitudinales como diferencias entre ambos grupos de pacientes (con y sin presencia de actividad inflamatoria basal) a pesar de las limitaciones metodológicas mencionadas, refuerza los resultados presentados en esta tesis doctoral.

Por último, el fenómeno de pseudoatrofia cerebral se piensa que es debido a una pérdida del contenido de agua tras la resolución de los procesos inflamatorios que se encuentran presentes en el momento de iniciar un tratamiento y no a una pérdida real, e irreversible, de tejido cerebral. Los dos trabajos realizados en esta tesis doctoral encuentran una relación entre la pérdida de VC inicial y los parámetros de inflamación previos al inicio del tratamiento, reforzando así la definición del fenómeno de pseudoatrofia. Sin embargo, las técnicas empleadas (estudios volumétricos) no permiten confirmar la ausencia de daño cerebral real o irreversible. Para ello, se deberán realizar nuevos estudios empleando otras técnicas de neuroimagen que permitan estudiar la patología cerebral de una forma más específica, tales como el tensor de difusión, espectroscopia o la transferencia de magnetización.

CONCLUSIONES



CONCLUSIONES

En pacientes con esclerosis múltiple remitente-recurrente que inician tratamiento inmunomodulador con natalizumab e interferón beta:

1. La pérdida de volumen cerebral global durante el primer año de tratamiento se ve afectada por la presencia de actividad inflamatoria previa al inicio del tratamiento.

2. La pérdida de volumen cerebral global durante el segundo año de tratamiento con natalizumab, no se ve afectada por la presencia de actividad inflamatoria previa el inicio del tratamiento.

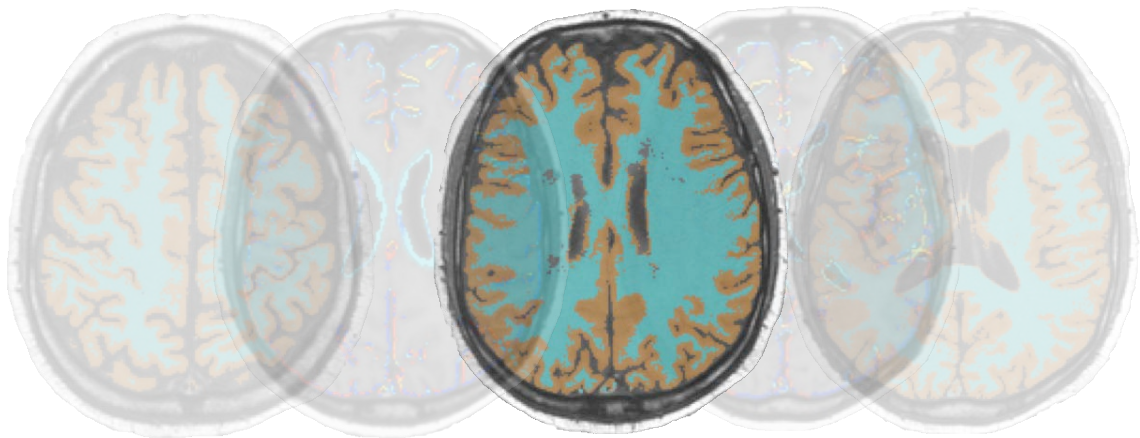
3. La pérdida de volumen cerebral global que ocurre durante el primer año de tratamiento con natalizumab es mayor que la que ocurre durante el segundo año.

4. La pérdida de sustancia blanca cerebral durante el primer año de tratamiento, se ve afectada por la presencia de actividad inflamatoria previa al inicio del tratamiento.

5. La pérdida de sustancia gris cerebral durante el primer año de tratamiento ocurre de forma independiente a la presencia de actividad inflamatoria basal.

Todo ello indica, que el efecto de pseudoatrofia cerebral que ocurre durante los primeros meses tras el inicio de un tratamiento inmunomodulador con natalizumab e interferón beta en pacientes con esclerosis múltiple remitente-recurrente es debido a una resolución de la inflamación que está presente en el momento del inicio del tratamiento y que ocurre principalmente por una pérdida de sustancia blanca cerebral. Además, cuando se estudia la asociación entre los parámetros de discapacidad y el cambio de volumen cerebral global y regional, se debe tener en cuenta que el fenómeno de pseudoatrofia puede actuar como factor de confusión.

BIBLIOGRAFÍA



BIBLIOGRAFÍA

1. Noseworthy J, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker B. Medical progress: multiple sclerosis. *New Englan J. Med.* 2000;343:938–952.
2. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet* 2008;372(9648):1502–1517.
3. Koch-Henriksen N, Sørensen PS. The changing demographic pattern of multiple sclerosis epidemiology. *Lancet Neurol.* 2010;9(5):520–532.
4. Otero-Romero S, Roura P, Sola J, et al. Increase in the prevalence of multiple sclerosis over a 17-year period in Osona, Catalonia, Spain. *Mult. Scler. J.* 2013;19(2):245–248.
5. Otero S, Batlle J, Bonaventura I, et al. [Multiple sclerosis epidemiological situation update: pertinence and set-up of a population based registry of new cases in Catalonia]. *Rev. Neurol.* 2010;50(10):623–633.
6. Kurtzke JF. Geography in multiple sclerosis. *J. Neurol.* 1977;215(1):1–26.
7. Ramagopalan SV, Dobson R, Meier UC, Giovannoni G. Multiple sclerosis: risk factors, prodromes, and potential causal pathways. *Lancet Neurol.* 2010;9(7):727–739.
8. Frohman EM, Racke MK, Raine CS. Multiple sclerosis--the plaque and its pathogenesis. *N. Engl. J. Med.* 2006;354(9):942–955.
9. Lublin FD, Reingold SC, others. Defining the clinical course of multiple sclerosis results of an international survey. *Neurology* 1996;46(4):907–911.
10. Lublin FD, Reingold SC, Cohen JA, et al. Defining the clinical course of multiple sclerosis: The 2013 revisions. *Neurology* 2014;83(3):278–286.
11. Miller DH, Chard DT, Ciccarelli O. Clinically isolated syndromes. *Lancet Neurol.* 2012;11(2):157–169.
12. Fisniku 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(3):808–817.
13. Tintoré M, Rovira A, Río J, et al. Baseline MRI predicts future attacks and disability in clinically isolated syndromes. *Neurology* 2006;67(6):968–972.
14. Tintore M, Rovira À, Río J, et al. Defining high, medium and low impact prognostic factors for developing multiple sclerosis. *Brain* 2015;138(7):1863–1874.
15. Degenhardt A, Ramagopalan SV, Scalfari A, Ebers GC. Clinical prognostic factors in multiple sclerosis: a natural history review. *Nat. Rev. Neurol.* 2009;5(12):672–682.
16. Scalfari A, Neuhaus A, Daumer M, et al. Onset of secondary progressive phase and long-term evolution of multiple sclerosis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*

- 2014;85(1):67–75.
17. Poser CM, Paty DW, Scheinberg L, et al. New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Ann. Neurol.* 1983;13(3):227–231.
 18. McDonald WI, Compston A, Edan G, et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 2001;50(1):121–127.
 19. Polman CH, Reingold SC, Edan G, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the “McDonald Criteria.” *Ann. Neurol.* 2005;58(6):840–846.
 20. Polman CH, Reingold SC, Banwell B, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 Revisions to the McDonald criteria. *Ann. Neurol.* 2011;69(2):292–302.
 21. Montalban X, Tintore M, Swanton J, et al. MRI criteria for MS in patients with clinically isolated syndromes. *Neurology* 2010;74(5):427–434.
 22. Miller D, Weinshenker B, Filippi M, et al. Differential diagnosis of suspected multiple sclerosis: a consensus approach. *Mult. Scler. J.* 2008;14(9):1157–1174.
 23. Dhib-Jalbut S, Marks S. Interferon- β mechanisms of action in multiple sclerosis. *Neurology* 2010;74(1 Supplement 1):S17–S24.
 24. Interferon beta-1b is effective in relapsing-remitting multiple sclerosis. I. Clinical results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. The IFNB Multiple Sclerosis Study Group. *Neurology* 1993;43(4):655–661.
 25. Interferon beta-1b in the treatment of multiple sclerosis: final outcome of the randomized controlled trial. The IFNB Multiple Sclerosis Study Group and The University of British Columbia MS/MRI Analysis Group. *Neurology* 1995;45(7):1277–1285.
 26. Jacobs LD, Cookfair DL, Rudick RA, et al. Intramuscular interferon beta-1a for disease progression in relapsing multiple sclerosis. The Multiple Sclerosis Collaborative Research Group (MSCRG). *Ann. Neurol.* 1996;39(3):285–294.
 27. Ebers GC, others. Randomised double-blind placebo-controlled study of interferon β -1a in relapsing/remitting multiple sclerosis. *The Lancet* 1998;352(9139):1498–1504.
 28. Calabresi PA, Kieseier BC, Arnold DL, et al. Pegylated interferon β -1a for relapsing-remitting multiple sclerosis (ADVANCE): a randomised, phase 3, double-blind study. *Lancet Neurol.* 2014;13(7):657–665.
 29. Racke MK, Lovett-Racke AE, Karandikar NJ. The mechanism of action of glatiramer acetate treatment in multiple sclerosis. *Neurology* 2010;74(1 Supplement 1):S25–S30.
 30. Johnson KP, Brooks BR, Cohen JA, et al. Copolymer 1 reduces relapse rate and improves disability in relapsing-remitting multiple sclerosis: results of a phase III multicenter, double-blind placebo-controlled trial. The Copolymer 1 Multiple Sclerosis Study Group. *Neurology* 1995;45(7):1268–1276.
 31. Johnson KP, Brooks BR, Cohen JA, et al. Extended use of glatiramer acetate

- (Copaxone) is well tolerated and maintains its clinical effect on multiple sclerosis relapse rate and degree of disability. Copolymer 1 Multiple Sclerosis Study Group. *Neurology* 1998;50(3):701–708.
32. Comi G, Filippi M, Wolinsky JS. European/Canadian multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study of the effects of glatiramer acetate on magnetic resonance imaging--measured disease activity and burden in patients with relapsing multiple sclerosis. European/Canadian Glatiramer Acetate Study Group. *Ann. Neurol.* 2001;49(3):290–297.
 33. Khan O, Rieckmann P, Boyko A, et al. Three times weekly glatiramer acetate in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 2013;73(6):705–713.
 34. O'Connor P, Filippi M, Arnason B, et al. 250 microg or 500 microg interferon beta-1b versus 20 mg glatiramer acetate in relapsing-remitting multiple sclerosis: a prospective, randomised, multicentre study. *Lancet Neurol.* 2009;8(10):889–897.
 35. Mikol DD, Barkhof F, Chang P, et al. Comparison of subcutaneous interferon beta-1a with glatiramer acetate in patients with relapsing multiple sclerosis (the REbif vs Glatiramer Acetate in Relapsing MS Disease [REGARD] study): a multicentre, randomised, parallel, open-label trial. *Lancet Neurol.* 2008;7(10):903–914.
 36. Lublin FD, Cofield SS, Cutter GR, et al. Randomized study combining interferon and glatiramer acetate in multiple sclerosis: The CombiRx Study. *Ann. Neurol.* 2013;73(3):327–340.
 37. Ransohoff RM. Natalizumab for multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 2007;356(25):2622–2629.
 38. Polman CH, O'Connor PW, Havrdova E, et al. A randomized, placebo-controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 2006;354(9):899–910.
 39. Rudick RA, Stuart WH, Calabresi PA, et al. Natalizumab plus interferon beta-1a for relapsing multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 2006;354(9):911–923.
 40. Miller DH, Soon D, Fernando KT, et al. MRI outcomes in a placebo-controlled trial of natalizumab in relapsing MS. *Neurology* 2007;68(17):1390–1401.
 41. Radue E-W, Stuart WH, Calabresi PA, et al. Natalizumab plus interferon beta-1a reduces lesion formation in relapsing multiple sclerosis. *J. Neurol. Sci.* 2010;292(1-2):28–35.
 42. Linda H, von Heijne A, Major EO, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy after natalizumab monotherapy. *N. Engl. J. Med.* 2009;361(11):1081–1087.
 43. Yousry TA, Major EO, Ryschkewitsch C, et al. Evaluation of patients treated with natalizumab for progressive multifocal leukoencephalopathy. *N. Engl. J. Med.* 2006;354(9):924–933.
 44. Hellwig K, Gold R. Progressive multifocal leukoencephalopathy and natalizumab. *J. Neurol.* 2011;258(11):1920–1928.

45. Bloomgren G, Richman S, Hotermans C, et al. Risk of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *N. Engl. J. Med.* 2012;366(20):1870–1880.
46. Plavina T, Subramanyam M, Bloomgren G, et al. Anti-JC virus antibody levels in serum or plasma further define risk of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy: Anti-JCV Antibody and PML Risk. *Ann. Neurol.* 2014;76(6):802–812.
47. Wenning W, Haghikia A, Laubenberger J, et al. Treatment of progressive multifocal leukoencephalopathy associated with natalizumab. *N. Engl. J. Med.* 2009;361(11):1075–1080.
48. Kappos L, Radue E-W, O'Connor P, et al. A placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 2010;362(5):387–401.
49. Calabresi PA, Radue E-W, Goodin D, et al. Safety and efficacy of fingolimod in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis (FREEDOMS II): a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Neurol.* 2014;13(6):545–556.
50. Cohen JA, Barkhof F, Comi G, et al. Oral fingolimod or intramuscular interferon for relapsing multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 2010;362(5):402–415.
51. Pelletier D, Hafler DA. Fingolimod for multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 2012;366(4):339–347.
52. Claussen MC, Korn T. Immune mechanisms of new therapeutic strategies in MS — Teriflunomide. *Clin. Immunol.* 2012;142(1):49–56.
53. O'Connor P, Wolinsky JS, Confavreux C, et al. Randomized trial of oral teriflunomide for relapsing multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 2011;365(14):1293–1303.
54. Confavreux C, O'Connor P, Comi G, et al. Oral teriflunomide for patients with relapsing multiple sclerosis (TOWER): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Neurol.* 2014;13(3):247–256.
55. Vermersch P, Czlonskowska A, Grimaldi LM, et al. Teriflunomide versus subcutaneous interferon beta-1a in patients with relapsing multiple sclerosis: a randomised, controlled phase 3 trial. *Mult. Scler. J.* 2014;20(6):705–716.
56. Linker RA, Lee D-H, Ryan S, et al. Fumaric acid esters exert neuroprotective effects in neuroinflammation via activation of the Nrf2 antioxidant pathway. *Brain J. Neurol.* 2011;134(Pt 3):678–692.
57. Gold R, Linker RA, Stangel M. Fumaric acid and its esters: an emerging treatment for multiple sclerosis with antioxidative mechanism of action. *Clin. Immunol. Orlando Fla* 2012;142(1):44–48.
58. Gold R, Kappos L, Arnold DL, et al. Placebo-Controlled Phase 3 Study of Oral BG-12 for Relapsing Multiple Sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 2012;367(12):1098–1107.
59. Fox RJ, Miller DH, Phillips JT, et al. Placebo-Controlled Phase 3 Study of Oral BG-12 or Glatiramer in Multiple Sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 2012;367(12):1087–

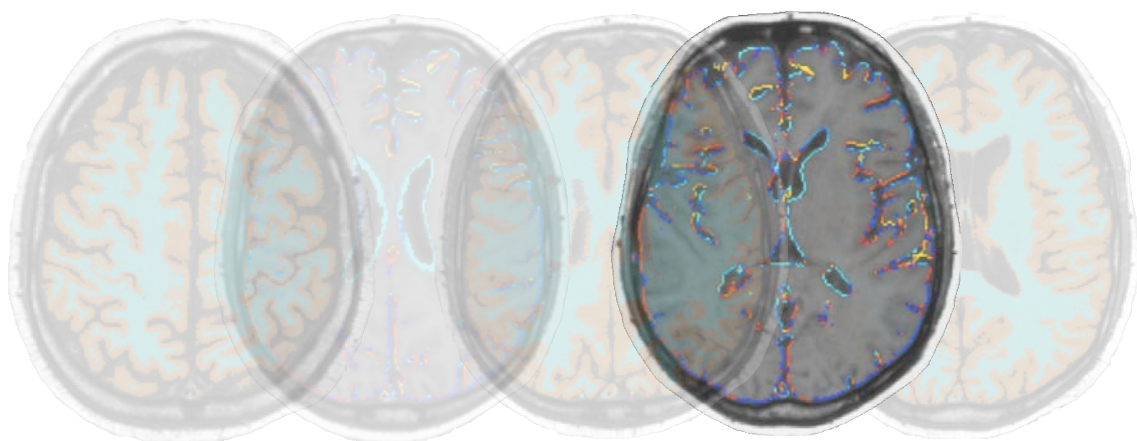
- 1097.
60. Coles AJ. Alemtuzumab Therapy for Multiple Sclerosis. *Neurotherapeutics* 2013;10(1):29–33.
 61. Cohen JA, Coles AJ, Arnold DL, et al. Alemtuzumab versus interferon beta 1a as first-line treatment for patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: a randomised controlled phase 3 trial. *The Lancet* 2012;380(9856):1819–1828.
 62. Coles AJ, Twyman CL, Arnold DL, et al. Alemtuzumab for patients with relapsing multiple sclerosis after disease-modifying therapy: a randomised controlled phase 3 trial. *The lancet* 2012;380(9856):1829–1839.
 63. CAMMS223 Trial Investigators, Coles AJ, Compston DAS, et al. Alemtuzumab vs. interferon beta-1a in early multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 2008;359(17):1786–1801.
 64. Miller DH, Barkhof F, Frank JA, et al. Measurement of atrophy in multiple sclerosis: pathological basis, methodological aspects and clinical relevance. *Brain* 2002;125(Pt 8):1676–1695.
 65. Bermel RA, Bakshi R. The measurement and clinical relevance of brain atrophy in multiple sclerosis. *Lancet Neurol.* 2006;5(2):158–170.
 66. Zivadinov R. Reproducibility and Accuracy of Quantitative Magnetic Resonance Imaging Techniques of Whole-Brain Atrophy Measurement in Multiple Sclerosis. *J. Neuroimaging* 2005;15(1):27–36.
 67. Anderson VM, Fox NC, Miller DH. Magnetic resonance imaging measures of brain atrophy in multiple sclerosis. *J. Magn. Reson. Imaging* 2006;23(5):605–618.
 68. Filippi M. MRI measures of neurodegeneration in multiple sclerosis: implications for disability, disease monitoring, and treatment. *J. Neurol.* 2015;262(1):1–6.
 69. De Stefano N, Stromillo ML, Giorgio A, et al. Establishing pathological cut-offs of brain atrophy rates in multiple sclerosis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 2015;
 70. De Stefano N, Giorgio A, Battaglini M, et al. Assessing brain atrophy rates in a large population of untreated multiple sclerosis subtypes. *Neurology* 2010;74(23):1868–1876.
 71. Dalton CM, Chard DT, Davies GR, et al. Early development of multiple sclerosis is associated with progressive grey matter atrophy in patients presenting with clinically isolated syndromes. *Brain* 2004;127(5):1101–1107.
 72. Calabrese M, Rinaldi F, Mattisi I, et al. The predictive value of gray matter atrophy in clinically isolated syndromes. *Neurology* 2011;77(3):257–263.
 73. Perez-Miralles F, Sastre-Garriga J, Tintore M, et al. Clinical impact of early brain atrophy in clinically isolated syndromes. *Mult. Scler. J.* 2013;19(14):1878–1886.
 74. Zivadinov R, Havrdová E, Bergsland N, et al. Thalamic atrophy is associated with development of clinically definite multiple sclerosis. *Radiology* 2013;268(3):831–841.

