

Laura Jarauta Lahoz

Estudio de los cambios
estructurales y funcionales en
retina y coroides en pacientes con
esclerosis múltiple mediante
tecnología de última generación

Director/es

Ara Callizo, José Ramón
García Martín, Elena

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>

© Universidad de Zaragoza
Servicio de Publicaciones

ISSN 2254-7606



Universidad
Zaragoza

Tesis Doctoral

ESTUDIO DE LOS CAMBIOS ESTRUCTURALES Y
FUNCIONALES EN RETINA Y COROIDES EN
PACIENTES CON ESCLEROSIS MÚLTIPLE
MEDIANTE TECNOLOGÍA DE ÚLTIMA
GENERACIÓN

Autor

Laura Jarauta Lahoz

Director/es

Ara Callizo, José Ramón
García Martín, Elena

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA
Escuela de Doctorado

2021



Universidad Zaragoza

Tesis Doctoral

**ESTUDIO DE LOS CAMBIOS ESTRUCTURALES Y FUNCIONALES EN RETINA
Y COROIDES EN PACIENTES CON ESCLEROSIS MÚLTIPLE MEDIANTE
TECNOLOGÍA DE ÚLTIMA GENERACIÓN**

Autora

Laura Jarauta Lahoz

Directores

Elena García Martín

José Ramón Ara Callizo

Facultad Medicina

2021

Universidad de Zaragoza
Facultad de Medicina
Departamento de Cirugía, Obstetricia y Ginecología
Servicio de Oftalmología

*Trabajo de investigación presentado por la Graduada
en la Especialidad de Neurología*

Laura Jarauta Lahoz

Para optar al Grado de Doctora

DIRECTORES

Dra. Elena García Martín

Dr. Jose Ramón Ara Callizo

Servicio de Oftalmología

Servicio de Neurología

Hospital Universitario Miguel Servet

Hospital Universitario Miguel Servet

AGRADECIMIENTOS

- ✚ A mi padre, mi madre y mi hermano, por su confianza en mí y su apoyo incondicional.
- ✚ A mi pareja, por su comprensión, motivación y cariño durante todo el proceso.
- ✚ A mis amigas, en especial a Raquel y María, por acompañarme, ayudarme y por ser esa familia que se elige.
- ✚ A mi directora, la Dra. Garcia-Martín, por su generosidad y la confianza depositada en mí; sin ella no hubiera sido posible este proyecto. A mi director y querido Dr. Ara Callizo, por su eterna ayuda y por inculcarme su amor y pasión por la Neurología.
- ✚ A mi amiga y mentora la Dra. Alarcia Alejos, por confiar siempre en mí y ser fuente de inspiración desde los inicios.
- ✚ Al gran equipo del Servicio de Oftalmología del Hospital Miguel Servet, en especial a María Satúe y Elvira Viladés.
- ✚ Y por supuesto, a los pacientes con Esclerosis Múltiple que se prestaron a colaborar en este proyecto. Esto es por y para ellos.

La presente tesis doctoral ha sido estructurada siguiendo la normativa para las tesis por compendio de publicaciones. Los artículos incluidos en la tesis pertenecen a la misma línea de investigación y han sido publicados previamente.

A continuación, se detallan los cuatro artículos que constituyen el cuerpo de la tesis:

- **Functional evaluation of the visual pathway in patients with multiple sclerosis using a multifunction stimulator monitor.** Satue M, Jarauta L, Obis J, Cipres M, Rodrigo MJ, Almarcegui MC, Dolz I, Ara J.R, Martin J, Pablo L.E, Garcia-Martin E. J Ophthalmol. 2019;2019:2890193. PMID: 31641531.
- **Ability of swept-source optical coherence tomography to detect retinal and choroidal changes in patients with multiple sclerosis.** Garcia-Martin E, Jarauta L, Vilades E, Ara JR, Martin J, Polo V, Larrosa JM, Pablo LE, Satue M. J Ophthalmol. 2018;2018:7361212. PMID:30538857.
- **Changes in peripapillary choroidal thickness in patients with multiple sclerosis.** Garcia-Martin E, Jarauta L, Pablo LE, Bambo MP, Ara JR, Martin J, Polo V, Larrosa JM, Vilades E, Ramirez T, Satue M. Acta Ophthalmol. 2019;97(1):e77-e83. PMID: 30239142.
- **Progressive functional and neuro-retinal affectation in multiple sclerosis patients treated with fingolimod.** Garcia-Martin E, Ruiz de Gopegui E, Satue M, Gil-Arribas L, Jarauta L, Ara JR, Martin J, Fernandez FJ, Vilades E, Rodrigo MJ. J Neuroophthalmol. 2020. (in press)

D^a. ELENA GARCIA MARTIN, Doctora en Medicina y Cirugía, facultativo especialista en Oftalmología del Hospital Universitario Miguel Servet, y profesora asociada de la Universidad de Zaragoza.

Certifica:

Que el trabajo de investigación titulado “Estudio de los cambios estructurales y funcionales en la retina y coroides en pacientes con esclerosis múltiple mediante tecnología de última generación” que presenta LAURA JARAUTA LAHOZ, Licenciada en Medicina y Cirugía, para optar al GRADO DE DOCTOR, fue realizado bajo mi dirección, se ajusta al proyecto de tesis presentado con anterioridad y doy mi autorización para su defensa como tesis por compendio de publicaciones.

Y para que conste a los efectos oportunos, firmo el presente en Zaragoza, a fecha 5 marzo del 2021.

D^a. ELENA GARCIA MARTIN

Dº JOSE RAMÓN ARA CALLIZO, Doctor en Medicina y Cirugía, Jefe del Servicio de Neurología del Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza.

Certifica:

Que el trabajo de investigación titulado “Estudio de los cambios estructurales y funcionales en la retina y coroides en pacientes con esclerosis múltiple mediante tecnología de última generación” que presenta LAURA JARAUTA LAHOZ, Licenciada en Medicina y Cirugía, para optar al GRADO DE DOCTOR, fue realizado bajo mi dirección, se ajusta al proyecto de tesis presentado con anterioridad y doy mi autorización para su defensa como tesis por compendio de publicaciones.

Y para que conste a los efectos oportunos, firmo el presente en Zaragoza, a fecha 5 de marzo del 2021.

Dº JOSE RAMÓN ARA CALLIZO

ÍNDICE

| | |
|---|------------|
| 1. ABREVIATURAS UTILIZADAS | 1 |
| 2. RESUMEN | 5 |
| 3. RELACIÓN DE LAS PUBLICACIONES QUE COMPONEN LA TESIS | 9 |
| 4. INTRODUCCIÓN | 16 |
| 4.1 Esclerosis Múltiple | 17 |
| 4.1.1 Epidemiología | 18 |
| 4.1.2 Etiología y factores de riesgo | 19 |
| 4.1.3 Manifestaciones clínicas y formas evolutivas | 22 |
| 4.1.4 Diagnóstico | 24 |
| 4.1.5 Biomarcadores | 26 |
| 4.1.6 Tratamiento modificador de la enfermedad | 28 |
| 4.2 Esclerosis Múltiple y visión | 30 |
| 4.3 Esclerosis Múltiple y su relación con estructuras oculares | 34 |
| 5. ESTADO ACTUAL DEL TEMA | 39 |
| 6. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN | 45 |
| 7. METODOLOGIA | 49 |
| 7.1. Sujetos de estudio | 50 |
| 7.2. Protocolo exploratorio | 52 |
| 7.2.1 Exploración neurológica | 52 |
| 7.2.2 Exploración oftalmológica | 54 |
| 8. RESULTADOS Y DISCUSION | 84 |
| 9. LIMITACIONES DEL ESTUDIO | 138 |
| 10. CONCLUSIONES | 143 |
| 11. APORTACIONES DEL DOCTORANDO | 147 |
| 12. BIBLIOGRAFIA | 152 |
| 13. APÉNDICES | 167 |
| Apéndice I. Factor de impacto de las revistas y áreas temáticas | 168 |
| Apéndice II. Renuncia de los coautores no doctores a usar el artículo en su propia tesis doctoral | 169 |
| Apéndice III. Consentimientos | 170 |
| Apéndice IV. Documentación del Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón. (CEICA) | 172 |

1. ABREVIATURAS UTILIZADAS

AV: Agudeza visual.

AUC: Área bajo la curva ROC.

CCG: Capa de células ganglionares // GCL: Ganglionar cell layer.

CV: Campo visual.

CSV: Visión de sensibilidad al contraste (Contrast sensitivity vision).

CFNR: Capa de fibras nerviosas de la retina // RNFL: Retinal nerve fiber layer.

CNO: Cabeza del nervio óptico.

DIS: Diseminación en espacio.

DIT: Diseminación en tiempo.

DM: Desviación media.

EDSS: Escala ampliada del estado de discapacidad (Expanded disability status scale).

EDI: Enhanced depth imaging.

EM: Esclerosis múltiple.

EM-RR: Esclerosis múltiple remitente-recurrente.

EPR: Epitelio pigmentario retiniano.

ERG: Electrorretinograma.

ETDRS: Estudio del tratamiento precoz de la retinopatía diabética (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study).

GCIPL: Complejo de capa plexiforme interna y células ganglionares (Ganglion cell inner plexiform layer).

mGCIPL: Complejo células ganglionares maculares-capa plexiforme interna.

HD: Alta definición (High definition).

HFA: Analizador de campo Humphrey (Humphrey field analyzer).

IPL: Capa plexiforme interna (Inner Plexiform Layer).

IL: Interleucina.

LCR: Líquido cefalorraquídeo.

MAVC: Mejor agudeza visual corregida.

NO: Neuritis óptica // ON: Optic neuritis.

OCT: Tomografía de coherencia óptica (Optical coherence tomography).

PEV: Potenciales evocados visuales.

PIO: Presión intraocular.

PPCT: Espesor de coroides peripapilar (Peripapillary choroidal thickness).

RM: Resonancia magnética.

SC: Sensibilidad al contraste.

SS-OCT: Tomografía de coherencia óptica de barrido (Swept source optical coherence tomography).

SD-OCT: Tomografía de coherencia óptica de dominio spectral (Spectral domain optical coherence tomography).

2. RESUMEN

2.1 Objetivos. El objetivo fundamental de esta tesis doctoral ha sido evaluar la capacidad de diferentes técnicas de análisis de última generación (tomografía de coherencia óptica y Monpack One) para medir cambios en diferentes estructuras retinianas y coroideas, así como en la función visual de pacientes con esclerosis múltiple con respecto a sujetos sanos. Se ha evaluado si el nuevo software Swept-source (SS-OCT) es una buena herramienta para la evaluación rutinaria de pacientes con esclerosis múltiple y si es capaz de detectar cambios a nivel de la coroideas. Además, se han correlacionado distintas mediciones de la función visual extraídas mediante el dispositivo Monpack One con las mediciones estructurales mediante la tomografía de coherencia óptica de tipo Swept-source. Por último, se ha estudiado el efecto que un fármaco modificador de la enfermedad (Fingolimod) produce en la función visual y estructura retiniana de los pacientes con esta enfermedad.

2.2 Metodología. Se evaluaron dos cohortes de sujetos: sanos y pacientes con esclerosis múltiple. Se utilizó el dispositivo Triton (Topcon, Japón) con un protocolo de campo amplio que se centra tanto en la mácula (ETDRS: exploración del estudio de retinopatía diabética de tratamiento temprano) como en el área peripapilar (TSNIT: exploración temporal-superior-nasal-inferior-temporal). Se empleó también el dispositivo de tomografía de coherencia óptica Cirrus High Definition del que se extrajeron los valores de capa de fibras nerviosas de la retina del protocolo “optic disc 200x200” y los espesores de retina y capa de células ganglionares del protocolo “macular cube 512x128”. Se utilizó la unidad multifuncional de análisis de la visión Monpack One (Metrovision, Francia) para integrar diferentes test y realizar una evaluación completa de la función visual. Se analizó la función visual mediante la medición de la visión cromática, de la sensibilidad al contraste (con el test CSV-1000), de la agudeza visual (con optotipos de Snellen y ETDRS) y del campo visual.

2.3 Resultados. Se observó correlación significativa entre parámetros estructurales de la retina y de la función visual medidos mediante tomografía de coherencia óptica tipo Swept-source y dispositivo Monpack One, respectivamente, especialmente entre las áreas maculares internas y las mediciones correspondientes a la sensibilidad del contraste en los índices del campo visual ($p < 0.001$). Se encontró un adelgazamiento macular significativo en todas las áreas en pacientes con esclerosis múltiple medidas mediante la tomografía de coherencia óptica tipo Swept-source ($p < 0.001$). La retina peripapilar, la capa de fibras nerviosas de la retina y el espesor de la capa de células ganglionares mostraron reducciones significativas en todos los sectores ($p < 0.001$)

salvo en el nasal y el espesor coroideo peripapilar resultó significativamente más delgado en los pacientes en todas las zonas concéntricas ($p \leq 0.001$). Los pacientes tratados con Fingolimod presentaban un incremento significativo en el espesor macular y una reducción en la agudeza visual de bajo contraste ($p < 0.001$) con respecto a los pacientes tratados con interferón beta.

2.4 Conclusiones. El dispositivo multifunción Monpack One es una herramienta rápida y eficaz para una completa evaluación de los pacientes con EM. El nuevo dispositivo de tomografía de coherencia óptica Swept-source parece ser una buena herramienta de rutina para la evaluación de la retina y el espesor de la coroides en pacientes con esclerosis múltiple. La tomografía de coherencia óptica de dominio espectral también permite evaluar los cambios en diferentes estructuras oculares ocasionados por la esclerosis múltiple y analizar las diferencias entre fármacos.

3. RELACIÓN DE LAS PUBLICACIONES QUE COMPONEN LA TESIS

A continuación se incluye una breve presentación de cada trabajo justificando su unidad temática.

- **Functional evaluation of the visual pathway in patients with multiple sclerosis using a multifunction stimulator monitor.** Satue M, Jarauta L, Obis J, Cipres M, Rodrigo MJ, Almarcegui MC, Dolz I, Ara J.R, Martin J, Pablo L.E, Garcia-Martin E. J Ophthalmol. 2019;2019:2890193.

Objetivo: Se trata de un estudio de cohortes, observacional y transversal que tiene como objetivos evaluar la capacidad de la unidad multifuncional de análisis de la visión Monpack One para detectar alteraciones en la función visual de pacientes con EM y valorar la correlación entre los parámetros estructurales de la retina (obtenidos con OCT) y las mediciones funcionales obtenidas mediante esta técnica.

Métodos: Se incluyeron 48 pacientes con EM y 46 controles sanos a los que se les realizó una evaluación funcional completa de la vía visual, incluyendo agudeza visual a bajo contraste, sensibilidad al contraste (CSV), perimetría automatizada, potenciales evocados visuales (PEV) y electroretinografía (ERG). Todos estos tests se obtuvieron mediante el Monitor Monpack One (Metrovision, Francia), una tecnología de estimulación multifunción. Las mediciones estructurales de la retina se obtuvieron en todos los sujetos mediante OCT tipo Swept-source (SS-OCT) Triton (Topcon, Japón).

Resultados: Los pacientes con EM presentaron una reducción significativa de la agudeza visual a bajo contraste ($p < 0.001$) y de la sensibilidad al contraste a medias ($p = 0.001$, $p = 0.013$) y bajas ($p = 0.001$, $p = 0.002$) frecuencias espaciales. Todos los parámetros del campo visual estaban alterados en los pacientes comparados con los controles ($p \leq 0.001$). Los pacientes con EM presentaban una reducción significativa de la amplitud en la onda P100 de los potenciales evocados en áreas correspondientes a la retina central ($p < 0.001$) y a sectores inferonasal ($p = 0.001$) e inferotemporal ($p = 0.003$). El patrón de ERG no mostró diferencias significativas. Sí se observaron correlaciones significativas entre parámetros estructurales de la retina y parámetros funcionales, especialmente entre las áreas maculares internas y las mediciones correspondientes a la sensibilidad del contraste en los índices del campo visual.

Conclusiones: Los pacientes con EM presentan una disfunción visual detectable con el monitor Monpack One. Este dispositivo puede ser una herramienta rápida y eficaz para una completa evaluación de la función visual en pacientes con EM.

- **Abilify of swept-source optical coherence tomography of detect retinal and choroidal changes in patients with multiple sclerosis.** Garcia-Martin E, Jarauta L, Vilades E, Ara JR, Martin J, Polo V, Larrosa JM, Pablo LE, Satue M. J Ophthalmol. 2018;2018:7361212.

Objetivo: Evaluar la capacidad del nuevo dispositivo Triton OCT Swept-source (SS-OCT), para detectar los cambios en el espesor de la retina y de la coroides en pacientes con EM, en comparación con un grupo de controles sanos. Éste ha sido el primer estudio que evalúa las alteraciones oculares de pacientes con EM mediante la técnica de Triton SS-OCT (Topcon, Tokyo, Japón).

Metodología: Se trata de un estudio de cohortes, observacional y transversal, llevado a cabo con 101 sujetos sanos y 97 pacientes afectados de EM del área sanitaria del Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza que fueron reclutados por un oftalmólogo y un neurólogo según criterios de inclusión específicos. Todos los pacientes con EM presentaban el fenotipo remitente-recurrente de enfermedad y el diagnóstico se había llevado a cabo basándose en los criterios clínicos y de neuroimagen proporcionados por la resonancia magnética. Mediante SS-OCT se analizan los espesores de las diferentes capas de la retina (principalmente capa de células ganglionares y capa de fibras finas de la retina) y el espesor de la capa de la coroides, tanto en la zona macular como peripapilar.

Resultados: Se observó un adelgazamiento macular significativo en todas las áreas EDTRS (estudio del tratamiento precoz de la retinopatía diabética) ($p < 0.001$) en el grupo de pacientes con EM. La retina peripapilar y la CFNR mostraron un adelgazamiento significativo en los pacientes en todos los sectores ($p < 0.001$) excepto en el cuadrante nasal ($p > 0.05$). El espesor de la capa de células ganglionares (medida desde la CFNR hasta los límites de la capa nuclear interna) mostraron una reducción significativa en los pacientes en los sectores nasal ($p < 0.003$), inferonasal ($p < 0.045$), temporal ($p < 0.001$) y en el espesor total ($p < 0.001$). El espesor coroideo se redujo en el anillo macular exterior en los pacientes con EM comparados con los controles ($p < 0.038$).

Conclusiones: La nueva tecnología SS-OCT detecta adelgazamiento retiniano y coroideo y un espesor más reducido en la retina peripapilar, CNFR y CCG en pacientes con EM, proporcionando una mayor profundidad en el análisis de la coroides que otros dispositivos OCT. El dispositivo SS-OCT parece ser una buena herramienta alternativa para la evaluación rutinaria de pacientes con EM.

- **Changes in peripapillary choroidal thickness in patients with multiple sclerosis.** Garcia-Martin E, Jarauta L, Pablo LE, Bambo MP, Ara JR, Martin J, Polo V, Larrosa JM, Vilades E, Ramirez T, Satue M. *Acta Ophthalmol.* 2019;97(1):e77-e83.

Objetivos: Determinar el espesor de la coroides en controles sanos mediante el software automático del dispositivo Triton SS-OCT, definir áreas con un espesor coroideo similar y medir esas áreas en pacientes con EM y compararlas con las de los controles sanos.

Metodología: Se trata de un estudio transversal que evalúa controles sanos y pacientes con EM remitente-recurrente (EMRR). La EM fue diagnosticada siguiendo los criterios de McDonald del 2005(1) y confirmada por un neurólogo experto en EM. Fueron estudiados un total de 51 ojos de 51 pacientes de EM y 102 ojos de 102 controles sanos. Los sujetos sanos eran divididos en grupo de aprendizaje (51 individuos, usados para establecer zonas coroideas) y grupo de evaluación (otros 51 individuos, usados para comparar mediciones con pacientes EM). Se llevó a cabo una completa valoración neurooftalmológica que incluía la mejor corrección de agudeza visual (MAVC) usando el optotipo de Snellen, campo visual mediante Humphrey Field Analyzer (Carl-Zeiss Meditec, Dublin, California, Estados Unidos) con una estrategia SITA Standard (programa 30-2), estudio de reflejos pupilares y motilidad ocular, examen del segmento anterior, medición de la presión intraocular con tonometría de aplanación de Goldman, estudio de la morfología papilar mediante fondo de ojo y un examen con SS-OCT. Además, para el grupo de pacientes EM se obtuvo la escala Expanded Disability Status Scale (EDSS), la sub-escala visual del EDSS, y la duración de la enfermedad.

Mediante Triton SS-OCT se analizó un disco óptico 6.0 x 6.0 mm tridimensional. Una cuadrícula de 26 x 26 centrada en el disco óptico fue generada automáticamente para medir el espesor de la coroides peripapilar (peripapillary choroidal thickness, PPCT). Se establecieron cuatro zonas coroideas y se comparó el PPCT entre controles sanos y pacientes con EM.

Solamente se seleccionaron los ojos derechos para el análisis estadístico ya que algunos autores habían reportado diferencias en el espesor de la coroides entre ojos derechos e izquierdos (2,3).

Resultados: El espesor de la coroides peripapilar fue significativamente más delgado en los pacientes en todas las zonas concéntricas ($p \leq 0.001$): $134.02 \pm 16.59 \mu\text{m}$ en el grupo de EM versus $171.56 \pm 12.43 \mu\text{m}$ en el grupo control en zona 2; 182.23 ± 20.52 versus $219.03 \pm 17.99 \mu\text{m}$, respectivamente, en zona 3, y 223.52 ± 10.70 versus $259.99 \pm 10.29 \mu\text{m}$, respectivamente, en zona 4 (la más periférica el nervio óptico). El espesor coroideo en el grupo de EM tendía a aumentar

conforme nos distanciamos de la cabeza del nervio óptico, y presentaba el mismo patrón tanto en controles como en pacientes; más delgado en la región superior seguido de la región temporal, nasal e inferior.

Conclusiones: Los pacientes con EM mostraron un adelgazamiento coroideo comparado con los controles sanos en todas las zonas alrededor del disco óptico. El tejido coroideo peripapilar mostró un patrón concéntrico, aumentando el espesor al aumentar la distancia desde el nervio óptico. El nuevo software SS-OCT puede ser útil para evaluar el espesor de la coroides en la práctica clínica.

- **Progressive functional and neuro-retinal affection in multiple sclerosis patients treated with fingolimod.** Garcia-Martin E; Ruiz de Gopegui E; Satue M; Gil-Arribas L; Jarauta L; Ara JR; Martin J; Fernandez FJ, Vilades E; Rodrigo MJ. J Neuroophthalmol. 2020 in press.

Se trata de un estudio de cohortes observacional, prospectivo y longitudinal de 12 meses de seguimiento en el que fueron incluidos 78 ojos de 78 pacientes con EM tratados con Fingolimod. Todos los pacientes fueron evaluados cada 3 meses y comparados con 32 pacientes tratados con Interferón beta.

Nuestro objetivo fue evaluar el efecto del Fingolimod en la función visual y en la estructura neuro-retiniana en pacientes con EM y compararlo con pacientes que eran tratados con Interferón beta.

La metodología consistió en una evaluación neurológica y oftalmológica, constanding ésta última de una exploración funcional mediante pruebas específicas y otra estructural mediante Spectral-domain OCT (SD-OCT) del tipo Cirrus high definition (HD).

Nuestros resultados mostraron que los pacientes tratados con Fingolimod durante un año presentaron una reducción significativa en el test de agudeza visual ETDRS con el 100% y 1,25% de contraste ($p=0.009$ y 0.008 respectivamente), alteraciones en la sensibilidad al contraste y percepción del color (Pelli-Robson, test CSV-1000, test Farnsworth y L'Anthony; $p<0.001$), reducción del espesor de la capa de células ganglionares ($p=0.007$), y un aumento medio del espesor central macular de 2.6 micras ($p=0.006$). Se observó que los pacientes con EM tratados con Interferón beta no presentaban cambios significativos en los tests de función visual ni en los

parámetros del espesor macular, pero sí mostraron una reducción significativa del espesor de la capa de capa de células ganglionares y de la CFNR. La reducción de las estructuras neuro-retinianas mediante OCT fue significativamente más llamativa en el grupo tratado con Interferón beta, pero el grupo tratado con Fingolimod presentó un incremento significativo en el espesor macular y una reducción en la sensibilidad de bajo contraste ($p < 0.001$).

En conclusión, los pacientes con EM tratados con Fingolimod sin edema macular clínicamente observable, presentan un cambio significativo en los parámetros de función visual y un incremento medio del espesor central macular comparado con los tratados con interferón beta. Estos hallazgos se deben probablemente al edema macular subclínico producido por Fingolimod.

4. INTRODUCCIÓN

El tema principal de las cuatro publicaciones internacionales que componen esta tesis doctoral se centra en el estudio de los cambios estructurales y funcionales que ocurren en la retina y en la coroides en pacientes con esclerosis múltiple (EM) mediante tecnología de última generación (tomografía de coherencia óptica y la unidad multifuncional Monpack One).

4.1 Esclerosis Múltiple

La EM es la enfermedad inflamatoria y neurodegenerativa desmielinizante del sistema nervioso central más frecuente y supone la primera causa de discapacidad no traumática en adultos jóvenes. Comienza en torno a los 25-30 años y afecta con mayor frecuencia a mujeres (4).

Se considera que la EM es una patología crónica de base autoinmune que afecta al sistema nervioso central (SNC), en donde la inflamación, desmielinización y la pérdida axonal ocurre incluso en estadios precoces de la enfermedad. El curso evolutivo puede ser extremadamente variable entre los diferentes pacientes, y aunque se han hecho grandes avances en las terapias moduladoras de la enfermedad en los últimos años, la EM sigue siendo una de las más frecuentes causas de discapacidad neurológica en los adultos jóvenes (4).

Clásicamente se ha considerado una enfermedad desmielinizante en la que la mielina que recubre los nervios es destruida por procesos de inflamación y cicatrización; sin embargo, en los últimos años, se ha demostrado que se asocian otros mecanismos de daño axonal (5,6), conduciendo a déficits neurológicos progresivos causantes de una importante discapacidad. Existe una amplia evidencia de que este daño axonal ocurre sin relación con episodios inflamatorios o autoinmunes contra la mielina, y de que esta degeneración axonal está directamente relacionada con la discapacidad funcional permanente (5,6). Múltiples estudios han demostrado que el deterioro axonal asociado a esta patología puede ser observado y cuantificado mediante técnicas de análisis digital a nivel de la CFNR (7–12), sugiriéndose incluso que la evaluación de la CFNR podría ser más útil que la resonancia magnética para medir la atrofia neuronal (13). Por estos hallazgos, la evaluación de la CFNR cada vez se utiliza más en la práctica clínica diaria como método de monitorización de la progresión de la enfermedad (14–16).

4.1.1 Epidemiología

❖ Gradiente latitudinal.

La relación entre la latitud del lugar de residencia y el riesgo de desarrollar EM ha sido extensamente documentada (17,18) (Figura 1). La mayoría de los casos de EM son registrados en regiones donde la luz solar es menos intensa y en aquellas donde la distancia al ecuador es mayor. Este gradiente latitudinal se observa también dentro de diferentes países, como en el caso de España, donde el gradiente norte-sur se mantiene (19,20). Son varios los factores que se han asociado a esta relación incidencia-latitud, como la exposición a luz ultravioleta, el déficit de vitamina D, los subproductos de la industria y los factores genéticos (21).

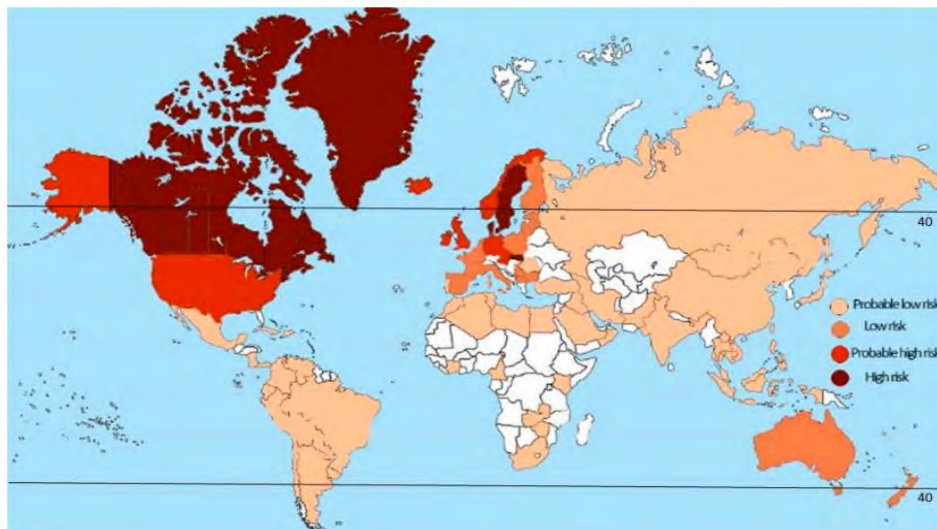


Figura 1. Riesgo global de desarrollo de EM. La prevalencia de EM aumenta conforme aumenta la distancia al ecuador en ambos hemisferios. La prevalencia es más alta en Norte América y Europa y más baja en Sur América, África Sub-Sahariana y en Sudeste Asiático. La incidencia más alta parece registrarse en pacientes residentes por encima de los 42° de latitud. Obtenido de Tarlinton et al (73). Adaptado de "Atlas of Multiple Sclerosis 2013" Neurology 2014.

❖ Prevalencia

Se estima que en el mundo padecen EM un total de 2,5 millones de personas, y en Europa afecta a 700.000 personas (22). El alto impacto sanitario, económico y social de la EM hace prioritario conocer y manejar cifras válidas de su frecuencia y distribución en España a efectos de planificación sanitaria.

La evidencia bibliográfica demuestra que se ha producido un aumento real de la prevalencia mundial de la enfermedad a lo largo de las últimas décadas (23).

En las regiones tradicionalmente consideradas de alto riesgo de EM, como el sur de Canadá, el norte de Estados Unidos, las islas Británicas y Escandinavia, se han documentado las prevalencias más altas del mundo. Áreas de prevalencia clásicamente medias (España, Italia...) se consideran en la actualidad regiones de medio y alto riesgo, en torno a los 100 casos por 100.000 habitantes(23). Países de Oriente Medio, como Irán o Turquía, o algunos países latinoamericanos están publicando cifras en el rango medio cuando previamente se ubicaban en el rango bajo.

La incidencia de EM está aumentando en las áreas más meridionales del planeta, mientras en el norte de Europa y Norteamérica se mantiene estable desde 1980, lo que contribuye a la atenuación del clásico gradiente latitudinal descrito por Kutzke (24,25).

El aumento de la prevalencia de la enfermedad está ocurriendo fundamentalmente a expensas de un número creciente de casos en mujeres (26). Además, las mujeres tienen más probabilidades de comenzar más precozmente, de desarrollar EM clínicamente definida tras un síndrome clínico aislado (CIS), de tener más lesiones inflamatorias en la resonancia magnética y más brotes que los hombres (27).

4.1.2 Etiología y factores de riesgo.

❖ Susceptibilidad Genética.

El papel de los factores de riesgo genético para determinar susceptibilidad a la EM se evidencia por la agregación familiar de la enfermedad. En la década de los años sesenta, MacKay et al., encontraron que el riesgo de desarrollar EM es 20 veces mayor en familiares de primer grado de consanguinidad de pacientes con EM que en la población general (28).

Estos hallazgos fueron luego corroborados por Sadovnick et al, en 1988 (29), quienes desarrollaron un estudio sistemático ajustado por edad, encontrando mayor riesgo de la enfermedad a medida que la relación era más cercana. Más recientemente, Willer et al.(30) desarrollaron un estudio poblacional de 370 casos de EM en Canadá, encontrando una concordancia del 25.3% en gemelos monocigóticos, 5.4% en dicigóticos y 2.9% en hermanos no gemelos. A pesar de lo anterior, el común denominador de todos los estudios hasta la fecha publicados, es que no se pueda establecer un patrón de herencia lógico ni determinado.

El alto riesgo de un diagnóstico de EM entre individuos estrechamente relacionados sugiere un vínculo entre el haplotipo HLA y la enfermedad, como se ha observado en grandes estudios del Genome Wide Association Studies (GWAS) para el alelo HLA DRB1 * 15: 01, considerado como el factor de riesgo genético más importante para la EM, y en particular para una edad de

aparición más precoz (31). Los mecanismos exactos por los que este gen HLA-DRB1 situado dentro del complejo mayor de histocompatibilidad en el superlocus del cromosoma 6p21, influyen en la susceptibilidad a la EM, permanecen sin definir (32).

También ha habido al menos otros 11 alelos HLA estadísticamente asociados con el riesgo de EM. Varios estudios con gran tamaño muestral de GWAS (algunos incluyen hasta 80.000 individuos) han identificado hasta 200 variantes genéticas no HLA asociadas estadísticamente con el riesgo de EM (21).

En estos amplios estudios se concluye que existe un porcentaje de genes que proporcionan heredabilidad, algunos relacionados y no relacionados con el HLA. Estos genes expresan proteínas, sobre todo en el sistema inmunitario, con una acción fundamentalmente reguladora, y las vías implicadas son las vías para el desarrollo, la maduración y la diferenciación terminal de células del sistema inmunitario. En definitiva, hay un potencial regulatorio de los genes, fundamentalmente en el sistema inmunitario y no tanto en el sistema nervioso, que explica que la EM sea una enfermedad inmunomediada, con una predisposición genética vinculada a la inmunidad (33).

❖ Radiación Ultravioleta (UV) y vitamina D.