75. Jacobsen C, Hagemeyer J, Myhr K-M, et al. Brain atrophy and disability progression in multiple sclerosis patients: a 10-year follow-up study. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 2014;85(10):1109–1115.
76. Zivadinov R, Bergsland N, Dolezal O, et al. Evolution of cortical and thalamus atrophy and disability progression in early relapsing-remitting MS during 5 years. *AJNR Am. J. Neuroradiol.* 2013;34(10):1931–1939.
77. Fisniku LK, Chard DT, Jackson JS, et al. Gray matter atrophy is related to long-term disability in multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 2008;64(3):247–254.
78. Popescu V, Agosta F, Hulst HE, et al. Brain atrophy and lesion load predict long term disability in multiple sclerosis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 2013;84(10):1082–1091.
79. Zivadinov R, Reder AT, Filippi M, et al. Mechanisms of action of disease-modifying agents and brain volume changes in multiple sclerosis. *Neurology* 2008;71(2):136–144.
80. Rudick RA, Fisher E, Lee J-C, et al. Brain atrophy in relapsing multiple sclerosis: relationship to relapses, EDSS, and treatment with interferon -1a. *Mult. Scler.* 2000;6(6):365–372.
81. Hardmeier M, Wagenpfeil S, Freitag P, et al. Rate of brain atrophy in relapsing MS decreases during treatment with IFN -1a. *Neurology* 2005;64(2):236–240.
82. Kappos L, Traboulsee A, Constantinescu C, et al. Long-term subcutaneous interferon beta-1a therapy in patients with relapsing-remitting MS. *Neurology* 2006;67(6):944–953.
83. Ge Y, Grossman RI, Udupa JK, et al. Glatiramer acetate (Copaxone) treatment in relapsing-remitting MS: quantitative MR assessment. *Neurology* 2000;54(4):813–817.
84. Rovaris M, Comi G, Rocca MA, et al. Short-term brain volume change in relapsing-remitting multiple sclerosis: effect of glatiramer acetate and implications. *Brain* 2001;124(Pt 9):1803–1812.
85. Sormani MP, Rovaris M, Valsasina P, et al. Measurement error of two different techniques for brain atrophy assessment in multiple sclerosis. *Neurology* 2004;62(8):1432–1434.
86. Rovaris M, Comi G, Rocca MA, et al. Long-term follow-up of patients treated with glatiramer acetate: a multicentre, multinational extension of the European/Canadian double-blind, placebo-controlled, MRI-monitored trial. *Mult. Scler.* 2007;13(4):502–508.
87. Comi G, Cohen JA, Arnold DL, et al. Phase III dose-comparison study of glatiramer acetate for multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 2011;69(1):75–82.
88. Paolillo A, Pozzilli C, Giugni E, et al. A 6-year clinical and MRI follow-up study of patients with relapsing-remitting multiple sclerosis treated with Interferon-beta. *Eur. J. Neurol.* 2002;9(6):645–655.
89. Frank JA, Richert N, Bash C, et al. Interferon- -1b slows progression of atrophy in RRMS: Three-year follow-up in NAb- and NAb+ patients. *Neurology*

- 2004;62(5):719–725.
90. Zivadinov R, Locatelli L, Cookfair D, et al. Interferon beta-1a slows progression of brain atrophy in relapsing-remitting multiple sclerosis predominantly by reducing gray matter atrophy. *Mult. Scler.* 2007;13(4):490–501.
 91. Calabrese M, Bernardi V, Atzori M, et al. Effect of disease-modifying drugs on cortical lesions and atrophy in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult. Scler. J.* 2011;18(4):418–424.
 92. Khan O, Bao F, Shah M, et al. Effect of disease-modifying therapies on brain volume in relapsing-remitting multiple sclerosis: Results of a five-year brain MRI study. *J. Neurol. Sci.* 2012;312(1-2):7–12.
 93. Rojas JI, Patrucco L, Miguez J, et al. Brain atrophy as a non-response predictor to interferon-beta in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Neurol. Res.* 2013;36(7):615–618.
 94. Pérez-Miralles FC, Sastre-Garriga J, Vidal-Jordana A, et al. Predictive value of early brain atrophy on response in patients treated with interferon β . *Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflammation* 2015;2(4):e132.
 95. Magraner M, Coret F, Casanova B. The relationship between inflammatory activity and brain atrophy in natalizumab treated patients. *Eur. J. Radiol.* 2012;81(11):3485–3490.
 96. Rinaldi F, Calabrese M, Seppi D, et al. Natalizumab strongly suppresses cortical pathology in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult. Scler. J.* 2012;18(12):1760–1767.
 97. Portaccio E, Stromillo ML, Goretti B, et al. Natalizumab may reduce cognitive changes and brain atrophy rate in relapsing-remitting multiple sclerosis: a prospective, non-randomized pilot study. *Eur. J. Neurol.* 2013;20(6):986–990.
 98. Radue E-W. Impact of Fingolimod Therapy on Magnetic Resonance Imaging Outcomes in Patients With Multiple Sclerosis. *Arch. Neurol.* 2012;69(10):1259.
 99. Cohen JA, Barkhof F, Comi G, et al. Fingolimod versus intramuscular interferon in patient subgroups from TRANSFORMS. *J. Neurol.* 2013;260(8):2023–2032.
 100. Khatri B, Barkhof F, Comi G, et al. Comparison of fingolimod with interferon beta-1a in relapsing-remitting multiple sclerosis: a randomised extension of the TRANSFORMS study. *Lancet Neurol.* 2011;10(6):520–529.
 101. Arnold DL, Gold R, Kappos L, et al. Effects of delayed-release dimethyl fumarate on MRI measures in the Phase 3 DEFINE study. *J. Neurol.* 2014;261(9):1794–1802.
 102. Miller DH, Fox RJ, Phillips JT, et al. Effects of delayed-release dimethyl fumarate on MRI measures in the phase 3 CONFIRM study. *Neurology* 2015;84(11):1145–1152.
 103. Wolinsky JS, Narayana PA, Nelson F, et al. Magnetic resonance imaging outcomes from a phase III trial of teriflunomide. *Mult. Scler. J.* 2013;19(10):1310–1319.

104. Late Breaking News. *Mult. Scler. J.* 2015;21(11 Suppl):780–808.
105. Smith SM, Zhang Y, Jenkinson M, et al. Accurate, robust, and automated longitudinal and cross-sectional brain change analysis. *NeuroImage* 2002;17(1):479–489.
106. Ashburner J, Friston KJ. Voxel-Based Morphometry—The Methods. *NeuroImage* 2000;11(6):805–821.
107. Cheriyan J, Kim S, Wolansky LJ, et al. Impact of inflammation on brain volume in multiple sclerosis. *Arch. Neurol.* 2012;69(1):82–88.
108. Sastre-Garriga J, Ingle GT, Chard DT, et al. Grey and white matter volume changes in early primary progressive multiple sclerosis: a longitudinal study. *Brain J. Neurol.* 2005;128(Pt 6):1454–1460.
109. Tiberio M, Chard DT, Altmann DR, et al. Gray and white matter volume changes in early RRMS A 2-year longitudinal study. *Neurology* 2005;64(6):1001–1007.
110. Peterson JW, Bö L, Mörk S, et al. Transected neurites, apoptotic neurons, and reduced inflammation in cortical multiple sclerosis lesions: Cortical Lesions in MS. *Ann. Neurol.* 2001;50(3):389–400.
111. Vrenken H, Jenkinson M, Horsfield MA, et al. Recommendations to improve imaging and analysis of brain lesion load and atrophy in longitudinal studies of multiple sclerosis. *J. Neurol.* 2013;260(10):2458–2471.
112. Fisher E, Rudick RA, Simon JH, et al. Eight-year follow-up study of brain atrophy in patients with MS. *Neurology* 2002;59(9):1412–1420.
113. Geurts JJ, Calabrese M, Fisher E, Rudick RA. Measurement and clinical effect of grey matter pathology in multiple sclerosis. *Lancet Neurol.* 2012;11(12):1082–1092.
114. Fisher E, Nakamura K, Lee JC, et al. Effect of intramuscular interferon beta-1a on gray matter atrophy in relapsing- remitting multiple sclerosis: A retrospective analysis. *Mult. Scler. J.* 2016;22(5):668–676.

PUBLICACIONES



PACIENTES TRATADOS CON NATALIZUMAB

Early brain pseudoatrophy while on natalizumab therapy is due to white matter volume changes

Angela Vidal-Jordana, Jaume Sastre-Garriga, Francisco Pérez-Miralles, Carmen Tur, Mar Tintoré, Alejandro Horga, Cristina Auger, Jordi Río, Carlos Nos, Mari C Edo, María J Arévalo, Joaquín Castelló, Alex Rovira and Xavier Montalban

Multiple Sclerosis Journal
19(9) 1175–1181
© The Author(s) 2013
Reprints and permissions:
sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav
DOI: 10.1177/1352458512473190
msj.sagepub.com


Abstract

Background: Investigation of atrophy data from a pivotal natalizumab trial has demonstrated an increased rate of volume loss, compared to placebo, after the first year of therapy. It was considered to be probably due to a pseudoatrophy effect.

Objective: To assess grey and white matter volume changes and their relation to global brain volume changes and to baseline inflammation, for patients under natalizumab therapy.

Methods: We selected 45 patients on natalizumab therapy for at least 24 months, with magnetic resonance imaging (MRI) scans at baseline, 12 and 24 months. We calculated the percentage brain volume change (PBVC) for the first and second year, using SIENA software. Grey and white matter fractions (GMF and WMF, respectively) for the first year were calculated with SPM5, using lesion masks. After quality checks, six patients were excluded. We studied the predictive variables of change in brain volumes.

Results: The PBVC decrease was faster during the first year ($-1.10\% \pm 1.43\%$), as compared to the second ($-0.51\% \pm 0.96\%$) ($p = 0.037$). These differences were more marked in patients with baseline gadolinium-enhancing lesions ($p = 0.005$). Mean GMF and WMF changes during the first year of treatment were $+1.15\%$ (n.s.) and -1.72% ($p = 0.017$), respectively. The presence of active lesions at baseline MRI predicted PBVC ($p = 0.022$) and WMF change ($p = 0.026$) during the first year of treatment, after adjusting for age and corticosteroid treatment. No predictors were found for GMF volume changes.

Conclusion: Early brain volume loss during natalizumab therapy is mainly due to WMF volume loss and it is related to the inflammatory activity present at the onset of therapy. We found that the pseudoatrophy effect is mostly due to white matter volume changes.

Keywords

Multiple sclerosis, natalizumab, drug side effects, brain MRI, monoclonal antibody therapy, brain atrophy, brain volume, pseudoatrophy, white matter

Date received: 17th October 2012; revised: 14th November 2012; accepted: 6th December 2012

Introduction

Brain volume loss is a common and early feature in patients with multiple sclerosis (MS) and it occurs at an accelerated rate when compared with healthy controls.^{1,2} Because of the high clinical relevance of brain atrophy and the ability of magnetic resonance imaging (MRI) to reproducibly and reliably measure brain volume changes, atrophy outcomes have been incorporated into recent clinical trials;^{3,4} however, although most disease modifying drugs (DMD) have been

shown to improve the curve of brain atrophy accrual in MS patients through time, these drugs may initially produce a

Hospital Universitari Vall d'Hebron, Universitat Autònoma de Barcelona, Spain.

Corresponding author:

Jaume Sastre-Garriga, Unitat de Neuroimmunologia Clínica (CEM-Cat), EU1, 2^a planta, P. Vall d'Hebron 119-129, Barcelona 08035, Spain.
Email: jsastre-garriga@cem-cat.org

greater loss of brain volume in patients receiving active treatment, as compared to those receiving placebo.³ Along these lines, the investigation of atrophy data from the AFFIRM trial (natalizumab versus placebo in treatment of relapsing–remitting MS) has demonstrated that there is an accelerated rate of volume loss during the first year of natalizumab therapy, which was interpreted as a pseudoatrophy effect.⁵ It is not known whether pseudoatrophy is a global phenomenon, or whether it mostly affects grey or white matter. Following the marketing of natalizumab, several observational studies regarding the effectiveness and safety of treatment with natalizumab were published;^{6–12} however, only a few studies included brain MRI data^{7,10,12} and to our knowledge, none of them analyzed the changes in brain volume that occur in patients receiving natalizumab for this indication. The main objective of the present work is to assess the evolution and underpinnings related to brain volume changes during the first 2 years of natalizumab therapy, specifically focusing on grey and white matter volume changes and their relation to both global brain volume changes and the degree of baseline inflammation when undergoing natalizumab therapy.

Methods

Patients

The present work is based on an observational study, including all of the consecutive patients with MS who began treatment with natalizumab at the Multiple Sclerosis Centre of Catalonia (Vall d'Hebron University Hospital, Barcelona). The safety and effectiveness of natalizumab in this cohort has already been presented elsewhere.⁷ From this hospital cohort, we selected all of the patients who were treated with natalizumab for at least 24 months as of May 2011 and who had brain MRI scans that were amenable to volumetric analysis. In our setting, the prescription of natalizumab follows approved indications by the European Medicines Agency:¹³ second line monotherapy for MS patients with high disease activity (at least one relapse in the previous year, while on therapy, and at least nine T2-hyperintense lesions in their cranial MRIs or at least one Gadolinium-enhancing lesion) or in very aggressive cases from onset (two or more disabling relapses in 1 year, and one or more Gadolinium-enhancing lesions or a significant increase in the T2 lesion load). Natalizumab treatment was administered intravenously, at a monthly dose of 300 mg. Clinical assessment was conducted every 3 months: in each follow-up visit, a trained neurologist collected information about the presence of MS relapses, performed a neurological examination, and calculated the score in the Kurtzke Expanded Disability Status Scale (EDSS). EDSS changes were calculated for each 1-year period. Relapses were defined as any new or recurrent neurological manifestations that were sustained for more than 24 hours, in the

absence of fever or infection. This study received approval from the local ethical committee and all patients signed a written informed consent.

MRI acquisition and analysis

Patients underwent MRI examinations at baseline, and at months 12 and 24 after initiation of natalizumab treatment, following the recommendations of use of natalizumab provided by the European Medicines Agency.¹³ Baseline MRI scans were obtained within 3 months before the first dose of natalizumab was given. All images were performed on a 1.5 T MR system, using a standardized technique and proper repositioning, which allowed for visual comparative analyses to be conducted in the same patient. All patients underwent proton density/T2-weighted, and pre- and post-gadolinium (0.2 mmol/kg body weight) T1-weighted sequences, covering the whole brain (3 mm slice thickness, without gap). A MS-specialized neuroradiologist visually assessed the number of gadolinium (Gd)-enhancing lesions and the new or enlarging lesions on the proton density/T2-weighted sequences of each follow-up MRI scan. The Structural Image Evaluation of Normalized Atrophy (SIENA) software, part of FMRIB Software Library (FSL),¹⁴ was used to calculate the percentage brain volume change (PBVC) on unenhanced T1-weighted sequences between each time point, obtaining a measure of PBVC for the first and second years.

The Statistical Parametric Mapping 5 (SPM5) software, a suite from MATLAB,¹⁵ was used to segment the baseline and 1-year MRI scans, using lesion masks. Working with unenhanced T1-weighted sequences, we obtained values for the grey matter fraction (GMF) and white matter fraction (WMF) for both time points, allowing the calculation of mean percentage of brain volume changes for both the grey and white matter fractions (designated PGMFVC and PWMFVC, respectively).