Existe evidencia limitada para explicar el papel que tiene la latitud en la fisiopatología de la EM. La teoría más plausible que explica que la mayoría de los casos sean diagnosticados a altas latitudes es la menor exposición a la luz solar. La escasa producción de vitamina D en aquellas personas con menos exposición parece explicar la relación existente entre la latitud y los diferentes riesgos de desarrollar EM(34). Varios estudios han puesto de relieve la intensa relación entre los valores de vitamina D y el riesgo de EM (riesgo aumentado aproximadamente x2)(35–37).

En relación a la intensidad de las radiaciones ultravioletas, esenciales para la síntesis de vitamina D en la piel (38), son menores en latitudes norte. Becklund et al. (39) sugieren que las radiaciones ultravioletas previenen de la migración de células inflamatorias dentro del SNC por inhibición local de las citoquinas y por un aumento sistémico del efecto inmunosupresor de IL-10. Estos estudios ponen en relieve los posibles efectos inmunomoduladores potentes de la vitamina D. En esta línea de inmunomodulación, se ha visto que el calcitriol, la forma activa de la Vitamina D, ha sido altamente efectivo en el tratamiento de modelos experimentales de enfermedades autoinmunes, lo cual refuerza su uso potencial en la EM. Estas acciones parecen estar mediadas por la capacidad de Vitamina D para inducir la IL-10 (40).

En una reciente revisión del 2020, de Bradshaw M et al. (41), concluyen que niveles bajos de Vitamina D son un factor de riesgo para el desarrollo de EM y que pacientes con déficit podrían tener más riesgo de tener una EM con actividad y por tanto más agresiva, aunque se requieren más estudios para llegar a conclusiones más significativas.

Durante el embarazo, los niveles de vitamina D de la mujer podrían ser un factor de riesgo para el desarrollo de EM en el futuro niño. Los estudios muestran que el mes del nacimiento se correlaciona con el riesgo de EM, indicando la asociación entre la exposición a la luz solar materna, los niveles de vitamina D durante la gestación y el déficit de vitamina D en el feto (42).

❖ Estilo de vida.

Existe variada evidencia científica que relaciona factores del estilo de vida con un mayor riesgo de desarrollar EM o un aumento de riesgo de progresión de la enfermedad. Estos factores, en su mayoría modificables, son la obesidad (43,44), la dieta (45), los cambios en el microbiota intestinal (46,47), el tabaquismo (48), la exposición a productos químicos industriales como los disolventes orgánicos, metales pesados (49) y un estilo de vida "urbano".

En relación a la dieta, uno de los ingredientes que puede promover el desarrollo de enfermedades autoinmunes es el cloruro sódico (sal), (50,51). A esta conclusión llegaron dos grupos independientes (52,53), argumentando que la sal podía estimular la inducción de células productoras de IL-17 a partir de células T CD4+, y que un alto consumo de sal podría desencadenar inflamación tisular y procesos autoinmunes. Sin embargo, aún no se ha demostrado si el consumo de sal está causalmente relacionado con el desarrollo de enfermedades autoinmunes en los seres humanos.

❖ Virus y otros factores ambientales

La evidencia epidemiológica de la implicación del VEB (Virus de Epstein-Barr) en la EM se basa en estudios donde se observa que el riesgo de EM es mucho mayor en los individuos que han padecido mononucleosis infecciosa que en los que no la han padecido (riesgo 2 a 3 veces mayor) (54). Por el contrario, algunos estudios postulan el efecto protector de la seropositividad al CMV sobre el riesgo de padecer EM (55).

Otro factor de riesgo viral es el de la expresión retroviral endógena (21). Los retrovirus endógenos (RVE) son secuencias genómicas repetitivas que están presentes en la mayoría de los vertebrados. Revisiones sistemáticas recientes y metaanálisis con amplio número de estudios señalan claramente que los pacientes con EM sobreexpresan el ARN de la familia RVEH en comparación con los controles sanos (56). Otras familias de RVE cuya expresión se ha asociado con la EM incluyen: HERV-H, HERVFc1 en el cromosoma X y HERV-K y HERVW(56).

La hipótesis de la higiene(57), según la cual la exposición a infecciones genéricas en una etapa temprana de la vida mejora el desarrollo de un sistema inmunorregulador y disminuye la actividad de las células T autorreactivas en edades más avanzadas, podría explicar esta visión de la patogénesis.

4.1.3 Manifestaciones clínicas y formas evolutivas.

La EM es una enfermedad heterogénea, con un gran abanico de manifestaciones clínicas, un pronóstico impredecible y con una amplia variabilidad interindividual.

Los síntomas más frecuentes de la EM corresponden a deficiencias de diferentes sistemas funcionales: movimiento, sensibilidad, visión, coordinación y del equilibrio. Otros síntomas a lo largo de la evolución son: dolor y fatiga, alteraciones esfinterianas y sexuales, disfunciones cognitivas y psico-emocionales, de la voz del lenguaje y de la deglución.

La forma de debut más frecuente es en forma de “brote”, definido como la aparición de nuevos síntomas o el empeoramiento de alguno previo, que dura más de 24 horas (con inicio subagudo o progresivo). Un brote refleja la aparición de una nueva placa o la reactivación y crecimiento de alguna existente. Es la forma de aparición más frecuente en individuos jóvenes y puede dar clínica de neuritis óptica, afectación del troncoencéfalo o cerebelo, mielitis o disfunción cerebral hemisférica.

La evolución clínica de la EM es igualmente diversa, pero la inmensa mayoría de los pacientes pueden ser catalogados en una de las categorías definidas por Lublin y col. (58,59) (figura 2). La forma remitente-recurrente (EMRR) es la más frecuente, representando aproximadamente el 85% de los pacientes (60).

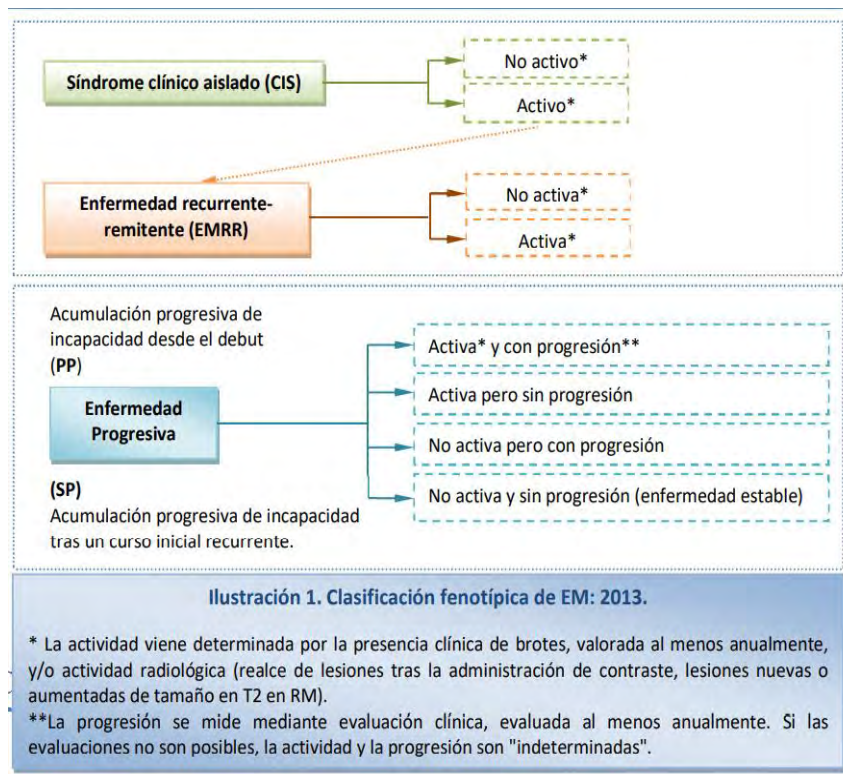


Figura 2. Formas evolutivas de EM. Obtenido de Guía de manejo del paciente con esclerosis múltiple. Adaptado de: Lublin FD et al. *Defining the clinical course of multiple sclerosis: the 2013 revisions. Neurology. 2014;83(3):278*

En la actualidad no se puede predecir para un paciente concreto cuál será su evolución en términos de brotes, incremento de la discapacidad o cambio a una forma progresiva, aunque existen datos analíticos y radiológicos que pueden ayudar a orientar, en cierta medida, el pronóstico. El promedio de edad a la que se alcanza una discapacidad severa (EDSS 6) es 55-60 años. En series más recientes parece que existe una tendencia a describir una aparición más tardía de la discapacidad residual. El 50% de los pacientes con EM primaria progresiva han alcanzado EDSS 6 a los 7-14 años del inicio de la enfermedad (59).

4.1.4 Diagnóstico.

El diagnóstico de la EM se basa en las manifestaciones clínicas, los datos de la RM de cerebro y médula, la detección de bandas oligoclonales de IgG en LCR y la exclusión de otras enfermedades.

Los criterios diagnósticos de la EM han evolucionado a través del tiempo. En el año 2001 se publicaron los primeros criterios de McDonald (61), los cuales destacaron la importancia de la RM en la objetivación de la diseminación de la enfermedad en el tiempo y en el espacio. Dichos criterios se han modificado a través del tiempo, con las revisiones del 2005 (62) y del 2010 (63), estando actualmente en vigor los últimos criterios revisados de McDonald 2017.

A pesar de que los criterios diagnósticos más recientes son los comentados del 2017, en nuestros estudios se utilizaron los criterios de McDonald revisados del 2001, 2005 y del 2010, ya que los pacientes de la base de datos utilizada habían sido diagnosticados hacía varios años, antes de los nuevos criterios revisados del 2017.

La nueva versión de los criterios diagnósticos de McDonald 2010 simplificaba los criterios de McDonald 2005 preservando su especificidad y mejorando su sensibilidad. Las principales modificaciones en esta nueva versión de los criterios de McDonald son (64): La simplificación de los criterios de diseminación en tiempo (DIT) y diseminación en espacio (DIS), tanto en las formas recurrentes como en las primarias progresivas. Y la posibilidad de establecer el diagnóstico de EM con una única RM obtenida en cualquier momento tras el inicio de los síntomas.

La DIT por RM en los criterios de McDonald 2005 (62) se basa en los criterios de Barkhof (65) y Tintoré (66), que presentan una alta sensibilidad y especificidad, pero su aplicación es compleja en aquellos sin experiencia en neurorradiología. Es por ello que en la revisión del 2010, estos criterios fueron modificados por Montalbán et al. (67). En cuanto a la DIS, en los criterios de McDonald del 2010 (63), Swanton et al. (68,69) simplificaron dichos criterios con el fin de poder ser aplicados de manera sencilla en la práctica neurológica sin comprometer la sensibilidad y la especificidad. Se adjunta una tabla con las principales diferencias entre los criterios del 2001, 2005 y 2010 (tabla 1).

| | McDonald 2001 | McDonald 2005 | McDonald 2010 |
|------------|---|---|--|
| DIS | 3 o más: | 3 o más: | Al menos una lesión en T2 como mínimo en 2 zonas típicas de la EM: Swanton |
| | ≥9 lesiones en T2 o ≥1 lesión captante Gd | ≥9 lesiones en T2 o ≥1 lesión captante Gd | Periventricular |
| | ≥3 lesiones periventriculares | ≥3 lesiones periventriculares | Yuxtacortical |
| | ≥1 lesión yuxtacortical | ≥1 lesión yuxtacortical | Infratentorial |
| | ≥1 lesión fosa posterior | ≥1 lesión fosa posterior o médula | Médula espinal |
| | 1 lesión medular puede reemplazar a una lesión cerebral | Cualquier número de lesiones medulares puede estar incluida en el conteo. | Todas las lesiones sintomáticas en tronco o médula son excluidas. |
| DIT | 1) ≥1 lesión captante el menos 3 meses después del primer brote. | Barkof/Tintoré 1) ≥1 lesión captante el menos 3 meses después del primer brote. | Montalbán 1) Presencia simultánea de lesiones asintomáticas captantes y no captantes en una RM realizada en cualquier momento. |
| | 2) 1 nueva lesión T2 con respecto a una RM realizada al menos 3 meses después del primer brote. | 2) 1 nueva lesión T2 con respecto a una RM basal realizada al menos 1 mes después del primer brote. | 2) 1 lesión nueva T2 o 1 lesión captante en una RM de seguimiento realizada en cualquier momento. |

Tabla 1. Diferencias en criterios de RM entre McDonald 2001, 2005 y 2010. Adaptado de: Milo R, Miller A. Revised diagnostic criteria of multiple sclerosis.(59).

En la última revisión de los criterios del 2017 (Thompson et al (70)), se pretendía simplificar y optimizar el uso de los mismos, facilitando así el diagnóstico precoz de EM, preservando la especificidad de estos criterios y reduciendo falsos diagnósticos. Los cambios que se realizaron respecto a los criterios del 2010 fueron (71,72):

1. En pacientes con un síndrome clínicamente aislado típico y una demostración clínica o de RM de diseminación en el espacio, la presencia de bandas oligoclonales específicas de LCR permite un diagnóstico de esclerosis múltiple.
2. Las lesiones sintomáticas pueden usarse para demostrar la diseminación en el espacio o el tiempo en pacientes con síndrome supratentorial, infratentorial o de médula espinal.
3. Las lesiones corticales pueden usarse para demostrar la diseminación en el espacio.

4.1.5 Biomarcadores.

La búsqueda de biomarcadores en la EM es uno de los objetivos de la investigación en este campo en la actualidad, con el objetivo de avanzar de una forma más rápida en el pronóstico y el tratamiento de los pacientes, y en su manejo individualizado.

En general, se distinguen diferentes biomarcadores según su finalidad: diagnósticos, de elección de tratamiento, de respuesta al tratamiento y pronósticos.

Desde un punto de vista de imagen, destacan la Resonancia magnética (RM) y la Tomografía de coherencia óptica (OCT).

Existen evidentes y claras recomendaciones para implementar la RM no sólo en el diagnóstico sino también en el pronóstico y monitorización de pacientes con EM, tanto en aquellos tratados como en los que no reciben tratamiento. En paralelo, se han descrito parámetros más recientes y específicos de las lesiones en la RM (por ejemplo, la presencia de venas centrales en las mismas lesiones) y la evidencia a favor de la incorporación del volumen cerebral como un marcador de progresión está creciendo en los últimos años (73).

En relación a la OCT, es ampliamente conocido su papel como biomarcador en la EM, no sólo como apoyo al diagnóstico si no también como marcador de progresión y pronóstico en esta patología (11). El grosor de la CFNR (capa de fibras nerviosas de la retina) y de la CCG (capa de células ganglionares) se ve afectado en la EM y su adelgazamiento está relacionado con parámetros clínicos y paraclínicos: discapacidad física, trastornos cognitivos y atrofia cerebral en la RM(74). Los estudios sugieren que los cambios en la retina medidos por OCT son un marcador de pérdida axonal general y de neurodegeneración.

Con respecto a los biomarcadores en fluidos corporales, CHI3L1 y la cadena ligera de los neurofilamentos (NF-L), se están considerando como poderosos marcadores pronóstico en pacientes con CIS (síndrome clínico aislado), no sólo en términos de predicción de la conversión a EM sino también como indicador en el desarrollo de discapacidad, por lo que, probablemente, se considere incorporarlos en la rutina de la práctica clínica diaria (73). Otro estudio reciente, de Olesen et al., en 2019 (75), estudiaron el líquido cefalorraquídeo (LCR) en busca de nuevos biomarcadores, observando que los niveles de TNF- α , IL-10, CXCL13 y NF-L estaban asociados

con el desarrollo de EM en pacientes con un episodio de neuritis óptica (NO), sugiriendo que los procesos de inflamación y neurodegeneración ocurren precozmente. Basándose en los diagnósticos posteriores, observaron que estas moléculas en el LCR tenían un alto valor predictivo positivo en el desarrollo de EM, proclamándolos como potentes candidatos a ser biomarcadores de rutina.

Otros marcadores como la proteína SLC9A9 o el inflamasoma NLRP3 necesitan mayores confirmaciones en estudios independientes.

Finalmente, biomarcadores en pacientes tratados con Natalizumab, como las bandas oligoclonales IgM en el líquido cefalorraquídeo (LCR) y la proteína CD62L en la sangre periférica, pueden ayudar a mejorar los actuales algoritmos para evaluar el riesgo en desarrollar una leucoencefalopatía multifocal progresiva.

A pesar de que se necesitan más estudios, se ha conseguido un gran progreso en el campo de los biomarcadores en la EM (73) (figura 3), sugiriendo que la medicina de precisión, una utopía en el pasado, está convirtiéndose poco a poco en una realidad en esta patología.



Figura 3. Resumen de los biomarcadores publicados recientemente en EM. CD62L: L-selectina; CIS: síndrome clínico aislado; LCR: líquido cefalorraquídeo; fMR: resonancia magnética funcional; IFNβ: interferón beta; IL-1b: interleukin-1 beta; NLRP3: familia NRL dominio pirina 3; PBMC: células mononucleares en sangre periférica; LMP: leucoencefalopatía multifocal progresiva; SLC9A9: familia de portadores 9, subfamilia A. Obtenido de "Precision medicine in multiple sclerosis", Comabella et al.(136)

4.1.6 Tratamiento modificador de la enfermedad.

Los fármacos modificadores de la enfermedad (FME) aprobados en pacientes afectados de EM varían en función de las diferentes formas clínicas de presentación (figura 4) (59). Estas terapias no curan la enfermedad pero previenen la aparición de nuevos brotes, haciendo que estos sean más leves y que la discapacidad aparezca más tardíamente. No son fármacos equivalentes, son diferentes en su composición, vía de administración, absorción, mecanismo de acción o dosis, por lo que se deberán tener en cuenta las preferencias individuales de cada paciente (76).

La evidencia científica ha demostrado que su uso en fases tempranas reduce la tasa anual de brotes y la aparición de nuevas lesiones inflamatorias en la RM, así como una modesta reducción en la acumulación de discapacidad (77). La importancia de tratar la enfermedad lo más cercana al diagnóstico radica en que, por ahora, los tratamientos modificadores de la enfermedad actúan en la fase inflamatoria y en mucho menos grado en la neurodegenerativa. También es importante el tratamiento sintomático de la enfermedad, ya que es la base para una mejora en la calidad de vida y la integración del paciente en el mundo laboral y en sus actividades familiares y sociales.

| Presentación clínica | Consideraciones | Opciones terapéuticas |
|---|---|--|
| Síndrome desmielinizante aislado | | <ul style="list-style-type: none"> - Interferón beta 1 b - Interferón beta 1 a im - Interferón beta 1 a sc - Acetato de glatirámero |
| Esclerosis múltiple recidivante remitente | Terapia inicial o primera línea terapéutica | <ul style="list-style-type: none"> - Interferón beta 1 b - Interferón beta 1 a im - Interferón beta 1 a sc - Interferón beta 1 a pegilado - Acetato de glatirámero - Teriflunomida - Dimetilfumarato - Azatioprina |
| | Formas agresivas | <ul style="list-style-type: none"> - Natalizumab - Fingolimod - Alemtuzumab - Cladribina - Ocrelizumab |
| | Respuesta inadecuada a primera línea | Cambio entre medicamentos de primera línea o paso a segunda línea en función de las características de cada paciente |
| | Respuesta inadecuada a segunda línea | Considerar otros fármacos de segunda línea |
| | Fracaso de los anteriores | Opciones no aprobadas: <ul style="list-style-type: none"> - Rituximab - Ciclofosfamida - Autotrasplante |
| Suspensión de natalizumab | Terapia alternativa entre 8 y 12 semanas de la suspensión | |
| Progresión secundaria con brotes | | <ul style="list-style-type: none"> - Interferón beta 1 b - Interferón beta 1 a sc - Mitoxantrona (raramente utilizada por toxicidad) - Ocrelizumab - Agonistas de receptores S1p |
| Esclerosis múltiple primaria progresiva | | <ul style="list-style-type: none"> - Ocrelizumab |

Figura 4. Fármacos modificadores de la enfermedad aprobados según presentación clínica de EM. Obtenido de Guía para el manejo del paciente con EM(15).

4.2 Esclerosis Múltiple y visión.

Las alteraciones visuales que presentan los pacientes con EM a menudo son infradiagnosticadas porque no suelen ser obvias para los pacientes, por lo que el clínico debe preguntar directamente por síntomas y signos visuales.

En una revisión llevada a cabo por el Comité norte americano de investigación en EM, el 60% de 9107 pacientes reportaron alteraciones visuales. De éstos, el 14% referían intensidad de síntomas moderada/severa/muy severa (78).

La clínica visual más frecuente suele presentarse como reducción de la agudeza visual y alteración del color, como en casos de neuritis óptica (NO) o alteraciones de la motilidad ocular. Además, algunos fármacos modificadores de la enfermedad pueden afectar a la visión (79).

❖ Neuritis Óptica

Se trata de la inflamación del nervio óptico y puede ocurrir en el contexto de la EM o de la neuromielitis óptica. También puede deberse a infecciones o a otras condiciones inmunológicas. La clínica típica tiene un curso subagudo con pérdida unilateral de la visión, dolor a la movilización ocular, alteración del reflejo pupilar a la luz y alteración en la visión del color. La pérdida visual se desarrolla típicamente en unas horas o días y la intensidad es muy variable, siendo normalmente autolimitada en varias semanas. La NO es el síntoma de debut de la EM en el 20% de los pacientes (80,81). Un estudio de cohortes americano siguió a una serie de pacientes con NO unilateral que no cumplían criterios de EM. Después de 15 años, la mitad de los pacientes habían sido diagnosticados de EM. El riesgo de desarrollar EM después de un episodio de NO es más elevado en los primeros 5 años (82).

En estos pacientes, además de evaluar la agudeza visual (AV), se deben evaluar los campos visuales y comprobar la visión al color con el test de Ishihara o los test de Farnsworth 15D y L'Anthony 15D y la sensibilidad al contraste (que afecta a la calidad de la visión, especialmente al reconocimiento de caras, lectura y otras actividades de la vida diaria) (83).

❖ Alteraciones de la motilidad ocular

1. Oftalmoplejía Internuclear

Una forma muy frecuente de alteración de la motilidad es la oftalmoplejía internuclear, que se estima afecta a más del 20% de los pacientes (84). Este signo se produce por el daño del fascículo longitudinal medial en el tronco-encéfalo produciéndose una disrupción en las vías entre el núcleo del nervio abducens (VI par craneal) en la protuberancia y el núcleo del nervio motor ocular común (III par craneal) en el mesencéfalo contralateral con la consecuente mirada lateral disconjugada. En una lesión del fascículo longitudinal medial izquierdo, al pedir al paciente que mire de derecha a izquierda en el plano horizontal, podemos observar una limitación en la aducción del ojo ipsilateral a la lesión mientras que la abducción del ojo contralateral mostrará un nistagmo horizontal (85). La convergencia está normalmente preservada, salvo que la lesión sea más extensa. La oftalmoplejía internuclear puede ser uni o bilateral (86) y puede deberse a otras causas como vascular, infecciosa, traumática o por presencia de neoplasias (figura 5).

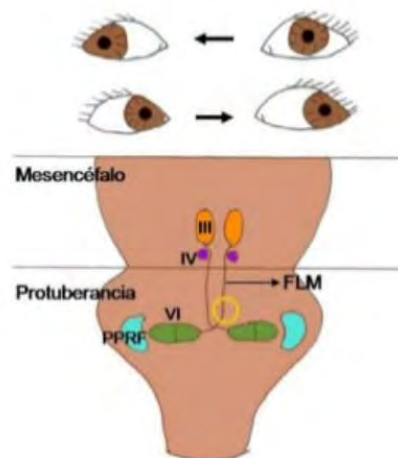


Figura 5. Representación de una oftalmoplejía internuclear por lesión del fascículo longitudinal medial izquierdo.

2. Lesión de los nervios oculomotores.

La EM raramente provoca parálisis de nervios craneales aislados, pero en ocasiones puede verse como debut o durante un brote (87), por lo que en pacientes jóvenes es importante tener en cuenta la EM como posible etiología. El principal síntoma de una paresia es la diplopía, y los nervios más comúnmente afectados son el VI par craneal (abducens) y el III par craneal (motor ocular común). Otras veces las lesiones en tronco-encéfalo pueden dar serias disfunciones de la mirada lateral, pero son relativamente raras. En estos casos, los pacientes no son capaces de mover sus ojos en el plano horizontal, a uno u ambos lados (88).

3. Trastornos de fijación.

Estos signos son bastante frecuentes en EM. Son producto de la desmielinización del cerebelo o de los tractos entre el cerebelo y el tronco-encéfalo (89).

Las sacadas son movimientos breves y rápidos de los ojos donde los ojos cambian el enfoque de un objeto a otro. Al examinar los movimientos oculares sacádicos, se le pide al paciente que cambie su mirada hacia un lado de un objeto a otro. En las *dismetrias sacádicas*, la mirada del paciente se pasa o socava el objeto objetivo. Los ojos del paciente suelen hacer movimientos correctivos de ida y vuelta antes de finalmente lograr fijar el objeto.

El *nistagmo* se refiere a movimientos oculares involuntarios y rítmicos en asociación con una capacidad reducida para mantener la fijación. Hasta uno de cada 5 pacientes con EM experimenta nistagmo patológico (88). Puede ocurrir cuando los ojos están en una posición central o cuando la mirada se mueve en una dirección particular. La forma más común en la EM es el nistagmo evocado por la mirada. Otras formas de nistagmo son el pendular y el vertical.

Las *intrusiones sacádicas* son movimientos oculares disruptivos que surgen cuando un paciente intenta enfocarse en un objeto. Existen varios tipos en pacientes con EM: sacudidas de onda cuadrada (“square wave jerks”), opsoclonus y aleteo ocular (88).

❖ Disfunción visual inducida por medicación

Las guías de manejo de la EM recomiendan que los pacientes con diagnóstico de EMRR reciban fármacos modificadores de la enfermedad cuanto antes. Sin embargo, sabemos que algunos de estos fármacos pueden afectar a la función visual.

El más conocido es el Fingolimod, un fármaco modulador de la esfingosina 1-fosfato que bloquea la capacidad de los linfocitos para salir de los nódulos linfáticos y disminuir así su acción inflamatoria. Este fármaco puede producir edema macular, manifestado como metamorfopsia (en la que se observan líneas onduladas cuando se mira una cuadrícula de líneas rectas) y da lugar a una discapacidad visual. Los pacientes tratados con Fingolimod deben ser evaluados por un oftalmólogo antes y a los 3-4 meses después del inicio de tratamiento dado que se ha notificado edema macular con o sin síntomas visuales en el 0,5% de los pacientes tratados (90).

Natalizumab, otro inmunosupresor potente utilizado también en formas agresivas de EM, puede afectar a la visión. Aproximadamente 4 de cada 1000 pacientes tratados desarrollan leucoencefalopatía multifocal progresiva, causada por el virus JC (John Cunningham). Esta patología es potencialmente mortal, y en 1 de cada 4 pacientes se manifiesta con hemianopsia (91). También se han descrito casos de necrosis retiniana en estos pacientes, con un riesgo muy elevado de pérdida visual severa (92).

4.3 Esclerosis Múltiple y su relación con estructuras oculares.

❖ Retina

La retina es una extensión del sistema nervioso central que contiene fotorreceptores, neuronas y axones del nervio óptico. Es la capa más interna del globo ocular y su función es la de recibir señales lumínicas y convertirlas en señales eléctricas que viajan hasta llegar al lóbulo occipital donde se procesa la información que nos permite ver.

La mácula, en el polo posterior, alberga en su centro la fovea, que es la zona de máxima visión con sólo dos capas, epitelio pigmentario y conos. Según nos alejamos hacia la retina periférica, disminuye el número de conos aumentando el número de bastones hasta llegar a la ora serrata, que es el límite anterior de la retina (Figura 6)(93).

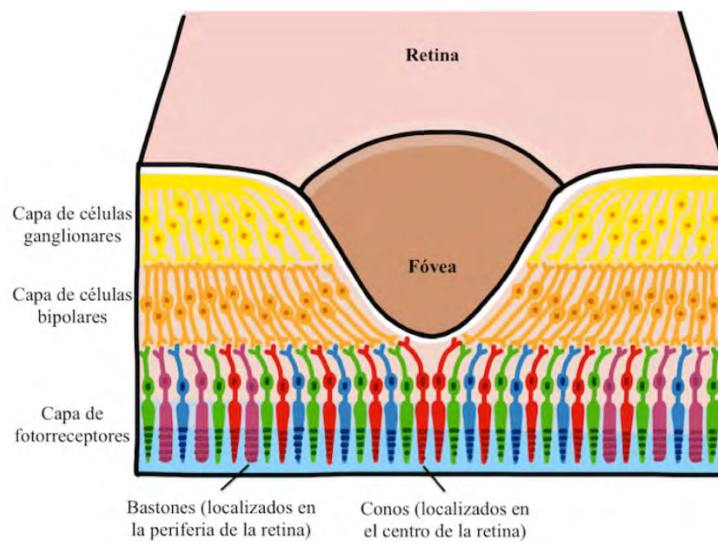


Figura 6. Mácula con la depresión foveal. Obtenido de Ríos Zuluaga JD C. et al. Univ Med. 2017.

Durante el desarrollo embriológico de los vertebrados la retina y el nervio óptico aparecen como esbozos del encéfalo, por lo que la retina se considera parte integrante del sistema nervioso central (SNC), siendo la única parte de éste que se puede examinar visualmente de forma directa (94). Este hecho convierte al tejido retiniano en una ventana que permite inspeccionar una parte del SNC y del sistema cardiovascular. La retina mantiene sus conexiones con el SNC a través de un haz de fibras, el nervio óptico, siendo por tanto la parte especializada del sistema nervioso cuya función es recoger, elaborar y transmitir las sensaciones visuales.

El espesor de la retina varía en el rango de las 100 a 500 μm . El espesor de la retina difiere en función de la localización topográfica. En la ora serrata es de 0.1 mm, en el ecuador de 0.18 mm y su máximo grosor se encuentra alrededor del nervio óptico, donde llega a medir 0.56 mm, ya que es en este punto donde la capa de fibras nerviosas incrementa su espesor y es la única estructura de la retina que continúa para convertirse en el nervio óptico (95).

La retina se compone de una serie de capas de células y de sinapsis que se pueden subdividir de forma general en una capa epitelial externa (conocida como epitelio retiniano o también epitelio pigmentario de la retina [EPR]), y una capa interna sensorial (que se conoce como retina neurosensorial o neurorretina). La neurorretina o retina neural tiene nueve capas que, de fuera a dentro, son: capa de fotorreceptores (conos y bastones), capa limitante externa, capa nuclear externa, capa plexiforme externa, capa nuclear interna, capa plexiforme interna, capa de células ganglionares, capa de fibras nerviosas y capa limitante interna (figura 7) (96).

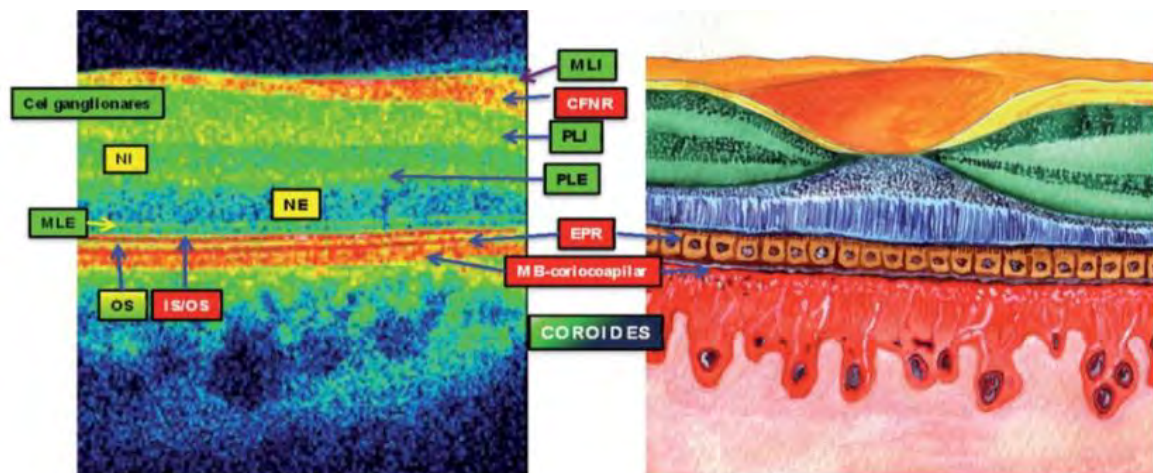


Figura 7. Esquema de la anatomía macular y su correlación con la OCT Cirrus. ML: membrana limitante interna, CFNR: capa de fibras nerviosas de la retina, PLI: plexiforme interna, PLE: plexiforme externa, MLE: membrana limitante externa, IS: segmento interno fotorreceptores, IS-OS: unión segmento interno-externo fotorreceptores, NI: nuclear interna, NE: nuclear externa, OS: segmento externo fotorreceptores, EPR: epitelio segmentario retina, MB: membrana de Bruch. Obtenida de(166).

En relación a las alteraciones estructurales de la retina en pacientes con EM, se ha sugerido la capa de fibras nerviosas de la retina peripapilar (pCFNR), compuesta de axones amielínicos, como un biomarcador que representa la degeneración axonal en el cerebro de pacientes con EM (97). Ya existe mucha evidencia de que el análisis microestructural a nivel axonal mediante tecnología OCT es útil para detectar la degeneración temprana y monitorizar la progresión de la enfermedad y la eficacia del tratamiento(11,98–101). Varios estudios han demostrado mediante SD-OCT que el espesor del complejo de células ganglionares maculares-capa plexiforme interna (mGCIPL) muestra una mejor correlación con la función visual y la discapacidad clínica en la EM

que la CFNR, incluso en etapas iniciales de la enfermedad (102). La tasa de adelgazamiento de mGCIPL se acelera en pacientes con actividad inflamatoria y se correlaciona fuertemente con la atrofia cerebral, particularmente la atrofia de la materia gris, con el tiempo (103).