Statistical analysis

We used the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) program (Chicago, Illinois) to analyze our clinical and demographic data. All variables, except for Gd-enhancing lesions and EDSS, followed a normal distribution. We used a student's t-test for related and independent samples to compare the different brain volume measures within and between groups. A student's t-test for each individual sample was used to analyze the changes in PGMFVC and PWMFVC. We used Spearman correlation coefficients to investigate the associations between clinical and MRI data. Linear regression analyses were performed to predict PBVC, PGMFVC and PWMFVC, using the following independent variables: age, presence of Gd-enhancing lesions in the baseline MRI and receiving corticosteroid treatment the month previous to the baseline MRI or

between baseline and one year MRI scans. Statistical significance was set at $p < 0.05$.

Results

We identified 45 patients who had been treated with natalizumab for over 2 years in our center, who also had brain MRI examinations that were amenable to volumetric analysis with our SIENA and SPM5 software. We calculated PBVC for the first and second year of treatment, as well as GMF and WMF at both baseline and 12-month MRIs, for all 45 patients. All segmentation outputs were checked and we excluded six patients from further analyses due to missegmentation. Baseline demographic data and clinical features of the study samples ($n = 39$) are detailed in Table 1. There were no significant differences found with regard to baseline demographic, clinical and MRI characteristics when compared with the whole cohort of the natalizumab-treated patients in our center (data not shown). Gd-enhancing lesions were seen in 22 out of 39 patients' baseline MRI scans. All patients had received at least one disease-modifying treatment before natalizumab. The first-line treatments received were as follows: interferon beta (89.7% of patients), glatiramer acetate (5.7% of patients) and an investigational drug (5.7% of patients). The median time from the first MS treatment onset to the first infusion with natalizumab was 48.3 months (range, 9.35–162.41).

Clinical and lesional MRI parameters

During the first year of treatment, 11 (28.2%) MS patients had a new relapse. The mean EDSS change during the first year was -0.29 (SD 0.98). New or enlarged lesions were found in 20 patients' (51.3%) T2-weighted images on brain MRI scans performed at 12 months of treatment. None of the patients had Gd-enhancing lesions, meaning there was a 100% reduction in patients with Gd-enhancing lesions. In the course of the second year, 13 patients (33.3%) had a relapse. The mean EDSS change during this period was $+0.18$ (SD 0.64). Only two patients (5.1%) had new or enlarged lesions on their T2-weighted sequences at 24 months, when compared to their 12-month examination (90% reduction of patients with new or enlarged T2-lesions); only one patient showed one Gd-enhancing lesion.

Global brain volume data

For the entire cohort ($n = 39$) the mean PBVC was -1.10% (SD 1.43%) during the first year and -0.51% (SD 0.96%) during the second year ($p = 0.037$). PBVC during the first year of treatment, but not during the second, was correlated with the number of Gd-enhancing lesions present on base-

Table 1. Baseline characteristics of study participants.

	$n = 39$
Age at natalizumab onset (mean; SD)	34.95 (8.75)
Gender (female) (n; %)	28 (71.8)
Disease duration (years) (median; range)	10.98 (1.88–32.68)
Previous use of DMD (n; %)	39 (100)
1 DMD	24 (61.5)
2 DMD	10 (25.6)
> 2 DMD	5 (12.9)
Previous immunosuppressant treatment (n; %)	6 (15.4)
Patients with Gd-enhancing lesions (n; %)	22 (56.4)
Number of Gd-enhancing lesions (median; range)	1 (0–40)
MS relapses during the previous year (median; range)	2 (0–6)
Baseline EDSS score (median; range)	4.0 (1.5–6.0)

DMD: disease modifying drugs; Gd: gadolinium; EDSS: Expanded Disability Status Scale; MS: multiple sclerosis.

line MRI (Rho = -0.411 , $p = 0.009$ for the first year; Rho = 0.050 , $p = 0.763$ for the second). When analyzing brain volume changes based on the presence of baseline Gd-enhancing lesions, we found that the patients with baseline Gd-enhancing lesions had a greater brain volume loss during the first year, as compared to those without baseline MRI inflammation ($p = 0.026$). No differences were found between PBVC during the second year in patients with or without baseline Gd-enhancing lesions ($p = 0.480$) (Figure 1). Accordingly, brain volume loss occurred at a different rate during the two 1-year periods in those with Gd-enhancing lesions at baseline (-1.55% SD 1.59%, in the first year, versus -0.41% SD 1.01%, in the second; $p = 0.005$); but it occurred at a similar rate during the two periods, for those without any baseline Gd-enhancing lesions (-0.53% SD 0.98%, in the first year, versus -0.64% SD 0.92% in the second; $p = 0.781$) (Figure 1). In a linear regression analysis (adjusting for age, corticosteroid treatment in the month previous to the baseline MRI scan and treatment between the baseline and 1-year MRI scans), we found that the presence of Gd-enhancing lesions at baseline were able to predict the changes in PBVC (partial correlation, $p_r = -0.38$; $p = 0.022$) during the first year of treatment.

White and grey matter volume data

During the first year of therapy, we observed that a $+1.15\%$ (SD 4.92%) increase occurred for GMF ($p = 0.151$) and a -0.72 (SD 4.3%) decrease occurred for WMF ($p = 0.017$). In comparing WMF and GMF changes according to the presence of Gd-enhancing lesions at baseline, we observed

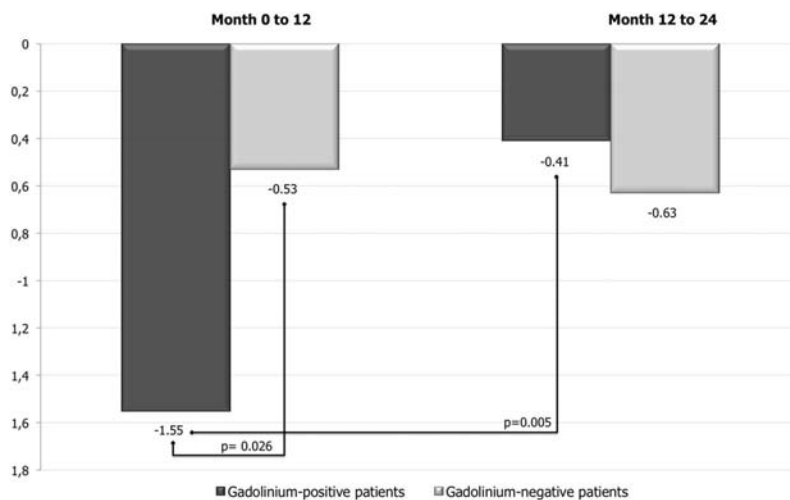


Figure 1. Brain volume changes during the first and second year of natalizumab treatment based on baseline gadolinium-enhancing lesions. Brain volume loss occurred at a different rate during the two 1-year periods, for those patients with baseline gadolinium-enhancing lesions ($p = 0.005$). During the first year, patients with baseline gadolinium-enhancing lesions developed greater decreases in percentage of brain volume changes, as compared to those patients without any baseline inflammation ($p = 0.026$).

that there was a trend toward a greater WMF loss during the first year of treatment in those patients with Gd-enhancing lesions at baseline (-2.81% SD 4.01%), as compared to those without (0.31% SD 4.36%) ($p = 0.071$). Such differences were not observed for GMF ($+1.56\%$ SD 5.13% , versus $+0.62\%$ SD 4.73% ; $p = 0.563$) (Figure 2). In a linear regression analysis adjusting for the same variables detailed above, we found that the presence of Gd-enhancing lesions at baseline could predict the changes in WMF ($\beta = -0.37$; $p = 0.026$) during the first year of treatment, while no predictors were found for changes in GMF.

Clinical and MRI correlations

None of the brain volume changes occurring during the first or second years correlated with EDSS changes during those same periods of time. The number of baseline Gd-enhancing lesions did correlate with EDSS changes during the first year, but not during the second (for the first year $Rho = -0.503$, $p = 0.001$; for the second, $Rho = 0.098$, $p = 0.57$).

Discussion

To the best of our knowledge, this is the first published study that evaluates global and regional brain volume changes occurring during natalizumab treatment, and investigates its relationship with pre-existing inflamma-

tion, showing that the pseudoatrophy effect involves only the brain’s white matter and that it can be predicted by pre-existing inflammation. Even though brain atrophy is present in the early phases of MS and it is known to be related to disability,^{1,2,16,17} the underlying mechanism of brain tissue loss in patients with MS is not fully understood. Some proposed mechanisms are directly related to the inflammation and lesion formation processes,^{1,18,19} while others would be independent of inflammatory phenomena.^{1,16,20-23} DMD treatments for MS have been shown to have a clear beneficial effect, reducing relapses and inflammatory lesions; however, the brain volume changes occurring in MS patients who are on disease-modifying therapy are sometimes difficult to interpret, as they may be influenced by inflammation present at therapy onset.^{3,4,18}

Regarding natalizumab treatment, the MRI volume measurements of the AFFIRM trial⁵ showed that although the mean percentage of reduction in brain parenchymal fraction (BPF) was similar between both treatment arms (placebo versus natalizumab) during the 2 years of the study, patients receiving natalizumab had an accelerated rate of atrophy during the first year, as compared to placebo; this trend reverted during the second year, similar to what was previously observed in the intramuscular interferon beta 1a pivotal trial in RRMS patients.^{4,24} The authors of the AFFIRM trial attributed these dual findings

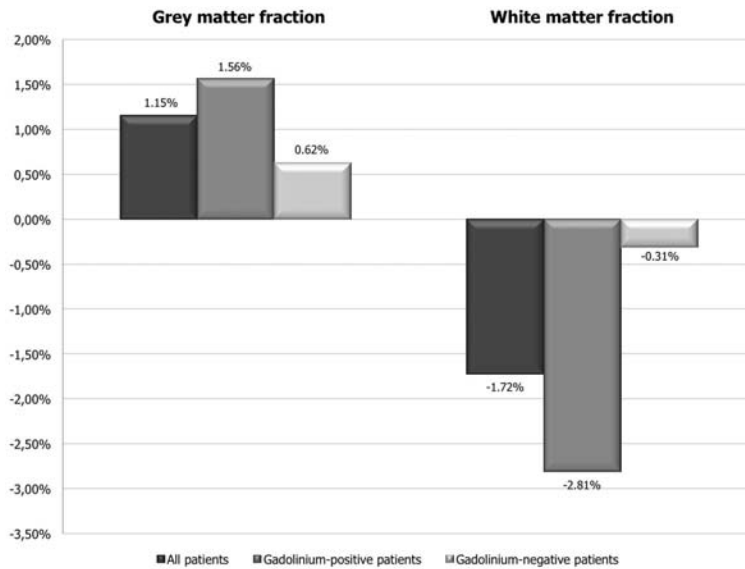


Figure 2. Grey and white matter volume changes in the first year of natalizumab treatment based on gadolinium-enhancing lesions. The white matter fraction significantly decreased during the first year of treatment, for all patients ($p = 0.017$). We observed a trend toward greater white matter loss in those patients having gadolinium-enhancing lesions at baseline ($p = 0.071$). The changes in the grey matter fraction did not reach statistical significance.

to an initial pseudoatrophy phenomenon and to a potential beneficial effect for natalizumab therapy in preventing axonal loss, by decreasing new lesion formation during the second year of treatment.⁵ Pseudoatrophy is an accelerated brain volume reduction that is thought to be attributable to a loss of cerebral water content, due to the resolution of the disease-related abnormal permeability of the blood-brain barrier and not as a consequence of cell death and tissue injury.⁴

For a better understanding of this phenomenon, we first evaluated global brain volume changes occurring during the first 2 years of natalizumab treatment, with a special focus on the relationship between pre-existing inflammation and the subsequent brain volume loss, as well as its relationship with disability scores. In the whole group, we found there was an accelerated loss of brain volume during the first year, as compared to the second, similar to what was already described in the AFFIRM trial.⁵ We found that brain volume loss was more pronounced for those patients with baseline Gd-enhancing lesions. Furthermore, the number of baseline Gd-enhancing lesions correlated with the amount of brain volume loss during the first year, but not during the second one. Previous studies demonstrated that brain volume, and spe-

cifically white matter volume changes, may be influenced by the presence of active lesions and it has been suggested that grey matter volume changes would be insensitive to pseudoatrophy effects.²⁵⁻²⁷ In order to study whether this accelerated brain volume loss during the first year of treatment was a global phenomenon or was mostly due to either grey or white matter changes, we calculated the grey and white matter brain fractions during this period of treatment; we found that brain volume loss occurring during the first year of natalizumab treatment was mostly due to white matter volume changes and that the presence of Gd-enhancing lesions at baseline predicted those subsequent changes in white matter volume. Taken together, our findings support the idea that volume loss occurring in the first months of natalizumab therapy is due to the blood-brain barrier stabilization and the abrupt resolution of ongoing white matter inflammation. Global brain volume changes during the second year were similar in groups with or without baseline Gd-enhancing lesions, meaning that after the resolution of inflammation, other disease mechanisms are to be held responsible for brain volume changes. It might still be surprising that such a relevant pseudoatrophy effect could occur, even though all patients had received at least one DMD before

commencing natalizumab; however, all these patients switched to natalizumab because of first-line treatment inefficacy, and up to 56.4% of them presented baseline Gd-enhancing lesions.

To date, no studies assessing grey and white matter changes on natalizumab-treated patients have been conducted and there are very few studies published about DMD-treatments.^{28,29} First-line DMD have shown to prevent the appearance of new cortical lesions²⁸ and to slow the progression of grey matter atrophy.^{28,29} The increase in grey matter volume during the first year of natalizumab treatment that we observed in our sample could be due to either a neuroprotective effect of natalizumab,⁵ a reduction in the formation of cortical lesions (that were not detectable with the sequences used), or both. Interestingly, we observed a greater GMF increase in patients with baseline Gd-enhancing lesions, as compared to those without, although this was not statistically significant. This might suggest that a potential beneficial effect of natalizumab on grey matter damage could be especially relevant to patients with more severe blood-brain barrier disruption; however, the lack of a control arm does not allow us to ascribe all grey matter changes to the therapy.

We have demonstrated a significant association between the disability changes observed during the first year of treatment and the number of Gd-enhancing lesions at baseline, but not with brain volume changes occurring in the same period. This lack of association between the EDSS change and PBVC during the first year may be partly explained by the confounding pseudoatrophy effect, so that patients with higher baseline inflammatory activity will be those with a greater improvement on the EDSS score, due to a reversion of inflammation-related transient disability; but they are also those at a higher risk of brain volume loss. Also, EDSS changes were not associated with grey nor white matter fraction changes.

Concerning the absolute figures for volume changes, we found almost 2-fold values of brain volume loss in both 1-year periods, as compared to the AFFIRM trial (in our cohort, PBVC of -1.02% for the first year and -0.59% for the second; in the AFFIRM trial, BPF changes of -0.56% for the first year and -0.24% for the second).⁵ The fact that our cohort had more aggressive disease, with a higher mean number of baseline Gd-enhancing lesions, than patients in the natalizumab arm of the AFFIRM trial (clinical trial's mean number of Gd-enhancing lesions was 2.2 ± 4.7 versus 4.9 ± 7.9 in our cohort) could partly explain these findings. However, despite having patients with a more aggressive disease, we observed a 95.4% reduction in patients with Gd-enhancing lesions and a 90% reduction in patients with new T2-lesions at 24 months, similar to what was reported in the AFFIRM trial.⁵

Some limitations of our study should be taken into account. Firstly, and most importantly, because there was not a control group, the brain volume changes cannot be fully attributed to natalizumab therapy; however, this

does not affect the main conclusions of the present study, that indicate that global brain atrophy is not an appropriate surrogate marker of disability in such settings, as it is importantly affected by changes in the patients' white matter volume due to a resolution of their ongoing inflammation. Secondly, as some evidence seems to indicate that this pseudoatrophy effect may be occurring in the very first months after treatment initiation,²⁴ it is possible that MRI scans performed earlier than the 12-month point might have detected such an effect.

In summary, this study leads us to conclude that the important and early brain volume loss occurring during the first year of natalizumab therapy, but not during the second, was related to inflammatory activity at the onset of therapy and that it was mainly due to white matter volume changes, which supports the idea that brain volume changes during the first year of treatment are mostly due to a pseudoatrophy effect.

Conflict of interest

AVJ receives support for research training contracts Rio Hortega (CM10/00032), from Fondo de Investigaciones Sanitarias, Instituto de Salud Carlos III, Spain and has received compensation for speaking from Serono Foundation. JSG has received compensation for consulting services and speaking from Biogen, Merck-Serono, Novartis, Teva, Sanofi-Aventis, Almirall and Bayer. FPM, AH, CA, MCE and JC report no disclosures. CT has received honoraria and support for travel from Serono Foundation, Sanofi-Aventis and Novartis. MT has received compensation for consulting services and speaking from Bayer-Schering, Merck-Serono, Biogen-Idec, Teva, Sanofi-Aventis, and Novartis. JR has received compensation for consulting services and speaking from Bayer-Schering, Merck-Serono, Biogen-Idec, and Novartis. CN has received lecture fees from Merck-Serono and honoraria for giving expert advice to Lilly and BaroFold. MJA received speaking honoraria from Bayer Schering Pharma, Merck Serono and Teva Pharmaceutical Industries. AR serves on scientific advisory boards for NeuroTEC and on the editorial board of the *American Journal of Neuroradiology* and *Neuroradiology*, and has received speaker honoraria from Bayer Schering Pharma, Sanofi-Aventis, Bracco, Merck Serono, Teva Pharmaceutical Industries Ltd. and Biogen Idec. Also, AR receives research support from Bayer Schering Pharma and serves as a consultant for Novartis. XM received speaking honoraria and travel expenses for scientific meetings, plus has been a steering committee member for clinical trials or participated in clinical trial advisory boards in the past, with Bayer Schering Pharma, Biogen Idec, EMD Merck Serono, Genentech, Genzyme, Novartis, Sanofi-Aventis, Teva Pharmaceuticals and Almirall.