❖ Coroides

La coroides es la parte más posterior de la úvea, representando dos tercios de la misma. Se extiende desde el nervio óptico hasta el cuerpo ciliar, situándose entre la esclerótica por fuera y la retina por dentro. Es un tejido de apariencia esponjosa, pigmentado y altamente vascularizado con mayor espesor en la parte posterior que en la parte anterior (104).

Es una capa fina, de entre 0.5 y 0.75 mm, llena de canales vasculares de mayor tamaño en la porción más externa y de menor conforme se aproximan a la retina, hasta formar un conjunto de capilares debajo del epitelio pigmentario retiniano (EPR). La coroides consta de cuatro capas (105) :

- Capa supracoroidea: es la capa más externa y no tiene vasos propios.
- Estroma o capa vascular: está formada por vasos sanguíneos rodeados de tejido conectivo que contiene fibroblastos y melanocitos entre otras células. Se divide a su vez en dos capas: la externa o capa de Haller y la interna o capa de Sattler.
- Capa coriocapilar: es la porción capilar de la coroides. Sus capilares son gruesos, fenestrados y de pared delgada, permitiendo así el paso simultáneo de varios eritrocitos y el intercambio de muchas moléculas.
- Membrana de Bruch: es la parte más interna de la coroides y señala el límite entre el EPR y la coriocapilar.

Una de las principales funciones de la coroides es irrigar y aportar nutrientes (oxígeno y glucosa) a las capas más externas de la retina, fundamentalmente a los fotorreceptores y al EPR. Esto es posible por la extensa red capilar con flujo sanguíneo muy rápido y poros orientados hacia la cara externa de la retina, donde se produce un elevado gradiente para la difusión de oxígeno hacia las capas externas de la retina y una baja concentración de productos de desecho, intensificándose así su eliminación desde la retina (104,105).

A nivel estructural, el adelgazamiento coroideo se ha considerado cada vez más importante en los últimos años, porque se ha asociado con algunas patologías oftalmológicas como la degeneración macular relacionada con la edad, y también en enfermedades neurodegenerativas, entre otras, la esclerosis múltiple (106,107). Además, se ha utilizado para revelar asociaciones entre el estado de la coroides y los estadios de diferentes patologías (108,109).

Esen et al. (108) investigaron el espesor de la coroides en pacientes con EM mediante OCT y observaron una disminución significativa respecto a controles sanos. Este estudio sugería que la reducción del espesor coroideo se produce independientemente al adelgazamiento de la CFNR. Teorizan que esto se explica porque los cambios en la CFNR son la consecuencia de los procesos neurodegenerativos e inflamatorios primarios, mientras que los cambios coroideos surgen como resultado de la desregulación vascular sistémica secundaria en la EM.

5. ESTADO ACTUAL DEL TEMA

Con el rápido desarrollo de nuevas terapias modificadoras del curso de la EM es necesario mejorar nuestra capacidad de diagnosticar de forma precoz y de monitorizar la progresión de la enfermedad a lo largo del tiempo. La tomografía de coherencia óptica de dominio espectral de alta resolución ha proporcionado un medio para detectar y monitorizar los cambios sutiles en la retina y el nervio óptico in vivo, informando desde etapas precoces de la existencia de daño axonal en estas estructuras de tan fácil acceso.

La correlación entre el daño axonal en la retina y la EM está ampliamente descrita por múltiples autores. La atrofia del nervio óptico y el adelgazamiento de la capa de fibras nerviosas de la retina peripapilar (pCFNR) son dos hallazgos típicos de los pacientes con EM. El daño axonal ocurre desde las primeras etapas de la enfermedad, y su relación con la desmielinización aún es imprecisa (5,6). El daño axonal se considera la principal causa de discapacidad (110–112), pudiendo ser detectado y cuantificado a nivel de la CFNR utilizando tecnologías de imagen ocular, como la OCT (7–9,112).

Parisi et al. (113) fue el primero en describir la disminución del espesor de la pRFNL en la EM mediante la antigua generación de OCT. Desde entonces, la evolución de estos dispositivos ha permitido un estudio de segmentación más preciso para cuantificar las capas más profundas de la retina (114). En los últimos años se han desarrollado dos variantes de la nueva cuarta generación de OCT: Dominio Spectral (también llamado Fourier-domain o dominio Fourier) y SS-OCT (Swept-source).

Un diagnóstico precoz es determinante para poder actuar frenando la progresión de la EM. La EM (115) se diagnostica en base a hallazgos clínicos, evidencia de lesiones en RM y estudio de LCR, pero estos test son más caros e invasivos, por lo que múltiples estudios sugieren que la OCT debería usarse como complemento a la RM para evaluar el proceso de neurodegeneración en la EM (116,117).

Dado su desarrollo embriológico, la retina se considera como una extensión del SNC (118), y sus capas más superficiales, la capa de fibras finas de la retina (CFNR) y la capa de células ganglionares retinianas (CGL+) nos aportan información esencial y muy accesible del estado y progresión del daño axonal. Se ha demostrado que en pacientes con enfermedades del SNC, entre ellas la EM, el espesor de CFNR disminuye significativamente conforme avanza la enfermedad (116,119).

Martinez-Lapiscina et al. (117) en su estudio longitudinal y multicéntrico, demostraron que el espesor de pCFNR medido por OCT en un solo tiempo durante el curso de la enfermedad, se puede utilizar como un marcador de empeoramiento de la discapacidad neurológica durante 1

año y 5 años de seguimiento. Además, señalan que el espesor de la pCFNR es una medida específica de la pérdida axonal que no está directamente afectada por la inflamación (excepto durante la neuritis óptica) y está también menos afectada por la astrogliosis que la pérdida de volumen cerebral por RM. Estos resultados son el primer paso hacia la validación de la OCT de la pCFNR como biomarcador para monitorizar la progresión de la discapacidad en la EM, proponiendo la tecnología OCT como una técnica de imagen de rutina que podría complementar los datos de la RM.

Al contrario que en el estudio anterior, con respecto a la relación con la progresión de la discapacidad, en el estudio de Carcelén-Gadea M. et al. en 2019 (120) no encontraron correlaciones entre el EDSS final y cualquiera de los parámetros estudiados durante el seguimiento. No concluyen entonces que el aumento del daño axonal corresponda a una progresión de la discapacidad. Del mismo modo, otros autores tampoco pudieron demostrar esta asociación (121,122). Para dar más claridad a esta posible relación (daño axonal retiniano y discapacidad en EM), los futuros estudios deberán tener como objetivo utilizar tamaño muestral más grandes, tiempos de seguimiento más largos, y escalas más sensibles capaces de detectar cambios más sutiles en la discapacidad física del paciente.

Graham E. et al. (123), utilizando la tecnología SD-OCT, señalan que el adelgazamiento más importante se ha observado en el sector temporal de la CFNR, sugiriendo que esta zona proporciona una mejor sensibilidad/especificidad para detectar cambios a lo largo del tiempo que la CCG/IPL (capa de células ganglionares de la retina/ capa plexiforme interna).

En contra de los resultados obtenidos en este estudio, García-Martín E. et al (11) informaron de que la medición de CCG proporciona una mejor predicción del daño axonal basándose en la puntuación de la escala de discapacidad EDSS. Varios estudios recientes (74,124) han sugerido también que el espesor de la CCG es un parámetro que puede relacionarse mejor con la enfermedad y la discapacidad tanto visual como general, así como con la atrofia cerebral, y proporciona mejor sensibilidad para monitorizar los cambios de forma longitudinal (125). Pero algunos de estos estudios tienen ciertas limitaciones, como por ejemplo, que usan diferentes intervalos de tiempo, menor resolución de los escáneres de OCT, analizan ambos ojos o incluyen ojos con NO, no tienen controles seguidos longitudinalmente o analizan únicamente el espesor de la CFNR global (74,125).

Por otro lado, Balk et al. (102) demostraron mediante SD-OCT que el daño de las capas de la retina internas ocurre más rápidamente durante las fases tempranas de la enfermedad. La atenuación de esta atrofia en etapas más avanzadas es sugestiva del efecto meseta (“plateau”),

como también señalan otros autores (126,127). Estos hallazgos enfatizan la importancia de una temprana intervención para prevenir o retrasar este daño y con él, la progresión de la discapacidad.

El hito más reciente en el desarrollo de la retina y la coroides corresponde a la OCT de tecnología Swept-source (SS-OCT), que supera la dispersión de la luz en la coroides gracias a longitudes de onda más largas que las utilizadas en sistemas SD (dominio spectral) con 1.050 nm frente a los 840 nm previos (128). La velocidad de escaneo en los dispositivos SS-OCT es de 100.000 A escaneos/segundo, proporcionando imágenes tridimensionales más precisas de la retina y coroides (128,129). La tomografía de coherencia óptica SS-OCT, en comparación con SD-OCT, obtiene con mayor precisión mediciones de tejido profundo (130), detecta mejor el límite posterior de la esclerótica (131) y puede evaluar una región más amplia del segmento posterior.

Hasta que se empezaran a realizar estudios de la coroides mediante SS-OCT, hubo varios estudios que utilizando tomografía de coherencia óptica de dominio espectral (SD-OCT), principalmente con imágenes de profundidad mejorada (EDI), evaluaron la coroides macular y peripapilar, principalmente en ojos sanos y en pacientes con glaucoma, pero los resultados mediante esta técnica eran inconsistentes (132–134).

En 2016, Ebru Esen et al. (108), utilizando la tecnología EDI-OCT con el dispositivo de Spectral-domain Cirrus HD-OCT, evaluaron el espesor de la coroides en pacientes con EM. Sus resultados no demostraron correlación entre el espesor coroideo y la puntuación EDSS. Sin embargo, se detectó una correlación inversa significativa entre el grosor coroideo y la duración de la enfermedad. También concluyeron que el espesor coroideo disminuyó significativamente en pacientes con EM en comparación con controles sanos y que esta disminución podría apoyar una posible hipótesis de la disfunción vascular como componente fisiopatológico de la EM. Se necesitan más estudios para comprender mejor la importancia de los cambios vasculares coroideos en la EM y para evaluar la posible relación etiopatológica entre la enfermedad y la disminución de los espesores coroideos.

Hasta donde sabemos, el primer estudio que evalúa los cambios estructurales a nivel de la retina y coroides en paciente con EM mediante tecnología Triton SS-DRI OCT (Topcon Corporation, Japan) es el correspondiente a la unidad temática de esta tesis, con título “Ability of Swept-

source optical coherence tomography to detect retinal and choroidal changes in patients with multiple sclerosis” en 2018.

En esta tesis, aportaremos evidencia sobre la capacidad de la OCT de dominio espectral Swept-source (Topcon, Japan) para evaluar tanto capas retinianas como tejidos más profundos como la coroides, analizando la confiabilidad de este dispositivo de última generación y trataremos de establecer patrones concretos de afectación de la coroides peripapilar en pacientes con EM.

Además, evaluaremos la capacidad de la unidad de monitorización Monpack One (Metrovision, Francia) para detectar alteraciones en la función visual y correlacionarlas con las alteraciones estructurales encontradas mediante el dispositivo SS-OCT.

Y en relación a los fármacos modificadores de la enfermedad, evaluaremos los daños tanto funcionales como estructurales que aparecen en pacientes tratados con Fingolimod utilizando el dispositivo Cirrus HD-OCT.

6. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

HIPÓTESIS

Los dispositivos de tomografía de coherencia óptica de última generación permiten tomar mediciones de la neuro-retina y de la coroides para la optimización y mejora del proceso diagnóstico, del seguimiento y de la monitorización de la esclerosis múltiple.

OBJETIVOS

- I. Evaluar la capacidad de la unidad multifuncional de análisis de la visión Monpack One para detectar alteraciones en la función visual de pacientes con esclerosis múltiple sin antecedentes de neuritis ópticas.
- II. Analizar la correlación entre los parámetros estructurales de la retina medidos mediante el dispositivo de nueva generación Swept-source de tomografía de coherencia óptica (SS-OCT) y las mediciones funcionales obtenidas mediante la unidad multifuncional de análisis de la visión Monpack One.
- III. Estudiar la utilidad de la unidad multifuncional de análisis de la visión Monpack One para la evaluación del daño axonal en pacientes con esclerosis múltiple sin antecedentes de neuritis óptica con respecto a sujetos sanos de su misma edad y sexo.
- IV. Evaluar la capacidad del nuevo dispositivo Swept-source de tomografía de coherencia óptica para detectar los cambios en el espesor de la retina y de la coroides en pacientes con esclerosis múltiple.
- V. Determinar el patrón de distribución del espesor de la coroides peripapilar en controles sanos mediante el software automático del Swept-source de tomografía de coherencia óptica y definir áreas en base al mismo espesor coroideo.
- VI. Evaluar el cambio que produce la esclerosis múltiple en las áreas de la coroides obtenidas mediante el dispositivo Swept-source de tomografía de coherencia óptica y compararlas con las de los controles sanos.
- VII. Analizar la capacidad del dispositivo Triton de tomografía de coherencia óptica tipo Swept-source para discriminar entre sujetos sanos y pacientes afectados de esclerosis múltiple.
- VIII. Estudiar los cambios en la función visual que suceden en los pacientes afectados de esclerosis múltiple tratados con Fingolimod durante un año.

- IX. Evaluar los cambios estructurales que tienen lugar en la retina de los pacientes con esclerosis múltiple tratados con Fingolimod durante un año.
- X. Comparar el daño axonal medido mediante tomografía de coherencia óptica entre los pacientes afectados de esclerosis múltiple tratados durante un año con Interferón beta y con Fingolimod.

7. METODOLOGIA

Los artículos que forman parte de esta tesis doctoral son el resultado de 4 estudios que se desarrollaron de forma independiente. Se trata de estudios que se llevaron a cabo en las consultas externas del servicio de Oftalmología, con la participación del servicio de Neurología del Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza. El diseño de estos estudios siguió los principios de la Declaración de Helsinki, y el protocolo fue aprobado por el Comité Ético de Investigaciones Clínicas de Aragón (CEICA).

7.1. Sujetos de estudio.

Para la realización de estos trabajos se contó con diferentes poblaciones.

1. Para el trabajo ***“Functional evaluation of the visual pathway in patients with multiple sclerosis using a multifunction stimulator monitor”*** sobre la evaluación funcional de la vía visual mediante la unidad multifuncional de análisis Monpack One, se incluyeron en el estudio 101 voluntarios sanos y 97 pacientes con EM. Los sujetos sanos fueron personal trabajador del hospital, familiares de los mismos, y familiares de los pacientes que participaron en el estudio que no presentaban ninguno de los criterios de exclusión. El grupo de EM fue compuesto por pacientes con diagnóstico de EM siguiendo los criterios de McDonald del 2005 confirmados por un Neurólogo (basándose en los criterios clínicos y de neuroimagen proporcionados por la resonancia magnética), con fenotipo de EM remitente-recurrente. Se excluyeron los sujetos con episodios previos de neuritis óptica, agudeza visual (AV) < 0,1 medida con la escala de Snellen, presión intraocular > 20mmHg, brotes agudos de EM en los 6 meses previos al reclutamiento, o defectos de refracción importantes (al menos 5 dioptrías de equivalente esférico o 3 dioptrías de astigmatismo).
2. En el estudio ***“Abilify of swept-source optical coherence tomography of detect retinal and choroidal changes in patients with multiple sclerosis”*** se evaluó la capacidad de la tomografía ocular Swept-source (SS-OCT) para detectar cambios retinianos y coroideos. Se evaluaron 97 ojos de 97 pacientes con EM y 101 ojos de 101 controles sanos. Todos los pacientes tenían un diagnóstico de EM según los criterios de McDonald del 2005 confirmados por un neurólogo (basándose en los criterios clínicos y de neuroimagen proporcionados por la resonancia magnética), con fenotipo de EM remitente-recurrente. Se excluyeron los pacientes con episodios previos de neuritis óptica, AV < 0.1 con la escala de Snellen, presión intraocular > 20mmHg, brotes agudos de EM en los 6 meses previos al reclutamiento, longitud axial

del ojo > 25.2 mm, y defectos de refracción importantes (al menos 5 dioptrías de equivalente esférico o 3 dioptrías de astigmatismo).

3. Para el desarrollo del estudio ***“Changes in peripapillary choroidal thickness in patients with multiple sclerosis”*** sobre cambios en el espesor de la coroides peripapilar se incluyeron un total de 51 ojos de 51 pacientes con EM y 102 ojos de 102 controles sanos. Todos los pacientes presentaban un diagnóstico de EM siguiendo los criterios de McDonald del 2010 confirmados por un neurólogo (basándose en los criterios clínicos y de neuroimagen proporcionados por la resonancia magnética), con fenotipo remitente-recurrente. Fueron excluidos los pacientes con episodios previos de neuritis óptica, AV < 0.1 medida con la escala de Snellen, presión intraocular > 20 mmHg y/o brotes agudos de EM en los 6 meses previos al reclutamiento o defectos de refracción importantes (5 dioptrías de equivalente esférico o más y/o 3 o más dioptrías de astigmatismo).

4. En el estudio ***“Progressive functional and neuro-retinal affection in multiple sclerosis patients treated with fingolimod”*** sobre las alteraciones visuales en pacientes tratados con Fingolimod, se incluyeron 78 ojos de 78 pacientes con EM (que fueron evaluados cada tres meses durante 12 meses de seguimiento) y 32 ojos de 32 pacientes con EM tratados con Interferón beta. Los criterios de inclusión fueron diagnóstico de EM siguiendo los criterios de McDonald de 2010 confirmados por un neurólogo (basándose en los criterios clínicos y de neuroimagen proporcionados por la resonancia magnética) con fenotipo remitente-recurrente. Sólo fue incluido un ojo por paciente. En caso de haber sufrido neuritis óptica, se incluyó el ojo que no había sufrido este proceso. Fueron excluidos los pacientes que presentaban: agudeza visual < 0.1 (usando la escala de Snellen), presión intraocular > 20 mmHg, brotes activos de EM (o cualquier otro déficit neurológico en los 6 meses previos al reclutamiento).

Además, se excluyeron pacientes con otras patologías retinianas, como la presencia de edema macular clínicamente observable, atrofia retiniana y otras alteraciones retinianas no relacionadas con la EM que pudieran interferir con las mediciones de OCT. También fueron excluidos pacientes con otras patologías neurológicas asociadas, así como cualquier patología sistémica

que pudiera interferir en los parámetros retinianos (como diabetes mellitus o hipertensión arterial mal controlada).

A todos los sujetos de los estudios se les solicitó la firma de un consentimiento informado en el que se detallaban las características del estudio y sus objetivos. Dicho consentimiento informado fue imprescindible para su inclusión en la investigación (Apéndice IV).

7.2. Protocolo exploratorio.

7.2.1 Exploración neurológica

La valoración neurológica fue realizada por el Servicio de Neurología y proporcionó la siguiente información:

- Tiempo de evolución de la enfermedad desde su diagnóstico.
- Valoración del fenotipo de EM (recidivante-remitente, primaria progresiva, y secundaria progresiva).
- Puntuación en la escala de disfunción neurológica (EDSS).
- Puntuación en la escala visual EDSS (en base a los resultados de optotipo de Snellen y campo visual con evaluación de los 30 grados centrales).
- Tratamiento recibido.
- Presencia de brotes agudos de EM.
- Presencia de episodios previos de neuritis óptica.

La Expanded Disability Status Scale (EDSS) (135) es un método de cuantificación validado universalmente para evaluar la discapacidad en los pacientes con EM. La EDSS cuantifica la discapacidad en ocho sistemas funcionales, permitiendo al clínico asignar un nivel de discapacidad para cada uno de ellos según la exploración física. Los sistemas funcionales son: piramidal, cerebeloso, tronco cerebral, sensorial, del intestino y la vejiga, visual y cerebral (figura 8 y 9). Su puntuación abarca desde 0 (examen neurológico normal) a 10 (muerte por EM) (figura 10) (136).

| | |
|---|---|
| Función piramidal 0. Normal. 1. Presencia únicamente de signos sin afectación funcional. 2. Mínima paresia. 3. Paresia o hemiparesia moderada. Monoparesia grave. 4. Marcada paresia. Monoplejía, tetraparesia moderada. 5. Paraplejía, hemiplejía o marcada tetraparesia. 6. Tetraplejía | Función cerebelosa 0. Normal. 1. Presencia únicamente de signos sin afectación funcional. 2. Ataxia leve. 3. Ataxia moderada de tronco o extremidades. 4. Ataxia grave de las cuatro extremidades. 5. Incapacidad de realizar movimientos coordinados. X Desconocido o no valorable por afectación piramidal. |
| Función de tronco cerebral 0. Normal. 1. Presencia únicamente de signos sin afectación funcional. 2. Nistagmo moderado u otra afectación leve de los cuales el paciente es consciente. 3. Nistagmo intenso, paresia extraocular, afectación moderada de otro par craneal. 4. Disartria, disfagia u otra alteración marcada. 5. Anartria o incapacidad de tragar. | Función mental 0. Normal. 1. Alteración del humor (no afecta al EDSS). 2. Leve afectación en funciones superiores. 3. Moderada afectación de funciones superiores. 4. Síndrome cerebral orgánico moderado o disminución mental marcada. 5. Demencia o síndrome cerebral orgánico crónico grave. |
| Función sensitiva 0. Normal. 1. Disminución de la sensibilidad vibratoria leve en una o dos extremidades. 2. Disminución leve de la sensibilidad táctil o algésica o artrocinética, o moderada de la vibratoria en dos extremidades, o leve de la vibratoria en tres o cuatro extremidades. 3. Disminución moderada de la sensibilidad táctil, algésica o artrocinética, o pérdida de la sensibilidad vibratoria en 1-2 extremidades, o disminución moderada de la vibratoria en 3-4 extremidades, o disminución ligera de la tactoalgésica en 3-4 extremidades. 4. Disminución marcada de la sensibilidad táctil, algésica o pérdida de la artrocinética en 1-2 extremidades, o moderada pérdida de sensibilidad artrocinética táctil o algésica, en 3-4 extremidades. 5. Pérdida de la sensibilidad en uno o más miembros, o disminución moderada de las sensibilidades por debajo de la cabeza. 6. Sensibilidad perdida por debajo de la cabeza. | |
| Función visual 0. Normal. 1. Escotoma con agudeza visual mejor de 20/30 2. Agudeza visual entre 20/30 y 20/59 o escotoma importante 3. Gran escotoma o afectación moderada de campos visuales, pero con agudeza entre 20/60 y 20/99. 4. Afectación grave de campos visuales o agudeza visual entre 20/100 y 20/200, o grado 3 con agudeza del ojo mejor menor de 20/60. 5. Agudeza visual máxima menor de 20/200 o grado 4 con ojo mejor con agudeza menor de 20/60 6. Grado 5 con agudeza visual del ojo mejor menor de 20/60. | Función intestinal y vesical 1. Ligera disfunción (urgencia o retención) urinaria. 2. Moderada urgencia o retención o escasa incontinencia urinaria. 3. Frecuente incontinencia. 4. Precisa sondaje urinario. 5. Pérdida de la función vesical. 6. Pérdida de la función vesical e intestinal. |

Figura 8. Expanded Disability Status Scale (EDSS). Sistemas funcionales

TABLA 1. Expanded Disability Status Scale (EDSS), modificada y resumida

| | |
|-----|---|
| 0,0 | Exploración neurológica normal |
| 1,0 | Sin discapacidad, signos mínimos en un sistema funcional (SF) ^a |
| 1,5 | Sin discapacidad, signos mínimos en más de un SF |
| 2,0 | Discapacidad mínima en un SF |
| 2,5 | Discapacidad mínima en dos SF |
| 3,0 | Discapacidad moderada en un SF o leve en 3 o 4 |
| 3,5 | Discapacidad moderada en un SF y leve en 1 o 2 SF |
| 4,0 | Discapacidad grave en un SF o moderada en varios SF |
| 4,5 | Ciertas limitaciones para realizar actividad plena o necesitar ayuda mínima. Anda unos 300 m sin ayuda |
| 5,0 | Discapacidad que afecta la actividad diaria habitual. Puede andar unos 200 m sin ayuda |
| 5,5 | Discapacidad que impide la actividad diaria habitual. Puede andar unos 100 m sin ayuda |
| 6,0 | Necesita ayuda unilateral (bastón, muleta) para andar unos 100 m |
| 6,5 | Necesita ayuda bilateral constante |
| 7,0 | Limitado esencialmente a permanecer en silla de ruedas unas 12 h; puede desplazarse sólo en la silla de ruedas |
| 7,5 | Limitado a permanecer en silla de ruedas, puede desplazarse sólo con ella aunque no todo el día |
| 8,0 | Limitado esencialmente a estar en cama o sentado o ser trasladado en silla de ruedas. Utiliza las manos eficazmente |
| 8,5 | Limitado a estar en cama gran parte del día, utiliza las manos parcialmente, necesita ayuda para aseo personal |
| 9,0 | Encamado y no válido, puede comunicarse y comer |
| 9,5 | Encamado y no válido total, incapaz de comunicarse y de comer eficazmente |
| 10 | Muerte por la enfermedad |

^aSistemas funcionales neurológicos evaluados para obtener puntuación en el EDSS: funciones piramidal (valora de 0 a 6), cerebelosa (0-5), tronco cerebral (0-5), sensitiva (0-6), vesical e intestinal (0-6), visual (0-6), mental (0-5) y otras (0-3).

Figura 9. Expanded Disability Status Scale (EDSS). Puntuación según la evaluación de los diferentes sistemas. Extraído de: Escalas clínicas en pacientes con esclerosis múltiple en atención primaria. Moraleda Borlado A et al. Aten Primaria. 2003 (136)

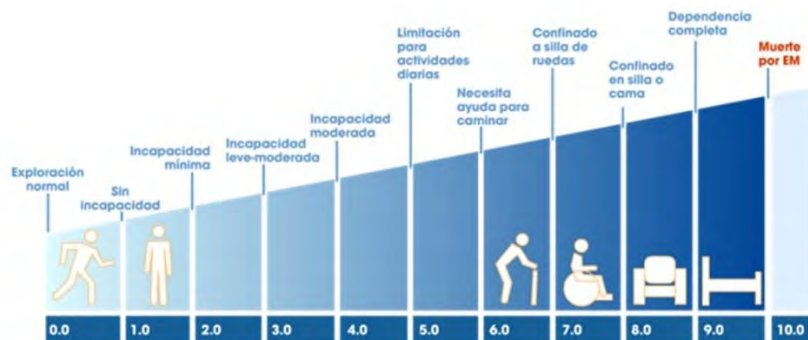


Figura 11. Expanded Disability Status Scale (EDSS), grados de discapacidad.

7.2.2 Exploración oftalmológica

La exploración oftalmológica fue realizada por el Servicio de Oftalmología y constó de las siguientes variables:

- Agudeza visual (AV), medida con optotipo de Snellen.
- Mejor agudeza visual corregida (MAVC), medida con optotipo ETDRS a tres diferentes contrastes: 100%, 2,50% y 1,25%.
- Medición de la CSV (visión de la sensibilidad al contraste) utilizando los test de Pelli-Robson y CSV-1000E.
- Evaluación de la visión cromática utilizando el programa Vision color recorder, que incluyó los tests de Farnsworth 15D y L'Anthony 15D.
- Perimetría automatizada para la exploración del campo visual (Humphrey Field Analyzer) con una estrategia SITA Standard (programa 30-2).
- Evaluación del fondo de ojo (evaluación del aspecto de la cabeza del nervio óptico).
- Evaluación de la motilidad ocular y de los reflejos pupilares.
- Examen del segmento anterior.
- Medición de la presión intraocular mediante tonometría de aplanación (Goldmann).
- Test de función visual mediante la unidad multifuncional de análisis de la visión Monpack One (Metrovision, Francia).
- Tomografía de coherencia óptica (OCT) con los dispositivos Triton SS-OCT (Topcon, Tokyo, Japan) y SD-OCT (Cirrus HD, Carl Zeiss Meditec Inc, Dublin, CA).

7.2.2.1. Exploración oftalmológica funcional

La medición de la agudeza visual (AV) puede realizarse mediante diferentes escalas, siendo la prueba más utilizada para la evaluación de la función visual el optotipo de Snellen (figura 12). La AV se define como la capacidad para percibir, detectar o identificar objetos separados entre sí e identificarlos como un todo. Se cuantifica como el ángulo mínimo de separación entre dos objetos que permite distinguirlos como objetos separados. La agudeza visual evalúa la función macular e informa de la precisión del enfoque retiniano, de la integridad de los elementos neurológicos del ojo y de la capacidad interpretativa del cerebro (15). En este estudio se ha empleado el optotipo de Snellen y el de ETDRS para medir la AV.

En el optotipo de Snellen (137)(figura 11), el resultado expresa la relación entre la última letra que el paciente ha visto y la distancia (expresada en ángulos métricos o en pies) a la que debería verla si la agudeza visual fuera del 100%. En la práctica clínica habitual este resultado se traduce a una puntuación decimal (fracción de la escala de Snellen, ej: 6/12 de Snellen= 0.5 de escala decimal). Los resultados en nuestro estudio se expresan en puntuación decimal, considerando 1 la agudeza visual del 100%.



Figura 11: Optotipo de Snellen. Foto realizada en el Servicio de Neurología del Hospital Miguel Servet, Zaragoza.

El optotipo de ETDRS (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study) (figura 12) es el optotipo más usado en investigación (138), y es la prueba estándar mundial para medir la baja visión. Su finalidad es evaluar la función visual de forma más precisa, estandarizada y reproducible y está basado en la carta logarítmica de Bailey&Lovie (139). Una diferencia con el optotipo de Snellen es que el ETDRS tiene el mismo número de letras en cada línea, concretamente cinco, separadas la misma distancia y se mide en escala LogMar. Además, el espacio entre ellas es proporcional al tamaño de las letras y la separación entre filas también. Cambiar de fila equivale a aumentar o disminuir 0.1 unidades logarítmicas de AV. Los optotipos deben ser igualmente legibles en cada nivel de AV (15).

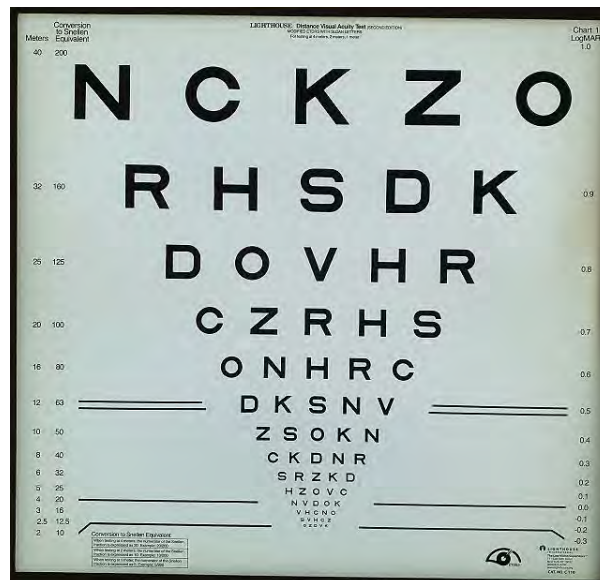


Figura 12: Optotipo ETDRS de contraste 100%. Foto realizada en el Servicio de Oftalmología del Hospital Miguel Servet, Zaragoza.

Se evaluó la AV a tres niveles de contraste diferente usando la carta ETDRS: 100%, 2.50% y 1.25 % (figura 13), con el paciente sentado a 4 metros de distancia (figura 14). El porcentaje indica el nivel de contraste, por ejemplo 100% representa letras negras sobre fondo blanco y 1.25% representa letras gris claras sobre fondo blanco. Las medidas se obtuvieron en visión monocular y binocular bajo condiciones de luz controladas (escotópica:< 0.003 cd/m², fotópica: luminancia media de 85cd/m², mesópica alta: 5cd/m², y mesópica baja 3cd/m²), con la mejor corrección (15).



Figura 13: Cartas ETDRS de contraste 2.5% (izquierda) y de contraste 1.25% (derecha) de contraste. Foto realizada en el Servicio de Oftalmología del Hospital Miguel Servet, Zaragoza.

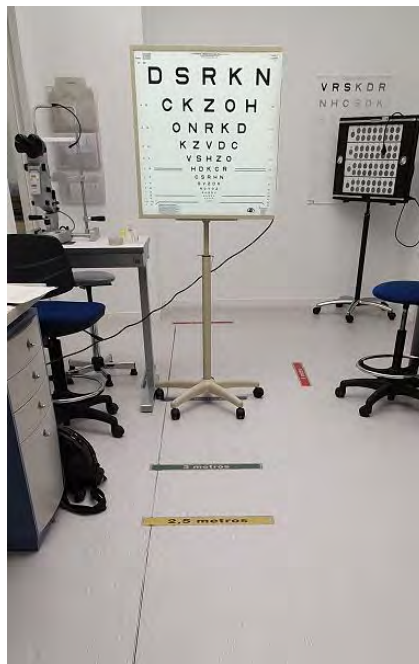


Figura 14: Test de Optotipo ETDRS de contraste 100% realizado a una distancia de 4 metros. Foto realizada en el Servicio de Oftalmología del Hospital Miguel Servet, Zaragoza.