Funding

This research received no specific grant from any funding agency in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

References

1. Bermel RA and Bakshi R. The measurement and clinical relevance of brain atrophy in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2006; 5: 158–170.

2. De Stefano N, Battaglini M and Smith SM. Measuring brain atrophy in multiple sclerosis. *J Neuroimag* 2007; 17: 10S–15S.
3. Rudick RA. Impact of disease-modifying therapies on brain and spinal cord atrophy in multiple sclerosis. *J Neuroimag* 2004; 14: 54S–64S.
4. Zivadinov R, Reder AT, Filippi M, et al. Mechanisms of action of disease-modifying agents and brain volume changes in multiple sclerosis. *Neurol* 2008; 71: 136–144.
5. Miller DH, Soon D, Fernando KT, et al. MRI outcomes in a placebo-controlled trial of natalizumab in relapsing MS. *Neurol* 2007; 68: 1390–1401.
6. Holmen C, Piehl F, Hillert J, et al. A Swedish national post-marketing surveillance study of natalizumab treatment in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2011; 17: 708–719.
7. Horga A, Castillo J, Rio J, et al. An observational study of the effectiveness and safety of natalizumab in the treatment of multiple sclerosis. *Rev Neurol* 2011; 52: 321–330.
8. Mancardi GL, Tedeschi G, Amato MP, et al. Three years of experience: The Italian registry and safety data update. *Neurol Sci* 2011; 31: 295–297.
9. Oturai AB, Koch-Henriksen N, Petersen T, et al. Efficacy of natalizumab in multiple sclerosis patients with high disease activity: A Danish nationwide study. *Eur J Neurol* 2009; 16: 420–423.
10. Putzki N, Yaldizli O, Buhler R, et al. Natalizumab reduces clinical and MRI activity in multiple sclerosis patients with high disease activity: Results from a multicenter study in Switzerland. *Eur Neurol* 2010; 63: 101–106.
11. Sangalli F, Moiola L, Bucello S, et al. Efficacy and tolerability of natalizumab in relapsing–remitting multiple sclerosis patients: A post-marketing observational study. *Neurol Sci* 2011; 31: 299–302.
12. Putzki N, Yaldizli O, Maurer M, et al. Efficacy of natalizumab in second line therapy of relapsing–remitting multiple sclerosis: Results from a multi-center study in German speaking countries. *Eur J Neurol* 2010; 17: 31–37.
13. European Medicines Agency. Product information of natalizumab. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000603/WC500044686.pdf. Last accessed: October 2012.
14. Smith SM, De Stefano N, Jenkinson M, et al. Normalized accurate measurement of longitudinal brain change. *J Comput Assist Tomogr* 2001; 25: 466–475.
15. Ashburner J and Friston KJ. Voxel-based morphometry—the methods. *Neuroimage* 2000; 11: 805–821.
16. Compston A and Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet* 2002; 359: 1221–1231.
17. Fisher E, Rudick RA, Simon JH, et al. Eight-year follow-up study of brain atrophy in patients with MS. *Neurol* 2002; 59: 1412–1420.
18. Simon JH, Jacobs LD, Campion MK, et al. A longitudinal study of brain atrophy in relapsing multiple sclerosis. *Neurol* 1999; 53: 139–148.
19. Richert ND, Howard T, Frank JA, et al. Relationship between inflammatory lesions and cerebral atrophy in multiple sclerosis. *Neurol* 2006; 66: 551–556.
20. Trapp BD, Peterson J, Ransohoff RM, et al. Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N Engl J Med* 1998; 338: 278–285.
21. De Stefano N, Narayanan S, Francis SJ, et al. Diffuse axonal and tissue injury in patients with multiple sclerosis with low cerebral lesion load and no disability. *Arch Neurol* 2002; 59: 1565–1571.
22. Chard DT, Brex PA, Ciccarelli O, et al. The longitudinal relation between brain lesion load and atrophy in multiple sclerosis: A 14-year followup study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003; 74: 1551–1554.
23. Saindane AM, Ge Y, Udupa JK, et al. The effect of gadolinium-enhancing lesions on whole brain atrophy in relapsing–remitting MS. *Neurol* 2000; 55: 61–65.
24. Hardmeier M, Wagenpfeil S, Freitag P, et al. Rate of brain atrophy in relapsing MS decreases during treatment with IFNbeta-1a. *Neurol* 2005; 64: 236–240.
25. Cheriyan J, Kim S, Wolansky LJ, et al. Impact of inflammation on brain volume in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2012; 69: 82–88.
26. Sastre-Garriga J, Ingle GT, Chard DT, et al. Grey and white matter volume changes in early primary progressive multiple sclerosis: A longitudinal study. *Brain* 2005; 128: 1454–1460.
27. Tiberio M, Chard DT, Altmann DR, et al. Gray and white matter volume changes in early RRMS: A 2-year longitudinal study. *Neurol* 2005; 64: 1001–1007.
28. Calabrese M, Bernardi V, Atzori M, et al. Effect of disease-modifying drugs on cortical lesions and atrophy in relapsing–remitting multiple sclerosis. *Mult Scler* 2012; 18: 418–424.
29. Zivadinov R, Locatelli L, Cookfair D, et al. Interferon beta-1a slows progression of brain atrophy in relapsing–remitting multiple sclerosis predominantly by reducing gray matter atrophy. *Mult Scler* 2007; 13: 490–501.

PACIENTES TRATADOS CON INTERFERÓN BETA

Brain Volume Loss during the First Year of Interferon-Beta Treatment: Baseline Inflammation and Tissue-Specific Volume Dynamics

Angela Vidal-Jordana, Jaume Sastre-Garriga, Francisco Pérez-Miralles, Deborah Pareto, Jordi Rio, Cristina Auger, Mar Tintoré, Alex Rovira, Xavier Montalban

From the Department of Neurology-Neuroimmunology and Multiple Sclerosis Centre of Catalonia (Cemcat) (AV-J, JS-G, FP-M, JR, MT, XM); Magnetic Resonance Unit, Radiology Department, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain (DP, CA, AR).

ABSTRACT

OBJECTIVE: A pseudoatrophy effect, mostly affecting white matter, can be observed in patients with multiple sclerosis (MS) early on natalizumab therapy. We aimed to investigate whether a similar pattern could be found after interferon-beta treatment onset.

METHODS: From a prospective, ongoing cohort, 123 patients treated with interferon-beta were included. A brain MRI was performed at baseline (3 months prior) and 12 months after therapy onset in all patients. SPM8 software was used for volumetric analysis. Brain parenchymal, gray and white matter volumes at baseline and follow-up were obtained, allowing calculation of percentage of volume changes (BVC, GMVc, and WMVc, respectively). Descriptive statistics and linear regression models were performed.

RESULTS: Eighty-four patients were analyzed (39 patients were excluded mostly due to incomplete MRI protocol or segmentation errors); baseline mean age was 33.6 years (SD 8.7), median disease duration was 2.8 years (.3-14), and median EDSS was 1.5 (0-6). Forty-nine patients (58.3%) had baseline gadolinium-enhancing (Gd+) lesions with a median number of 1 (0-18). The regression analysis (adjusted by the number of Gd+ at follow-up MRI, age, disease duration, and baseline EDSS) showed that a higher baseline number of Gd+ lesions was predictive of larger decreases in BVC and WMVc ($P = .013$ and $P = .003$, respectively) but not GMVc ($P = .777$).

CONCLUSION: Concurrent inflammation has an impact on brain volume measurements (especially white matter) during the first year of interferon-beta therapy, and should be taken into account when interpreting early brain volume changes on therapy.

Keywords: Multiple sclerosis, interferon treatment, brain atrophy, pseudoatrophy.

Acceptance: Received November 18, 2015, and in revised form January 10, 2016. Accepted for publication January 12, 2016.

Correspondence: Address correspondence to Jaume Sastre-Garriga Department of Neurology-Neuroimmunology and Multiple Sclerosis Centre of Catalonia. E-mail: jsastre-garriga@cem-cat.org.

Disclosures:

AVJ reports speaking honoraria and consulting services from Biogen, Serono Symposia, Novartis, and Sanofi-Aventis. JSG has received compensation for serving on scientific advisory boards or in speaker's bureaus from Biogen, Merck-Serono, Novartis, Teva, Almirall, and Genzyme. He serves in the editorial board of Multiple Sclerosis Journal. FPM reports speaking honoraria and consulting services from Almirall, Bayer-Schering, Biogen, Genzyme, Merck-Serono, Novartis, Roche, Sanofi-Aventis, and Teva, outside the submitted work. DP has received speaking honoraria from Novartis and Genzyme. JR has received speaking honoraria and personal compensation for participating on advisory boards from Almirall, Bayer-Schering Healthcare, Biogen-Idec, Genzyme, Merck-Serono, Novartis, Teva, and Sanofi. CA reports speaking honoraria from Novartis, Biogen, and Stendhal. MT has received compensation for consulting services and speaking honoraria from Bayer-Schering, Merck-Serono, Biogen-Idec, Teva, Sanofi, Genzyme, Almirall, Roche, and Novartis. AR serves on scientific advisory boards for Biogen Idec, Novartis, Genzyme, and OLEA Medical, and on the editorial board of the American Journal of Neuroradiology and Neuroradiology, has received speaker honoraria from Bayer, Genzyme, Sanofi-Aventis, Bracco, Merck-Serono, Teva Pharmaceutical Industries Ltd, OLEA Medical, Stendhal, Novartis, and Biogen Idec, and has research agreements with Siemens AG. XM has received speaking honoraria and travel expenses for participation in scientific meetings, has been a steering committee member of clinical trials or participated in advisory boards of clinical trials in the past years with Actelion, Almirall, Bayer, Biogen, Genzyme, Merck, Novartis, Octapharma, Receptos, Roche, Sanofi-Genzyme, Teva, and Trophos.

Funding: There is no grant support for this research.

J Neuroimaging 2016;00:1-7.
DOI: 10.1111/jon.12337

Introduction

Brain volume loss measured by magnetic resonance imaging (MRI), a surrogate marker for neurodegeneration, is related to physical disability in patients with multiple sclerosis (MS).¹ Therefore, in recent years, brain volume loss has become a relevant outcome in MS clinical trials,² and some

of the disease-modifying drugs now available for treating patients with MS have been shown to reduce brain volume loss to a certain degree.³⁻⁸ However, because of the pseudoatrophy phenomenon (defined as brain volume loss due to resolution of ongoing inflammation), the absence of a beneficial treatment effect on brain volume measurements can be

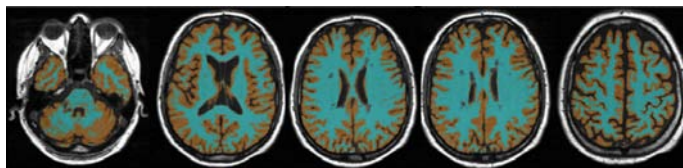


Fig 1. White and gray matter segmentations outputs. White (blue) and gray (orange) matter segmentations, overlaid onto the original MRI, obtained using the Statistical Parametric Mapping 8 software.

difficult to interpret.² Understanding this phenomenon in patients starting any disease-modifying therapy may help to better elucidate treatment effects on brain volume loss. Recently, we have studied a cohort of patients treated with natalizumab to assess the effect of baseline inflammation, as manifested by the presence of gadolinium (Gd)-enhancing lesions, on brain volume dynamics.⁹ We have shown that brain volume loss occurring during the first year of natalizumab therapy is mainly due to white matter volume changes and that both global and white matter volume decreases on therapy are associated with the presence of baseline pretreatment MRI inflammatory activity.⁹ In patients treated with interferon-beta, brain volume studies have shown increased rates of brain volume loss in the first months after therapy initiation,¹⁰⁻¹² especially involving white matter volume loss,¹² but, to the best of our knowledge, no study has focused on the differential impact of baseline inflammation in gray and white matter volume changes under interferon therapy. With this work, we aimed to: (1) assess global and tissue-specific brain volume changes occurring after interferon-beta treatment onset (2) and whether these changes are related to baseline inflammation in order to confirm or refute whether the pseudoatrophy phenomenon occurring on this therapy is mostly due to white matter volume loss as described in patients treated with natalizumab.

Material and Methods

Patients

From a prospective cohort including all consecutive relapsing-remitting MS (RRMS) patients starting on interferon-beta treatment as a first-line therapy at the Multiple Sclerosis Centre of Catalonia (Vall d'Hebron University Hospital, Barcelona), we selected our sample according to the following inclusion criteria: (1) brain MRI performed within 3 months prior and 12 months after treatment onset and (2) no previous use of any other therapy for treating MS. For the purpose of this analysis, only patients starting interferon-beta treatment between June 2001 and April 2004 were included. The main characteristics and clinical follow-up of this cohort have been recently published.¹³ For the purpose of this analysis, 4 groups were defined based on the presence or absence of baseline and follow-up Gd-enhancing lesions: (A) patients without baseline Gd-enhancing lesions and with follow-up Gd-enhancing lesions, (B) patients with baseline and follow-up Gd-enhancing lesions, (C) patients with no baseline and no follow-up Gd-enhancing lesions, and (D) patients with baseline Gd-enhancing lesions and no follow-up Gd-enhancing lesions. This study

Table 1. Baseline Demographic and Clinical Characteristics

	<i>n</i> = 84
Age at treatment onset (mean; SD)	33.6 (8.7)
Gender (female) (<i>n</i> ; %)	68 (81)
Disease duration (years) (median; range)	2.8 (0.27-14.37)
Patients with Gd-enhancing lesions (<i>n</i> ; %)	49 (58.3)
Gd-enhancing lesions (median; range)	1 (0-18)
Annualized relapse rate ^a (median; range)	1.5 (1-3.5)
Baseline EDSS score (median; range)	1.5 (0-6)

Gd = gadolinium; SD = standard deviation; EDSS = expanded disability status scale.

^aAnnualized relapse rate for the 2 years previous to treatment onset.

received approval from the local ethical committee and patients signed written informed consent.

MRI Acquisition and Analysis

Patients underwent MRI examinations at baseline (within 3 months before) and 12 months after treatment onset (follow-up MRI). All MR images were acquired on a Siemens 1.5-T scanner with a standard head coil and included the following pulse sequences: transverse proton density- and T2-weighted fast spin-echo (repetition time [TR] 3,000 ms/echo time [TE] 14-85 ms/number of excitations [NEX] 2) and unenhanced and contrast-enhanced (.1 mmol/kg; imaging delay, 5 minute) T1-weighted spin-echo (TR 600 ms/TE 15 ms/NEX 2). For both sequences, we used contiguous 3 mm slice thickness covering the whole brain. An MS specialized neuroradiologist visually assessed the number of Gd-enhancing lesions at the baseline and follow-up MRI scans. The Statistical Parametric Mapping 8 (SPM8) software, a suite of MATLAB,¹⁴ was used to segment global, white, and gray matter brain volumes at baseline and at 1-year unenhanced T1-weighted MRI scans, allowing calculation of percentage changes for each measure (brain volume change [BVc], gray matter volume change [GMVc], and white matter volume change [WMVc], respectively; Fig 1). T1 lesion masks were created by a trained technician; these masks were used during the segmentation process to avoid misclassification of focal white matter lesions as gray matter. Finally, scans presenting with relevant segmentation inaccuracies on visual inspection were discarded (in most cases, this was due to cerebrospinal fluid missegmentation).

Statistical Analysis

We used the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS program, Chicago, Illinois) to analyze clinical and demographic data. All variables except for disease duration, Gd-enhancing lesions, and the Kurtze expanded disability status scale (EDSS)

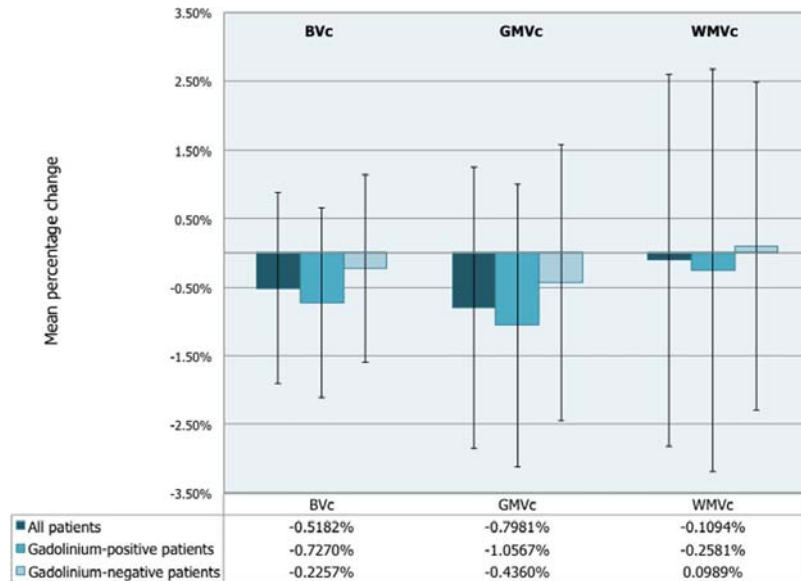


Fig 2. Brain volume dynamics during the first year of interferon treatment for the whole cohort and according to the presence of baseline Gd-enhancing lesions. Brain volume losses were statistically significant for the whole cohort (BVc $P = .001$, GMVc $P = .001$, and WMVc $P = .712$); although changes were more marked for patients with baseline Gd-enhancing lesions, this difference did not reach statistical significance (BVc -0.72% [SD 1.39%] vs. -0.22% [SD 1.37%], $P = .104$; GMVc: -1.05% [SD 2.06%] vs. -0.44% [SD 2.01%], $P = .173$; and WMVc -0.26% [SD 2.93%] vs. 0.09% [SD 2.39%], $P = .555$). BVc: brain volume percentage change; GMVc: gray matter volume percentage change; WMVc: white matter volume percentage change; Gd: gadolinium. Bars represent 1 standard deviation.

followed a normal distribution. A 1-sample Student's t -test was used to analyze changes in BVc, GMVc, and WMVc for the whole cohort and in the 4 previously defined groups. A Student's t -test for independent samples was used to compare the different brain volume measures between groups. To study the influence of baseline MRI inflammation in brain volume dynamics, 2 models of multivariate linear regression analysis were performed using BVc, GMVc, and WMVc as dependent variables. In the first model, baseline and follow-up number of Gd-enhancing lesions were included as independent variables. In the second model, other variables that could be related to brain volume changes such as age and disease duration were also included as independent variables. Statistical significance was set at $P < .05$.