La **sensibilidad al contraste (SC)** es un indicador mucho más sólido de la función visual que la AV (140). La AV y la sensibilidad al contraste no son lo mismo. Mientras que la agudeza visual es la capacidad del sistema visual para detectar detalles en un objeto e identificar objetos separados entre sí, la sensibilidad al contraste es la habilidad que tiene el sistema visual de discriminar con calidad un objeto y sus detalles sobre un determinado fondo.

La SC se determina midiendo los umbrales de contraste de distintas frecuencias mediante redes sinusoidales. Es decir, para cada frecuencia espacial (ciclos/grado) se determina el mínimo contraste, llamado contraste umbral, que ha de tener la red para que resulte visible al observador. El contraste o modulación (figura 15) proporciona como resultado un número adimensional entre 0 y 1. Cuanto mayor sea el contraste o modulación, mayor es la diferencia de luminancias y mejor se distinguirá el objeto respecto el fondo. Este se calcula con la siguiente fórmula (141):

$$C = \frac{L_{\max} - L_{\min}}{L_{\max} + L_{\min}}$$

donde Lmax y Lmin son la luminancia máxima y mínima respectivamente de la red en cada ciclo.

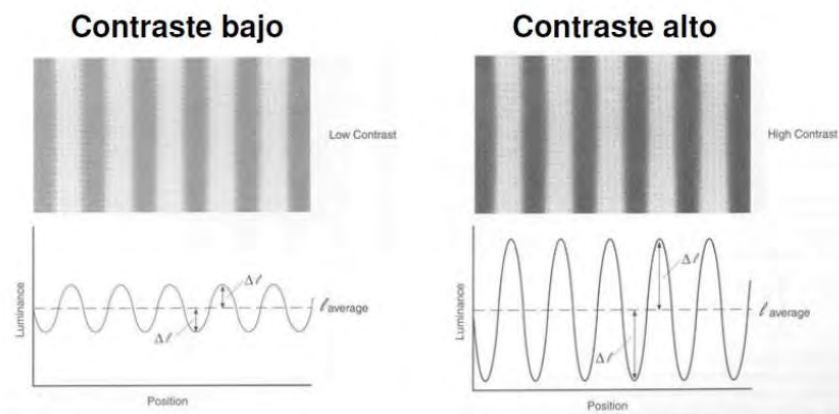


Figura 15. Contraste. Extraído de: Boxer Wachler BS, et al. J Refract Surg. 1998;14:463– 466. (167)

Es una de las cualidades del sistema visual que primero se ve afectada en las enfermedades neurodegenerativas como pueden ser la Alzheimer, Parkinson o EM (142,143).

Para evaluar esta característica, en nuestro estudio hemos utilizado la carta de letras de Pelli-Robson y el modelo CSV-1000E de Vector Vision.

El test de Pelli-Robson (figura 16), es un test que evalúa una sola frecuencia espacial y una sola medida de letra (optotipo 20/60). Consta de 8 líneas de letras y cada línea tiene 6 letras mayúsculas con un tamaño de 4.9×4.9 cm. Las letras se organizan en grupos de tres (tríos) existiendo dos por línea. Dentro de cada triplete, todas las letras tienen el mismo contraste, disminuyendo éste de un triplete al siguiente. El gráfico se debe colgar de manera que su centro quede aproximadamente al nivel de los ojos del paciente y una distancia de 1 metro. La tabla debe ser iluminada tan uniformemente como sea posible, de modo que la luminancia de las áreas blancas es de aproximadamente 85 cd/m² (rango aceptable de 60 a 120 cd/m²). El paciente debe hacer un solo intento de nombrar cada letra en la tabla, comenzando con las letras oscuras en la esquina superior izquierda y la lectura horizontal en toda la línea. Al paciente se le asigna una puntuación basada en el contraste del último grupo en el que dos de las tres letras fueron correctamente leídas (141).



Figura 16: Test de Pelli-Robson. Foto realizada en el Servicio de Oftalmología del Hospital Miguel Servet, Zaragoza.

El test CSV-1000E se utiliza para la estandarización de la SC y el deslumbramiento (figura 17). Se exploran cuatro frecuencias espaciales (3, 6, 12 y 18 ciclos por grado) con ocho niveles de contraste. En los cuatro primeros el contraste disminuye en pasos de 0.17 unidades logarítmicas, mientras que para los siguientes lo hace de 0.15 unidades logarítmicas. Cada frecuencia está compuesta por dos líneas de círculos, uno de los cuales contiene una rejilla con la frecuencia espacial. La prueba cuenta con su propio sistema de iluminación que proporciona una luminancia de 85 candelas/m². La prueba se realiza de manera monocular y el examinado se sitúa a 2.45 metros de distancia con su mejor AV corregida. El paciente debe indicar si la rejilla se encuentra situada en la fila de arriba o en la de debajo de cada frecuencia que se evalúa. Cada valor de contraste para cada frecuencia se transforma en una escala logarítmica de acuerdo con valores estandarizados (15,141).

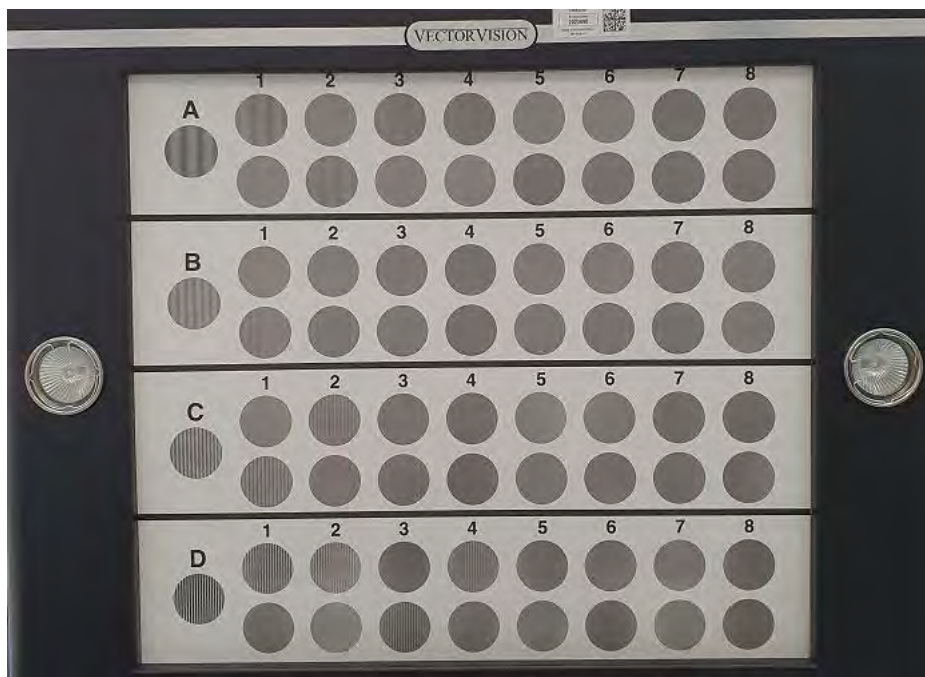


Figura 17: Test CSV-1000E con frecuencias espaciales de 3, 6, 12 y 18 ciclos por grado. Foto realizada en el Servicio de Oftalmología del Hospital Miguel Servet, Zaragoza.

La **exploración de la visión cromática** nos permite valorar y cuantificar las alteraciones en la percepción de los colores. Las formas adquiridas de estas anomalías aparecen en enfermedades maculares, ambliopía, etc; sin embargo, son las neuropatías las que muestran una mayor y más temprana afectación de la visión de colores (144) En la neuritis óptica se afecta, generalmente, la percepción en el eje rojo-verde del espectro y, con menor frecuencia, en el azul-amarillo, cuando la afectación del nervio es más severa (145). La discromatopsia (afectación de la visión de los colores) puede detectarse de forma sencilla mediante la visualización de un color monocular, que se obtiene pidiendo al paciente que compare el color de un objeto rojo entre los dos ojos.

En nuestro estudio, para la exploración de la visión cromática, se utilizaron las pruebas *Farnsworth 15D y Lanthony 15D integradas en el software Vision Color Recorder* (figura 18) (CVR, Optical Diagnosis, Inc., Beusichem, Países Bajos).

Se realizaron los tests de Farnsworth 15 y de Lanthony 15 con el programa Color Vision Recorder, el cual nos permitió realizar un análisis de discriminación cromática por ordenación de los colores, incluyendo los tests de Farnsworth 100-hue (FM-100), Farnsworth - Munsell 15D (desaturación) y L'Anthony 15D. Tras la realización de un test de ordenamiento, el procesamiento de los resultados nos lleva a un gráfico en el que valoramos si existe o no un determinado eje de confusión, es decir, una polaridad, que se suele simplificar en los términos «rojo-verde» (para defectos protan y deutan) o «azul-amarillo» (para defectos tritan)(15).(figura 19).

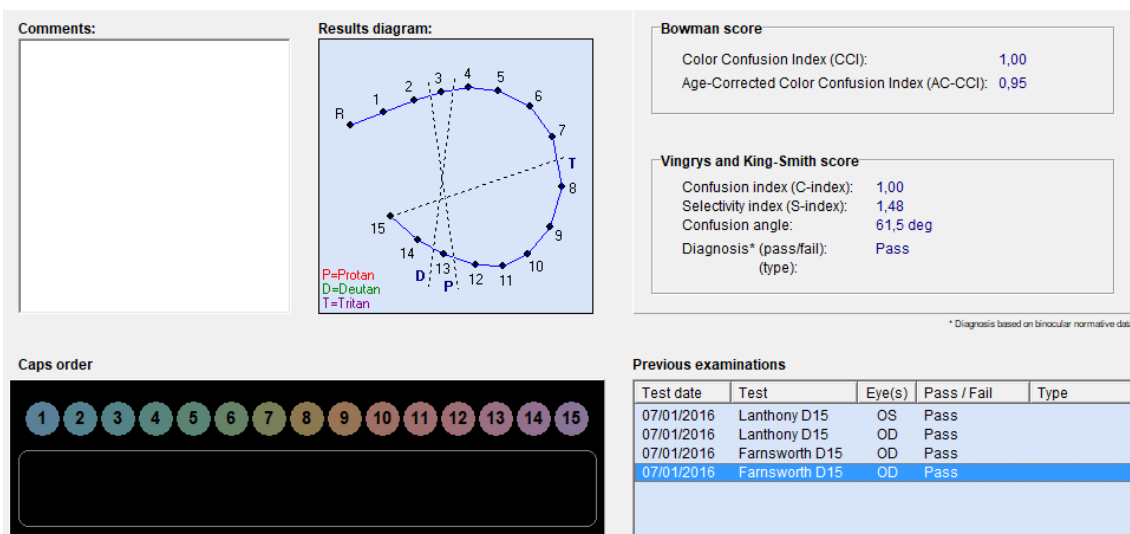


Figura 18. Test Farnsworth 15D. Programa informático Color Vision Recorder. Foto realizada en el Servicio de Oftalmología del Hospital Miguel Servet, Zaragoza.



Figura 19 Programa informático Color Vision Recorder. Representación esquemática del triángulo de color CIE con las líneas de confusión para defectos de protán, deután y tritán. Foto realizada en el Servicio de Oftalmología del Hospital Miguel Servet, Zaragoza.

Los protocolos Farnsworth D15 y L'Anthony D15 se usan a menudo para diferenciar entre sujetos con pérdida severa de la visión de color y aquellos con defectos medios o visión colorimétrica normal. Los datos se analizan junto con varios parámetros: Confusión index (C-index), Color Confusión Index (CCI), el Confusion Angle (Conf Ang) y el Scatter Index (S-index). El ángulo de confusión (Conf Angle) representa el eje de la deficiencia de color, y el S-index representa el paralelismo de los vectores de confusión con el ángulo de confusión personal (146,147). Todos estos parámetros evalúan la severidad de la discromatopsia. Los tests se realizaron de forma monocular con la mejor visión corregida.

La perimetría automatizada se utiliza para cuantificar el campo visual del paciente y es la prueba funcional más empleada en oftalmología, después de la medición de la agudeza visual. En nuestros estudios se utilizó la perimetría Humphrey Visual Field Analyzer (Carl-Zeiss Meditec, Dublin, CA, USA) con la estrategia SITA 30-2 estándar (figura 20).

El campo visual es la porción del espacio que es capaz de captar el ojo inmóvil en un momento dado. La disminución del espesor de la CFNR puede producir una pérdida de función visual, que generalmente pasa desapercibida en fases precoces y sólo se detecta en la perimetría cuando existe una reducción importante del número de células ganglionares.

La perimetría ha ido evolucionando, desde la técnica de Goldmann y su perímetro de proyección hemisférica (1945) hasta la perimetría computerizada o automatizada, que ha venido desarrollándose hasta nuestros días (148,149).



Figura 20: Perímetro Humphrey Visual Field Analyzer. Recuperado de: <https://spanish.alibaba.com/product-detail/aps-too-china-ophthalmic-equipment-humphrey-visual-field-analyzer-60494248032.html>

La perimetría automatizada convencional permite realizar la medición del campo visual periférico en forma automatizada y evalúa el funcionamiento del nervio óptico y de la retina. Los campímetros actuales disponen de un sofisticado software que analiza los resultados automáticamente.

El procedimiento consiste en la presentación de estímulos luminosos a través de un sistema de proyección, con un tamaño, intensidad y secuencia predeterminados. El paciente debe pulsar un botón cada vez que ve una luz, manteniendo la mirada fija en un estímulo central. El estudio se realiza de a un ojo por vez, de modo que se ocluye el ojo que no es estudiado. Se requiere de la cooperación y concentración del paciente para que los resultados sean confiables. Esta técnica permite realizar un examen umbral en tan sólo 2-3 minutos.

Para garantizar la fiabilidad de la exploración, sólo se admiten 3 pérdidas de fijación durante cada prueba. Una vez obtenidos los datos, el dispositivo los representa numéricamente y mediante una escala de grises (figura 21).

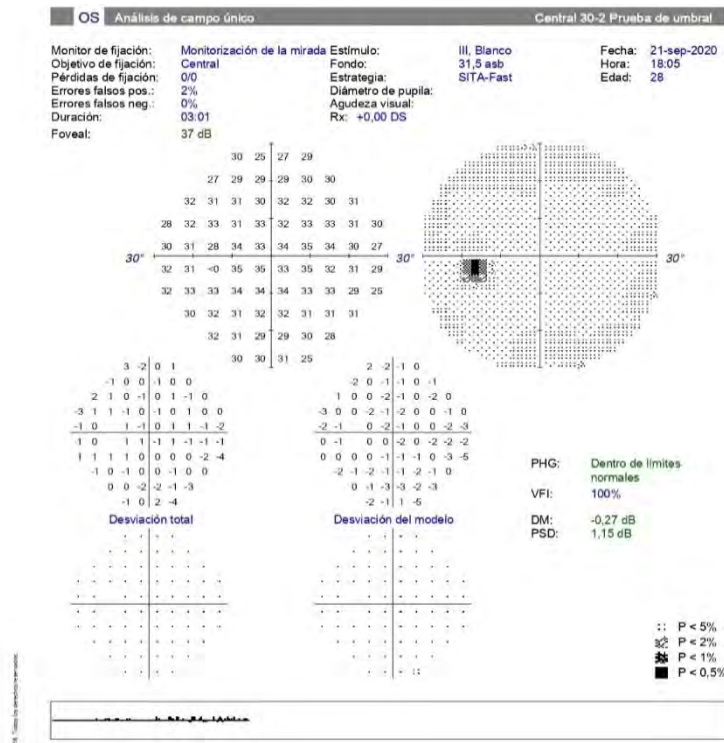


Figura 21. Campo SITA-standar 30-2. muestra el mapa de desviación total, desviación del modelo, y los indicadores de patrón del hemicampo de glaucoma (PHG), índice de campo visual (VFI), desviación media (DM) y desviación estándar del patrón (PSD).

A pesar de la rentabilidad que tiene esta técnica, también tiene una serie de limitaciones en pacientes con edad avanzada, pupila miótica, opacidad de medios (por ejemplo, catarata densa), y ametropías importantes. Además, requiere la colaboración del paciente y en procesos neurodegenerativos (donde el paciente puede presentar alteraciones posturales o del movimiento) el resultado de la prueba puede verse alterado por una baja confiabilidad.

Examen del Fondo de Ojo: Esta técnica nos permite la visualización de la cara interna de la parte posterior del globo ocular mediante visualización con oftalmoscopia indirecto y lente de 20 dioptrías.

En la EM es frecuente encontrar atrofia óptica, con una papila pálida, ligeramente elevada con márgenes mal delimitados por la gliosis asociada, y una reducción del número de los pequeños vasos sanguíneos que cruzan la superficie papilar (figura 22) (150).

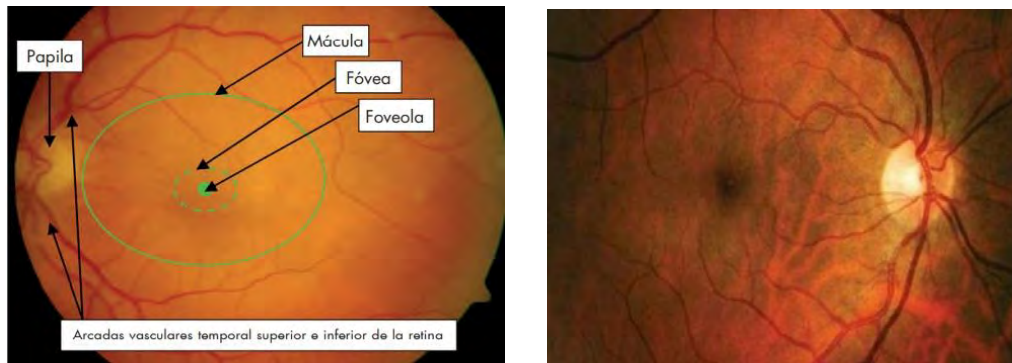


Figura 22. A la izquierda: Fondo de ojo normal donde se identifican las estructuras anatómicas más relevantes. A la derecha: Atrofia papilar por neuritis óptica asociada a EM. Se puede observar palidez papilar. Recuperado de: <https://sipse.com/novedades-yucatan/vision-vista-ojos-ocular-neuritis-enfermedad-salud-315991.html>

Tonometría de aplanación. La medición de la presión intraocular (PIO) es un procedimiento importante para el diagnóstico y seguimiento de pacientes con glaucoma. En nuestro estudio fue usada precisamente para evitar incluir pacientes con glaucoma subclínico que nos podrían alterar los resultados mostrando pérdida axonal secundaria a glaucoma y no a EM. La técnica más utilizada y de referencia para la medición de la PIO es la tonometría de aplanación de Goldmann (151,152) (figura 23), utilizada en todos los estudios que conforman la tesis. Las cifras normales de PIO son de 11 a 20 mmHg (152). Pacientes con PIO > 20 mmHg fueron excluidos de todos los estudios.

Para realizar esta técnica se utilizó la instilación de un colorante (fluoresceína) combinado con un colirio anestésico, ya que para realizar esta prueba es necesario el contacto de un pequeño cono con la córnea del paciente y así se evita la molestia que causaría sin anestésico local.



Figura 23. A la izquierda: tonómetro de Goldmann.
A la derecha: contacto de pequeño cono con la córnea del paciente.

Unidad multifuncional de análisis de la visión Monpack One (Metrovision, Francia). Se trata de un dispositivo que integra diferentes test: funcionales, electrofisiológicos, psicofísicos y oculomotores, para realizar una completa evaluación de la función visual (figura 24). El monitor comprende un panel central de cristal líquido con retroiluminación LED y 4 paneles periféricos iluminados con LEDs. Un sensor de luz colocado anteriormente proporciona retroalimentación al sistema permitiendo una luminancia constante durante la realización de la prueba.

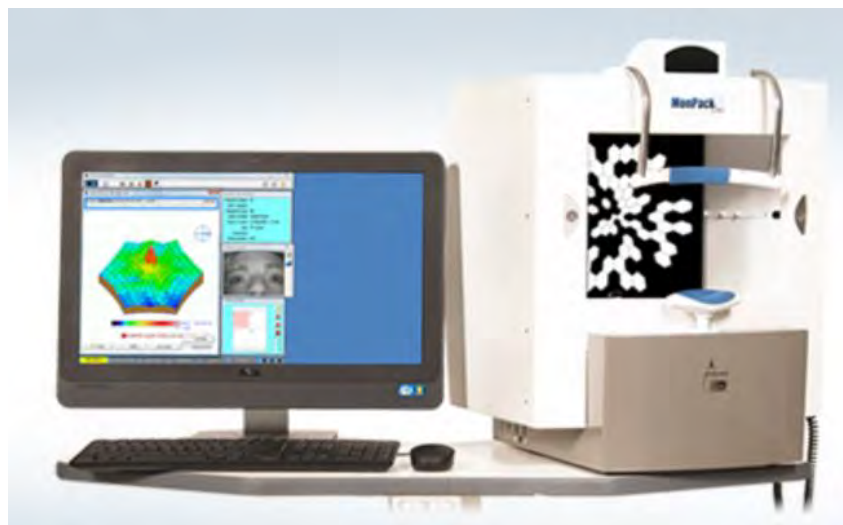


Figura 24. Unidad Multifuncional de Análisis de la Visión Monpack One. Recuperado de: <https://metrovision.fr/electrophysiology-us.html>

En nuestro estudio, se registró la AV, CSV, campo visual, potenciales evocados visuales (PEV) multifocales y un patrón de electroretinografía (ERG).

La agudeza visual a bajo contraste fue evaluada a un nivel de contraste del 10%. El porcentaje indica el nivel de contraste; el 100% representaría letras negras sobre fondo blanco, y el 10% corresponde con letras grises sobre fondo blanco. Dos diferentes gráficos ETDRS fueron seleccionados (uno para cada ojo) para evitar sesgos de aprendizaje o de memoria. Las mediciones fueron obtenidas en condiciones de luz escotópica, a una distancia de cuatro metros, con cada ojo por separado y usando la corrección de refracción necesaria. Se registró la agudeza visual (AV) (expresada en logMar) y el número total de letras leídas correctamente.

La sensibilidad al contraste (CSV) estática fue evaluada usando un patrón sinusoidal (grid) a diferentes frecuencias espaciales: 0.5, 1, 2, 5, 10, y 20 ciclos por grado. El umbral de CSV fue analizado mediante incremento progresivo de 0.25dB de contraste antes de la realización de la prueba. Para la evaluación de la sensibilidad al contraste, el paciente o sujeto control presionaba un botón en cuanto el contraste grid era visible en cada frecuencia espacial. Las mediciones fueron obtenidas a dos metros de distancia, bajo condiciones de luz escotópica y en visión monocular. Los resultados de CSV fueron registrados como una curva de sensibilidad al contraste en dB (0 representa la nula sensibilidad al contraste).

El campo visual fue calculado usando el protocolo Fast Perimetry 30 (Fast-30) del monitor MonPack One, el cual analiza 94 puntos del campo visual. La prueba se realizó usando corrección de distancia cercana en caso de que fuera necesario, y en visión monocular. La fijación fue controlada a través de una cámara de video central. Se analizaron los parámetros cualitativos (ej: fijación, atención...) para excluir las pruebas con baja fiabilidad, que fueron aquellas con más de 5/15 pérdidas de fijación y/o con más de 5/ 15 en pérdidas de atención (estas pruebas fueron automáticamente rechazadas por el programa). Los resultados se representaron como un mapa de sensibilidad en 2D y 3D, un mapa de puntuación de probabilidad al color y una curva de sensibilidad. Los parámetros registrados fueron la desviación promedio o "average déficit" (AD), la desviación media corregida por edad "corrected average déficit" (CAD), la varianza de la desviación o "variance of déficits" (VD), y la fluctuación temporal o "temporal fluctuation" (TF).

La evaluación electrofisiológica incluía potenciales evocados visuales (PEVs) multifocales y un patrón de ERG. Los PEVs multifocales fueron estimados usando tablas de verificación alternas con un punto central de fijación. Las respuestas eléctricas fueron grabadas usando cuatro

electrodos unidos al cuero cabelludo mediante agujas subcutáneas, localizadas alrededor del inion (4 cm por encima, 1 cm por encima y 4 cm a la derecha e izquierda). El electrodo de tierra se colocó en el vértex del sujeto. El PEV se evaluó con el procedimiento MVEP35, que analiza 35 zonas para cada ojo. La prueba se realizó a una distancia de 33 cm, en condiciones escotópicas después de 2 minutos de adaptación a la luz, usando corrección de distancia cercana en visión monocular. La fijación fue controlada mediante una cámara de video central. Los resultados fueron presentados como datos analíticos, histogramas de amplitud, mapa de color y representación 3D para 5 áreas retinianas diferentes: central, superonasal, superotemporal, inferonasal e inferotemporal. La amplitud de la onda P100 para cada área retiniana fue grabada y expresada en nV/deg².

El patrón ERG fue evaluado usando tablas de verificación alternas con un punto de fijación central. La respuesta eléctrica fue grabada usando un total de 5 electrodos tipo DTL (Dawson–Trick–Litzkow): 2 electrodos (uno para el ojo derecho y otro para el izquierdo) cubiertos horizontalmente a través de la córnea al nivel del párpado inferior (anestesia tópica previa) y 2 electrodos de referencia posicionados en el canto externo (ojo derecho e izquierdo). El electrodo de tierra fue posicionado en Fpz (fronto-polar, línea media). El patrón ERG utiliza un patrón de estimulación de inversión que cubre un campo de 60 grados con patrones grandes durante 50 minutos. La prueba fue realizada a una distancia de 30 cm, bajo condiciones de luz escotópica después de 2 minutos de adaptación a la luz, usando corrección de distancia cercana en visión monocular. Los resultados se expresan como gráficos de la respuesta eléctrica registrada y como datos analíticos de los diferentes picos seleccionados. Las amplitudes de latencia de las ondas N35, P50 y N95 fueron registradas (figura 25).

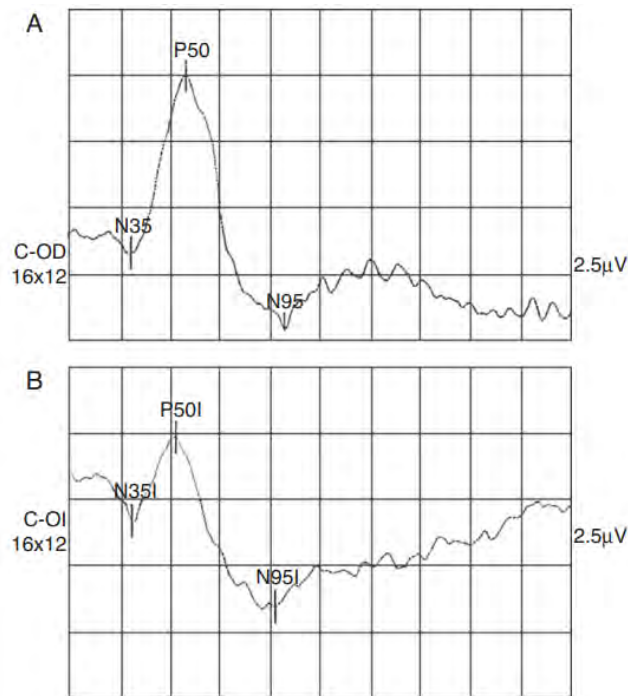


Figura 25. Electrorretinograma Pattern. A) Representación de las respuestas fisiológicas normales del electrorretinograma Pattern, donde se pueden apreciar los componentes N35, P50 y N95, así como los valores de sus latencias y amplitudes. B) Ejemplo de electrorretinograma Pattern en un paciente con diagnóstico de esclerosis múltiple, en el que se detecta un retraso en la latencia del componente N95 y un descenso en la amplitud de los componentes P50 y N95. Extraído de D.Rodríguez-Mena et al. (168)

7.2.2.2 Exploración oftalmológica estructural

El estudio estructural de la CFNR se llevó a cabo mediante técnicas de análisis digital de la imagen de última generación: Cirrus High definition (HD) dominio espectral SD-OCT (Carl Zeiss, Dublin, CA) y Triton Swept-source SS-OCT (Topcon, Tokyo, Japón).

Tomografía de coherencia óptica (OCT) con el dispositivo de *Spectral-domain (SD-OCT)*, Cirrus HD (Carl Zeiss, Dublin, CA).

La OCT, ideada en 1991 por Huang et al., nos permite obtener imágenes de cortes histológicos de la retina y medir cuantitativamente in vivo el espesor de la CFNR y de la mácula.

El sistema óptico de la OCT se basa en el interferómetro de Michelson y la interferometría está basada en un principio análogo al de la ultrasonografía, pero que sustituye las ondas acústicas por haces de luz.

El interferómetro óptico suma dos ondas electromagnéticas en dos rayos de luz: el de referencia y el de señal. Los rayos se recombinan y el resultante llega al detector, que medirá su potencia. Si se varía la posición del espejo de referencia, podremos medir los ecos de luz que vienen de las diferentes estructuras oculares en estudio (figura 26)(153).

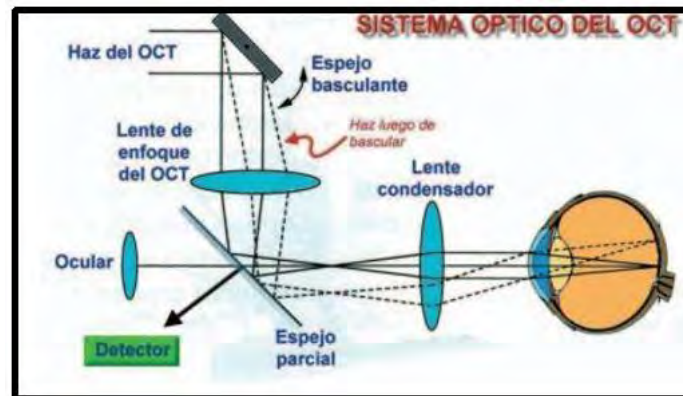


Figura 26: Sistema óptico en el que está basado la OCT.

Mediante el análisis de este patrón, podemos inferir las modificaciones que el medio recorrido ha producido en nuestro haz de luz, permitiéndonos calcular la intensidad y el retardo de la luz reflejada. Con todo ello se genera una imagen final con una escala de colores donde las zonas de alta reflectividad, que corresponden a áreas de bloqueo parcial o total al paso de la luz (sangre, fibrosis...), se muestran en tonos rojo-blanco, mientras que las imágenes de zonas de baja reflectividad, que implican baja o nula resistencia al paso de la luz (quistes, edema...), se muestran en el espectro azul-negro.

Hasta el año 2006 los modelos de OCT se basaban en el sistema de dominio tiempo, en el que la información profunda se adquiría secuencialmente moviendo el espejo de referencia y se observaba el cambio en el tiempo del patrón de interferencia, necesitándose 1.28 segundos para la adquisición de las imágenes. Posteriormente apareció el sistema de dominio espectral (Spectral o Fourier Domain), que utiliza en esencia el mismo sistema que el dominio tiempo, pero el espejo de referencia permanece estacionario y la información profunda se obtiene con el análisis de los patrones de interferencia en un espectro de luces reflejadas y mezcladas. En vez de emplear un fotorreceptor, utiliza un espectrómetro de alta velocidad, lo que permite una detección mucho más eficiente de señales débiles, adquisición de datos con mayor rapidez y mejor resolución (que alcanza axialmente un rango entre 6 y 2 μm).

El Cirrus HD OCT es capaz de realizar mediciones con una resolución de 5/1000 milímetros y más de 67.000.000 puntos de información diferentes mediante el uso de la tecnología de infrarrojos (figura 27).

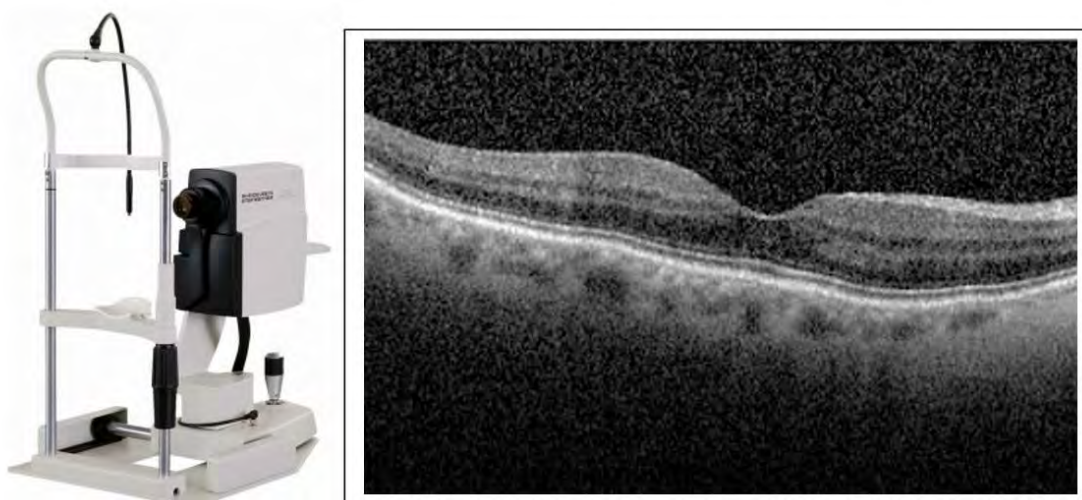


Figura 27. Tomografía de coherencia óptica (OCT) de dominio espectral. A la izquierda, un aparato como el utilizado en nuestro estudio. A la derecha, una imagen del área macular obtenida con ese aparato.