Results

One-hundred and twenty-three patients were included in the study; 19 patients had an incomplete MRI protocol and/or sub-optimal imaging quality for volumetric analysis on any of the 2 time-points (baseline or follow-up MRI) and were, therefore, excluded from the analysis. Thus, a final cohort of 105 patients was included in the volumetric analysis; 19 patients were excluded due to segmentation inaccuracies and 2 patients due to outlier values in baseline Gd counts (30 and 68 Gd-enhancing lesions, respectively, representing more than 2 SD above the mean), leading to a final cohort of 84 patients. Baseline de-

mographic and clinical characteristics are detailed in Table 1. Forty-nine patients (58.3%) had baseline Gd-enhancing lesions with a median number of 1 (range 0-18). Sixteen patients (19%) had Gd-enhancing lesions in the follow-up MRI with a median number of 0 (range 0-4).

Brain Volume Changes during the First Year of Therapy

For the whole cohort, mean BVc, GMVc, and WMVc during the first year were -0.52% (SD 1.39%; $P = .001$), -0.79% (SD 2.05%; $P = .001$), and -0.11% (2.71%; $P = .712$), respectively (Fig 2). Global, gray, and white matter volume loss occurred at a higher rate among patients with baseline Gd-enhancing lesions, although this numerical difference did not reach statistical significance (Fig 2). When analyzing brain volume dynamics in the 4 defined groups (based in the presence or absence of baseline and follow-up Gd-enhancing lesions), we found that patients with Gd-enhancing lesions at 12 months (groups A and B; $n = 16$) presented a slight increase in WMVc, especially in patients who turned to have Gd-enhancing lesions during the follow-up (group A; Fig 3). On the other hand, for patients without Gd-enhancing lesions at 12 months (groups C and D, $n = 68$), the rate of WMVc loss was greater in patients having baseline inflammation (group D; Fig 3) although this difference was not statistically significant. As for gray matter dynamics, all 4 groups presented GMVc decreases regardless of baseline and follow-up MRI inflammation (Fig 4).

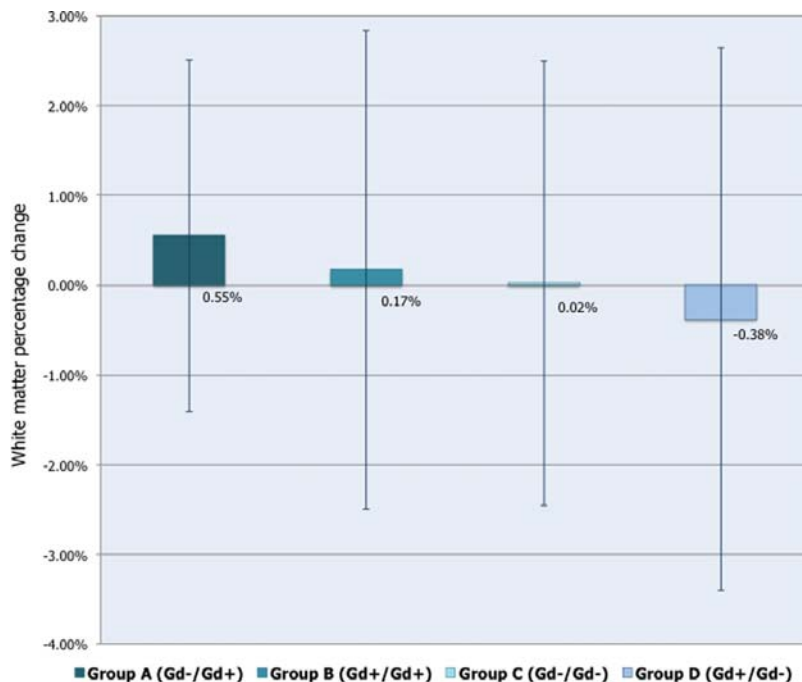


Fig 3. White matter volume dynamics during the first year of interferon treatment for the different subgroups according to baseline and follow-up Gd-enhancing status. Groups A and B: For patients presenting Gd-enhancing lesions at 12 months, a slight increase in white matter volume in patients who turned from a Gd-negative to a Gd-positive MRI compared to those with persistence of Gd-positive lesions was observed (.55% [(SD 1.93%) vs. .17% [SD 2.67%]], although it did not reach statistical significance. Groups C and D: For patients without Gd-enhancing lesions at 12 months, white matter volume decrease was numerically greater in patients with baseline Gd-enhancing lesions (-.38% [SD 3.02%] vs. .02% [SD 2.47%], n.s.). Gd+: presence of Gd-enhancing lesions; Gd-: absence of Gd-enhancing lesions; n.s.: not significant. Bars represent 1 standard deviation

Regression Analyses Models

In the first multivariate regression analysis, after controlling by the number of Gd-enhancing lesions in the follow-up MRI, the number of baseline Gd-enhancing lesions significantly predicted BVc and WMVc ($P = .007$ and $P = .004$, respectively), but not GMVc ($P = .694$; Table 2). This association remained significant in the second multivariate regression analysis including in the model age and disease duration (Table 2).

Discussion

With this work, we have confirmed our previous findings in a natalizumab-treated cohort⁹ indicating that brain volume loss occurring during the first year of interferon-beta therapy is dependent on the magnitude of baseline inflammatory activity as measured by the number of Gd-enhancing lesions and is fundamentally due to white matter volume loss.

In RRMS patients, larger brain volume losses occurring shortly after interferon-beta therapy onset have been described both in clinical trials^{10-12, 15} (compared to placebo) as well as in 2 open-label studies^{16, 17} (analyzing brain volume change

dynamics in long-term follow-up cohorts). A recent work,¹² using the intramuscular interferon-beta phase III trial cohort, evaluated not only global but also tissue-specific brain volume dynamics occurring under interferon therapy. During the first year of treatment, gray matter loss was similar between interferon and placebo groups but a trend toward a greater white matter loss in interferon-treated patients was observed, suggesting that the early accelerated brain volume loss occurring after treatment onset was mostly due to white matter loss.¹² Only 2 studies have analyzed the concurrent relationship between global brain volume loss and Gd volume loss under interferon therapy.^{10, 11} While the first study found no clear association between these 2 parameters,¹⁰ the second one found a clear drop in Gd volume that paralleled brain volume loss.¹¹ In this work, we have focused on the effect of baseline inflammation, as measured by the number of Gd-enhancing lesions, on global and tissue-specific brain volume dynamics during the first year of therapy. Because a non-negligible proportion of patients still had Gd-enhancing lesions in the follow-up MRI (19%), we controlled the analysis for this variable so that we account only for the effect of baseline inflammation in brain volume changes.

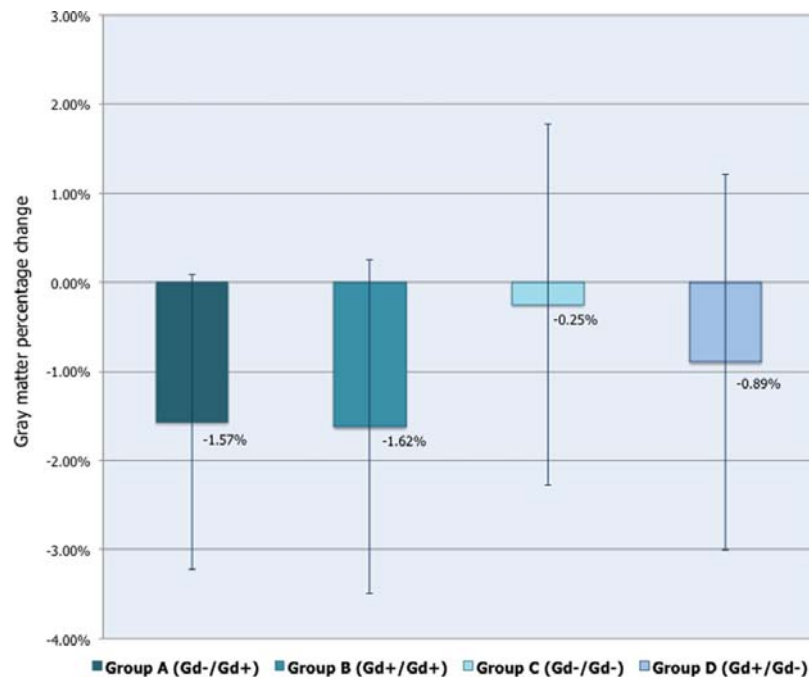


Fig 4. Gray matter volume dynamics during the first year of interferon treatment for the different subgroups according to baseline and follow-up Gd-enhancing status. A decrease in gray matter volume loss was observed in all 4 groups, regardless of baseline or follow-up MRI inflammation status. No significant differences between the 4 groups were observed: group A and B: -1.57% (SD 1.65%) vs. -1.62% (SD 1.87%), respectively, n.s.; and group C and D: -0.25% (SD 2.02%) vs. -0.89% (SD 2.11%), respectively, n.s. Gd+: presence of Gd-enhancing lesions; Gd-: absence of Gd-enhancing lesions; n.s.: not significant. Bars represent 1 standard deviation.

After treatment onset, white matter volume loss seemed to be greater in patients in whom baseline inflammation was resolved (turned to not having Gd-enhancing lesions in the follow-up brain MRI). Moreover, white matter volume increased in patients presenting the opposite situation (switching to have Gd-enhancing lesions in the follow-up MRI), most prominently in those with no baseline Gd-enhancing lesions. As expected, and similar to what has been reported in the literature,¹⁸ patients with a more severe disease (measured by the presence of brain inflammation at any point) showed a greater rate of gray matter volume loss (Fig 4). Thus, patients with baseline and/or follow-up Gd-enhancing lesions had the largest percentage of gray as well as global brain volume loss, which occurred independently of baseline inflammation. Although mean differences of brain volume changes between groups did not reach statistical significance, this was most probably due to the small number of patients in each group (A to D) as well as the high standard deviation of brain volumes measures. When using lineal regression models for predicting brain volume dynamics after treatment onset, we found that, similar to what was previously reported by our group in natalizumab-treated patients,⁹ and more recently in the subgroup analysis of the TRANSFORMS clinical trial,¹⁹ the presence of baseline inflammation significantly predicted

both global and white matter but not gray matter volume loss, being that the higher rates of brain volume loss observed during the first months after therapy onset are mainly due to white matter volume loss. Thus, global brain volume changes (such as BVC in our study) seem to be a less specific measure for understanding the processes underlying brain atrophy in MS patients as they can be altered by inflammation. As a consequence, it may be advised that any attempt to use brain volume changes as a surrogate of interferon-beta treatment response should include Gd enhancement as a covariable; mostly if white matter volume changes are to be considered. Conversely, gray matter volume changes do not appear to be affected by the pseudoatrophy phenomenon (possibly indicating distinct neuropathological processes)¹⁸ and, thus, such caution does not seem to be necessary. This fact may be particularly relevant, as gray matter damage has been related with clinical disability as well as with cognitive impairment.^{20,21}

Larger brain volume decreases during the first months after instauration of anti-inflammatory therapy have been attributed to a pseudoatrophy phenomenon. This situation is thought not to be a consequence of real tissue loss but to a loss of brain water content due to resolution of the ongoing inflammation immediately before therapy onset.²² A possible limitation of our

Table 2. Linear Regression Models with Brain Volume Changes as Dependent Variables

	Standardized Beta Coefficient	P Value
First model of multivariate regression analysis		
Dependent: percentage of brain volume change		
Baseline number Gd-enhancing lesions	-.295	.007
Follow-up number Gd-enhancing lesions	-	n.s.
Dependent: percentage of GM volume change		
Baseline number Gd-enhancing lesions	-	n.s.
Follow-up number Gd-enhancing lesions	-	n.s.
Dependent: percentage of WM volume change		
Baseline number Gd-enhancing lesions	-.308	.004
Follow-up number Gd-enhancing lesions	-	n.s.
Second model of multivariate regression analysis		
Dependent: percentage of brain volume change		
Age (years)	-	n.s.
Disease duration (years)	-	n.s.
Baseline number Gd-enhancing lesions	-.305	.008
Follow-up number Gd-enhancing lesions	-	n.s.
Dependent: percentage of GM volume change		
Age (years)	-	n.s.
Disease duration (years)	-	n.s.
Baseline number Gd-enhancing lesions	-	n.s.
Follow-up number Gd-enhancing lesions	-	n.s.
Dependent: percentage of WM volume change		
Age (years)	-	n.s.
Disease duration (years)	-	n.s.
Baseline number Gd-enhancing lesions	-.360	.002
Follow-up number Gd-enhancing lesions	-	n.s.

GM = gray matter; WM = white matter; n.s. = not significant.

study is that, although it reinforces a relationship between early brain volume loss and baseline inflammation, it does not allow confirming or refuting the absence of real tissue damage. Other more pathologically specific MR imaging techniques such as diffusion tensor imaging, proton spectroscopy, or magnetization transfer ratio (MTR) may be able to better delineate the true nature of this phenomenon. Along these lines, corticosteroid treatment has demonstrated to produce a short-term brain volume loss with an increase in MTR values, suggesting that the early decrease in brain volume after a potent anti-inflammatory therapy may be due to a decrease in water content that is not followed by real tissue damage.²³ To date, some works evaluating the effect of different disease-modifying drugs on MTR measures have been published;²⁴⁻²⁶ however, none of these studies have assessed together both brain volume and MTR measures and therefore, the results on corticosteroid treatment have not been replicated with other MS treatments. Our study is also limited by the lack of a control group, and thus we cannot rule out that part of the changes observed is due to a regression to the mean effect. In fact, similar findings have been observed in untreated cohorts of patients with a different clinical phenotype.²⁷ Another limitation of our study is the lack of a more frequent MRI examination, which would have provided a better insight into the early dynamics of the pseudoatrophy phenomenon. In this regard, brain volume changes obtained with only 2 time-points, as is the case of our study, may be not only due to the pseudoatrophy effect but also to different disease mechanisms. However, despite the long period between the 2 time-points, we have been able to demonstrate that baseline inflammation has an impact on first year brain volume dynamics; this effect may have been more pronounced if an earlier follow-up brain MRI could have been used. Finally, some methodological issues should be also pointed out as possible limitations of our

study. First, the thickness of the T1-images slices used for volumetric analysis may reduce the accuracy and reproducibility of atrophy measurements. Second, baseline total lesion volume (which may explain part of the brain volume loss observed), was not calculated and therefore, it was not included the lineal regression analysis. Last, registration techniques (ie, SIENA) are known to be more robust for the purpose of longitudinal analyses than the SPM-based cross-sectional segmentations utilized in this study, but they do not provide gray and white matter volume estimates; future studies will incorporate recently published approaches to obtain a direct estimate of longitudinal GM and WM changes.^{28,29} In any case, PBVC for the first year was also obtained using SIENA software, and it behaved similarly to what we have reported for BVC (data not shown).

In conclusion, we have confirmed, in an independent cohort of interferon-beta-treated patients, that baseline inflammation, as estimated by the number of Gd-enhancing lesions, affects brain volume dynamics during the first year of interferon therapy mostly due to white matter volume loss. Conversely, gray matter volume loss seems to be more pronounced but it is not affected by the pseudoatrophy phenomenon. Baseline inflammation has to be taken into account when interpreting early global or white matter brain volume changes on therapy.

References

1. Bermel RA, Bakshi R. The measurement and clinical relevance of brain atrophy in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2006;5(2):158-70.
2. Zivadinov R, Stosic M, Cox JL, et al. The place of conventional MRI and newly emerging MRI techniques in monitoring different aspects of treatment outcome. *J Neurol* 2008;255(Suppl 1):61-74.
3. Filippi M, Rovaris M, Inglesse M, et al. Interferon beta-1a for brain tissue loss in patients at presentation with syndromes suggestive of

- multiple sclerosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2004;364(9444):1489-96.
4. Kappos L, Radue EW, O'Connor P, et al. A placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2010;362(5):387-401.
 5. Cohen JA, Barkhof F, Comi G, et al. Oral fingolimod or intramuscular interferon for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2010;362(5):402-15.
 6. Coles AJ, Twyman CL, Arnold DL, et al. Alemtuzumab for patients with relapsing multiple sclerosis after disease-modifying therapy: a randomised controlled phase 3 trial. *Lancet* 2012;380(9856):1829-39.
 7. Cohen JA, Coles AJ, Arnold DL, et al. Alemtuzumab versus interferon beta 1a as first-line treatment for patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: a randomised controlled phase 3 trial. *Lancet* 2012;380(9856):1819-28.
 8. Comi G, Jeffery D, Kappos L, et al. Placebo-controlled trial of oral laquinimod for multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2012;366(11):1000-9.
 9. Vidal-Jordana A, Sastre-Garriga J, Pérez-Miralles F, et al. Early brain pseudoatrophy while on natalizumab therapy is due to white matter volume changes. *Mult Scler J* 2013;19(9):1175-81.
 10. Rudick RA, Fisher E, Lee JC, et al. Brain atrophy in relapsing multiple sclerosis: relationship to relapses, EDSS, and treatment with interferon -1a. *Mult Scler* 2000;6(6):365-72.
 11. Hardmeier M, Wagenpfeil S, Freitag P, et al. Rate of brain atrophy in relapsing MS decreases during treatment with IFN -1a. *Neurology* 2005;64(2):236-40.
 12. Fisher E, Nakamura K, Lee JC, et al. Effect of intramuscular interferon beta-1a on gray matter atrophy in relapsing-remitting multiple sclerosis: a retrospective analysis. *Mult Scler J* 2015;pii:1352458515599072. [Epub ahead of print]
 13. Pérez-Miralles FC, Sastre-Garriga J, Vidal-Jordana A, et al. Predictive value of early brain atrophy on response in patients treated with interferon β . *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2015;2(4):e132.
 14. Ashburner J, Friston KJ. Voxel-based morphometry—the methods. *NeuroImage* 2000;11(6):805-21.
 15. Kappos L, Traboulsee A, Constantinescu C, et al. Long-term subcutaneous interferon beta-1a therapy in patients with relapsing-remitting MS. *Neurology* 2006;67(6):944-53.
 16. Paolillo A, Pozzilli C, Giugni E, et al. A 6-year clinical and MRI follow-up study of patients with relapsing-remitting multiple sclerosis treated with interferon-beta. *Eur J Neurol* 2002;9(6):645-55.
 17. Frank JA, Richert N, Bash C, et al. Interferon-1b slows progression of atrophy in RRMS: three-year follow-up in NAb- and NAb+ patients. *Neurology* 2004;62(5):719-25.
 18. Geurts JJ, Calabrese M, Fisher E, et al. Measurement and clinical effect of grey matter pathology in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2012;11(12):1082-92.
 19. Barkhof F, de Jong R, Sfikas N, et al. The influence of patient demographics, disease characteristics and treatment on brain volume loss in Trial Assessing Injectable Interferon vs FTY720 Oral in Relapsing–Remitting Multiple Sclerosis (TRANSFORMS), a phase 3 study of fingolimod in multiple sclerosis. *Mult Scler J* 2014;20(13):1704-13.
 20. Fisniku LK, Chard DT, Jackson JS, et al. Gray matter atrophy is related to long-term disability in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2008;64(3):247-54.
 21. Amato MP, Bartolozzi ML, Zipoli V, et al. Neocortical volume decrease in relapsing-remitting MS patients with mild cognitive impairment. *Neurology* 2004;63(1):89-93.
 22. Zivadinov R, Reder AT, Filippi M, et al. Mechanisms of action of disease-modifying agents and brain volume changes in multiple sclerosis. *Neurology* 2008;71(2):136-44.
 23. Fox RJ, Fisher E, Tkach J, et al. Brain atrophy and magnetization transfer ratio following methylprednisolone in multiple sclerosis: short-term changes and long-term implications. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl* 2005;11(2):140-5.
 24. Zivadinov R, Dwyer MG, Markovic-Plese S, et al. Effect of treatment with interferon beta-1a on changes in voxel-wise magnetization transfer ratio in normal appearing brain tissue and lesions of patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: a 24-week, controlled pilot study. *PLoS One* 2014;9(3):e91098.
 25. Zivadinov R, Dwyer MG, Hussein S, et al. Voxel-wise magnetization transfer imaging study of effects of natalizumab and IFN β -1a in multiple sclerosis. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl* 2012;18(8):1125-34.
 26. Arnold DL, Gold R, Kappos L, et al. Magnetization transfer ratio in the delayed-release dimethyl fumarate DEFINE study. *J Neurol* 2014;261(12):2429-37.
 27. Sastre-Garriga J, Ingle GT, Chard DT, et al. Grey and white matter volume changes in early primary progressive multiple sclerosis: a longitudinal study. *Brain J Neurol* 2005;128(Pt 6):1454-60.
 28. Nakamura K, Guizard N, Fonov VS, et al. Jacobian integration method increases the statistical power to measure gray matter atrophy in multiple sclerosis. *NeuroImage Clin* 2014;4:10-7.
 29. Dwyer MG, Bergsland N, Zivadinov R. Improved longitudinal gray and white matter atrophy assessment via application of a 4-dimensional hidden Markov random field model. *NeuroImage* 2014;90:207-17.

ARTÍCULO DE REVISIÓN:

**EFFECTO DE LOS TRATAMIENTOS PARA LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE
REMITENTE-RECURRENTE SOBRE LA ATROFIA CEREBRAL**



Treating relapsing–remitting multiple sclerosis: therapy effects on brain atrophy

Angela Vidal-Jordana¹ · Jaume Sastre-Garriga¹ · Alex Rovira² · Xavier Montalban¹

Received: 18 March 2015 / Revised: 22 May 2015 / Accepted: 25 May 2015
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015

Abstract Multiple sclerosis (MS) is an immune-mediated disease of the central nervous system with a complex and heterogeneous pathology that may ultimately lead to neurodegeneration and brain atrophy. Brain volume loss in MS is known to occur early in the disease course and to be clinically relevant, as it has been related to disability progression. Nowadays, brain volume loss is relatively easy to measure with different automated, reproducible and accurate software tools. Therefore, most of (if not all) the newest clinical trials have incorporated brain volume outcomes as a measure of treatment effect. With this review, we aimed to update and summarize all existing data regarding brain volume and RRMS treatment in clinical trials as well as in open-label observational studies of drugs with positive results in its primary outcome in at least one phase III trial as of March 2014.

Keywords Brain atrophy · MS therapy · Interferon · Monoclonal · Oral

Introduction

Multiple sclerosis (MS) is an immune-mediated disease of the central nervous system with a complex and heterogeneous pathology consisting in a combination of inflammation,

demyelination, gliosis and axonal loss. These processes may ultimately lead to neurodegeneration, tissue damage and brain atrophy [1]. Brain atrophy is a common and early feature in MS patients; it occurs at an accelerated rate when compared with healthy controls, and it is clinically relevant as it has been related to disability [2, 3]. Current methods for measuring brain volume (BV) are usually automated softwares that either use a segmentation-based approach [such as the statistical parametric mapping (SPM) or SIENAX] for cross-sectional data or a registration-based approach (such as the structural imaging evaluation using normalization of atrophy—SIENA) for longitudinal analysis. BV measures yielded by the above-mentioned programs will be: percentage of BV change (PBVC) for the SIENA software, normalized BV (NBV) for SIENAX, and brain parenchymal fraction (BPF), grey matter fraction (GMF) and white matter fraction (WMF) for SPM software. These methodologies have gone through extensive testing and provide us now with an accurate, reproducible and efficient way of measuring in vivo this clinically relevant neurodegenerative process [4].

Thus, it is not surprising that recent clinical trials have incorporated BV outcomes as a measure of treatment effect [5]. A number of the disease modifying drugs available for MS patients, specially the newest ones, have shown to improve brain atrophy accrual when compared to placebo. In recent years, the amount of drugs released to the market for treating relapsing–remitting MS (RRMS) patients has grown considerably. In this review, we aimed to summarize all existing data regarding BV and RRMS treatment in clinical trials as well as in open-label observational studies of drugs with positive results in its primary outcome in at least one phase III trial as of March 2014. Most of the studies reported in this review have used the software packages mentioned above, with their respective measures, but in some, in-house software packages have been used.

✉ Jaume Sastre-Garriga
jsastre-garriga@cem-cat.org

¹ Department of Neurology-Neuroimmunology and Multiple Sclerosis Centre of Catalonia (Cemcat), Edifici Cemcat, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Universitat Autònoma de Barcelona, P. Vall d'Hebron 119-129, 08035 Barcelona, Spain

² Magnetic Resonance Unit, Radiology Department, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

Effect of therapies on BV: clinical trials data**Interferon beta**

Brain volume analysis in subcutaneous (sc) interferon beta (IFN- β) clinical trials on clinically isolated syndromes (CIS) patients, yielded contradictory results. Compared to placebo, patients treated with a weekly dose of 22 μ g sc IFN- β -1a in the ETOMS clinical trial, had a lower BV loss during the 2-year period analysed (PBVC: -1.18 versus -1.68 %; $p = 0.0031$) [6]. Surprisingly, the REFLEX clinical trial, evaluating the same IFN- β formulation, found no differences in BV loss over 2 years in patients receiving either weekly or three times a week high dose (44 μ g) of sc IFN- β -1a as compared to the placebo arm [7]. In fact, patients receiving the highest frequency of interferon treatment seemed to have the largest loss of BV during the 2-year period of observation [7]. As for the sc IFN- β -1b clinical trial, BV results were only reported at year 3 and 5 after inclusion to the study [8, 9]. The study showed no differences in BV loss when comparing early versus delayed treatment, but no strict comparison to placebo was carried out [8, 9] (Table 1a). BV data for intramuscular (im) IFN- β -1a in CIS patients is not available.

Regarding RRMS treatment, the pivotal trial of im IFN- β -1a was the first to report atrophy outcomes [10]: although no significant differences were noted during the first year of treatment, IFN- β -treated patients presented lower BV loss during the second year of treatment as compared to placebo (-0.23 % in IFN- β -treated patients versus -0.51 % in the placebo arm, $p = 0.03$). When comparing first and second year of treatment, BV loss occurred at a different rate in IFN- β -treated patients with a greater volume loss occurring in the first year of treatment while there was no difference in BV loss rate between the two 1-year periods in the placebo arm. Along these lines, the European dose comparison study [11] evaluated BV changes during the first 3 years after starting im IFN- β -1a yielding similar results: a higher decrease of BPF occurred during the first year of treatment with the largest BV loss taking place in the first 4 months of therapy (Tables 1b, 2). The authors of these two studies evaluated the presence of inflammation as a possible confounder of subsequent BV loss and results were only partially in agreement. In one of the studies a correlation between the number of gadolinium-enhancing lesions at baseline and in-trial BV loss was observed but no significant correlation was found between the in-trial change in gadolinium-enhancing lesion volume and in-trial BV loss. Whereas in the other study, the rate of BV loss during the first months of treatment was paralleled by a drop in the number of gadolinium-enhancing lesions [10, 11]. The PRISMS clinical trial, evaluating two doses of sc

IFN- β -1a versus placebo for treating RRMS patients, analysed BV measures in a long-term follow-up of up to 8 years [12]. Bearing in mind all the confounders inherent to these long-term designs, there were no differences in BV from baseline to last follow-up visit between all three arms. However, it is worth noting that, as previously described in the REFLEX CIS trial, during the double-blind phase (first 2 years) as well as when changing from placebo to active treatment in the open-label phase (from 2 to 4 years) BV loss was greater in the 44- μ g group. The two pivotal clinical trials of IFN- β -1a [10, 12] found that, independently of treatment allocation, patients presenting higher disability progression were also those having greater BV loss than patients who did not progress. Data regarding treatment effect on BV loss for sc IFN- β -1b clinical trials in RRMS has not been published.

Glatiramer acetate

Glatiramer acetate (GA) demonstrated its efficacy for treating CIS patients in the PRECISE clinical trial [13]. The primary analysis of brain MRI outcomes allowed a strict comparison with placebo as it was performed using only the scans obtained before presenting a second relapse; with this measure the authors tried to correct for the confounding factor of starting open-label therapy in patients with RRMS regardless of the original group in which they were allocated. Compared to placebo, GA failed to prove reduction in BV loss measured as PBVC (-0.38 versus -0.33 %) [13]. However, a pre-planned open-label analysis showed that early treatment with GA significantly reduced brain atrophy when compared to patients with delayed treatment onset adjusting for study exposure (-0.99 versus -1.28 %, $p = 0.021$) [14] (Table 1a).

The first report of GA effects on BV in RRMS was in a subcohort of patients participating in the GA US Trial; in this small cohort, GA significantly reduced the rate of BV loss in the 2-year treatment period [15]. The initial analysis of the European/Canadian GA trial, measuring BV on a central portion of the brain with a semi-automated segmentation technique, showed no differences between placebo and GA-treated patients [16]. A posterior assessment of the same trial but using the SIENA software, showed a protective effect of GA in BV decrease at the end of the observation period (18 months); this beneficial effect was mainly due to a reduction of BV loss during the open-label phase in early treated patients [17]. These differences were no longer held when evaluating BV loss at 5 years after study entry [18] (Tables 1b, 2). The FORTE trial that evaluated two doses of GA (20 versus 40 mg administered daily) found no differences in BV measures between low- and high-dose treatment arms [19].

Table 1 Effect of therapies on brain volume: randomized clinical trials

(a) Data on clinically isolated syndromes

Drug	Clinical trial	Characteristics	Measure ^a	Results ^{b,c}
IFN- β -1a	ETOMS	Phase III, $n = 166$, 2 years Weekly sc 22 μ g vs placebo	PBVC (SIENA)	30 % reduction in IFN- β -treated arm
	REFLEX	Phase III, $n = 517$, 2 years Weekly sc 44 μ g vs TIW sc 44 μ g vs placebo	PBVC (SIENA)	No significant differences
IFN- β -1b	BENEFIT	Phase III, $n = 468/n = 358$ Extension study at 3 and 5 years: early vs delayed Rx	PBVC (SIENA)	No significant differences between early or delayed Rx onset, no comparison with placebo
Glatiramer acetate	PRECISE	Phase III, $n = 481$, 2 years or LOV	PBVC (SIENA)	No significant differences (in the core study) 28 % reduction in early vs delayed Rx onset

(b) Data on relapsing–remitting multiple sclerosis

Drug	Clinical trial	Characteristics	Measure ^a	Results ^{b,c}
<i>Injectable therapies</i>				
Interferon beta 1a	AVONEX pivotal	Phase III, $n = 172$, 2 years im IFN- β vs placebo	BPF change	0–1 year: no significant differences 1–2 years: 55 % reduction in IFN-treated arm
	PRISMS	Phase III, $n = 382$, 6 years sc IFN- β -1a 44 μ g vs sc IFN- β -1a 22 μ g vs placebo 2 years, then open label	BPV change	BL to 6 years: no significant differences
Glatiramer acetate	Eur/Canadian GA Trial	Phase III, $n = 207$, 18 months/5 years GA vs placebo 9 months, then GA open-label	PBVC (SIENA)	0–9 months: no significant differences 9–18 months: 40 % reduction for early Rx 0–18 months: 25 % reduction in GA-treated arm 0–5 years: no significant differences in early vs delayed Rx
	US GA Trial FORTE	Phase III, $n = 27$ (subcohort), 2 years Phase III, $n = 980$, 1 years GA 20 vs 40 μ g	BPF change PBVC (SIENA)	77 % reduction in GA-treated arm No significant differences between two doses
Interferon and glatiramer acetate	REGARD	Phase III, $n = 460$, 2 years sc IFN- β -1a 44 μ g vs GA	PBVC (SIENA)	BL to 2 years: 13 % reduction in GA-treated arm BL to 1 year: 8 % reduction in GA-treated arm ^d 1–2 years: 22 % reduction in GA-treated arm ^d
	BEYOND	Phase III, $n = 2096$, 2 years sc IFN- β -1b 500 μ g vs sc IFN- β -1b 250 μ g vs GA	PBVC (SIENA)	BL to 2 years: no significant differences BL to 1 year: greater volume loss for IFN-treated arm ^e 1–2 years and 2–3 years: no significant differences
	COMBIRx	Phase III, $n = 1008$, 3 years im IFN- β -1a vs GA vs im IFN- β -1a+ GA	GMF, WMF, CSF change	No significant differences
<i>Oral drugs</i>				
Fingolimod	FREEDOMS	Phase III, $n = 1033$, 2 years FTY 0.5 mg vs FTY 1.25 mg vs placebo	PBVC (SIENA)	Overall, 30 % reduction in pooled FTY-treated arms
	TRANSFORMS	Phase III, $n = 1153$, 1 year FTY 0.5 mg vs FTY 1.25 mg vs im IFN- β -1a Phase III, $n = 799$, 1 year extension phase FTY 0.5 mg and FTY 1.25 mg open-label	PBVC (SIENA) PBVC (SIENA)	FTY 0.5 mg: 31 % reduction FTY 1.25 mg: 33 % reduction FTY 0.5 mg: 51 % reduction FTY 1.25 mg: 62 % reduction
	FREEDOMS II	Phase III, $n = 1033$, 2 years FTY 0.5 mg vs FTY 1.25 mg vs placebo	PBVC (SIENA)	Overall, 45 % reduction in FTY-treated arms