La adquisición de las imágenes se realizó siguiendo los criterios de control de calidad de *OSCAR-IB*, cumpliendo las recomendaciones ya publicadas para la EM (tabla 2)(154).

| Item | Criterio |
|----------|--|
| O | Problemas Obvios , incluida la violación del protocolo |
| S | Baja intensidad de la Señal , definida como <15dB |
| C | Centrado incorrecto del escaneo |
| A | Fallo del Algoritmo |
| R | Patología de la Retina distinta de la relaciona con la EM |
| I | Iluminación |
| B | Colocación de la viga (“ viga” en inglés = “ Beam ”) |

Tabla 2. Criterios de control de calidad de *OSCAR-IB* para las exploraciones OCT de retina.

Los protocolos empleados en nuestros estudios para la medición de los diferentes parámetros fueron los siguientes (tabla 3):

| | |
|-------------------|--|
| OCT Cirrus | Protocolo Optic disc cube 200 x 200 para CFNR |
| | Protocolo macular 512 x 128 para espesores y volumen macular |
| | Protocolo Análisis células Ganglionares |

Tabla 3. Protocolos de adquisición de imágenes mediante el dispositivo OCT Cirrus.

El protocolo de **nervio óptico** de la OCT Cirrus genera imágenes de un cubo de 200x200 μm (figura 28). Analiza 6 mm^3 de CFNR alrededor del nervio óptico. Los parámetros analizados en nuestro estudio fueron el espesor medio de la CFNR y el espesor en cada uno de los cuadrantes de la CFNR (superior, inferior, temporal y nasal).

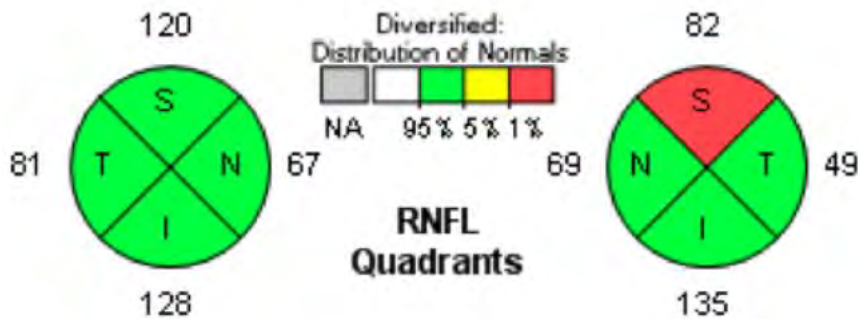


Figura 28. Cuadrantes en los que divide las mediciones de los espesores de la capa de fibras nerviosas de la retina el tomógrafo de coherencia óptica Cirrus.

El protocolo **macular** de la OCT Cirrus incluye un cubo macular de 512x128 μm que proporciona los valores de los espesores de la retina en las nueve áreas descritas en el Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) (figura 29). Este estudio divide la mácula en 9 áreas definidas por tres círculos ubicados a 1, 3, y 6 mm; estos dos últimos a su vez están divididos en cuatro cuadrantes: superior, inferior, nasal y temporal. El área 1 representa la fovea. Las áreas 2, 3, 4 y 5 forman el anillo interno y las áreas 6, 7, 8 y 9 forman el anillo externo.

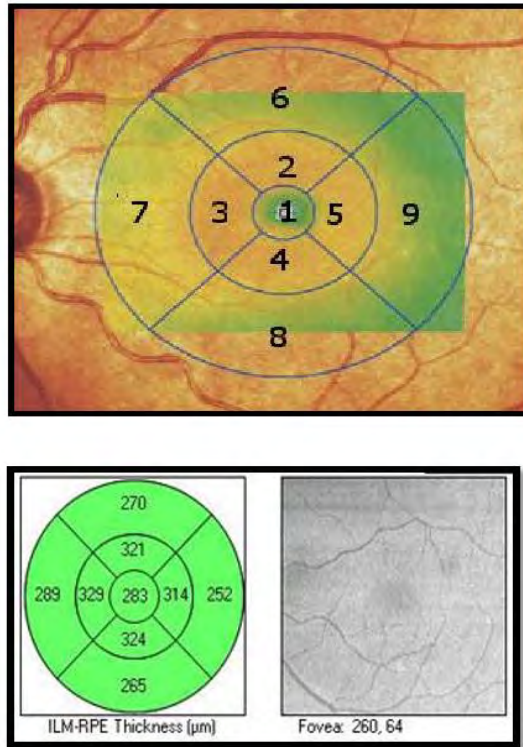


Figura 29. Arriba: cubo macular donde se observa la numeración de las 9 áreas según el ETDRS. Abajo: Representación del espesor macular en los diferentes sectores con tomógrafo de coherencia óptica Cirrus.

El análisis de **segmentación de las capas retinianas** también ofrece medidas del espesor de la capa de células ganglionares (figura 30) evaluando 6 áreas de un cubo macular (sectores superior, superonasal, inferonasal, inferior, inferotemporal y superotemporal) y medidas de la media y el mínimo de la capa de células ganglionares (GCL) y la capa plexiforme interna (IPL: Inner Plexiform Layer). Se selecciona el mínimo porque la porción más fina de GCL+IPL en la región perifoveal se considera indicativa de daño de células ganglionares.

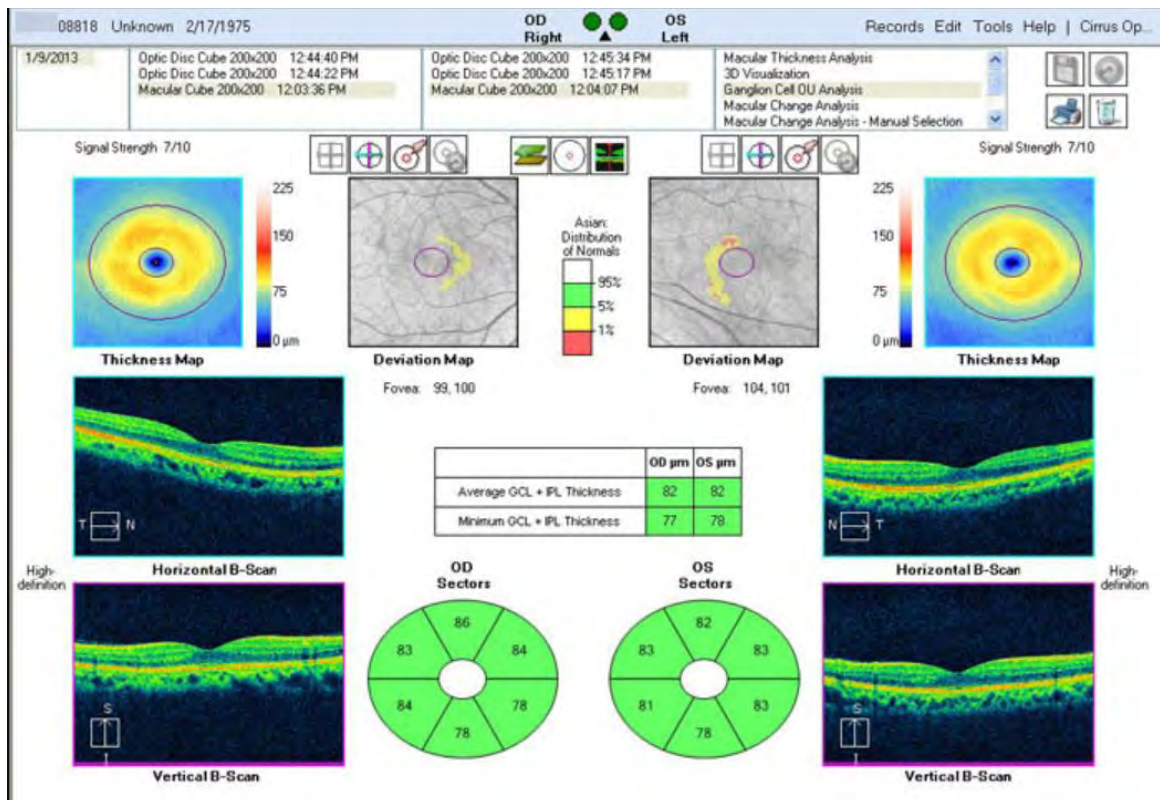


Figura 30: Representación del espesor en sectores de la capa de células ganglionares de la retina con tomógrafo de coherencia óptica Cirrus.

Tomografía de coherencia óptica Triton Swept-source (SS-OCT), (Topcon, Tokyo, Japón).

En 2012 comenzó a desarrollarse la tecnología Swept-source OCT, que utiliza un rango de longitudes de onda individuales secuencialmente, de forma que consigue una mayor velocidad de análisis (disminuyendo el tiempo de la prueba), una menor dispersión de la luz emitida (por lo que puede atravesar medios opacos como una catarata y alcanzar tejidos más profundos como la coroides) y una alta definición de la imagen en diferentes planos de profundidad. Esta capacidad de evaluar capas profundas como la coroides se logra gracias al láser cercano al infrarrojo de mayor longitud de onda utilizado en la tecnología Swept-source. El hecho de que sea una luz fuera del espectro visible también contribuye a reducir el movimiento del ojo durante la exploración, disminuyendo así los artefactos y aumentando la precisión de la exploración (155). El tiempo medio de exploración para una prueba estándar 3D es de 0.65 segundos.

El OCT Triton (Topcon, Japón) del que dispone el Servicio de Oftalmología de nuestro hospital, se basa en la tecnología Swept-source. Utiliza una longitud de onda de 1050 nm y alcanza una resolución de 2.6 micras. Este dispositivo nos permite explorar las distintas capas de la retina y la coroides tanto en la zona macular como en la zona peripapilar (figura 31).

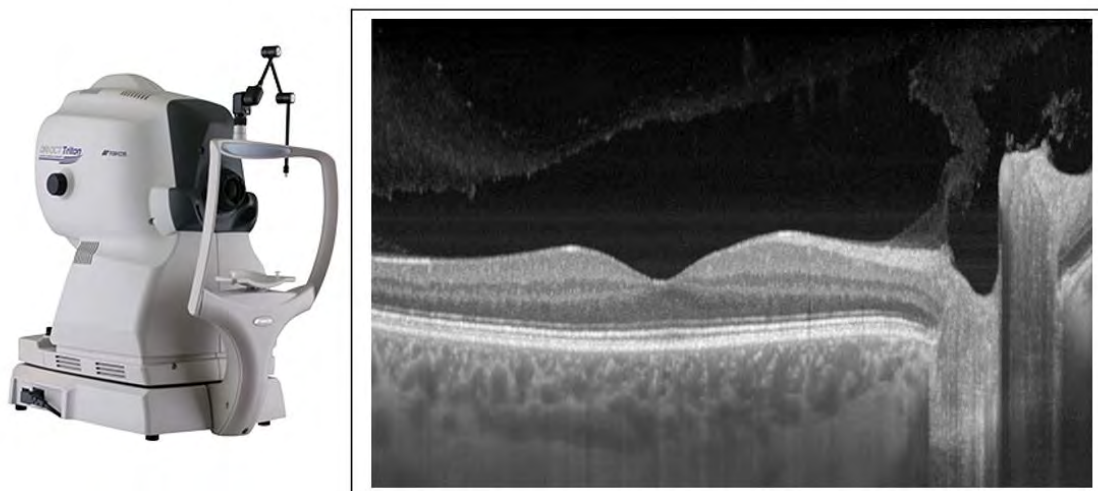


Figura 31. Tomografía de coherencia óptica (OCT) Swept-source. A la izquierda, imagen del aparato utilizado en nuestro estudio. A la derecha, una imagen del área macular y papilar obtenida con ese aparato.

Los aparatos de OCT poseen una base de normalidad con la que comparan los resultados del individuo evaluado en función de su edad, raza y sexo para determinar la probabilidad de que esos resultados se ajusten a la normalidad o no. Lo representan con una escala de colores que facilita la interpretación, siendo verde normal, amarillo dudoso, y rojo anormal.

Mediante la OCT, se han detectado alteraciones tanto en el espesor de la CFNR a nivel peripapilar, como en el espesor de la capa de células ganglionares a nivel macular en diversas enfermedades neurodegenerativas como la EM, la enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Alzheimer (98,156). El espesor de las fibras nerviosas de la retina en la zona temporal es el más relevante porque los axones situados en esa zona provienen de la mácula, y son por lo tanto los que transportan la información de las zonas de la retina con mayor concentración de fotorreceptores. Gracias a ellos obtenemos la mayor calidad de imagen y la mejor agudeza visual. Es precisamente en este sector temporal en el que se presentan las alteraciones más precoces en las enfermedades neurodegenerativas (157). De esta manera, la OCT tendría un papel importante como biomarcador del daño axonal.

Las imágenes fueron adquiridas en nuestros estudios utilizando dos de los protocolos incluidos en el dispositivo SS-OCT: el 3D Wide y el 3D Disc.

Protocolo 3D Wide (106): es el que analiza el área más completa en una sola medición. Este protocolo incluye un escaneo de 9 mm de alto × 12 mm de ancho que se centra tanto en la mácula (ETDRS: exploración del estudio de retinopatía diabética de tratamiento temprano) como en el área peripapilar (TSNIT: exploración temporal-superior-nasal-inferior-temporal). La exploración ETDRS proporciona las nueve áreas maculares clásicas, así como el espesor central subfoveal, el espesor medio y el volumen macular. El diámetro del área peripapilar medido con la exploración TSNIT es de 3.4 mm. El análisis TSNIT proporciona datos de los 4 cuadrantes peripapilares (superior, nasal, inferior y temporal), 6 sectores (superonasal, superotemporal, nasal, temporal, inferonasal e inferotemporal) y doce sectores horarios (figura 32) (158).

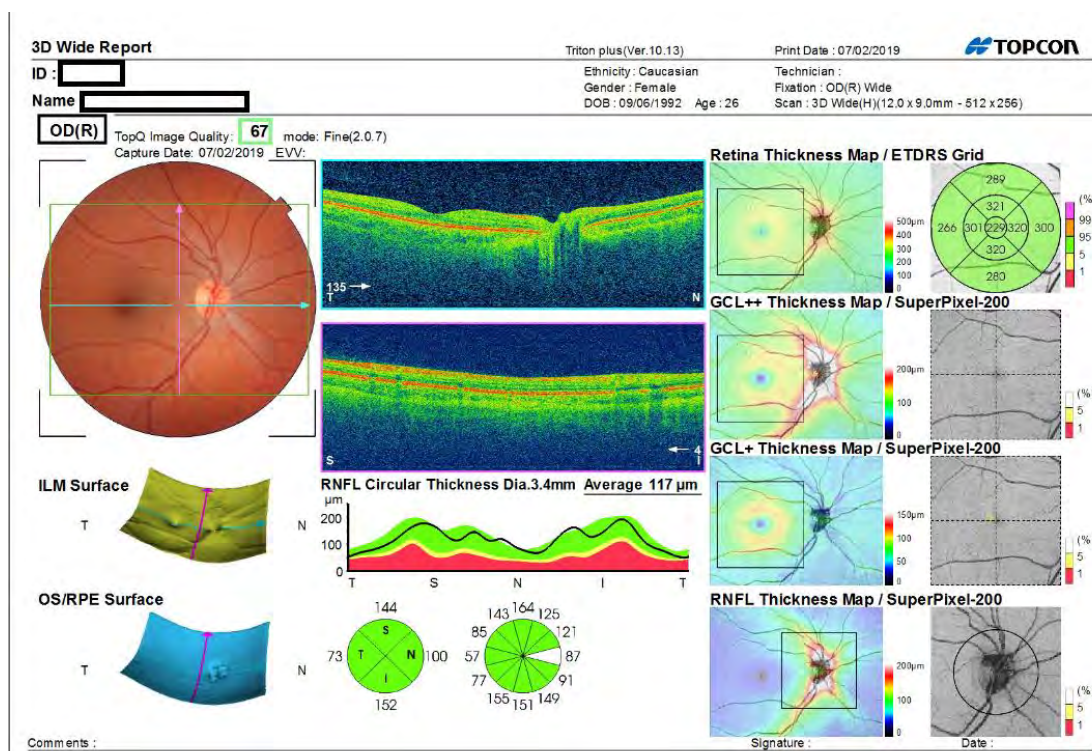


Figura 32. Protocolo 3D Wide. En la zona superior izquierda se observa la zona evaluada sobre una imagen del fondo de ojo. En la zona central superior se muestra una reconstrucción del corte seleccionado. En la zona central inferior se muestran los espesores de los cuadrantes y sectores papilares. En la zona derecha se muestran mapas de los espesores de las diferentes capas, comenzando arriba por el espesor total de la retina. Foto realizada con el dispositivo SS-OCT Triton del Servicio de Oftalmología del Hospital Miguel Servet.

El análisis mediante TSNIT proporciona mediciones independientes y automatizadas de las diferentes capas de la retina. Se registraron los espesores de la CFNR (entre la membrana limitante interna -ILM- y los límites de CCG), de la GCL + (entre la CFNR y los límites de la capa nuclear interna), de la GCL ++ (entre la ILM y los límites de la capa nuclear interna) y el espesor de la retina (entre la ILM y el epitelio pigmentario de la retina). Además, con ambos protocolos de análisis se conseguían mediciones automáticas del espesor de la coroides (figura 33).

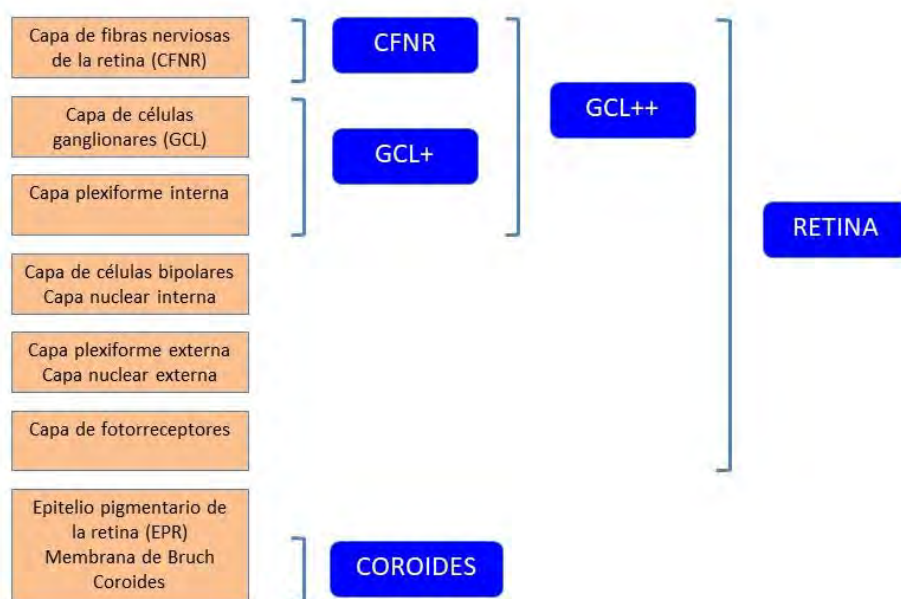


Figura 33: Representación de las capas que evalúa el dispositivo Triton (en azul) y su correspondencia con las capas histológicas de la retina (en naranja).

Todos los escaneos se llevaron a cabo por el mismo explorador experimentado en la técnica y fueron evaluados por un calificador experimentado para la calidad de la segmentación inmediatamente después de la adquisición. El dispositivo SS-OT proporciona una escala de calidad de imagen para indicar la intensidad de la señal. La escala tiene un rango que va desde 0 (calidad pobre) a 100 (calidad excelente). Sólo las imágenes con una escala ≥ 40 o > 50 (según el estudio) fueron analizadas en nuestros trabajos.

Protocolo 3D Disc: Genera un mapa de espesor en un área de 6x6 mm en la zona del disco óptico. Este escaneo proporciona parámetros morfológicos del disco óptico y otros parámetros peripapilares, incluyendo espesores de CFNR y de coroides (figura 34). Mide el espesor total, y genera tres mapas: uno de ellos está formado por 4 cuadrantes (nasal, superior, temporal e inferior), otro está dividido en 6 sectores (superonasal, nasal, inferonasal, inferotemporal, temporal y superotemporal) y el otro está dividido en 12 sectores horarios.

Mediante una cuadrícula de 26x26 cubos localizados en el centro del disco óptico, se puede medir automáticamente el espesor coroidal. Esta cuadrícula incluye 676 cubos de un tamaño 200 x 200 μm , localizados alrededor de la cabeza del nervio óptico. Los 88 cubos centrales corresponden a la cabeza del nervio óptico y no son analizados, por lo que el dispositivo mide el espesor coroidal en un total de 588 cubos peripapilares.

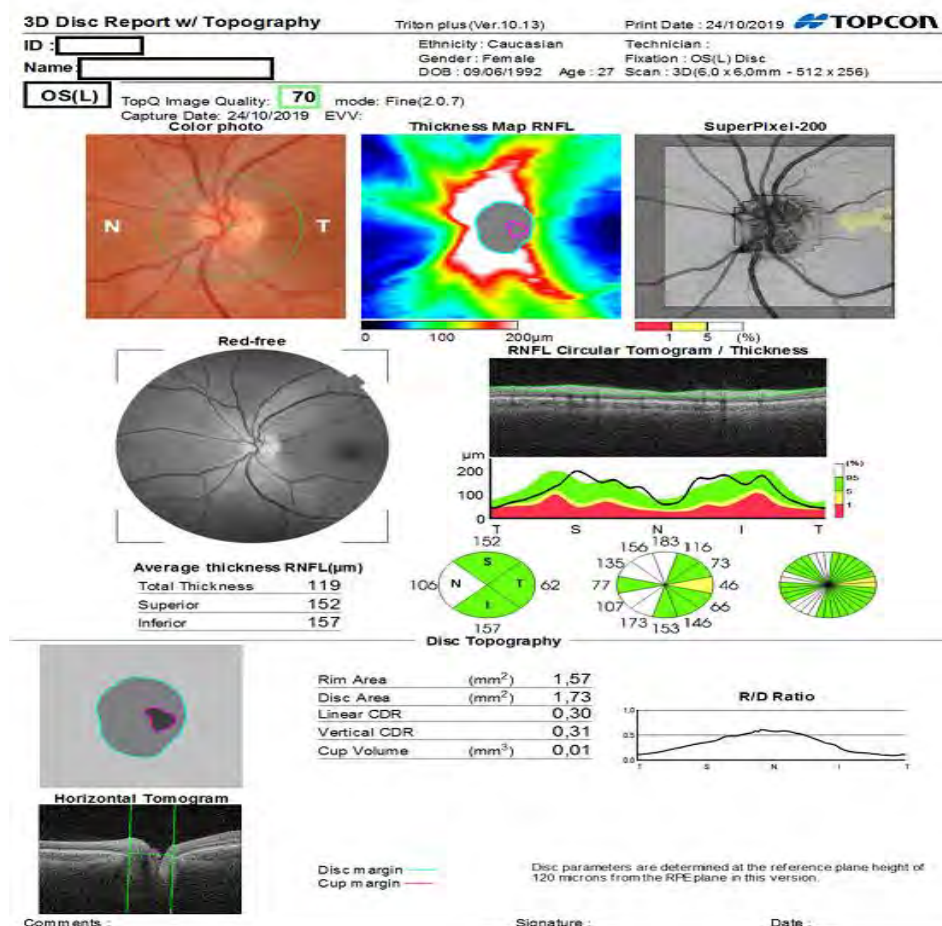


Figura 34. Imagen del informe de análisis de la capa de fibras nerviosas de la retina, obtenido con tomografía por coherencia óptica Deep Range Imaging (DRI-OCT) Triton (Topcon, Tokio, Japón) del ojo derecho de un sujeto sano. El informe incluye la delimitación automática en cuadrantes y en 12 sectores. Foto realizada con el dispositivo Sweep-source OCT Triton del Servicio de Oftalmología del Hospital Miguel Servet.

4.3 Variables.

Las variables seleccionadas para nuestro estudio fueron (Tabla 4):

| | | |
|-----------------------|--|---|
| Demográficas | Sexo Edad | |
| Neurológicas | Fenotipo de EM Edad al diagnóstico Tiempo de evolución Tratamiento Puntuación EDSS Puntuación EDSS visual | |
| Oftalmológicas | PIO Episodios de NO Defecto de refracción (dioptrías) | |
| Función visual | AV Snellen | Puntuación decimal |
| | AV ETDRS | Puntuación log MAR |
| | Campo visual | Desviación media (MD) con Perímetro Humphrey |
| | Campo visual Fast-30 | AD, CAD, VD, TF con unidad multifuncional de análisis de la visión Monpack One |
| | CSV-1000 | Frecuencia A,B,C y D 0,5;1,2,5,10,20 cpd con unidad multifuncional de análisis de la visión Monpack One |
| Estructurales | Cirrus- OCT | <ul style="list-style-type: none"> • Espesor total CNFR (μm) • Espesor CNFR (μm) S,N,T e I • Espesor total CCG+IPL (μm) • Espesor mínimo CCG+IPL (μm) • Espesor CCG (μm) foveal • Espesor CCG (μm) I,I,N,N,SN,S,ST,T,IT |
| | Triton OCT | <ul style="list-style-type: none"> • Espesor macular de CNFR, CCG+,CCG++,coroides y espesor total de la retina • Espesor peripapilar de CNFR, CCG+,CCG++,coroides y espesor total de la retina • Espesor coroideo zona 2,3,4 (μm) • Espesor coroideo total (μm) • Nº de cubos peripapilares con espesor 120-179 μm • Nº de cubos peripapilares con espesor 180-239 μm • Nº de cubos peripapilares con espesor ≥ 240 μm |

Tabla 4: Variables recogidas en los cuatro artículos. Abreviaturas: I, inferior; S, superior; T, temporal; N, nasal; IN: inferonasal, IT, inferotemporal, SN, superonasal; ST, superotemporal, CSV: Visión sensibilidad al contraste; CNFR: capa de fibras nerviosas de la retina; CCG: capa de células ganglionares; IPL: capa plexiforme interna; PEV: potenciales evocados visuales; ERG: electroretinograma; PIO: presión intraocular; EDSS: escala expandida de discapacidad; ETDRS: Early treatment Diabetic Retinopathy Study.

7.4 Recogida y análisis de datos.

Todas las variables citadas anteriormente se registraron en diferentes bases de datos correspondientes a cada uno de los estudios que componen esta tesis, con el programa Excel 2010 (Microsoft Office). Cada uno de los análisis estadísticos se realizó con el programa SPSS versión 20.0 (SPSS Inc., Chicago, United States). Se comprobó el ajuste a la normalidad de las variables mediante el test de Kolmogorov-Smirnov para cada una de las muestras. Cada ojo fue considerado de forma independiente y sólo fue seleccionado para análisis un ojo de cada paciente.

A continuación, se detalla la estadística individual de cada uno de los estudios.

- 1. Functional evaluation of the visual pathway in patients with multiple sclerosis using a multifunction stimulator monitor.** Satue M, Jarauta L, Obis J, Cipres M, Rodrigo MJ, Almarcegui MC, Dolz I, Ara JR, Martin J, Pablo LE, Garcia-Martin E. *J Ophthalmol.* 2019;2019:2890193.

Se trata de un estudio de cohortes, observacional y transversal que incluyó a 48 pacientes con EM y 46 controles sanos y que tiene como objetivos evaluar la capacidad de la unidad multifuncional de análisis de la visión Monpack One para detectar alteraciones en la función visual de pacientes con EM y valorar la correlación entre los parámetros estructurales de la retina (obtenidos con OCT) y las mediciones funcionales obtenidas mediante esta técnica.

La distribución de las variables se analizaron mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov y dado que muchas no seguían una distribución normal, se usaron test no paramétricos para el análisis estadístico: las variables entre los dos grupos fueron comparadas usando el test U de Mann-Whitney y las correlaciones entre variables funcionales y estructurales, y entre la escala EDSS y las variables de función visual, se obtuvieron mediante el test Rho de Spearman.

2. **Abilify of swept-source optical coherence tomography of detect retinal and choroidal changes in patients with multiple sclerosis.** Garcia-Martin E, Jarauta L, Vilades E, Ara JR, Martin J, Polo V, Larrosa JM, Pablo LE, Satue M. J Ophthalmol. 2018;2018:7361212.

Se trata de un estudio de cohortes, observacional y transversal, llevado a cabo con 101 sujetos sanos y 97 pacientes afectados de EM con el objetivo de evaluar la capacidad del nuevo dispositivo de Triton OCT Swept-source (SS-OCT), para detectar los cambios en el espesor de la retina y de la coroides en pacientes con EM, en comparación con un grupo de controles sanos. La muestra siguió una distribución ajustada a la normalidad según el test de Kolmogorov-Smirnov ($p > 0.05$). Se usaron test paramétricos para los análisis estadísticos. Se aplicó la corrección de Bonferroni para comparación de variables múltiples.

3. **Changes in peripapillary choroidal thickness in patients with multiple sclerosis.** Garcia-Martin E, Jarauta L, Pablo LE, Bambo MP, Ara JR, Martin J, Polo V, Larrosa JM, Vilades E, Ramirez T, Satue M. Acta Ophthalmol. 2019;97(1):e77-e83.

Se trata de un estudio de casos controles prospectivo que evalúa un total de 51 pacientes con EMRR y 102 controles sanos. Los sujetos sanos eran divididos en grupo de aprendizaje ($n = 51$, usados para establecer zonas coroideas) y grupo de evaluación ($n = 51$, usados para comparar mediciones con pacientes EM). Nuestro objetivo era determinar el espesor de la coroides en controles sanos mediante el software automático del dispositivo Triton SS-OCT, definir áreas con un espesor coroideo similar y medir esas áreas en pacientes con EM y compararlas con las de los controles sanos.

Para comparar variables cuantitativas que seguían una distribución paramétrica usamos la prueba T de Student y para variables cualitativas el test Xi-cuadrado. El nivel de significancia estadística se estableció en $p \leq 0.05$.

4. **Progressive functional and neuro-retinal affectation in multiple sclerosis patients treated with fingolimod.** Garcia-Martin E; Ruiz de Gopegui E; Satue M; Gil-Arribas L; Jarauta L; Ara JR; Martin J; Fernandez FJ, Vilades E; Rodrigo MJ. J Neuroophthalmol. 2020 in press.

Se trata de un estudio de cohortes observacional, prospectivo y longitudinal de 12 meses de seguimiento en el que fueron incluidos 78 ojos de 78 pacientes con EM tratados con Fingolimod y fueron comparados con 32 pacientes con EM tratados con interferón beta. Todos los pacientes fueron evaluados cada 3 meses. Nuestro objetivo





fue evaluar el efecto del Fingolimod en la función visual y en la estructura neuro-retiniana en pacientes con EM (mediante Cirrus HD-OCT) y compararlo con pacientes que eran tratados con interferones beta.

Mediante el test de Kolmogorov-Smirnov se observó que las variables no tenían una distribución que se ajustara a la normalidad, por lo que se usó el test no paramétrico de U de Mann Whitney para evaluar las diferencias entre grupos. Para variables cualitativas se utilizó el test Xi-cuadrado. El valor de $p \leq 0.05$ fue considerado nivel de significancia estadística, y se aplicó la corrección de Bonferroni para el análisis de variables múltiples. La correlación entre los parámetros funcionales y estructurales fue analizada mediante el coeficiente de correlación de Spearman.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Research Article

Functional Evaluation of the Visual Pathway in Patients with Multiple Sclerosis Using a Multifunction Stimulator Monitor

M. Satue ^{1,2}, L. Jarauta,³ J. Obis ^{1,2}, M. Cipres,^{1,2} M. J. Rodrigo ^{1,2}, C. Almarcegui,^{2,4}
I. Dolz,^{2,4} J. R. Ara,^{2,3} J. Martin,^{2,3} L. E. Pablo,^{1,2} and E. Garcia-Martin ^{1,2}

¹Ophthalmology Department, Miguel Servet University Hospital, Zaragoza, Spain

²IIS-Aragon, Aragon Health Research Institute, Zaragoza, Spain

³Neurology Department, Miguel Servet University Hospital, Zaragoza, Spain

⁴Neurophysiology Department, Miguel Servet University Hospital, Zaragoza, Spain

Correspondence should be addressed to M. Satue; mariasatue@gmail.com

Received 24 February 2019; Accepted 30 July 2019; Published 18 September 2019

Academic Editor: Inés Contreras

Copyright © 2019 M. Satue et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Objectives. To assess the capability of the vision monitor unit Monpack One of detecting visual function alterations in patients with multiple sclerosis (MS) and to evaluate the correlation between structural retinal parameters and functional measurements obtained with this device. **Methods.** Forty-eight patients with MS and 46 healthy controls were included in a cross-sectional study. All participants underwent a complete functional evaluation of the visual pathway, which included low-contrast visual acuity (LCVA), contrast sensitivity vision (CSV), automated perimetry, multifocal visual evoked potentials (mfVEPs), and pattern electroretinogram (ERG). All tests were performed using the vision monitor unit Monpack One (Metrovision, France), a multifunction stimulator device. Retinal structural measurements were obtained in all subjects using Triton swept source optical coherence tomography (Topcon, Japan). **Results.** Patients with MS presented reduced low-contrast VA ($p < 0.001$) and reduced CSV at medium ($p = 0.001$, $p = 0.013$) and low ($p = 0.001$, $p = 0.002$) spatial frequencies. All visual field parameters were found to be altered in MS patients compared with controls (≤ 0.001). Patients with MS presented lower amplitude of the P100 waveform of the mfVEP in areas corresponding to central ($p < 0.001$), inferonasal ($p = 0.001$), and inferotemporal ($p = 0.003$) retina. The pattern ERG did not show significant differences. Significant correlations were observed between structural retinal measurements and functional parameters, especially between the inner macular areas and measurements corresponding to contrast sensitivity and perimetry indexes. **Conclusions.** Patients with MS present visual dysfunction detectable with the vision monitor unit Monpack One. This device may be a fast and useful tool to provide a full evaluation of axonal damage in patients with multiple sclerosis.

1. Introduction

Multiple sclerosis (MS) is a multifocal central nervous system disorder characterized by inflammatory demyelinating lesions affecting white and gray matter. Even without a history of optic neuritis (ON), optic nerve atrophy and thinning of the peripapillary retinal nerve fiber layer are two typical findings of patients suffering from MS [1].

Axonal loss is considered to be the main cause of progressive disability in MS [1–3], and neuronal loss is increasingly recognized as a biomarker that correlates with disability in these patients [4–7]. MS is often associated with

involvement of the visual pathway that can lead to clinically evident manifestations (such as ON and diplopia) and more frequently, to subclinical alterations. Decreased contrast sensitivity and color vision deficiencies have been widely observed in MS [8–10] and have been correlated with poorer performances in everyday tasks, such as driving and reading.

Previous research on functional evaluation of the visual pathway demonstrated altered responses in MS. Visual evoked potentials (VEPs) and pattern electroretinogram (ERG) show frequent abnormalities in these patients [11–13]. Asymptomatic visual field disturbances seem to be present also in MS patients without a previous episode of

optic neuritis [14]. Recent studies have correlated alterations in functional responses with structural changes in the retina of MS patients [10, 11].

In this study, we evaluated the visual pathway of MS patients using the vision monitor unit Monpack One, a multifunction stimulator device which integrates different functional, electrophysiological, and psychophysical tests for the complete evaluation of visual function parameters. The main objective of this study was to assess the capability of this device of detecting visual function abnormalities through different tests (visual acuity, contrast sensitivity vision, perimetry, visual evoked potentials, and pattern electroretinogram) in patients with MS and to analyze the correlation between the functional measurements obtained and retinal structural parameters measured with swept source optical coherence tomography (SS-OCT).

2. Methods

Patients with definite relapsing-remitting (RR) MS were included in this observational cross-sectional study. A total of 48 eyes of 48 patients and 46 eyes of 46 healthy individuals were evaluated. All procedures adhered to the tenets of the Declaration of Helsinki, and all participants provided written informed consent to participate in the study.

The diagnosis of MS was based on the McDonald criteria and confirmed by a neurologist [15]. Related medical records were carefully evaluated, and information about Expanded Disability Status Scale (EDSS) scores, disease duration and subtype, and modifying disease treatments and prior episodes of ON was recorded. Only patients with RR MS were included in our study. Patients with a visual acuity <0.1 (using Snellen scale), intraocular pressure >20 mmHg, refractive errors >5 diopters (D) of equivalent spherical or 3 D of astigmatism, active MS outbreaks (of any neurologic deficit), and/or history of a previous episode of ON were excluded from our study. The reason to exclude patients with a prior ON episode was that visual function loss secondary to ON is widely demonstrated, but the main purpose of this study is to check if neuronal damage secondary to MS itself (i.e., chronic neurodegeneration) causes subclinical visual affection. The diagnosis of ON was based on reports from the patient and the treating neurologist and clinical findings such as decrease in visual acuity, visual defects in the perimetry, color vision loss, relative afferent pupillary defect, and papillary pallor observed in the funduscopy.

All eyes underwent a complete neuro-ophthalmic evaluation that included pupillary, anterior segment, and funduscopy examination to detect any ocular pathology that might affect visual function tests.

Visual function was evaluated with the vision monitor unit Monpack One (Metrovision, France), a multifunction stimulator device which integrates different functional, electrophysiological, psychophysical, and oculomotor tests for a complete evaluation of visual function parameters. The vision monitor comprises a central liquid crystal display panel with LED backlight and four peripheral panels illuminated with LEDs. A light sensor placed anteriorly provides feedback to the entire system allowing a constant luminance during the

test performance. In our study, visual acuity (VA), contrast sensitivity vision (CSV), visual field, multifocal PEV, and pattern ERG were registered and analyzed in all eyes.

Low-contrast VA was evaluated at a contrast level of 10%. The percentage indicates the level of contrast; that is, 100% would represent black letters over white background, and 10% represents medium gray letters over white background. Two different ETDRS charts were selected (one chart for each eye) to avoid learning and memory bias. Measurements were obtained under scotopic light conditions, at a distance of 4 meters in monocular vision using best correction. Visual results were recorded and registered as a VA result (expressed in logMar) as well as the number of total read letters.

Static CSV was evaluated using a sinusoidal pattern (grid) at different spatial frequencies: 0.5, 1, 2, 5, 10, and 20 cycles per degree. Threshold CSV was analyzed by progressive increase of 0.25 dB of contrast before the test performance. For contrast sensitivity evaluation, the patient/control pressed a push-button when the contrast grid was first visible in each spatial frequency. Measurements were obtained at 2 meters of distance under scotopic light conditions and monocular vision. CSV results were registered as a sensitive curve in dB (0 representing no contrast sensitivity).

Visual field was assessed using the vision monitor Fast Perimetry 30 protocol (Fast-30), which analyzes 94 points over the central visual field. The test was performed in monocular vision using near distance correction. Fixation was controlled through a central video camera. Quality parameters (i.e., fixation and attention) were analyzed, and tests with poor performances (>5/15 fixation losses and >5/15 attention losses) were automatically rejected by the program. Results were presented as a 2D and 3D sensitivity map (in dB), a color probability score map, and a sensitivity curve. The average deficit (AD), corrected average deficit (CAD), variance of deficits (VD), and temporal fluctuation (TF) were recorded.

Electrophysiological evaluation included multifocal VEPs and pattern ERG. Multifocal VEPs were assessed using alternate checkboards with a central fixation point. Electrical responses were recorded using four electrodes attached to the subject scalp by subcutaneous needles (inion: 4 cm above the inion, 1 cm above the inion, and 4 cm right/left of the inion). The ground electrode was placed in the subject's vertex. VEPs were evaluated with the MVEP35 procedure, which analyzes 35 zones for each eye. The test was performed at a 33 cm distance, under scotopic conditions after 2 minutes light adaptation, using near distance correction in monocular vision. Fixation was controlled through a central video camera. Results were presented as analytic data, amplitude histogram, color map, and 3D representation for 5 different retinal areas: central, superonasal, superotemporal, inferonasal, and inferotemporal. Amplitude of P100 wave for each retinal area was recorded and expressed in nV/deg².

The pattern ERG was evaluated using alternate checkboards with a central fixation point. Electrical responses were recorded using a total of 5 DTL (Dawson-Trick-Litzkow)

electrodes: 2 electrodes (one for the right eye and one for the left eye) draped horizontally across the cornea at the level of the lower lid (prior topical anesthesia) and 2 reference electrodes positioned at the outer canthus (right and left eye). The ground electrode was placed at Fpz. The pattern ERG uses a reversal stimulation pattern covering a field of 60 degrees with large patterns for 50 minutes. The test was performed at a distance of 30 cm, under scotopic conditions after 2 minutes of light adaptation, using near distance correction in binocular vision. Results are expressed as a graphic of the electrical response registered and as the analytic data of the different spikes selected. Amplitude and latency of the N35, P50, and N95 waves (spikes) were recorded.

Structural measurements of the retina were obtained using the DRI Triton SS-OCT device (Topcon, Tokyo, Japan) in all eyes. The 3D wide protocol was used, which includes a wide scanning range that focuses on both the macular (ETDRS: Early Treatment Diabetic Retinopathy Study) and the peripapillary (TSNIT: temporal-superior-nasal-inferior-temporal) area. With the ETDRS scan, full retinal thickness in nine macular areas (which include a central 1 mm circle representing the fovea, and inner and outer rings measuring 3 mm and 6 mm in diameter, respectively) was analyzed; the TSNIT scan provides automated separate measurements of different retinal layers: retinal nerve fiber layer (RNFL), ganglion cell layer (GCL), retinal thickness, and the chorioidal plexus. The TSNIT provides measurements of the 4 peripapillary quadrants (superior, nasal, inferior, and temporal), 6 sectors (superonasal, superotemporal, nasal, temporal, inferonasal, and inferotemporal), and 12 clock sectors. Only measurements of the GCL in the 6 peripapillary sectors were evaluated in this study. All scans were obtained by the same experienced operator and were checked by an experienced rater for quality of the segmentation immediately after acquisition. The DRI Triton SS-OCT provides a quality scale in the image to indicate the signal strength. The quality score ranges from 0 (poor quality) to 100 (excellent quality). Only images with a score >55 were analyzed in our study; poor quality images were rejected and recaptured prior to data analysis.

All data analyses were performed using SPSS software version 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). The Kolmogorov-Smirnov test was used to assess sample distribution. Differences between evaluations of MS patients and healthy subjects were compared using the Mann-Whitney *U* test, as the sample did not correspond to a normal distribution (Kolmogorov test: $p < 0.05$). Correlation between functional and structural data of all subjects (patients and controls) was assessed using Spearman's rho test. Correlation between the EDSS score and visual function parameters was also analyzed. Each eye was considered separately, and only one eye from each patient was randomly selected for analysis.

3. Results

Forty-eight patients with MS and 46 healthy controls were included in the study. The mean age of the patients with MS was 49.25 (SD = 12.98), and the mean age of the healthy controls was 45.74 (SD = 10.52). The female/male ratio was

4/1 in both groups. Age, sex, and intraocular pressure did not differ significantly between healthy controls and patients with MS ($p = 0.154, 0.145, \text{ and } 0.770$, respectively).

3.1. Visual Function Analysis. All patients had been diagnosed with MS relapse-remitting subtype and were under treatment with interferon (50%), glatiramer acetate (12.5%), or fingolimod (8.3%). Only 29.2% of the patients were not under any current treatment. The mean EDSS score was 2.03 (SD = 0.54).

Patients with MS presented reduced low-contrast VA (0.43 ± 0.50 in patients vs. 0.08 ± 0.27 in controls, $p < 0.001$) and reduced number of read letters (31.90 ± 8.20 letters vs. 39.70 ± 5.58 letters, $p < 0.001$) compared with healthy controls (see Table 1).

CSV was found to be reduced in MS patients in all spatial frequencies. CSV at medium frequencies (2 cpd: 21.29 ± 2.95 in patients vs. 22.06 ± 2.12 in controls, $p = 0.001$; 5 cpd: 20.34 ± 1.68 vs. 21.91 ± 1.94 , $p = 0.013$) and low frequencies (1 cpd: 19.09 ± 1.55 vs. 20.50 ± 2.02 , $p = 0.001$; 0.5 cpd: 15.98 ± 1.69 vs. 17.04 ± 2.03 , $p = 0.002$) was significantly reduced in patients compared with controls (see Table 1).

All visual field parameters were found to be altered in MS patients compared with controls. The AD ($p < 0.001$), the CAD ($p < 0.001$), the VD ($p < 0.001$), and the TF ($p = 0.001$) were significantly reduced in patients compared with healthy subjects (see Table 1).

Patients with MS presented lower amplitude of the P100 waveform in the multifocal VEP. Significant differences between patients and controls were observed in the areas corresponding to central (798.80 ± 585.58 nV/deg² in patients vs. 1556.81 ± 1120.97 nV/deg² in controls, $p < 0.001$), inferonasal (523.90 ± 262.71 nV/deg² vs. 798.50 ± 390.14 nV/deg², $p = 0.001$), and inferotemporal (677.55 ± 730.19 nV/deg² vs. 830.40 ± 380.09 nV/deg², $p = 0.003$) retina (see Table 2). Patients with MS also presented delayed latency in the N35, P50, and N95 waveforms of the pattern ERG. However, significant differences between patients and controls were not found in any of the pattern ERG responses (see Table 2).

Reports from CSV and mfVEPs as provided by Monpack One are seen in Figure 1.

3.2. Structural Evaluation. Patients presented significantly reduced macular retinal thickness ($p < 0.001$) in all evaluated ETDRS areas and reduced peripapillary GCL thickness ($p < 0.001$) in all 6 sectors analyzed, compared to healthy controls (see Supplementary Table available here).

3.3. Correlation Analysis. A significant correlation was observed between macular parameters and functional measurements obtained with the Monpack One device. The inner superior and inner inferior areas correlated most strongly with contrast sensitivity parameters (the strongest correlation was observed between inner superior and 5 cpd, $r = 0.36$, $p < 0.001$). All inner sectors of the macular ETDRS ring presented a positive correlation with the number of read letters (superior: $r = 0.37$, $p < 0.001$; nasal: $r = 0.21$, $p = 0.042$;

TABLE 1: Visual acuity, contrast sensitivity vision, and visual field parameters (standard deviation) in patients with multiple sclerosis and healthy controls, as measured with the Monpack One device.

| Functional parameters | MS patients | Controls | <i>p</i> |
|--------------------------------|--------------|---------------|----------|
| <i>Contrast vision</i> | | | |
| VA ETDRS 10% | 0.43 (0.50) | 0.08 (0.27) | <0.001 |
| Read letters | 31.90 (8.20) | 39.70 (5.58) | <0.001 |
| CSV 0.5 cpd | 15.98 (1.69) | 17.04 (2.03) | 0.002 |
| CSV 1 cpd | 19.09 (1.55) | 20.50 (2.02) | 0.001 |
| CSV 2 cpd | 21.29 (2.95) | 22.06 (2.12) | 0.001 |
| CSV 5 cpd | 20.34 (1.68) | 21.91 (1.94) | 0.013 |
| CSV 10 cpd | 19.35 (2.60) | 21.83 (2.84) | 0.088 |
| CSV 20 cpd | 11.73 (4.31) | 15.17 (3.21) | 0.101 |
| <i>Visual field parameters</i> | | | |
| Avg. deficit | 0.14 (0.35) | 1.64 (2.87) | <0.001 |
| Corrected avg. deficit | 0.20 (0.46) | 1.57 (2.49) | <0.001 |
| Variance of deficits | 4.05 (6.03) | 14.65 (16.52) | <0.001 |
| Temporal fluctuation | 0.98 (0.45) | 1.73 (1.34) | <0.001 |

Bold letters indicate statistical significance ($p < 0.05$). Abbreviations: MS, multiple sclerosis; VA, visual acuity; CSV, contrast sensitivity vision; cpd, cycles per degree; avg., average.

TABLE 2: Electrophysiological parameters (standard deviation) in patients with multiple sclerosis and healthy controls, as measured with the Monpack One device.

| Electrophysiological parameters | MS patients | Controls | <i>p</i> |
|------------------------------------|-----------------|------------------|----------|
| <i>mfVEPs (nV/deg²)</i> | | | |
| Central | 798.80 (585.58) | 1556.81 (1120.9) | <0.001 |
| Superonasal | 504.00 (278.84) | 637.95 (675.843) | 0.455 |
| Superotemporal | 533.31 (292.29) | 579.58 (341.27) | 0.610 |
| Inferonasal | 523.90 (262.71) | 798.50 (390.14) | 0.001 |
| Inferotemporal | 677.55 (730.19) | 830.40 (380.09) | 0.003 |
| <i>Pattern ERG</i> | | | |
| N35 latency (msec) | 27.18 (29.31) | 23.82 (5.34) | 0.515 |
| N35 amplitude (mV) | -0.70 (1.34) | -0.62 (2.45) | 0.534 |
| P50 latency (msec) | 46.59 (10.05) | 43.34 (15.17) | 0.471 |
| P50 amplitude (mV) | 4.43 (4.79) | 7.21 (11.32) | 0.097 |
| N95 latency (msec) | 83.09 (21.06) | 71.07 (25.97) | 0.070 |
| N95 amplitude (mV) | -3.27 (5.38) | -4.79 (6.30) | 0.184 |

Bold letters indicate statistical significance ($p < 0.05$). Abbreviations: MS, multiple sclerosis; mfVEPs, multifocal visual evoked potentials; ERG, electroretinogram.

inferior: $r = 0.27$, $p = 0.009$; and temporal: $r = 0.26$, $p = 0.011$) and an inverse association with all visual field parameters (the strongest correlation was observed between inner superior and VD, $r = 0.35$, $p = 0.001$). Central thickness correlated with the P100 amplitude of central retina measured with the mfVEP ($r = 0.31$, $p = 0.002$). No correlations were found between functional parameters and the outer macular areas. Results are shown in Tables 3 and 4.

Peripapillary GCL thickness (total and the temporal quadrant) correlated significantly with most functional parameters analyzed with the Monpack One device. A positive correlation was observed between total GCL thickness and CSV at 1, 2, 5, and 10 cpd (the strongest correlation at 10 cpd, $r = 0.28$, $p = 0.007$), and a negative association was observed between total GCL thickness and visual field parameters (the strongest correlation with CAD, $r = -0.32$, $p = 0.002$). A positive correlation between total GCL and the VEP in central retina ($r = 0.26$, $p = 0.012$) was observed. Temporal GCL thickness correlated with CSV at 2,

5, 10, and 20 cpd (the strongest at 10 cpd, $r = 0.40$, $p < 0.001$) and all visual field parameters (the strongest association with CAD, $r = -0.36$, $p > 0.001$). Additionally, a significant relationship was observed between GCL thickness and letter read (total GCL: $r = 0.35$, $p = 0.001$, and temporal GCL: $r = 0.39$, $p < 0.001$). Results are shown in Table 3.

No significant correlations were observed between ERG and structural parameters.

The amplitude of mfVEPs in the central retina was inversely correlated with the EDSS score ($r = -0.443$, $p = 0.002$). No other significant associations between functional parameters and the EDSS score were observed.

4. Discussion

In the present study, we evaluated visual function parameters of 48 MS patients and 46 healthy controls using the vision monitor unit Monpack One, a multiple function stimulator device which integrates different functional, electrophysiological, and psychophysical tests for a

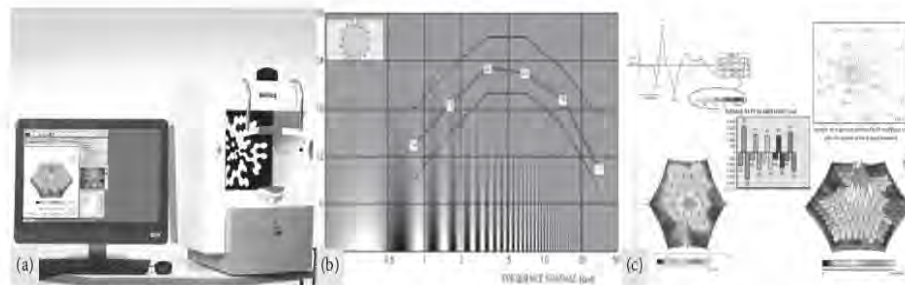


FIGURE 1: (a) Monpack One monitor. (b) Displayed report of the contrast sensitivity vision test in one of our controls. (c) Displayed report of multifocal visual evoked potentials in one of our controls.

TABLE 3: Correlation between visual function parameters obtained with the Monpack one device and structural parameters (macular and peripapillary) obtained with Triton optical coherence tomography.

| Visual function parameters | Inner superior macula | | Inner inferior macula | | Total GCL thickness | | Temporal GCL thickness | |
|----------------------------|-----------------------|------------------|-----------------------|--------------|---------------------|--------------|------------------------|------------------|
| | <i>r</i> | <i>p</i> | <i>r</i> | <i>p</i> | <i>r</i> | <i>p</i> | <i>r</i> | <i>p</i> |
| VA 10% | 0.17 | 0.96 | 0.78 | 0.455 | 0.18 | 0.079 | 0.26 | 0.010 |
| Letter read | 0.37 | <0.001 | 0.27 | 0.009 | 0.35 | 0.001 | 0.39 | <0.001 |
| CSV 0.5 | 0.18 | 0.083 | 0.09 | 0.370 | 0.15 | 0.131 | 0.20 | 0.053 |
| CSV 1 | 0.27 | 0.007 | 0.18 | 0.069 | 0.23 | 0.023 | 0.20 | 0.048 |
| CSV 2 | 0.34 | 0.001 | 0.25 | 0.013 | 0.23 | 0.024 | 0.25 | 0.016 |
| CSV 5 | 0.36 | <0.001 | 0.25 | 0.016 | 0.27 | 0.008 | 0.33 | 0.001 |
| CSV 10 | 0.33 | 0.001 | 0.30 | 0.003 | 0.28 | 0.007 | 0.39 | <0.001 |
| CSV 20 | 0.25 | 0.014 | 0.26 | 0.011 | 0.13 | 0.135 | 0.25 | 0.013 |
| Avg. deficit | -0.27 | 0.008 | -0.22 | 0.034 | -0.27 | 0.008 | -0.34 | 0.001 |
| Corrected avg. deficit | -0.30 | 0.003 | -0.26 | 0.011 | -0.32 | 0.002 | -0.36 | <0.001 |
| Variance of deficits | -0.35 | 0.001 | -0.29 | 0.004 | -0.25 | 0.017 | -0.28 | 0.005 |
| Temporal fluctuation | -0.30 | 0.003 | -0.24 | 0.019 | -0.26 | 0.011 | -0.27 | 0.008 |

Bold letters indicate a significant correlation. Abbreviations: VA, visual acuity; CSV, contrast sensitivity vision; avg., average; GCL, ganglion cell layer.

TABLE 4: Correlation between visual field parameters obtained with the Monpack One device and macular measurements obtained with Triton optical coherence tomography.

| Visual function parameters | Central | | Inner superior | | Inner nasal | | Inner inferior | | Inner temporal | |
|----------------------------|----------|--------------|----------------|--------------|-------------|--------------|----------------|--------------|----------------|--------------|
| | <i>r</i> | <i>p</i> | <i>r</i> | <i>p</i> | <i>r</i> | <i>p</i> | <i>r</i> | <i>p</i> | <i>r</i> | <i>p</i> |
| Avg. deficit | -0.28 | 0.007 | -0.27 | 0.008 | -0.23 | 0.025 | -0.22 | 0.034 | -0.32 | 0.002 |
| Corrected avg. deficit | -0.25 | 0.016 | -0.30 | 0.003 | -0.23 | 0.024 | -0.26 | 0.011 | -0.30 | 0.003 |
| Variance of deficits | -0.25 | 0.017 | -0.35 | 0.001 | -0.25 | 0.014 | -0.29 | 0.004 | -0.33 | 0.001 |
| Temporal fluctuation | -0.13 | 0.194 | -0.30 | 0.003 | -0.22 | 0.028 | -0.24 | 0.019 | -0.26 | 0.010 |

Bold letters indicate a significance <0.05 . Abbreviations: avg., average.

complete evaluation of visual function. To the best of our knowledge, this is the first study featuring visual function tests with Monpack One in patients with a neurodegenerative disease. Our patients presented lower VA, decreased CSV affecting medium and lower frequencies, increased defects in the visual field, and reduced amplitude in the P100 component of the multifocal VEP affecting the central and inferior sectors of the retina. All these altered parameters were observed using one single device, the vision monitor unit Monpack One.

Visual dysfunction was previously reported in MS patients and may occur in up to 80% of cases during the course of the disease [16]. Contrast sensitivity provides more complete information about visual function than visual acuity tests. Measures of low-contrast vision and CSV were

sensitive to visual impairment, even in patients with VA of 20/20 or better (measured with a Snellen chart), and have been correlated with poorer performances in everyday tasks [8, 17–20]. Our patients presented reduced CSV in low and midspatial frequencies and low-contrast VA compared with healthy controls, which is consistent to previous research involving classic visual function tests [11, 21, 22] and tests performed with other video processors [23, 24]. However, high spatial frequencies were not significantly affected in our patients, contrary to previous findings [11, 24]. More studies including a larger sample size would be needed to establish whether the Monpack One device detects significant differences in CSV at high frequencies in MS.

Patients suffering from MS present visual field defects compared with healthy controls, according to previous

published research [25, 26]. However, other studies suggested different results [27, 28]. Despite the fact that visual field defects are more frequently reported in patients with MS and previous history of ON [29], asymptomatic visual field disturbances seem to be present also in patients without a previous episode of ON [14].

Our patients presented significant alterations in all visual field parameters compared with healthy controls, which are consistent with results provided by Pueyo et al. and Castro et al. Since none of our patients had a previous history of ON, our results also agree with results provided by Chorzay et al. and strengthen the evidence of visual field abnormalities in non-ON MS patients.

Electrophysiological responses of the visual pathway are also altered in patients with MS [11, 30, 31]. According to previous published studies, MS patients present increased latency and decreased amplitude in the P100 waveform of the pattern VEP [11, 27, 32, 33]. The pattern VEP provides information for a complete study of the visual pathway, from the optic nerve to the visual cortex. The pattern VEP has been shown to be more sensitive than perimetry, contrast sensitivity, and retinal structural defects at detecting hidden visual loss in patients with MS with 20/20 vision and without history of optic neuritis [30, 34]. However, the pattern VEP is dominated by macular responses, thus other focal defects may not be detected. The multifocal VEP captures a significantly larger area of the visual field than the pattern VEP and can provide information of the global optical path, topographic assessment of amplitude and latency, and thus detects focal and peripheral defects [35]. Recent studies have shown the sensitivity of the technique in identifying multifocal VEP defects after recovery from an episode of ON [36] and also in patients suffering from MS (with and without history of ON) [37]. Our patients presented decreased amplitude of P100 waveform in the multifocal VEP (which represents neurodegeneration), especially those corresponding to central, inferonasal, and inferotemporal retina. Focal defects are not usually reported when performing pattern VEPs [11].

The pattern ERG is considered to be the most useful neurophysiologic technology for detecting abnormalities in the visual pathway caused by neurodegenerative diseases [38]. Although the exact origin of the pattern ERG is not clear, it seems to be generated by the inner layers of the central retina (ganglion cells and their axons) [11], so it reflects a more specific involvement of the retinal nerve fiber layer anomalies than the alterations detected by PEV. Previous research demonstrated increased latency of the N95 waveform of the pattern ERG in patients with MS and an increased P50/N95 ratio [11]. In the present study, MS patients presented increased latencies of the N95 waveform which is consistent with previous reports. However, this difference between patients and controls was not found to be significant, probably due to the small sample size of our study.

Structural changes in the retina of patients with MS have been widely studied. Optic nerve atrophy and thinning of the peripapillary retinal nerve fiber layer are two typical findings of patients with MS. Hitherto, studies using spectral-domain

OCT have revealed that the retina in non-ON eyes shows peripapillary thinning compared to healthy controls [39, 40]. The most recent milestone in the development of retina and choroid visualization strategies is swept source OCT (SS-OCT), with a scan speed of 100,000 A-scans/sec, which provides more accurate three-dimensional images of the retina and the choroid than previous spectral-domain devices [41]. In our study, we used Triton SS-OCT to evaluate the retina of patients with MS. Furthermore, we analyzed the correlation between functional measurements obtained with the Monpack One monitor and structural data measured with Triton OCT. The correlation between functional changes in patients with MS [10] and other neurodegenerative diseases [42] and retinal structural measurements has been previously evaluated using spectral-domain OCT devices. To the best of our knowledge, this is the first study assessing the correlation between visual function parameters obtained with a multifunction simulator device and SS-OCT technology. Our analysis revealed that contrast sensitivity parameters and visual field data correlated most significantly with macular and peripapillary measurements. However, the strength of the association was limited. Correlations between functional and structural retinal parameters are seldom strong or perfect, since changes in structural parameters are not happening at the same time as functional changes. This is frequently observed in glaucoma and also in neurodegenerative diseases such as MS, and Parkinson electrophysiological tests performed with the Monpack One device demonstrated barely no association with obtained structural data, opposite to previous studies where significant association between structural changes and electroretinogram/multifocal visual evoked potentials was observed [43, 44]. Nonparametric tests (as the one used in our calculations) tests are more demanding to accept statistical differences; this also might explain why we did not find more association between parameters. Additionally, devices used in previous studies (to obtain both structural and functional data) differ from what was used in our present study; we believe results might not be entirely comparable. However, our results suggest that the correlation between functional data obtained with the multifunction simulator device and structural retinal measurements may only be applicable to CSV tests and perimetry data. In addition, there were no observable differences between MS patients and controls in the ERG measurements (opposite to previous reported data). Taken altogether, these results might suggest that the ability of the ERG function of the Monpack One monitor should be improved. However, more studies using the multifunction simulator device Monpack One are needed to corroborate our findings.

The main goal of this study was to analyze the capability of the vision monitor unit Monpack One of detecting visual dysfunction in MS. Low-contrast VA, CSV, visual field parameters, and multifocal VEPs were significantly altered in our patients, and these results agree with previous published research. Additionally, since none of our patients presented any previous episode of optic neuritis, which causes inflammation and retrograde retinal cells alteration, we are certain that results in our patients were associated

with disease itself and not with previous inflammatory episodes of the optic nerve. Moreover, similar alterations in visual function tests in these patients have been associated with axonal loss secondary to MS [10, 11].

In conclusion, patients with MS and without ON antecedent present visual dysfunction detectable with the vision monitor unit Monpack One. Measurements obtained with this device correlate with structural retinal data obtained with SS-OCT technology. Monpack One may be a fast and useful tool to provide a complete evaluation of axonal damage in patients with MS, although some of the electrophysiological tests might require further improvement.

Data Availability

The data used to support the findings of this study are available from the corresponding author upon request.

Ethical Approval

This study was conducted in accordance with the guidelines established by the Ethics Committee of the Miguel Servet Hospital and based on the principles of the Declaration of Helsinki.

Consent

All subjects gave detailed consent to participate in this study.

Conflicts of Interest

The authors declare that they have no conflicts of interest.

Acknowledgments

MS was supported by a fellowship from Instituto de Salud Carlos III, Spain (Rio Hortega program: CM14/00026). Publishing and edition costs were given by the Miguel Servet Ophthalmology Research Group (Grupo de investigación e innovación HUMS oftalmología-GIMSO).

Supplementary Materials

Supplementary Table 1: macular and peripapillary measurements (standard deviation between parenthesis) obtained with Triton swept source optical coherence tomography in patients with multiple sclerosis and healthy controls. Bold letters indicate statistical significance ($p < 0.05$). Abbreviations: MS, multiple sclerosis. (*Supplementary Materials*)

References

- [1] E. Garcia-Martin, V. Pueyo, I. Pinilla, J.-R. Ara, J. Martin, and J. Fernandez, "Fourier-domain OCT in multiple sclerosis patients: reproducibility and ability to detect retinal nerve fiber layer atrophy," *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, vol. 52, no. 7, pp. 4124–4131, 2011.
- [2] J. Fisher, D. Jacobs, C. Markowitz et al., "Relation of visual function to retinal nerve fiber layer thickness in multiple sclerosis," *Ophthalmology*, vol. 113, no. 2, pp. 324–332, 2006.
- [3] E. Gordon-Lipkin, B. Chodkowsky, D. S. Reich et al., "Retinal nerve fiber layer is associated with brain atrophy in multiple sclerosis," *Neurology*, vol. 69, no. 16, pp. 1603–1609, 2007.
- [4] E. Fisher, J.-C. Lee, K. Nakamura, and R. A. Rudick, "Gray matter atrophy in multiple sclerosis: a longitudinal study," *Annals of Neurology*, vol. 64, no. 3, pp. 255–265, 2008.
- [5] L. K. Fisniku, D. T. Chard, J. S. Jackson et al., "Gray matter atrophy is related to long-term disability in multiple sclerosis," *Annals of Neurology*, vol. 64, pp. 247–254, 2008.
- [6] M. Filippi, M. A. Rocca, M. Calabrese et al., "Intracortical lesions: relevance for new MRI diagnostic criteria for multiple sclerosis," *Neurology*, vol. 75, no. 22, pp. 1988–1994, 2010.
- [7] D. Pitt, A. Boster, W. Pei et al., "Imaging cortical lesions in multiple sclerosis with ultra-high-field magnetic resonance imaging," *Archives of Neurology*, vol. 67, pp. 812–818, 2010.
- [8] L. J. Balcer and E. M. Frohman, "Evaluating loss of visual function in multiple sclerosis as measured by low-contrast letter acuity," *Neurology*, vol. 74, no. 3, pp. 16–23, 2010.
- [9] P. Villoslada, A. Cuneo, J. Gelfand, S. L. Hauser, and A. Green, "Color vision is strongly associated with retinal thinning in multiple sclerosis," *Multiple Sclerosis Journal*, vol. 18, no. 7, pp. 991–999, 2012.
- [10] M. Satue, M. J. Rodrigo, S. Otin et al., "Relationship between visual dysfunction and retinal changes in patients with multiple sclerosis," *PLoS One*, vol. 11, no. 6, Article ID e0157293, 2016.
- [11] D. Rodriguez-Mena, C. Almarcegui, I. Dolz et al., "Electro-physiologic evaluation of the visual pathway in patients with multiple sclerosis," *Journal of Clinical Neurophysiology*, vol. 30, no. 4, pp. 376–381, 2013.
- [12] S. A. Trip, P. G. Schlottmann, S. J. Jones et al., "Retinal nerve fiber layer axonal loss and visual dysfunction in optic neuritis," *Annals of Neurology*, vol. 58, no. 3, pp. 383–391, 2005.
- [13] G. E. Holder, "Pattern electroretinography (PERG) and an integrated approach to visual pathway diagnosis," *Progress in Retinal and Eye Research*, vol. 20, no. 4, pp. 531–561, 2001.
- [14] M. Chorazy, W. Drozdowski, N. Sherkawey, and Z. Mariak, "Asymptomatic visual field disturbances in multiple sclerosis patients without a history of optic neuritis," *Neurologia i Neurochirurgia Polska*, vol. 41, no. 3, pp. 223–228, 2007.
- [15] C. H. Polman, S. C. Reingold, G. Edan et al., "Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria"," *Annals of Neurology*, vol. 58, no. 6, pp. 840–846, 2005.
- [16] W. I. MacDonald and D. Barnes, "The ocular manifestation of multiple sclerosis. 1. Abnormalities in the afferent visual system," *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, vol. 55, no. 9, pp. 747–752, 1992.
- [17] B. Ashworth, P. A. Aspinall, and J. D. Mitchell, "Visual function in multiple sclerosis," *Documenta Ophthalmologica*, vol. 73, no. 3, pp. 209–224, 1989.
- [18] I. Bodis-Wollner and J. R. Brannan, "Hidden visual loss in optic neuropathy is revealed using Gabor patch contrast perimetry," *Journal of Clinical Neuroscience*, vol. 4, no. 5, pp. 284–291, 1997.
- [19] E. M. Mowry, M. J. Loguidice, A. B. Daniels et al., "Vision related quality of life in multiple sclerosis: correlation with new measures of low and high contrast letter acuity," *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, vol. 80, no. 7, pp. 767–772, 2009.
- [20] S. J. Leat, G. E. Legge, and M. A. Bullimore, "What is low vision? A re-evaluation of definitions," *Optometry and Vision Science*, vol. 76, no. 4, pp. 198–211, 1999.