Table 1 continued

(b) Data on relapsing–remitting multiple sclerosis

Drug	Clinical trial	Characteristics	Measure ^a	Results ^{b,c}
Dimethyl-fumarate	DEFINE	Phase III, <i>n</i> = 540, 2 years Dimethyl-fumarate BID vs TID vs placebo	PBVC (SIENA)	6 months to 2 years: 30 % reduction in the BID dose arm, negative results for the TID dose
	CONFIRM	Phase III, <i>n</i> = 681, 2 years Dimethyl-fumarate BID vs TID vs placebo, GA as active comparator	PBVC (SIENA)	BL to 2 years: 30.2 % reduction in the BID dose arm (<i>p</i> = 0.064), negative results in the TID dose and GA arms BL to 1 year: no significant changes 1–2 years: 32.2 % reduction in the BID dose arm, 32.2 % in the TID dose arm (<i>p</i> = 0.075), 28.8 % reduction in the GA arm (<i>p</i> = 0.080)
Teriflunomide	TEMPO	Phase III, <i>n</i> = 1074, 2 years Teriflunomide 7 mg vs 14 mg vs placebo	BPF, GMF, WMF changes	BPF and GMF change: No significant differences WMF: 83 % (7 mg) and 164 % (14 mg) relative change in teriflunomide-treated arms
Laquinimod	ALLEGRO	Phase III, <i>n</i> = 1106, 2 years Laquinimod vs placebo	PBVC	33 % reduction in laquinimod-treated arm
	BRAVO	Ph. III, <i>n</i> = 1331, 2 years Laquinimod vs im IFN-β-1a vs placebo	PBVC	28–34 % reduction in laquinimod-treated arm
<i>Monoclonal antibodies</i>				
Natalizumab	AFFIRM	Phase III, <i>n</i> = 942, 2 years Natalizumab vs placebo	BPF change	BL to 2 years: no significant differences BL to 1 year: 40 % greater atrophy in NAT-treated arm 1–2 years: 44 % reduction in NAT-treated arm
	SENTINEL	Phase III, <i>n</i> = 1003, 2 years IFN-β-1a im+ natalizumab vs IFN-β-1a im+ placebo	BPF change	BL to 2 years: no significant differences BL to 1 year: 19 % greater atrophy in NAT-treated arm ^f 1–2 years: 23 % reduction in NAT-treated arm
Alemtuzumab	CAMSS223	Phase II, <i>n</i> = 334, 3 years Alemtuzumab 12 mg vs 24 mg vs sc IFN-β-1a 44 μg	BPF change	72 % reduction in alemtuzumab-treated arm ^g
	CARE-MS-I	Phase III, <i>n</i> = 581, 2 years Alemtuzumab 12 mg vs sc IFN-β-1a 44 μg	BPF change	42 % reduction in alemtuzumab-treated arm
	CARE-MS-II	Phase III, <i>n</i> = 840, 2 years Alemtuzumab 12 mg vs 24 mg vs sc IFN-β-1a 44μg	BPF change	24 % reduction in pooled alemtuzumab-treated arms

BID two times a day, *BL* baseline, *BPF* brain parenchymal fraction, *BPV* brain parenchymal volume, *FTY* fingolimod, *GA* glatiramer acetate, *GMF* grey matter fraction, *IFN-β* interferon beta, *im* intramuscular, *LOV* last observed value before conversion to clinical definite *MS*, *mg* milligrammes, *μg* micrograms, *PBVC* percentage of brain volume change, *sc* subcutaneous, *SIENA* structural imaging evaluation using normalization of atrophy, *TID* three times a day, *TIW* three times a week, *Rx* treatment, *vs* versus, *WMF* white matter fraction

^a If not stated, the software used was either not described or property packages were used (for more details, refer to the original article)
^b Only significant differences are reported as percentage of reduction on BV loss compared to placebo and for the whole duration of the trial if not otherwise stated
^c If the percentage of BV loss reduction was not reported in the original article, it was calculated as: 1 – (absolute brain volume loss for treatment arm/absolute brain volume loss for placebo arm)
^d No *p* value reported
^e Data reported only in graphic format, no exact numbers reported to calculate percentage of reduction
^f *p* = 0.058
^g *p* = 0.05

Table 2 Immediate and delayed therapy effects on brain volume changes in the double-blind phase of relapsing remitting multiple sclerosis trials

Drug	Global effect on brain volume ^a	Immediate effect on brain volume ^b	Delayed effect on brain volume ^c	Able to cross blood–brain barrier
<i>Placebo-controlled studies</i>				
Interferon beta 1a	No	No	Yes	No
Glatiramer acetate	No	No ^e	NA ^f	No
Fingolimod	Yes	Yes	Yes	Yes
Dimethyl-fumarate	Yes ^g	No ^b	Yes ^b	No
Teriflunomide	No	No	No	No
Laquinimod	Yes	NA	NA	Yes
Natalizumab	No	No	Yes	No
<i>Active comparator^d</i>				
Interferon vs glatiramer acetate	Yes (GA) ^j	Yes (GA) ^j	Yes (GA) ^j	No
Fingolimod vs im IFN-β-1a	Yes (FTY)	Yes (FTY)	NA ⁱ	Yes (FTY)
Alemtuzumab vs sc IFN-β-1a 44 µg	Yes (AL)	NA ^k	NA ^k	No

AL alemtuzumab, BID two times a day, FTY fingolimod, GA glatiramer acetate, IFN-β interferon beta, im intramuscular, NA not applicable, sc subcutaneous, vs versus

^a For the whole duration of the double-blind phase

^b During the first 6–12 months of therapy

^c After 12 months of therapy

^d Drugs with significantly superior beneficial effects appear in brackets

^e Baseline to 9 months

^f Open-label data, a significant positive effect of glatiramer acetate on brain volume change was observed in months 9–18 in the early treatment arm

^g Only for the BID dose in the DEFINE clinical trial; brain volume was assessed for the 6–24 month period

^h Only for the BID dose in the CONFIRM clinical trial; no data available for the DEFINE clinical trial

ⁱ Data only from REGARD clinical trial, no *p* value reported. No significant differences were observed in the BEYOND and COMBIRx clinical trials

^j No data available beyond 12 months

^k The two CARE-MS trials only assessed brain volume changes from baseline to 24 months

Three large studies have compared IFN-β formulations and GA, showing similar performance for both drugs in clinical and MRI outcomes [20–22]. Brain atrophy was assessed in all three trials, one study could demonstrate a significant reduction in BV loss for GA-treated patients as compared to sc IFN-β-1a [20], but no differences were observed in the other two [21, 22] (Tables 1b, 2). Noteworthy, in all these three trials most of the BV loss occurred during the first 6–12 months of therapy.

Natalizumab

Natalizumab was the first monoclonal antibody approved for the treatment of MS after proving its efficacy in two phase III clinical trials. Both trials reported similar results regarding atrophy data and demonstrated again an interesting pattern of BV loss in the active arm: compared to

placebo, natalizumab-treated patients presented greater BV loss during the first year of the trial, whereas significantly lower rates of BV decrease during the second year of treatment were observed [23, 24]. This was interpreted by the authors as an initial pseudoatrophy effect and a later protective effect of natalizumab in preventing brain atrophy [23, 24], and is also consistent with the similar pattern observed in some IFN-β trials (Tables 1b, 2).

Fingolimod

Fingolimod was the first oral drug approved to treat MS patients; three phase III clinical trials (FREEDOMS, FREEDOMS II and TRANSFORMS) demonstrated its efficacy not only regarding inflammation parameters but also in reducing BV loss [25–27]. Compared to placebo, fingolimod significantly reduced BV loss down to 30–45 %

after 2 years of treatment and this reduction was observed as early as 6 months after treatment onset [25, 27], specially in patients without baseline gadolinium-enhancing lesions [28] (Tables 1b, 2). Patients with baseline inflammation showed higher rates of BV loss during the first year of therapy, but this BV loss was never greater than the placebo arm [28]. Compared to im IFN- β -1a, patients receiving fingolimod also presented less BV loss during the first year of treatment [26] (Tables 1b, 2). These differences were held when subgroup analyses were performed [29]. In the extension study of the TRANSFORMS trial, patients switching from im IFN- β -1a to fingolimod treatment reduced their BV loss rate and no differences in BV loss between the core and the extension phase for patients continuing on fingolimod were observed [30].

Newest oral drugs

Results of brain atrophy for both phase III clinical trials with dimethyl-fumarate have been recently published [31, 32]. In the DEFINE clinical trial, comparing dimethyl-fumarate versus placebo in RRMS, and using the 6-month MRI as baseline for BV estimation, dimethyl-fumarate administered twice a day (BID) significantly reduced BV loss as compared to placebo; surprisingly, results for the three times a day (TID) posology on brain atrophy resulted negative [31]. In the CONFIRM trial, BV loss was analysed at different time-points: from baseline to the end of the trial (2 years), from baseline to year 1 and from year 1 to year 2. Compared to placebo, the BID dose seemed to reduce BV loss from baseline to year 2 (-0.660 vs. -0.945 ; $p = 0.0645$) and significantly reduced BV loss during the last year of follow-up (year 1 to year 2 of the clinical trial). Neither the TID dose nor glatiramer acetate significantly reduced BV loss at any point compared to placebo, although a trend towards statistical significance was observed from year 1 to year 2 for both drugs [32] (Tables 1b, 2).

Regarding teriflunomide, BV measures were only reported for the phase III TEMSO clinical trial: both doses of teriflunomide (7 and 14 mg.) failed to demonstrate a reduction in BV loss as compared to placebo [33] (Tables 1b, 2). However, when analysing not only global BV loss, but also tissue-specific BV changes, a significant reduction of white matter (WM) loss for both doses of teriflunomide as compared to placebo was observed [34].

As for laquinimod, its effect on BV loss was assessed in two phase III clinical trials [35, 36]. In the ALLEGRO clinical trial, adjusting for the baseline number of gadolinium-enhancing lesions, laquinimod significantly reduced BV loss as compared to placebo [35]. In the BRAVO study an active control arm with im IFN- β -1a for descriptive analysis was included: compared to placebo,

laquinimod demonstrated a protective effect on BV loss reduction; conversely, IFN- β -1a failed to protect against BV loss, even showing non-significant greater reductions in BV compared to placebo [36] (Tables 1b, 2).

Newest monoclonal antibodies

Brain volume effects of alemtuzumab were first analysed in the phase II clinical trial CAMSS223: compared to 44 μ g sc IFN- β -1a, alemtuzumab-treated patients showed a reduction in BV loss during the 3 years of the trial. BV changes occurring in the last 2 years of follow-up were also analysed (12–36 months) to find an even larger protective effect of alemtuzumab on BV loss [37]. Similar results, favouring alemtuzumab-treated patients compared to 44 μ g sc IFN- β -1a, were obtained in both phase III CARE-MS-I and CARE-MS-II clinical trials [38, 39] (Tables 1b, 2). It is worth mentioning that brain volume loss reduction relative to 44 μ g sc IFN- β -1a was more marked for treatment-naïve patients (about 40 % reduction in CARE-MS-I vs. 25 % reduction in CARE-MS-II) [38] and for patients originally randomized to the 24 mg arm (CARE-MS-II) [39].

Effect of therapies on BV: open-label observational studies

Interferon beta and glatiramer acetate

First open-label reports on BV changes under treatment were performed with the two formulations of sc IFN- β and with no control group [40, 41]. Both studies found that a greater BV loss occurred during the first months of therapy with a posterior slow down, specially after the second year of treatment [40, 41]; these findings were not modified by the presence of IFN- β neutralizing antibodies [41]. In one study, BV loss occurring during the first 6 years of therapy moderately correlated with EDSS worsening during the same time period; however, the authors did not find any early MRI variable that could predict disability progression over time [40]. More recent open-label studies did include a control group consisting of RRMS patients who decided not to start any treatment [42–44]. Despite the limitations of open-label studies, all injectable DMDs were shown to reduce global BV loss [42–44] and grey matter (GM) atrophy [42, 43] as compared to patients who did not receive any treatment. Whereas one of the studies seemed to favour IFN- β treatment on preventing GM pathology (specially development of new cortical lesions) [43], another study showed a larger effect of GA on reducing global BV [44]. Only one study assessed the effect of BV loss in predicting treatment response; the authors of this

study found that BV loss occurring during the first year of IFN- β therapy significantly increased the risk of presenting treatment failure at year 3 [45].

Natalizumab

Similar to what has been described in natalizumab clinical trials [23, 24], three observational studies with no control group confirmed that most of the BV loss occurring while on natalizumab treatment takes place during the first months of therapy, and found that it was related to baseline clinical [46] and radiological [47], [48] disease activity. Specifically, the number of baseline gadolinium-enhancing lesions predicted global and WM but not GM volume loss during the first [47] and second [48] year of therapy. In a study comparing natalizumab-treated patients with patients treated with injectable therapies (IFN- β and GA) and to untreated patients, natalizumab significantly reduced the number of new cortical lesions as well as cortical thinning over a 2-year treatment period [49]. In one study, the reduction in global and cortical volume loss was associated with a lower cognitive deterioration during the same period [50].

Discussion

Using automated techniques to measure BV changes, differences between placebo and treated arms have been shown in randomized clinical trials for some of the presently available disease modifying MS therapies; head-to-head trials have also shown superiority of some drugs over active comparators. Even though BV measures have been shown to be accurate and reproducible, a number of issues should be taken into account when interpreting therapy effects on BV changes.

Among methodological aspects, it is worth mentioning the evolution of analysis techniques as well as improvements in the acquisition of images; as it has been shown for the GA trial in RRMS, improvements in the analysis techniques may increase the power of the studies so as to observe previously undetectable treatment effects [15, 16]. Even more, it should be taken into consideration that some of the earliest trials do not feature BV data because of the insurmountable difficulties of multicentre analyses of such kind at that time. Another important aspect refers to the methodology used to obtain BV change estimates, as a number of automated techniques have been used and both BPF (obtained with a number of different software tools) and PBVC measures have been obtained. Although most techniques have demonstrated to be accurate and reproducible [51], segmentation-based techniques (used in a number of studies reported here) are not as robust as

registration-based techniques for longitudinal studies [52] and, in any case, the global magnitude of treatment effect cannot be compared across trials. Other physiological and disease-related factors that can influence BV changes should also be taken into account; in this regard, a well-known source of variation is the hydration status or the presence of on-going inflammation at treatment onset. Patients participating in clinical trials or starting treatment in clinical practice are usually active patients with clinical relapses and presence of MRI activity as demonstrated by gadolinium-enhancing lesions. Resolution of this inflammation will lead to an initial accelerated BV loss that has been described as a 'pseudatrophy' effect [5]. Along these lines, drugs with a high impact on inflammation, such as natalizumab [23, 24, 46–48], fingolimod [28] or high-dose IFN- β [7, 12], will tend to produce larger than placebo BV decreases during the first months of therapy (specially in patients presenting with gadolinium-enhancing lesions [28, 47, 48]) that, at least in part, may be not related to true tissue damage.

It is also worth mentioning that therapy effects on BV loss in CIS patients may be even more difficult to interpret, not only because of the design of the clinical trials, but also because of specific factors related with disease pathophysiology at the early stages. This may end up resulting in contradictory findings for the same drug [6, 7]. CIS patients who will present a second attack and thus, convert to clinical definite MS (CDMS) will be also having greater BV loss [53, 54]; however, placebo patients who develop CDMS while on the clinical trial will be switched to the treatment arm before trial termination; if this is not taken into account, the placebo arm may end up contaminated with active therapy effects on BV. Lastly, when CIS occurs it is usually accompanied of brain inflammation that, as stated before, may affect BV loss during the subsequent follow-up.

Obviously, it is also very important to recognize that treatment effects on BV may be different not only because of the methodological issues stated before but also because of specific aspects of the different drugs mechanism of action. Whereas all MS treatments have been shown to have an effect on the immune system that ultimately leads to decreased inflammation and which in consequence should decrease central nervous system damage, a neuroprotective effect, as measured by BV changes, has only been confirmed for a number of them. Neuroprotection, or the preservation of neuronal structures and its function, can be achieved by an indirect mechanism (due to the reduction of central nervous system damage) or to a direct mechanism (by increasing tissue resistance to critical damage or by promoting tissue repair). We could speculate that some of the drugs that have demonstrated a greater impact on BV loss, such as fingolimod, laquinimod or alemtuzumab have also been shown to have a direct neuroprotective effect,

either by promoting secretion of neurotrophic factors [55–57], blocking the production of nitric oxide [58] or promoting myelin repair [59]. Some of these drugs, such as fingolimod and laquinimod, may have the capacity of crossing the blood–brain barrier and may exert part of their potential neuroprotective effect directly into the central nervous system [60–62]; in any case, penetration in the CNS does not ensure the existence of a neuroprotective effect and, on the contrary, neuroprotection could also be exerted through mechanisms initiated in the periphery [63]. However, the effect of these potential neuroprotective drugs on progressive forms of the disease still has to be demonstrated and, in fact, preliminary data coming from the INFORMS trial of fingolimod in primary progressive multiple sclerosis have been reported negative; interestingly, coupling of such negative brain volume results with negative results on the primary outcome (disability progression) in spite of positive effects on lesion-related parameters seems to emphasize the importance of BV outcomes. On the other hand, IFN- β preparations and natalizumab which have no or little capacity to cross the blood–brain barrier, have shown to have either no or little immediate effect on BV loss, and may probably exert their neuroprotective effect only by reducing brain inflammation and preventing lymphocytes to cross the blood–brain barrier and cause tissue damage [64, 65]. Therefore, less clear or compelling results with other drugs in terms of their final net impact on BV loss will be the result of a varying combination of both methodological issues, anti-inflammatory properties and neuroprotective effects; this might be the case of GA [55], dimethyl-fumarate (another drug with a possible neuroprotective effect [66]) which has shown positive results on BV loss only with the BID dose and teriflunomide (a drug without a known neuroprotective effect [67]) which has been demonstrated to reduce white matter volume loss only. Finally, we should keep in mind that global BV loss measures are not reflecting all real tissue damage occurring in MS patients, as they simply give us an estimate of a non-specific global effect that is the final net result of a number of pathogenic processes occurring in parallel in the brain (such as axonal degeneration, inflammation, new lesion formation, glial scarring, and others). Other, more pathologically specific, MRI techniques might be useful for that purpose once technical limitations have been overcome [68].