- [21] J. Schinzel, H. Zimmermann, F. Paul et al., "Relations of low contrast visual acuity, quality of life and multiple sclerosis functional composite: a cross-sectional analysis," *BMC Neurology*, vol. 14, no. 1, p. 31, 2014.
- [22] A. Soler García, A. González Gómez, L. C. Figueroa-Ortiz, A. García-Ben, and J. García-Campos, "Relación entre el test de sensibilidad al contraste y el nivel de gravedad en pacientes con esclerosis múltiple," *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología*, vol. 89, no. 9, pp. 347–351, 2014.
- [23] J. G. Vieira-Gutemberg, L. C. Mendes-Santos, M. K. Cavalcanti-Galdino, N. A. Santos, and M. L. De Bustamante Simas, "Contrast sensitivity in relapsing-remitting multiple sclerosis assessed by sine-wave gratings and angular frequency stimuli," *Visual Neuroscience*, vol. 31, no. 6, pp. 381–386, 2014.
- [24] M. Owidzka, M. Wilczynski, and W. Omulecki, "Evaluation of contrast sensitivity measurements after retrobulbar optic neuritis in multiple sclerosis," *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, vol. 252, no. 4, pp. 673–677, 2014.
- [25] V. Pueyo, J. R. Ara, C. Almarcegui et al., "Sub-clinical atrophy of the retinal nerve fibre layer in multiple sclerosis," *Acta Ophthalmologica*, vol. 88, no. 7, pp. 748–752, 2010.
- [26] S. M. C. Castro, A. Damasceno, B. P. Damasceno et al., "Visual pathway abnormalities were found in most multiple sclerosis patients despite history of previous optic neuritis," *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, vol. 71, no. 7, pp. 437–441, 2013.
- [27] R. Herrero, E. Garcia-Martin, C. Almarcegui et al., "Progressive degeneration of the retinal nerve fiber layer in patients with multiple sclerosis," *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, vol. 53, no. 13, pp. 8344–8349, 2012.
- [28] E. García-Martín, V. Pueyo, J. Martín et al., "Progressive changes in the retinal nerve fiber layer in patients with multiple sclerosis," *European Journal of Ophthalmology*, vol. 20, no. 1, pp. 167–173, 2010.
- [29] H. Cheng, M. Laron, J. S. Schiffman, R. A. Tang, and L. J. Frishman, "The relationship between visual field and retinal nerve fiber layer measurements in patients with multiple sclerosis," *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, vol. 48, no. 12, pp. 5798–5805, 2007.
- [30] A. Chlińska, M. Ejma, A. Turmo-Kręcicka, K. Guranski, and M. Misiuk-Hojło, "Analysis of retinal nerve fibre layer, visual evoked potentials and relative afferent pupillary defect in multiple sclerosis patients," *Clinical Neurophysiology*, vol. 127, no. 1, pp. 821–826, 2016.
- [31] N. Chirapapaisan, S. Laotaweerungsawat, W. Chuenkongkaew et al., "Diagnostic value of visual evoked potentials for clinical diagnosis of multiple sclerosis," *Documenta Ophthalmologica*, vol. 130, no. 1, pp. 25–30, 2015.
- [32] V. Pueyo, J. Martín, J. Fernández et al., "Axonal loss in the retinal nerve fiber layer in patients with multiple sclerosis," *Multiple Sclerosis Journal*, vol. 14, no. 5, pp. 609–614, 2008.
- [33] F. C. Gundogan, S. Demirkaya, and G. Sobaci, "Is optical coherence tomography really a new biomarker candidate in multiple sclerosis? A structural and functional evaluation," *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, vol. 48, no. 12, pp. 5773–5781, 2007.
- [34] H. A. M. Van Diemen, P. Lanting, J. C. Koetsier, R. L. M. Strijers, H. K. Van Walbeek, and C. H. Polman, "Evaluation of the visual system in multiple sclerosis: a comparative study of diagnostic tests," *Clinical Neurology and Neurosurgery*, vol. 94, no. 3, pp. 191–195, 1992.
- [35] A. Klistorner, H. Arvind, T. Nguyen et al., "Multifocal VEP and OCT in optic neuritis: a topographical study of the structure-function relationship," *Documenta Ophthalmologica*, vol. 118, no. 2, pp. 129–137, 2009.
- [36] A. Klistorner, C. Fraser, R. Garrick, S. Graham, and H. Arvind, "Correlation between full-field and multifocal VEPs in optic neuritis," *Documenta Ophthalmologica*, vol. 116, no. 1, pp. 19–27, 2008.
- [37] M. Laron, H. Han Cheng, B. Bin Zhang, J. S. Schiffman, R. A. Tang, and L. J. Frishman, "Comparison of multifocal visual evoked potential, standard automated perimetry and optical coherence tomography in assessing visual pathway in multiple sclerosis patients," *Multiple Sclerosis Journal*, vol. 16, no. 4, pp. 412–426, 2010.
- [38] G. Corallo, S. Cicinelli, M. Papadia, F. Bandini, A. Uccelli, and G. Calabria, "Conventional perimetry, short-wavelength automated perimetry, frequency-doubling technology, and visual evoked potentials in the assessment of patients with multiple sclerosis," *European Journal of Ophthalmology*, vol. 15, no. 6, pp. 730–738, 2005.
- [39] J. Dorr, K. D. Wernecke, M. Bock et al., "Association of retinal and macular damage with brain atrophy in multiple sclerosis," *PLoS One*, vol. 6, no. 4, Article ID e18132, 2011.
- [40] J. J. González-López, G. Rebolledo, M. Leal et al., "Comparative diagnostic accuracy of ganglion cell-inner plexiform and retinal nerve fiber layer thickness measures by Cirrus and Spectralis optical coherence tomography in relapsing-remitting multiple sclerosis," *BioMed Research International*, vol. 2014, Article ID 128517, 10 pages, 2014.
- [41] S. Copete, I. Flores-Moreno, J. A. Montero, J. S. Duker, and J. M. Ruiz-Moreno, "Direct comparison of spectral-domain and swept-source OCT in the measurement of choroidal thickness in normal eyes," *British Journal of Ophthalmology*, vol. 98, no. 3, pp. 334–338, 2014.
- [42] V. Polo, M. Satué, E. García Martín, and L. Pablo, "Visual dysfunction and its correlation with retinal changes in patients with Parkinson disease," *BMJ Open*, vol. 6, no. 5, Article ID e009658, 2016.
- [43] C. Almarcegui, I. Dolz, V. Pueyo et al., "Correlation between functional and structural assessments of the optic nerve and retina in multiple sclerosis patients," *Neurophysiologie Clinique/Clinical Neurophysiology*, vol. 40, no. 3, pp. 129–135, 2010.
- [44] P. Sriram, C. Wang, C. Yiannikas et al., "Relationship between optical coherence tomography and electrophysiology of the visual pathway in non-optic neuritis eyes of multiple sclerosis patients," *PLoS One*, vol. 9, no. 8, Article ID e102546, 2014.

Research Article

Ability of Swept-Source Optical Coherence Tomography to Detect Retinal and Choroidal Changes in Patients with Multiple Sclerosis

Elena Garcia-Martin^{1,2}, Laura Jarauta^{2,3}, Elisa Vilades^{1,2}, Jose Ramon Ara^{2,4},
Jesus Martin^{2,4}, Vicente Polo^{1,2}, Jose Manuel Larrosa^{1,2}, Luis Emilio Pablo^{1,2}
and Maria Satue^{1,2}

¹Ophthalmology Department, Miguel Servet University Hospital, Zaragoza, Spain

²IIS-Aragon. Aragon Institute for Health Sciences, Zaragoza, Spain

³Neurology Department, Obispo Polanco Hospital, Teruel, Spain

⁴Neurology Department, Miguel Servet University Hospital, Zaragoza, Spain

Correspondence should be addressed to Maria Satue; mariasatue@gmail.com

Received 30 May 2018; Accepted 9 October 2018; Published 13 November 2018

Academic Editor: Inés Contreras

Copyright © 2018 Elena Garcia-Martin et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Purpose. To evaluate the ability of new swept-source (SS) optical coherence tomography (OCT) technology to detect changes in retinal and choroidal thickness in patients with multiple sclerosis (MS). **Methods.** A total of 101 healthy and 97 MS eyes underwent retinal and choroidal assessment using SS Triton OCT (Topcon). Macular thickness and peripapillary data (retinal, ganglion cell layer (GCL+, GCL++) and retinal nerve fiber layer (RNFL) thickness) were analyzed, including choroidal thickness evaluation. **Results.** Significant macular thinning was observed in all ETDRS areas ($p < 0.001$) in MS patients. Peripapillary retinal, RNFL, and GCL ++ thickness showed a significant reduction in patients in all sectors ($p < 0.001$) except in the nasal quadrant/sector ($p > 0.05$). GCL+ measurements were found to be reduced in the nasal ($p = 0.003$), inferonasal ($p = 0.045$), and temporal ($p = 0.001$) sectors and total thickness ($p < 0.001$). Choroidal thickness was reduced in the outer macular ring in MS patients compared with controls ($p = 0.038$). **Conclusion.** New swept-source technology for OCT devices detects retinal thinning in MS patients, providing increased depth analysis of the choroid in these patients. MS patients present reduced retinal and choroidal thickness in the macular area and reduced peripapillary retinal, RNFL, and GCL thickness.

1. Introduction

Optic nerve atrophy and thinning of the peripapillary retinal nerve fiber layer (RNFL) are two typical findings of patients with multiple sclerosis (MS). Axonal damage already occurs in the early stages of the disease, and its relationship with demyelination is still unclear [1, 2]. Axonal damage is considered to be the main cause of disability in MS [3–5] and can be detected and quantified at the level of the retinal nerve fiber layer (RNFL) using ocular imaging technologies, such as optical coherence tomography (OCT) [5–10]. So far, studies using spectral-domain OCT have revealed that the retina in nonoptical neuritis (non-ON) eyes shows thinner peripapillary RNFL (pRNFL) than healthy controls [4, 11–13].

Digital imaging technologies in ophthalmology have greatly improved in the recent years. The most recent milestone in the development of retina and choroid structural visualization strategies is swept-source (SS) OCT, which overcomes the scattering of light on the choroid thanks to longer wavelengths than those used in SD systems (1,050 nm vs 840 nm) [14]. The scan speed in SS-OCT devices is of 100,000 A scans/sec, providing more accurate three-dimensional images of the retina and choroid [14, 15].

In the present study, we evaluated retinal and choroidal thickness in patients with MS without previous ON episodes (that is, without acute loss of RNFL thickness), using new SS-deep range imaging (DRI) OCT technology and compared

obtained measurements with a group of healthy subjects. To the best of our knowledge, this is the first study evaluating MS eyes using new SS-DRI OCT technology.

2. Methods

All procedures in this study adhered to the tenets of the Declaration of Helsinki; the experimental protocol was approved by the Ethics Committee of the Miguel Servet Hospital (CEICA), and all participants provided written informed consent to participate in the study.

Patients with definite relapsing-remitting (RR) MS were included in an observational cross-sectional study. The sample size was calculated in order to detect significant differences in the RNFL, assuming an α error of 5% and a β error of 10%. Based on these calculations, the number of subjects needed was at least 80. A total of 97 eyes of 97 patients and 100 eyes of 100 healthy individuals were evaluated.

The diagnosis of MS was based on the McDonald criteria [16] and confirmed by a neurologist. Related medical records (neurological and ophthalmological) were carefully evaluated, and information about Expanded Disability Status Scale (EDSS) scores, disease duration and subtype, modifying disease treatments, and prior episodes ON (based on the standardized definition of ON using clinical criteria [17]) were recorded. Only patients with relapsing-remitting MS were included in our study. Patients with visual acuity <0.1 (6/60, using the Snellen chart) and intraocular pressure >20 mmHg and/or active MS outbreaks (of any neurologic deficit) in the 6 months preceding enrollment in the study were excluded from the study. The reason to exclude active neurological flare ups was that acute axonal losses did not mask neuronal damage secondary to MS progression (i.e., chronic neurodegeneration). Patients with previous ON history were excluded from the study because we aimed at evaluating the ability of Triton OCT to detect subclinical axonal damage in the RNFL of these patients compared to controls. Axial length was assessed in all individuals. Eyes longer than 25.2 mm and refractive errors ≥ 5 diopters (D) of spherical equivalent or ≥ 3 D of astigmatism were excluded from the study.

Structural measurements of the retina were obtained using the DRI Triton SS-OCT device (Topcon, Tokyo, Japan) which uses a tunable laser as a light source to provide a 1050 nm centered wavelength. This device reaches a scanning speed of 100,000 A-scans per second, yielding 8 and 20 μm axial and transverse resolution in tissue, respectively. The 3D wide protocol was used for all subjects. This protocol includes a wide scanning range that focuses both in the macular (ETDRS scan) and the peripapillary area (TSNIT). The diameter of the peripapillary area measured with this protocol is 3.40 mm. With the ETDRS scan nine macular areas [18] (which include a central 1 mm circle representing the fovea, and inner and outer rings measuring 3 mm and 6 mm in diameter, respectively), central and average thickness plus macular volume are analyzed; the TSNIT scan provides automated separate measurements of different retinal layers: retinal nerve fiber layer (RNFL)

(between the inner limiting membrane (ILM) to the GCL boundaries), ganglion cell layer (GCL) + (between RNFL to the inner nuclear layer boundaries), GCL++ (between ILM to the inner nuclear layer boundaries), and retinal thickness (from the ILM to the retinal pigment epithelium boundaries). The TSNIT provides measurements of the 4 peripapillary quadrants (superior, nasal, inferior, and temporal), 6 sectors (superonasal, superotemporal, nasal, temporal, inferonasal, and inferotemporal), and 12 clock sectors. Additionally, both EDTRS and TSNIT protocols provide automated choroidal thickness measurements (from the Bruch membrane to the choroidal-scleral interface, Figure 1).

In this study, we followed the methods of Satue et al. 2017 [19]. Macular (ETDRS, GCL+, and GCL++) and peripapillary (RNFL, GCL+, and GCL++) thickness were evaluated. Choroidal measurements were obtained for both the macular (ETDRS) and peripapillary area (TSNIT).

All variables were registered in a database created with Excel 2010 (Microsoft Corporation). Modifier variables were age, sex, intraocular pressure, and axial length. Statistical analysis was performed using commercial predictive analytics software (SPSS, version 20.0; SPSS, Inc., Chicago, IL). The normality of the sample distribution was confirmed using the Kolmogorov-Smirnov test ($p > 0.05$). Bonferroni correction for multiple comparisons was applied. Comparisons between patients and controls were calculated using Student's *t* test. p value ≤ 0.05 was considered of statistical significance. Results of calculations are reported as "mean" and "standard deviation." Only one eye per patient was randomly selected for the study.

3. Results

Ninety-seven eyes of 97 RR MS patients with a mean age of 48.46 years (SD = 11.31) and 101 eyes of 101 healthy individuals with a mean age of 47.58 years (SD = 9.37) were included in the study. The male/female ratio was 1/11 in the MS group (8/89) and 1/10 in the control group (9/91). Mean axial length was 23.52 ± 0.6 mm in the control group, and 23.60 ± 0.2 mm in the MS group. Mean age, sex, intraocular pressure, and axial length did not differ significantly between the groups ($p = 0.610, 0.659, 0.865,$ and 0.522 , respectively). Mean disease duration in the group of patients was 7.56 years (SD = 2.66). The median EDSS score was 1.50 (interquartile range (IQR) = 2.30), and all patients suffered from relapsing-remitting MS subtype. No previous acute optic neuritis attack was reported in any of our patients.

Measurements obtained with SS DRI Triton OCT showed reduced retinal thickness in all macular ETDRS sectors in MS patients compared with controls ($p < 0.001$). Macular volume was also significantly reduced in patients (7.92 mm^3 in controls vs 7.54 mm^3 in patients, $p < 0.001$). Results can be observed in Table 1.

Significant peripapillary retinal and RNFL thinning was observed in all measured areas (total thickness, quadrants, and sectors, $p < 0.001$) except in the nasal quadrant/sector (Table 2).

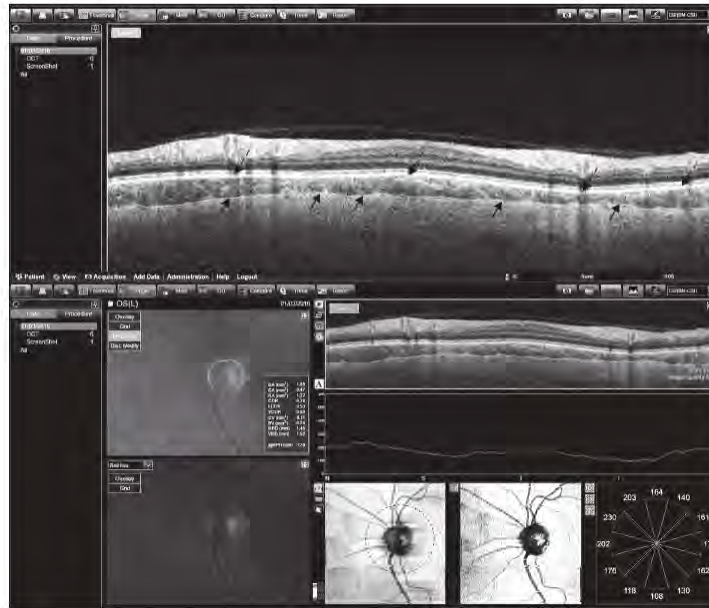


FIGURE 1: Segmentation of the choroidal plexus of the peripapillary area. Automated segmentation of the peripapillary choroidal plexus and analyzed data provided by Triton OCT in a patient with multiple sclerosis. Arrows indicate the boundaries of the choroidal plexus.

TABLE 1: Macular retinal thickness and macular volume as measured with swept-source deep range imaging optical coherence tomography Triton in patients with multiple sclerosis and healthy subjects.

| Macular thickness | Healthy controls | MS | <i>p</i> |
|-------------------------------------|------------------|----------------|----------|
| Center (μm) | 255.38 (35.19) | 230.49 (14.54) | <0.001* |
| Inner superior (μm) | 320.93 (17.13) | 297.08 (19.87) | <0.001* |
| Inner nasal (μm) | 323.30 (16.00) | 298.93 (13.49) | <0.001* |
| Inner inferior (μm) | 318.41 (13.19) | 296.88 (13.77) | <0.001* |
| Inner temporal (μm) | 306.10 (20.33) | 286.54 (12.84) | <0.001* |
| Outer superior (μm) | 272.51 (13.87) | 263.92 (9.76) | <0.001* |
| Outer nasal (μm) | 290.52 (14.84) | 274.56 (13.85) | <0.001* |
| Outer inferior (μm) | 263.01 (15.75) | 252.94 (12.83) | <0.001* |
| Outer temporal (μm) | 255.21 (18.31) | 248.72 (9.60) | <0.001* |
| Average thickness (μm) | 280.41 (13.97) | 266.95 (9.83) | <0.001* |
| Volume (mm^3) | 7.92 (0.39) | 7.54 (0.27) | <0.001* |

Numbers indicate mean values with standard deviation between brackets. Bold letters indicate statistical significance. *Significant values after Bonferroni correction for multiple comparisons; MS, multiple sclerosis.

The ganglion cell layer as measured from the RNFL to the boundaries of the inner nuclear layer (GCL+) was found to be reduced in the nasal ($40.96 \mu\text{m}$ in controls vs $38.96 \mu\text{m}$ in patients, $p = 0.003$) and temporal ($52.31 \mu\text{m}$ vs $49.20 \mu\text{m}$, $p = 0.001$) quadrants, in the nasal ($40.96 \mu\text{m}$ vs $38.96 \mu\text{m}$, $p = 0.003$), inferonasal ($37.51 \mu\text{m}$ vs $35.57 \mu\text{m}$, $p = 0.045$), and temporal ($52.31 \mu\text{m}$ vs $49.20 \mu\text{m}$, $p = 0.001$) sectors, and in total thickness ($43.20 \mu\text{m}$ vs $41.21 \mu\text{m}$, $p < 0.001$) (Table 2).

Automated measurements of the macular and peripapillary choroidal thickness in MS patients did not show any significant differences compared with healthy controls. However, a clear tendency toward reduced choroidal thickness was observed in the peripapillary area (Table 3). This tendency was not observed in the ETDRS macular choroidal measurements (Supplementary Table 1). A secondary analysis of the ETDRS choroidal thickness was performed due to high standard deviation values. The four areas of the 3 mm inner ETDRS ring (superior, nasal, inferior, and temporal) were assembled and calculated as only one area (inner ring), and the four areas of the 6 mm outer ETDRS ring (superior, nasal, inferior and temporal) were calculated as other unique area (outer ring). The outer ring of the choroidal plexus was found to be significantly reduced in MS patients compared with controls ($261.41 \mu\text{m}$ in controls vs $254.46 \mu\text{m}$ in patients, $p = 0.038$).

TABLE 2: Peripapillary retinal and ganglion cell layer thickness as measured with swept-source deep range imaging optical coherence tomography Triton in patients with multiple sclerosis and healthy subjects.

| | Peripapillary measurements | Healthy controls | MS | <i>p</i> |
|-----------------------|----------------------------|------------------|----------------|---------------|
| Retinal thickness | Total | 291.87 (15.32) | 277.75 (16.86) | <0.001* |
| | <i>Quadrants (x4)</i> | | | |
| | Superior | 310.03 (21.53) | 292.81 (24.05) | <0.001* |
| | Nasal | 262.33 (16.02) | 259.02 (14.72) | 0.129 |
| | Inferior | 313.45 (21.19) | 292.03 (21.51) | <0.001* |
| | Temporal | 281.53 (12.80) | 267.10 (16.70) | <0.001* |
| | <i>Sectors (x6)</i> | | | |
| | Superonasal | 302.64 (27.51) | 284.88 (27.06) | <0.001* |
| | Superotemporal | 321.31 (20.46) | 303.05 (25.56) | <0.001* |
| | Nasal | 267.47 (16.33) | 262.17 (14.60) | 0.016 |
| | Inferonasal | 310.43 (26.81) | 289.10 (27.09) | <0.001* |
| | Inferotemporal | 323.19 (21.25) | 300.61 (23.25) | <0.001* |
| | Temporal | 281.53 (12.80) | 267.10 (16.70) | <0.001* |
| | RNFL thickness | Total | 104.74 (11.38) | 94.60 (14.40) |
| <i>Quadrants (x4)</i> | | | | |
| Superior | | 126.03 (18.03) | 112.39 (19.36) | <0.001* |
| Nasal | | 76.51 (11.02) | 78.97 (14.04) | 0.166 |
| Inferior | | 139.40 (19.71) | 120.23 (20.99) | <0.001* |
| Temporal | | 76.93 (12.43) | 66.79 (16.64) | <0.001* |
| <i>Sectors (x6)</i> | | | | |
| Superonasal | | 117.01 (25.30) | 101.49 (21.42) | <0.001* |
| Superotemporal | | 138.00 (18.35) | 124.48 (24.93) | <0.001* |
| Nasal | | 83.12 (12.00) | 83.25 (14.12) | 0.966 |
| Inferonasal | | 138.63 (27.54) | 119.83 (28.49) | <0.001* |
| Inferotemporal | | 147.17 (22.60) | 126.31 (26.18) | <0.001* |
| Temporal | | 76.93 (12.43) | 66.79 (16.64) | <0.001* |
| GCL + thickness | | Total | 43.20 (4.06) | 41.21 (3.60) |
| | <i>Quadrants (x4)</i> | | | |
| | Superior | 40.72 (5.39) | 39.49 (4.29) | 0.076 |
| | Nasal | 40.96 (4.36) | 38.96 (5.15) | 0.003 |
| | Inferior | 38.81 (5.39) | 37.16 (5.73) | 0.036 |
| | Temporal | 52.31 (7.02) | 49.20 (6.03) | 0.001* |
| | <i>Sectors (x6)</i> | | | |
| | Superonasal | 41.94 (6.29) | 41.37 (4.93) | 0.481 |
| | Superotemporal | 39.98 (7.54) | 38.29 (6.01) | 0.083 |
| | Nasal | 40.46 (4.32) | 38.53 (4.80) | 0.003 |
| | Inferonasal | 37.51 (6.36) | 35.57 (7.29) | 0.045 |
| | Inferotemporal | 40.39 (7.03) | 38.91 (7.10) | 0.139 |
| | Temporal | 52.31 (7.02) | 49.20 (6.03) | 0.001* |

Numbers indicate mean values with standard deviation between brackets. Bold letters indicate statistical significance. * Significant values after Bonferroni correction for multiple comparisons; MS, multiple sclerosis; RNFL, retinal nerve fiber layer; GCL, ganglion cell layer.

4. Discussion

In the present study, we evaluated retinal and choroidal changes in MS patients using new SS DRI Triton OCT device. To the best of our knowledge, this is the first study assessing the ability of Swept-source OCT technology to detect retinal changes in MS. Triton SS-OCT analyzed retinal thickness in both the macular and peripapillary area and also two other retinal layers: RNFL and GCL + (both in the peripapillary area). Triton SS-OCT detected significant retinal thinning in all the ETDRS areas in our patients, as well as retinal and RNFL thinning in all sectors of the peripapillary measurements (except in the nasal quadrant/sector). Surprisingly, ganglion cell layer measurements (GCL+) only showed significant reduction in the nasal and temporal quadrants/sectors.

Previous studies using SD-OCT segmentation analysis software demonstrated a reduction of the macular inner retinal layers, including the GCL + IPL, in patients with MS, suggesting ganglion cell loss [20–23]. Recent research demonstrated that GCL measurements as obtained with SD-OCT devices may be a better marker for axonal degeneration in MS compared with RNFL thickness [23]. In a recent study comparing both macular GCL + IPL and peripapillary RNFL thickness, average GCL + IPL was altered more frequently than average peripapillary RNFL, and GCL + IPL thickness demonstrated to have better sensitivity than temporal peripapillary RNFL thickness for detecting retinal thickness changes in patients with MS [12, 24]. Our study did not include macular GCL + thickness. However, in our patients, peripapillary RNFL thickness was altered more frequently

TABLE 3: Macular and peripapillary choroidal thickness as measured with swept-source deep range imaging optical coherence tomography Triton in patients with multiple sclerosis and healthy subjects.

| | Healthy controls | MS | <i>p</i> |
|--|--------------------|--------------------|--------------|
| <i>Macular choroidal thickness</i> | | | |
| Inner ring | 278.85 (100.14) | 276.41 (86.10) | 0.855 |
| Outer ring | 261.41 (103.46) | 254.46 (79.69) | 0.038 |
| <i>Peripapillary choroidal thickness</i> | | | |
| Total | 172.44 (94.02) | 165.91 (83.22) | 0.603 |
| <i>Quadrants (x4)</i> | | | |
| Superior | 193.73 (101.97) | 174.55 (79.61) | 0.140 |
| Nasal | 167.08 (87.91) | 164.66 (79.85) | 0.838 |
| Inferior | 153.01 (101.26) | 150.24 (98.71) | 0.844 |
| Temporal | 175.93 (97.12) | 174.20 (93.97) | 0.898 |
| <i>Sectors (x6)</i> | | | |
| Superonasal | 194.70 (103.29) | 171.19 (78.79) | 0.072 |
| Superotemporal | 196.39 (106.92) | 179.33 (82.15) | 0.208 |
| Nasal | 167.61 (88.95) | 164.21 (80.33) | 0.777 |
| Inferonasal | 150.04 (100.58) | 147.76 (100.30) | 0.872 |
| Inferotemporal | 154.01 (103.59) | 151.39 (101.97) | 0.857 |
| Temporal | 175.93 (97.12) | 174.20 (93.97) | 0.898 |

All measurements are in microns. Each of the four macular areas in the 3 mm and 6 mm ring of the ETDRS are assembled into one unique inner and outer ring, due to elevated standard deviation. Bold letters indicate statistical significance. MS, multiple sclerosis.

than peripapillary GCL measurements (GCL+), and the latter were more reduced in temporal and nasal areas. The fact that the nasal quadrant is affected only in the GCL + in our patients (and not in the RNFL, GCL++) may suggest that, indeed, GCL measurements are somewhat a more subtle marker for neurodegeneration than RNFL thickness. However, more studies with SS-OCT technology including macular GCL + measurements are needed to corroborate these findings.

The choroid (present both in the ocular globe and the central nervous system) is composed of epithelial cells resting on a basal lamina. These epithelial cells produce the cerebrospinal fluid, which has many functions, such as providing mechanical support, a route for some nutrients and removing by-products of metabolism and synaptic activity [25]. The tight junctions located in the choroidal epithelial cells of the central nervous system form the blood-cerebrospinal fluid barrier. Previous atrophy of the

choroidal epithelial cells and thickening of the basement membrane were observed in the central nervous system's choroidal plexus of patients with other neurodegenerative diseases, such as Alzheimer's disease [25]. In MS, an inflammatory disease, pathogenic autoreactive T lymphocytes may migrate through the blood-cerebrospinal fluid barrier of the choroid into the central nervous system [25]. Few previous studies focused on ocular choroidal thickness measurements in MS using OCT imaging, and none of them included SS technology. Esen et al. demonstrated, using enhanced depth imaging (EDI) SD OCT, that the subfoveal choroidal plexus in these patients was significantly reduced compared with healthy individuals, and this reduction was associated with disease duration [26]. Our patients showed significant reduced choroidal thickness in the assembled outer ring of the macular area, but not when the 9 separate EDTRS areas were compared. Additionally, the peripapillary choroidal plexus seemed to be diminished in our patients compared with controls (although this finding was not significant). Choroidal thickness is influenced by the axial length of the eye. Both refractive errors and axial length were evaluated in our study and did not differ significantly between patients and controls. Recent research comparing SD-OCT and SS-OCT choroidal measurements in healthy and high myopic subjects demonstrated that SS-OCT measurements provide better quality of choroidal images, which allows higher rates of measurement of this layer [15, 27]. However, choroidal measurements in our study were automatically obtained, which could add segmentation artefacts, but also decrease bias induced by manual measurement. In our opinion, more studies comparing SD-OCT and SS-OCT choroidal measurements in MS patients are needed to corroborate our findings.

A possible limitation is that subclinical glaucomatous eyes might have been included in the study, despite all participants (MS and controls) being evaluated for IOP levels (but not for glaucomatous changes in perimetry). It is possible that both the patient and the control group of subjects contained subclinical glaucomatous eyes. However, since this would have randomly affected both comparative groups, we do not consider this to alter significantly the results of our study. Another possible limitation is that the quality of some of the scans would have caused the choroidal thickness in the MS to be diminished when automated segmentation was applied. Nevertheless, we checked the quality of the scans immediately after acquisition, all quality scores were >55 in both groups, and no statistical difference between the MS and the control group was observed ($p > 0.05$).

5. Conclusions

New swept-source technology for OCT devices detects macular thinning and peripapillary retinal, RNFL, and GCL reduction in MS patients, providing increased and more detailed evaluation of the choroid in these patients. Based on our findings, SS-OCT devices could be used as an alternative tool to SD-technology in the routine evaluation of patients with MS. Moreover, since SS-OCT provides increased depth

analysis of the choroid in these patients, analyzing the ocular choroidal plexus in MS subjects could add valuable information on the possible affectation of the ocular layers and reflect degeneration in other central nervous system structures. However, similar studies comparing new swept-source and SD OCT technology for the evaluation of MS would still be needed to corroborate our findings.

Data Availability

Raw data used to support the findings of this study are available from the corresponding author upon request.

Conflicts of Interest

The authors have no proprietary or commercial interest in any materials discussed in this article.

Acknowledgments

This research was conducted at Miguel Servet University Hospital (Zaragoza, Spain) and received no specific funding by any agency in the public, commercial, or not-for-profit sectors. MS was supported by a fellowship from the Instituto de Salud Carlos III, Spain (Rio Hortega program: CM14/00026). Publishing costs were supported by Instituto de Salud Carlos III, Spain (grant number PI17/01726). This research was supported by FEDER (European fund for regional development) "Otra manera de hacer Europa."