In summary, a number, but not all, of the available DMDs for treating RRMS patients have been demonstrated to reduce the rate of global BV loss in randomized clinical trials as well as in some open-label studies. Even though not only drug-specific, but also methodological aspects should be taken into consideration when interpreting treatment effects on BV; its well-proven relation to

disability progression [69] makes accurate description of such effects very relevant in the definition of the therapeutic profiles of any drugs used in the treatment of MS.

Conflicts of interest Dr. Vidal-Jordana reports personal fees from Teva, Biogen-Idec, Novartis, and Genzyme, all outside the submitted work. Dr. Sastre-Garriga reports personal fees from Biogen-Idec, Novartis, Almirall, Teva, Roche, Merck-Serono and grants and personal fees from Genzyme, all outside the submitted work. Dr. Rovira serves on scientific advisory boards for Biogen Idec, Novartis, Genzyme, and OLEA Medical, and on the editorial board of the *American Journal of Neuroradiology* and *Neuroradiology*, has received speaker honoraria from Bayer, Genzyme, Bracco, Merck-Serono, Teva Pharmaceutical Industries Ltd., OLEA Medical, Stendhal, Novartis and Biogen Idec, receives research support from Bayer, and has research agreements with Siemens AG. Dr. Montalban has received speaking honoraria and travel expense reimbursement for participation in scientific meetings, has been a steering committee member of clinical trials or participated in advisory boards of clinical trials in the past years with Actelion, Almirall, Bayer, Biogen Idec, Genzyme, Merck, Novartis, Receptos, Roche, Sanofi-Genzyme, Teva and Trophos.

References

1. Frohman EM, Racke MK, Raine CS (2006) Multiple sclerosis—the plaque and its pathogenesis. *N Engl J Med* 354:942–955. doi:10.1056/NEJMr052130
2. Miller DH, Barkhof F, Frank JA et al (2002) Measurement of atrophy in multiple sclerosis: pathological basis, methodological aspects and clinical relevance. *Brain J Neurol* 125:1676–1695
3. Bermel RA, Bakshi R (2006) The measurement and clinical relevance of brain atrophy in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 5:158–170
4. Smith SM, Zhang Y, Jenkinson M et al (2002) Accurate, robust, and automated longitudinal and cross-sectional brain change analysis. *Neuroimage* 17:479–489
5. Zivadinov R, Reder AT, Filippi M et al (2008) Mechanisms of action of disease-modifying agents and brain volume changes in multiple sclerosis. *Neurology* 71:136–144
6. Filippi M, Rovaris M, Inglese M et al (2004) Interferon beta-1a for brain tissue loss in patients at presentation with syndromes suggestive of multiple sclerosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 364:1489–1496
7. De Stefano N, Comi G, Kappos L et al (2013) Efficacy of subcutaneous interferon -1a on MRI outcomes in a randomised controlled trial of patients with clinically isolated syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 85:647–653. doi:10.1136/jnnp-2013-306289
8. Kappos L, Freedman MS, Polman CH et al (2007) Effect of early versus delayed interferon beta-1b treatment on disability after a first clinical event suggestive of multiple sclerosis: a 3-year follow-up analysis of the BENEFIT study. *Lancet* 370:389–397
9. Kappos L, Freedman MS, Polman CH et al (2009) Long-term effect of early treatment with interferon beta-1b after a first clinical event suggestive of multiple sclerosis: 5-year active treatment extension of the phase 3 BENEFIT trial. *Lancet Neurol* 8:987–997
10. Rudick RA, Fisher E, Lee J-C et al (2000) Brain atrophy in relapsing multiple sclerosis: relationship to relapses, EDSS, and treatment with interferon -1a. *Mult Scler* 6:365–372. doi:10.1177/135245850000600601

11. Hardmeier M, Wagenpfeil S, Freitag P et al (2005) Rate of brain atrophy in relapsing MS decreases during treatment with IFN-1a. *Neurology* 64:236–240. doi:10.1212/01.WNL.0000149516.30155.B8
12. Kappos L, Traboulsee A, Constantinescu C et al (2006) Long-term subcutaneous interferon beta-1a therapy in patients with relapsing-remitting MS. *Neurology* 67:944–953. doi:10.1212/01.wnl.0000237994.95410.ce
13. Comi G, Martinelli V, Rodegher M et al (2009) Effect of glatiramer acetate on conversion to clinically definite multiple sclerosis in patients with clinically isolated syndrome (PreCISE study): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 374:1503–1511
14. Comi G, Martinelli V, Rodegher M et al (2012) Effects of early treatment with glatiramer acetate in patients with clinically isolated syndrome. *Mult Scler J* 19:1074–1083. doi:10.1177/1352458512469695
15. Ge Y, Grossman RI, Udupa JK et al (2000) Glatiramer acetate (Copaxone) treatment in relapsing-remitting MS: quantitative MR assessment. *Neurology* 54:813–817
16. Rovaris M, Comi G, Rocca MA et al (2001) Short-term brain volume change in relapsing-remitting multiple sclerosis: effect of glatiramer acetate and implications. *Brain J Neurol* 124:1803–1812
17. Sormani MP, Rovaris M, Valsasina P et al (2004) Measurement error of two different techniques for brain atrophy assessment in multiple sclerosis. *Neurology* 62:1432–1434. doi:10.1212/01.WNL.0000120663.85143.B3
18. Rovaris M, Comi G, Rocca MA et al (2007) Long-term follow-up of patients treated with glatiramer acetate: a multicentre, multinational extension of the European/Canadian double-blind, placebo-controlled, MRI-monitored trial. *Mult Scler* 13:502–508. doi:10.1177/1352458506070704
19. Comi G, Cohen JA, Arnold DL et al (2011) Phase III dose-comparison study of glatiramer acetate for multiple sclerosis. *Ann Neurol* 69:75–82. doi:10.1002/ana.22316
20. Mikol DD, Barkhof F, Chang P et al (2008) Comparison of subcutaneous interferon beta-1a with glatiramer acetate in patients with relapsing multiple sclerosis (the REBif vs Glatiramer Acetate in Relapsing MS Disease [REGARD] study): a multicentre, randomised, parallel, open-label trial. *Lancet Neurol* 7:903–914. doi:10.1016/S1474-4422(08)70200-X
21. O'Connor P, Filippi M, Armason B et al (2009) 250 microg or 500 microg interferon beta-1b versus 20 mg glatiramer acetate in relapsing-remitting multiple sclerosis: a prospective, randomised, multicentre study. *Lancet Neurol* 8:889–897. doi:10.1016/S1474-4422(09)70226-1
22. Lublin FD, Cofield SS, Cutter GR et al (2013) Randomized study combining interferon and glatiramer acetate in multiple sclerosis: the CombiRx Study. *Ann Neurol* 73:327–340. doi:10.1002/ana.23863
23. Miller DH, Soon D, Fernando KT et al (2007) MRI outcomes in a placebo-controlled trial of natalizumab in relapsing MS. *Neurology* 68:1390–1401
24. Radue E-W, Stuart WH, Calabresi PA et al (2010) Natalizumab plus interferon beta-1a reduces lesion formation in relapsing multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 292:28–35. doi:10.1016/j.jns.2010.02.012
25. Kappos L, Radue E-W, O'Connor P et al (2010) A placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 362:387–401
26. Cohen JA, Barkhof F, Comi G et al (2010) Oral fingolimod or intramuscular interferon for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 362:402–415
27. Calabresi PA, Radue E-W, Goodin D et al (2014) Safety and efficacy of fingolimod in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis (FREEDOMS II): a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Neurol* 13:545–556. doi:10.1016/S1474-4422(14)70049-3
28. Radue E-W (2012) Impact of Fingolimod Therapy on Magnetic Resonance Imaging Outcomes in Patients With Multiple Sclerosis. *Arch Neurol* 69:1259. doi:10.1001/archneurol.2012.1051
29. Cohen JA, Barkhof F, Comi G et al (2013) Fingolimod versus intramuscular interferon in patient subgroups from TRANSFORMS. *J Neurol* 260:2023–2032. doi:10.1007/s00415-013-6932-0
30. Khatri B, Barkhof F, Comi G et al (2011) Comparison of fingolimod with interferon beta-1a in relapsing-remitting multiple sclerosis: a randomised extension of the TRANSFORMS study. *Lancet Neurol* 10:520–529
31. Arnold DL, Gold R, Kappos L et al (2014) Effects of delayed-release dimethyl fumarate on MRI measures in the phase 3 DEFINE study. *J Neurol*. doi:10.1007/s00415-014-7412-x
32. Miller DH, Fox RJ, Phillips JT et al (2015) Effects of delayed-release dimethyl fumarate on MRI measures in the phase 3 CONFIRM study. *Neurology* 84:1145–1152. doi:10.1212/WNL.0000000000001360
33. O'Connor P, Wolinsky JS, Confavreux C et al (2011) Randomized trial of oral teriflunomide for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 365:1293–1303
34. Wolinsky JS, Narayana PA, Nelson F et al (2013) Magnetic resonance imaging outcomes from a phase III trial of teriflunomide. *Mult Scler J* 19:1310–1319. doi:10.1177/1352458513475723
35. Comi G, Jeffery D, Kappos L et al (2012) Placebo-controlled trial of oral laquinimod for multiple sclerosis. *N Engl J Med* 366:1000–1009
36. On behalf of the BRAVO Study Group, Vollmer TL, Sorensen PS et al (2014) A randomized placebo-controlled phase III trial of oral laquinimod for multiple sclerosis. *J Neurol* 261:773–783. doi:10.1007/s00415-014-7264-4
37. CAMMS223 Trial Investigators, Coles AJ, Compston DAS et al (2008) Alemtuzumab vs. interferon beta-1a in early multiple sclerosis. *N Engl J Med* 359:1786–1801. doi:10.1056/NEJMoa0802670
38. Cohen JA, Coles AJ, Arnold DL et al (2012) Alemtuzumab versus interferon beta 1a as first-line treatment for patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: a randomised controlled phase 3 trial. *Lancet* 380:1819–1828
39. Coles AJ, Twyman CL, Arnold DL et al (2012) Alemtuzumab for patients with relapsing multiple sclerosis after disease-modifying therapy: a randomised controlled phase 3 trial. *Lancet* 380:1829–1839
40. Paolillo A, Pozzilli C, Giugni E et al (2002) A 6-year clinical and MRI follow-up study of patients with relapsing-remitting multiple sclerosis treated with Interferon-beta. *Eur J Neurol* 9:645–655
41. Frank JA, Richert N, Bash C et al (2004) Interferon-β-1b slows progression of atrophy in RRMS: three-year follow-up in NAb- and NAb+ patients. *Neurology* 62:719–725. doi:10.1212/01.WNL.0000113765.75855.19
42. Zivadinov R, Locatelli L, Cookfair D et al (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. doi:10.1177/1352458506070446
43. Calabrese M, Bernardi V, Atzori M et al (2011) Effect of disease-modifying drugs on cortical lesions and atrophy in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler J* 18:418–424. doi:10.1177/1352458510394702
44. Khan O, Bao F, Shah M et al (2012) Effect of disease-modifying therapies on brain volume in relapsing-remitting multiple sclerosis

- sclerosis: results of a five-year brain MRI study. *J Neurol Sci* 312:7–12. doi:10.1016/j.jns.2011.08.034
45. Rojas JI, Patrucco L, Miguez J et al (2013) Brain atrophy as a non-response predictor to interferon-beta in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Neurol Res* 36:615–618. doi:10.1179/1743132813Y.0000000304
 46. Magraner M, Coret F, Casanova B (2012) The relationship between inflammatory activity and brain atrophy in natalizumab treated patients. *Eur J Radiol* 81:3485–3490. doi:10.1016/j.ejrad.2012.01.028
 47. Vidal-Jordana A, Sastre-Garriga J, Pérez-Miralles F et al (2013) Early brain pseudoatrophy while on natalizumab therapy is due to white matter volume changes. *Mult Scler J* 19:1175–1181
 48. Sastre-Garriga J, Tur C, Pareto D et al (2014) Brain atrophy in natalizumab-treated patients: a 3-year follow-up. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl*. doi:10.1177/1352458514556300
 49. Rinaldi F, Calabrese M, Seppi D et al (2012) Natalizumab strongly suppresses cortical pathology in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler J* 18:1760–1767. doi:10.1177/1352458512447704
 50. Portaccio E, Stromillo ML, Goretti B et al (2013) Natalizumab may reduce cognitive changes and brain atrophy rate in relapsing-remitting multiple sclerosis: a prospective, non-randomized pilot study. *Eur J Neurol* 20:986–990. doi:10.1111/j.1468-1331.2012.03882.x
 51. Zivadinov R (2005) Reproducibility and accuracy of quantitative magnetic resonance imaging techniques of whole-brain atrophy measurement in multiple sclerosis. *J Neuroimaging* 15:27–36. doi:10.1177/1051228404271010
 52. Huppertz H-J, Kröll-Seeger J, Klöppel S et al (2010) Intra- and interscanner variability of automated voxel-based volumetry based on a 3D probabilistic atlas of human cerebral structures. *Neuroimage* 49:2216–2224. doi:10.1016/j.neuroimage.2009.10.066
 53. Dalton CM, Chard DT, Davies GR et al (2004) Early development of multiple sclerosis is associated with progressive grey matter atrophy in patients presenting with clinically isolated syndromes. *Brain* 127:1101–1107. doi:10.1093/brain/awh126
 54. Perez-Miralles F, Sastre-Garriga J, Tintore M et al (2013) Clinical impact of early brain atrophy in clinically isolated syndromes. *Mult Scler J* 19:1878–1886. doi:10.1177/1352458513488231
 55. Racke MK, Lovett-Racke AE, Karandikar NJ (2010) The mechanism of action of glatiramer acetate treatment in multiple sclerosis. *Neurology* 74:S25–S30
 56. Thöne J, Ellrichmann G, Seubert S et al (2012) Modulation of autoimmune demyelination by laquinimod via induction of brain-derived neurotrophic factor. *Am J Pathol* 180:267–274. doi:10.1016/j.ajpath.2011.09.037
 57. Freedman MS, Kaplan JM, Markovic-Plese S (2013) Insights into the Mechanisms of the Therapeutic Efficacy of Alemtuzumab in Multiple Sclerosis. *J Clin Cell Immunol* 4:152. doi:10.4172/2155-9899.1000152
 58. Colombo E, Di Dario M, Capitolo E et al (2014) Fingolimod may support neuroprotection via blockade of astrocyte nitric oxide. *Ann Neurol* 76:325–337. doi:10.1002/ana.24217
 59. Groves A, Kihara Y, Chun J (2013) Fingolimod: direct CNS effects of sphingosine 1-phosphate (S1P) receptor modulation and implications in multiple sclerosis therapy. *J Neurol Sci* 328:9–18. doi:10.1016/j.jns.2013.02.011
 60. Miron VE, Schubart A, Antel JP (2008) Central nervous system-directed effects of FTY720 (fingolimod). *J Neurol Sci* 274:13–17. doi:10.1016/j.jns.2008.06.031
 61. Coelho RP, Payne SG, Bittman R et al (2007) The immunomodulator FTY720 has a direct cytoprotective effect in oligodendrocyte progenitors. *J Pharmacol Exp Ther* 323:626–635. doi:10.1124/jpet.107.123927
 62. Kelland EE, Gilmore W, Hayardeny L et al (2014) In vitro assessment of the direct effect of laquinimod on basic functions of human neural stem cells and oligodendrocyte progenitor cells. *J Neurol Sci* 346:66–74. doi:10.1016/j.jns.2014.07.058
 63. Kerschensteiner M, Gallmeier E, Behrens L et al (1999) Activated human T cells, B cells, and monocytes produce brain-derived neurotrophic factor in vitro and in inflammatory brain lesions: a neuroprotective role of inflammation? *J Exp Med* 189:865–870
 64. Dhib-Jalbut S, Marks S (2010) Interferon- β mechanisms of action in multiple sclerosis. *Neurology* 74:S17–S24
 65. Ransohoff RM (2007) Natalizumab for multiple sclerosis. *N Engl J Med* 356:2622–2629
 66. Linker RA, Lee D-H, Ryan S et al (2011) Fumaric acid esters exert neuroprotective effects in neuroinflammation via activation of the Nrf2 antioxidant pathway. *Brain J Neurol* 134:678–692. doi:10.1093/brain/awq386
 67. Bar-Or A, Pachner A, Menguy-Vacheron F et al (2014) Teriflunomide and its mechanism of action in multiple sclerosis. *Drugs* 74:659–674. doi:10.1007/s40265-014-0212-x
 68. De Stefano N, Filippi M, Miller D et al (2007) Guidelines for using proton MR spectroscopy in multicenter clinical MS studies. *Neurology* 69:1942–1952. doi:10.1212/01.wnl.0000291557.62706.d3
 69. Sormani MP, Arnold DL, De Stefano N (2014) Treatment effect on brain atrophy correlates with treatment effect on disability in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 75:43–49. doi:10.1002/ana.24018