Supplementary Materials

Supplementary Table 1: Macular choroidal thickness as measured with Triton optical coherence tomography, in patients with multiple sclerosis and controls. (*Supplementary Materials*)

References

- [1] J. Palace, "Inflammation versus neurodegeneration: consequences for treatment," *Journal of the Neurological Sciences*, vol. 259, no. 1-2, pp. 46-49, 2007.
- [2] S. L. Hauser and J. R. Oksenberg, "The neurobiology of multiple sclerosis: genes, inflammation, and neurodegeneration," *Neuron*, vol. 52, no. 1, pp. 61-76, 2006.
- [3] J. B. Fisher, D. A. Jacobs, C. E. Markowitz et al., "Relation of visual function to retinal nerve fiber layer thickness in multiple sclerosis," *Ophthalmology*, vol. 113, no. 2, pp. 324-332, 2006.
- [4] E. Gordon-Lipkin, B. Chodkowski, D. S. Reich et al., "Retinal nerve fiber layer is associated with brain atrophy in multiple sclerosis," *Neurology*, vol. 69, no. 16, pp. 1603-1609, 2007.
- [5] E. Garcia-Martin, V. Pueyo, I. Pinilla, J. R. Ara, J. Martin, and J. F. Hernandez, "Fourier-domain OCT in multiple sclerosis patients: reproducibility and ability to detect retinal nerve fiber layer atrophy," *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, vol. 52, no. 7, pp. 4124-4131, 2011.
- [6] A. A. Khanifar, G. J. Parlitsis, J. R. Ehrlich et al., "Retinal nerve fiber layer evaluation in multiple sclerosis with spectral domain optical coherence tomography," *Clinical Ophthalmology*, vol. 4, pp. 1007-1013, 2010.
- [7] R. C. Sergott, "Optical coherence tomography: measuring in-vivo axonal survival and neuroprotection in multiple sclerosis and optic neuritis," *Current Opinion in Ophthalmology*, vol. 16, no. 6, pp. 346-350, 2005.
- [8] M. S. Zaveri, A. Conger, A. Salter et al., "Retinal imaging by laser polarimetry and optical coherence tomography evidence of axonal degeneration in multiple sclerosis," *Archives of Neurology*, vol. 65, no. 7, pp. 924-928, 2008.
- [9] F. C. Gundogan, S. Demirkaya, and G. Sobaci, "Is optical coherence tomography really a new biomarker candidate in multiple sclerosis? A structural and functional evaluation," *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, vol. 48, no. 12, pp. 5773-5781, 2007.
- [10] E. Garcia-Martin, V. Pueyo, J. Martin et al., "Progressive changes in the retinal nerve fiber layer in patients with multiple sclerosis," *European Journal of Ophthalmology*, vol. 20, no. 1, pp. 167-173, 2010.
- [11] J. Dorr, K. D. Wernecke, M. Bock et al., "Association of retinal and macular damage with brain atrophy in multiple sclerosis," *PLoS One*, vol. 6, no. 4, Article ID e18132, 2011.
- [12] J. J. González-López, G. Rebolledo, M. Leal et al., "Comparative diagnostic accuracy of ganglion cell-inner plexiform and retinal nerve fiber layer thickness measures by Cirrus and Spectralis optical coherence tomography in relapsing-remitting multiple sclerosis," *BioMed Research International*, vol. 2014, Article ID 128517, 10 pages, 2014.
- [13] A. J. Green, S. McQuaid, S. L. Hauser, I. V. Allen, and R. Layness, "Ocular pathology in multiple sclerosis: retinal atrophy and inflammation irrespective of disease duration," *Brain*, vol. 133, no. 6, pp. 1591-1601, 2010.
- [14] M. Hirata, A. Tsujikawa, A. Matsumoto et al., "Macular choroidal thickness and volume in normal subjects measured by swept-source optical coherence tomography," *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, vol. 52, no. 8, pp. 4971-4978, 2011.
- [15] S. Copete, I. Flores-Moreno, J. A. Montero, J. S. Duker, and J. M. Ruiz-Moreno, "Direct comparison of spectral-domain and swept-source OCT in the measurement of choroidal thickness in normal eyes," *British Journal of Ophthalmology*, vol. 98, no. 3, pp. 334-338, 2014.
- [16] C. H. Polman, S. C. Reingold, G. Edan et al., "Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria"," *Annals of Neurology*, vol. 58, no. 6, pp. 840-846, 2005.
- [17] A. Petzold, M. P. Wattjes, F. Costello et al., "The investigation of acute optic neuritis: a review and proposed protocol," *Nature Reviews Neurology*, vol. 10, no. 8, pp. 447-458, 2014.
- [18] Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group, "Photocoagulation for diabetic macular edema. Early treatment diabetic retinopathy study report number 1," *Archives of Ophthalmology*, vol. 103, no. 12, pp. 1796-1806, 1985.
- [19] M. Satue, J. Obis, R. Alarcia et al., "Retinal and choroidal changes in patients with Parkinson's disease detected by swept source optical coherence tomography," *Current Eye Research*, vol. 43, no. 1, pp. 109-115, 2018.
- [20] S. Saidha, S. B. Syc, M. K. Durbin et al., "Visual dysfunction in multiple sclerosis correlates better with optical coherence tomography derived estimates of macular ganglion cell thickness than peripapillary retinal nerve fiber layer thickness," *Multiple Sclerosis Journal*, vol. 17, no. 12, pp. 1449-1463, 2011.
- [21] S. D. Walter, H. Ishikawa, K. M. Galetta et al., "Ganglion cell loss in relation to visual disability in multiple sclerosis," *Ophthalmology*, vol. 119, no. 6, pp. 1250-1257, 2012.

- [22] E. C. Davies, K. M. Galetta, D. J. Sackel et al., "Retinal ganglion cell layer volumetric assessment by spectral-domain optical coherence tomography in multiple sclerosis: application of a high precision manual estimation technique," *Journal of Neuro-Ophthalmology*, vol. 31, no. 3, pp. 260–264, 2011.
- [23] E. Garcia-Martin, V. Polo, J. M. Larrosa et al., "Retinal layer segmentation in patients with multiple sclerosis using spectral domain optical coherence tomography," *Ophthalmology*, vol. 121, no. 2, pp. 573–579, 2014.
- [24] D. Narayanan, H. Cheng, K. N. Bonem, R. Saenz, R. A. Tang, and L. J. Frishman, "Tracking changes over time in retinal nerve fiber layer and ganglion cell-inner plexiform layer thickness in multiple sclerosis," *Multiple Sclerosis Journal*, vol. 20, pp. 1331–1341, 2014.
- [25] C. Kaur, G. Rathnasamy, and E. A. Ling, "The choroid plexus in healthy and diseased brain," *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, vol. 75, no. 3, pp. 198–213, 2016.
- [26] E. Esen, S. Sizmaz, T. Demir, M. Demirkiran, I. Unal, and N. Demircan, "Evaluation of choroidal vascular changes in patients with multiple sclerosis using enhanced depth imaging optical coherence tomography," *Ophthalmologica*, vol. 235, no. 2, pp. 65–71, 2016.
- [27] L. S. Lim, G. Cheung, and S. Y. Lee, "Comparison of spectral domain and swept-source optical coherence tomography in pathological myopia," *Eye*, vol. 28, no. 4, pp. 488–491, 2014.

Changes in peripapillary choroidal thickness in patients with multiple sclerosis

Elena Garcia-Martin,^{1,2} Laura Jarauta,^{2,3} Luis E. Pablo,^{1,2} Maria P. Bambo,^{1,2} Jose R. Ara,^{2,3} Jesus Martin,^{2,3} Vicente Polo,^{1,2} Jose M. Larrosa,^{1,2} Elisa Vilades,^{1,2} Teresa Ramirez^{2,4} and Maria Satue^{1,2}

¹Ophthalmology Department, Miguel Servet University Hospital, Zaragoza, Spain

²Aragon Institute for Health Research (IIS Aragón), University of Zaragoza, Zaragoza, Spain

³Neurology Department, Miguel Servet University Hospital, Zaragoza, Spain

⁴Anatomic Pathology Department, Lozano Blesa University Hospital, Zaragoza, Spain

ABSTRACT.

Purpose: To study peripapillary choroidal thickness (PPCT) around the optic disc and establish zones using a new swept source optical coherence tomography (SS-OCT) device. To evaluate PPCT differences between patients with multiple sclerosis (MS) and age- and sex-matched healthy controls.

Methods: A total of 102 healthy subjects and 51 patients with MS were consecutively recruited. Healthy subjects were divided into teaching ($n = 51$, used to establish choroidal zones) and validating ($n = 51$, used to compare measurements with MS patients) populations. An optic disc 6.0×6.0 -mm three-dimensional scan was obtained using SS-OCT Triton. A 26×26 cube-grid centred on the optic disc was generated automatically to measure PPCT. Four choroidal zones were established and used to compare PPCT between healthy controls and patients with MS.

Results: Peripapillary choroidal thickness (PPCT) was significantly thinner in patients in all concentric zones ($p \leq 0.0001$): $134.02 \pm 16.59 \mu\text{m}$ in MS group versus $171.56 \pm 12.43 \mu\text{m}$ in the control group in zone 2; 182.23 ± 20.52 versus $219.03 \pm 17.99 \mu\text{m}$, respectively, in zone 3; and 223.52 ± 10.70 versus $259.99 \pm 10.29 \mu\text{m}$, respectively, in zone 4. The choroidal thinning in the MS group tended to decrease as we distanced from the optic nerve head. Peripapillary choroidal thickness (PPCT) had a similar pattern in controls and MS; it was thicker in the superior region, followed by temporal, nasal and inferior regions.

Conclusion: Patients with MS showed peripapillary choroidal thinning when compared with healthy subjects in all zones around the optic disc. Peripapillary choroidal tissue shows a concentric pattern, increasing in thickness when increasing the distance from the optic nerve. The new SS-OCT could be useful for evaluating choroidal thinning in clinical practice.

Key words: choroid – Deep Range Imaging – multiple sclerosis – neurodegenerative disease – optical coherence tomography – peripapillary choroidal thickness – swept source

Acta Ophthalmol. 2019; 97: e77–e83

© 2018 Acta Ophthalmologica Scandinavica Foundation. Published by John Wiley & Sons Ltd

doi: 10.1111/aos.13807

Introduction

Multiple sclerosis (MS) is an autoimmune-mediated disease of the central

nervous system with a multifactorial pathogenesis. Recent models support the presence of three related mechanisms: inflammation, demyelination

and neurodegeneration, in MS (Garcia-Martin et al. 2011). Martinez-Lapiscina et al. (2016); Fisher et al. (2006) reported a correlation between axonal loss in the optic nerve of patients with MS and the extent of functional disability. Several mechanisms by which axonal loss caused by MS could lead to tissue degeneration and ultrastructural changes of the retinal ganglionar cells, astrocytes and endothelial cells have been proposed by Zeis et al. (2008), but changes of the choroidal layer have not been evaluated.

Cells and tissues can deform in various ways, such as extension, compression, demyelination, atrophy or shearing, and these modes of alteration are not independent from each other. The mechanobiologic response of tissues (Edwards et al. 2001) and cells (Pedersen & Swartz 2005) depends on the mode of deformation, as well as the magnitude and temporal profile of the stimulus, and the type of tissue or cell and its biological state. It would therefore be interesting to evaluate potential deformations of each tissue type and ocular layer in patients with MS.

Until OCT was developed, choroidal studies were limited to histopathologic analyses. Although OCT can provide important information about the choroid, the role of choroidal analysis for ocular pathologies is controversial.

Several studies using spectral domain optical coherence tomography (SD-OCT), mostly with enhanced

depth imaging (EDI), evaluated macular and peripapillary choroid, mainly in healthy eyes and glaucoma patients, (Banitt 2013; Abegão Pinto et al. 2016), yet the peripapillary choroid results are inconsistent. Some authors reported a reduced mean or regional peripapillary choroidal thickness (PPCT) in patients with primary open-angle glaucoma, often associated with sclerotic optic disc damage (Hirooka et al. 2012; Roberts et al. 2012; Usui et al. 2012). Other studies reported no differences in PPCT between glaucoma and healthy eyes (Ehrlich et al. 2011; Maul et al. 2011). Most of these studies, however, had important limitations: First, the authors used manual measurements of choroidal thickness using the SD-OCT at a few points and beneath the circum-papillary ring, which is typically used to evaluate the retinal nerve fibre layer (RNFL). Second, the choroid is a highly vascularized and partially irregular tissue, so the sampling of a few choroidal measurements may not adequately reveal the whole dimension of this tissue. In contrast, the automated segmental measurement software used in this study provides a broader and more objective evaluation of choroidal thickness.

Swept source optical coherence tomography (SS-OCT), as compared with SD-OCT with EDI, provides better visualization of the choroid (Adhi et al. 2014), more accurately obtains deep tissue measurements, better detects the posterior limit of the sclera (Park et al. 2014), and can evaluate a broader region of the posterior segment.

Given the ability of this new SS-OCT technology to better visualize and measure automatically a wide area of peripapillary choroid, our first objective was to measure the PPCT in a 26×26 cube-grid, which can be automatically performed using the DRI-OCT Triton (Topcon Corporation, Tokyo, Japan), in a sample of healthy subjects to evaluate the distribution of PPCT and to establish objective zones with similar PPCT. Our second objective was to study differences in the PPCT within these zones between a sample of patients with MS and age- and sex-matched healthy controls. To the best of our knowledge, there has been no thorough investigation of the quantitative differences between normal and patients with MS using

automatically choroidal measurements. The main advantage of this study is that the PPCT was evaluated not only at a few points or beneath the circum-papillary ring using manual procedures, but also in a wide area of the peripapillary choroid using a new automatic and accurate method.

Material and Methods

Study population and design

This prospective case-control study included patients with definite relapsing-remitting MS and age- and sex-matched healthy controls seen at a single institution. A total of 51 eyes of 51 patients with MS and 102 eyes of 102 healthy controls were evaluated. Multiple sclerosis (MS) was diagnosed based on the revised McDonald Criteria and confirmed by a neurologist specializing in MS (Polman et al. 2011). Patients with a visual acuity inferior to 0.1 in Snellen scale (or 20/200 or 6/60), intraocular pressure > 20 mmHg, antecedent optic neuritis, and/or active MS flare (of any neurologic deficit) in the 6 months preceding enrolment into the study were excluded from the study. Patients with refractive errors > 5 dioptres of spherical equivalent refraction or 3 dioptres of astigmatism were also excluded from the study.

Standard protocol approval, registration, and patient consent

The study procedures were performed in accordance with the tenets of the Declaration of Helsinki, and the local ethics committee approved the study protocol. Written informed consent to participate in the study was obtained from all subjects.

Main outcome measures

To determine choroidal thickness in healthy controls measured by automated software of SS-OCT, to define areas with similar choroidal thickness, to measure these areas in patients with MS and compare them with healthy controls.

Methodology

A complete neuro-ophthalmic examination, including assessment of best-

corrected visual acuity using the Snellen chart, assessment of visual field using Humphrey Field Analyzer (Carl-Zeiss Meditec, Dublin, CA, USA) with a SITA Standard strategy (programme 30-2), pupillary reflexes, and ocular motility; examinations of the anterior segment, intraocular pressure with the Goldmann applanation tonometer, and papillary morphology by funduscopy exam; as well as OCT. In addition, the Expanded Disability Status Scale (EDSS) score, the visual EDSS, and disease duration were recorded for the MS group.

OCT

An optic disc 6.0×6.0 mm three-dimensional scan was obtained using the Deep Range Imaging (DRI) OCT Triton (Topcon Corporation, Tokyo, Japan). This scan combines morphometric optic disc parameters and various peripapillary parameters, including RNFL and choroidal thickness. The subjects were seated and properly positioned. All DRI-OCT images were obtained by a single and well-trained technician. The DRI-OCT Triton includes the new SMART-Track™ tool (Topcon Corporation, Tokyo, Japan) that enhances the tracking, corrects motion and guides the operator to reduce potential errors while acquiring the images. Patients were not dilated. Only eyes with good-quality scans were included in the analysis. Good-quality SS-OCT images were defined as those with a signal strength ≥ 40 (maximum = 100), and without motion artefact, involuntary saccades or overt misalignment or decentration. Two eyes (one from each group) were excluded due to poor DRI-OCT image quality; therefore, one additional subject was added to each group.

A 26×26 cube-grid centred in the optic disc was generated to automatically measure choroidal thickness. This grid included 676 cubes ($200 \times 200 \mu\text{m} \times \text{PPCT}$) around the optic nerve head, but the 88 central cubes corresponding to the optic nerve head area were not analyzed; so the DRI-OCT Triton measured the choroidal thickness for a total of 588 peripapillary cubes (Fig. 1). The delimitation of the optic nerve and the central cubes is automatically performed by the OCT software (Topcon Corporation, Tokyo, Japan). The Bruch membrane and choroidal-scleral interface

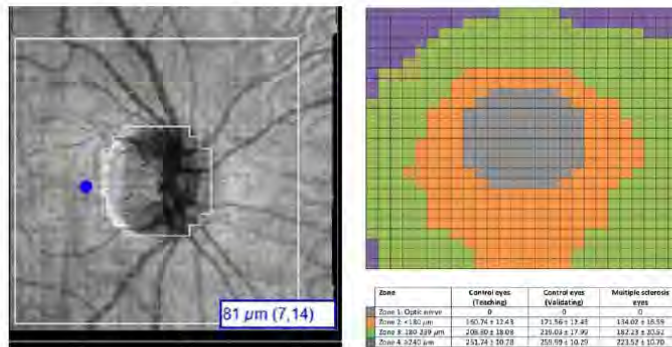


Fig. 1. On the left, image of the 26 × 26 cube-grid centred in the optic disc of a right eye obtained with Deep Range Imaging (DRI) optical coherence tomography (OCT) Triton (Topcon Corporation, Tokyo, Japan). This grid includes 676 cubes of 200 μm around the optic disc; the 88 central cubes corresponding to the optic disc area are not measured, and DRI-OCT Triton automatically displays choroidal thickness in each of the 588 peripapillary cubes. The selected cube marked in this example corresponds with the row number 7 and file number 14. On the right, schematic representation of the four zones defined in the 26 × 26 cube-grid using the peripapillary choroidal thickness measurements in the teaching control population: Zone 1 corresponds with optic nerve head and is represented in grey; zone 2 corresponds with peripapillary choroidal thickness means between 120 and 179 μm, and is represented in orange; zone 3 corresponds with mean peripapillary choroidal thickness between 180 and 239 μm, and is represented in green; and zone 4 corresponds with mean peripapillary choroidal thickness ≥ 240 μm, and is represented in purple. Mean choroidal thickness ± standard deviation of each zone was evaluated in the three groups (teaching control group, validating control group and multiple sclerosis group).

were delineated using the segmentation algorithm implemented by Topcon (Fig. 2).

We analyzed a total of 153 eyes: 102 healthy controls and 51 patients with MS. The healthy control group was divided into two populations: the teaching population (*n* = 51 controls, used to establish choroidal zones) and the validating population (*n* = 51 controls, used to compare measurements with MS patients). The populations did not differ from the MS group concerning age and sex. Only right eyes were selected for the statistical analysis, because some authors have reported differences in the choroidal thickness between right and left eyes (Spaide et al. 2008; Chen et al. 2012).

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using the Statistical Package for the Social Sciences (spss 20.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). The Kolmogorov–Smirnov test was used to assess sample distribution of the variables. For quantitative data following a parametric distribution, differences between groups were compared using the Student *t*-test. For qualitative data, a chi-square test was used for comparison. A

p-value of <0.05 was considered statistically significant.

Results

Visual function tests presented significantly worse results in MS group compared with control group: 0.14 ± 0.21 versus 0.02 ± 0.19 for best-corrected visual acuity (*p* = 0.004), and -1.98 ± 2.06 and -1.21 ± 1.55 dB for mean deviation of the visual field (*p* = 0.002). Mean EDSS score was 0.9 ± 0.01 in MS group.

Teaching population evaluation to establish peripapillary choroidal zones

The teaching population, comprising 51 right eyes from healthy subjects, was used to define 4 choroidal zones. The mean age of this population was 52.34 ± 12.33 years (range, 20–75 years). Of the 51 subjects, 14 (27%) were male. Mean spherical equivalent was 0.13 ± 1.49 D.

The study zones were previously established, regarding the thickness of the cubes in each acquisition point. Zone 1 corresponded to the optic nerve head area, thus it was not measured by the OCT and was not incorporated into the study. Zone 2 contained cubes with a choroidal thickness between 120 and 179 μm, zone 3 contained cubes with a

choroidal thickness between 180 and 239 μm, and zone 4 contained cubes with a thickness of 240 μm or more (Fig. 1B).

Mean choroidal thickness in zone 2 was 160.74 ± 12.43 μm and included 199 cubes of the choroidal grid; zone 3 had a mean thickness of 208.80 ± 18.08 μm and included 327 cubes; and mean thickness in zone 4 was 251.74 ± 10.78 μm and included 62 cubes (Fig. 1B).

Figure 3 shows the four zones in the teaching population of healthy controls that are roughly concentric to the optic nerve head; zone 2 (the thinnest of the study zones with a minimum mean PPCT of 127.08 μm) mainly located the nearest to the optic nerve head and inferior peripapillary choroid; zone 3 mainly located in the superior, temporal and nasal peripapillary choroid; and zone 4 (the thickest with a maximum mean PPCT of 281.52 μm), corresponding to the most distal cubes, mainly located in the superior and temporal peripapillary choroid.

Validating population and statistical comparison between healthy and ms eyes

Once the study zones were established, a statistical comparison between control and MS eyes was performed on a different population. A total of 51 right eyes from healthy subjects (independent from those subjects used in the teaching population) and 51 right eyes from patients with MS were included in the study. The mean age of the healthy control group was 51.93 ± 9.37 years (range: 21–78 years) and the mean age of the MS group was 51.95 ± 10.09 years (range: 20–74 years). Of the 51 subjects, 14 (27.45%) were men. Mean spherical equivalent was 0.15 ± 2.01 D in the control group and 0.11 ± 1.32 D in the MS group. Age, sex and spherical equivalent were not statistically different between groups (*p* < 0.05). The population characteristics of the study are summarized in Table 1.

Comparison of RNFL thickness between the healthy controls and MS eyes showed a statistically thinner RNFL in the MS group in average thickness and the 4 quadrants (*p* < 0.0001), except for the nasal quadrant (*p* = 0.079) (Table 2).

Comparison of the PPCT in the four zones between the healthy controls and MS eyes revealed a statistically thinner

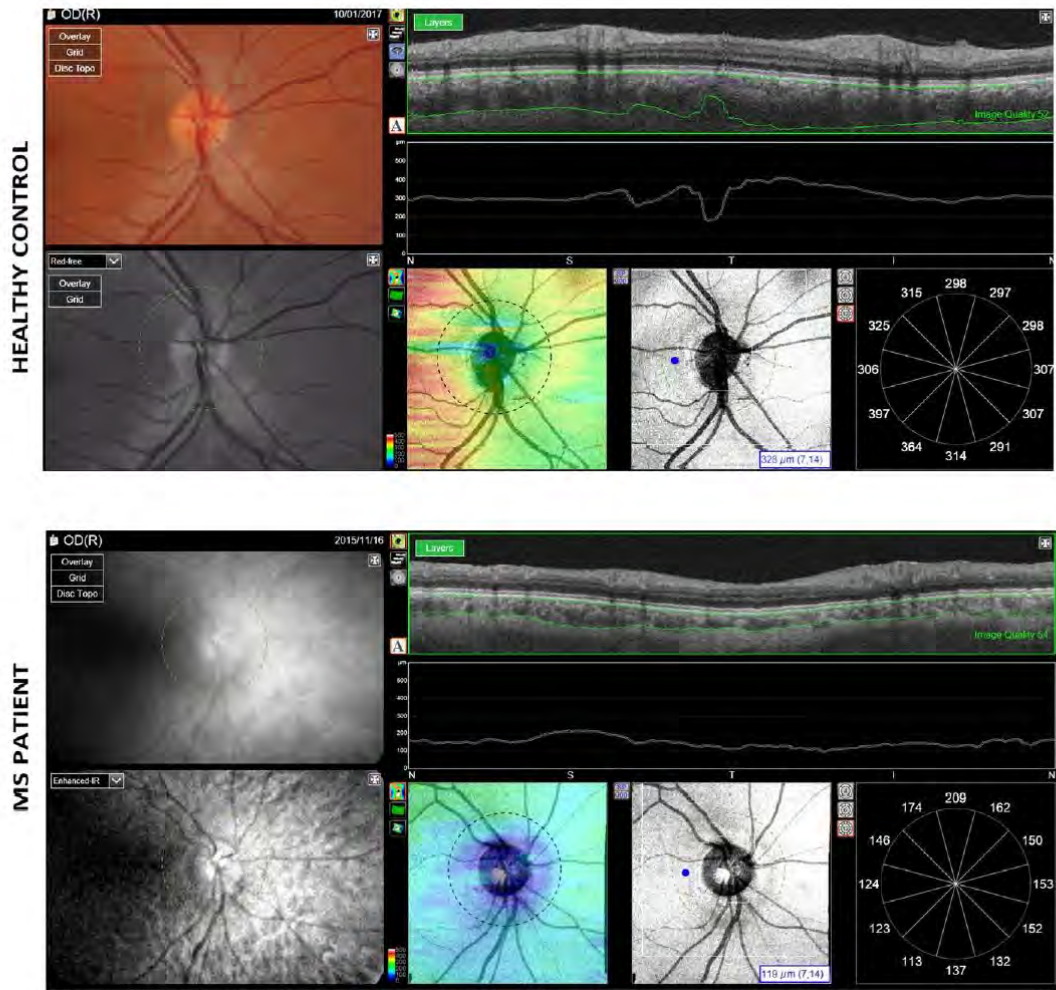


Fig. 2. Image of the choroidal analysis report obtained with Deep Range Imaging (DRI) optical coherence tomography (OCT) Triton (Topcon Corporation, Tokyo, Japan) from the right eye of a healthy patient and from the right eye of a patient with multiple sclerosis (MS). The report includes the automatic delimitation of the choroidal layer, the 26 × 26 cube-grid and the mean thickness in 12 sectors.

choroidal layer in the MS group in all zones ($p < 0.0001$; Table 1 and Fig. 1B).

Peripapillary choroidal thickness (PPCT) exhibited a similar pattern in controls and MS: thicker in the superior region, followed by the temporal, nasal and inferior regions, as shown in Fig. 3.

Discussion

The role of the choroid in MS has been unclear, and this is the first study to evaluate this ocular layer in patients with MS compared with healthy

controls using automatic measurements. Retinal nerve fibre layer (RNFL) thickness measurements by OCT are considered a useful indirect marker of the progression of brain atrophy in patients with MS (Frohman et al. 2009; Garcia-Martin et al. 2010, 2013). Dörr et al. (2011) demonstrated the utility of monitoring peripapillary RNFL thickness with OCT for predicting the likelihood of increased disability in patients with MS over time and for predicting a decrease in the quality of life. Typical ophthalmic

findings in patients with MS are optic nerve atrophy and peripapillary RNFL thinning (Gordon-Lipkin et al. 2007) but the impact of MS on other deeper ocular layers, such as the choroid, has not been established.

In our study, we found that patients with MS present a 22% reduction in choroidal thickness in zone 2, 17% reduction in zone 3, and 15% reduction in zone 4, compared with controls. This mean total decrease of 17.85% in the choroidal thickness of patients with MS may be secondary to a reduction

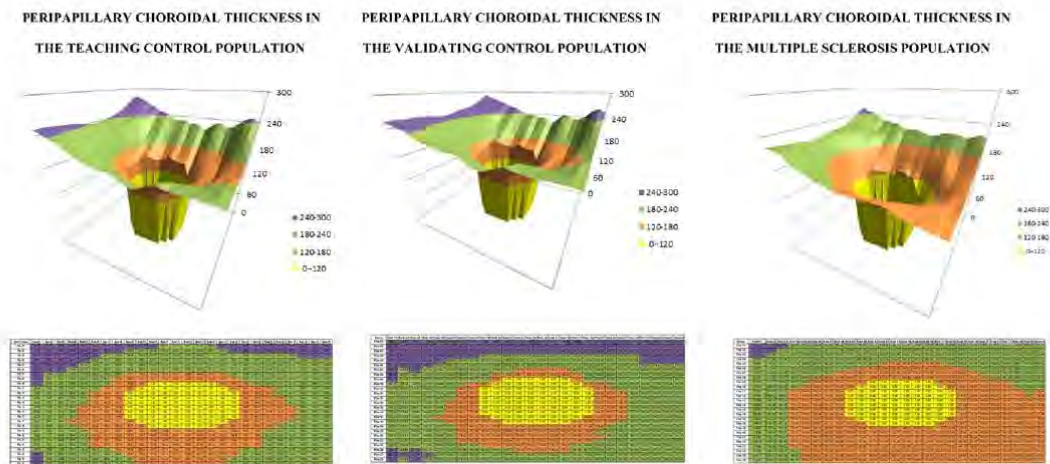


Fig. 3. Three-dimensional graphical representation of the peripapillary choroidal thickness measurements (up) and representation of peripapillary choroidal thickness means in the 26 × 26 cube-grid centred in the optic disc (down) of the three groups of the study: the teaching population, the validating population and the multiple sclerosis patients group. Zone 1 corresponds with the optic nerve head and is represented in yellow; zone 2 corresponds with peripapillary choroidal thickness means between 120 and 179 μm, and is represented in orange; zone 3 corresponds with peripapillary choroidal thickness means between 180 and 239 μm, and is represented in green; and zone 4 corresponds with peripapillary choroidal thickness means ≥240 μm, and is represented in purple.

Table 1. Descriptive, clinical data and choroidal thickness for 51 multiple sclerosis patients and 51 healthy control eyes (validating population).

| | MS patients | Controls | p* |
|---|----------------|----------------|-------------------|
| Number of eyes | 51 | 51 | — |
| Age (years) | 51.95 ± 10.09 | 51.93 ± 9.37 | 0.387 |
| Sex (male/female) | 14/37 | 14/37 | 0.934 |
| Spherical equivalent (D) | 0.11 ± 1.32 | 0.15 ± 2.01 | 0.546 |
| BCVA (LogMAR) | 0.14 ± 0.21 | 0.02 ± 0.19 | 0.004 |
| IOP (mmHg) | 15.34 ± 2.43 | 16.01 ± 2.19 | 0.769 |
| Disc area (mm ²) | 1.87 ± 0.38 | 1.91 ± 0.40 | 0.600 |
| MD in visual field (dB) | -1.98 ± 2.06 | -0.21 ± 1.55 | 0.002 |
| EDSS score | 2.02 ± 0.59 | — | — |
| EDSS visual score | 0.9 ± 0.01 | — | — |
| Disease duration (years) | 7.51 ± 2.98 | — | — |
| Choroidal thickness in Zone 2 (μm) | 134.02 ± 16.59 | 171.56 ± 12.43 | <0.0001 |
| Choroidal thickness in Zone 3 (μm) | 182.23 ± 20.52 | 219.03 ± 17.99 | <0.0001 |
| Choroidal thickness in Zone 4 (μm) | 223.52 ± 10.70 | 259.99 ± 10.29 | <0.0001 |
| Total choroidal thickness (μm) | 170.27 ± 32.11 | 207.28 ± 32.34 | <0.0001 |
| Number of peripapillary cubes with thickness 120-179 μm | 358 | 132 | <0.0001 |
| Number of peripapillary cubes with thickness 180-239 μm | 224 | 352 | <0.0001 |
| Number of peripapillary cubes with thickness ≥240 μm | 6 | 104 | <0.0001 |

Comparison of the choroidal thickness in the established four zones in control group and multiple sclerosis patients. Comparison of number of peripapillary cubes with thickness between 120-179 μm; between 180-239 μm and ≥240 μm. Zone 1 corresponds with optic nerve head and was not included in the analysis.

BCVA = best corrected visual acuity; EDSS = expanded disability status scale. MD = mean deviation, MS = multiple sclerosis.

* p: level of statistical significance in comparison between the two groups using the Student *T*-test (except for sex, chi-square test). Data are mean ± standard deviation. Bold text indicates statistically significant results (p < 0.05).

in blood flow subsequent to RNFL atrophy.

The choroid is a dynamic structure whose thickness varies in accordance with several factors: age (Margolis & Spaide 2009; Ehrlich et al. 2011), intraocular pressure (Arora et al. 2012), myopia, and axial length (Fujiwara et al. 2009; Chakraborty et al. 2011). Therefore, these variables were used as exclusion criteria for the present study. Zhang et al. (2015) suggested that there are several potential reasons for the conflicting OCT findings of PPCT, such as different measurement techniques (most of them manually-performed), and the dynamic and variable nature of the choroid. The development of new technologies such as DRI SS OCTs provide opportunities for better delimitation of the retinal layers and measurements of a huge number of points in peripapillary and further areas of the choroid. These tools allow us to visualize the actual morphology of the choroidal layer and the possible effects of different diseases (Peng et al. 2017).

Our intention was first to better understand the pattern of PPCT in normal eyes; establish different zones based on the distribution of choroidal thickness and to compare these areas with MS eyes. Some histologic studies

Table 2. Retinal nerve fibre layer thickness for 51 multiple sclerosis patients and 51 healthy control eyes (validating population), and comparison between control group and multiple sclerosis patients.

| | MS patients | Controls | p* |
|--|----------------|----------------|--------|
| RNFL average (μm) | 94.38 (14.51) | 104.07 (11.14) | <0.001 |
| RNFL superior quadrant (μm) | 112.28 (19.29) | 125.58 (18.88) | <0.001 |
| RNFL nasal quadrant (μm) | 78.73 (14.18) | 75.76 (10.66) | 0.079 |
| RNFL inferior quadrant (μm) | 119.88 (21.18) | 138.19 (19.10) | <0.001 |
| RNFL temporal quadrant (μm) | 66.58 (16.69) | 76.67 (12.01) | <0.001 |

MS = multiple sclerosis, RNFL = retinal nerve fibre layer.

* p: level of statistical significance in comparison between the two groups using the Student T-test. Data are mean \pm standard deviation. Bold text indicates statistically significant results ($p < 0.05$).

and other studies with SD-OCT demonstrated that the choroid tends to be thinner around the optic nerve head compared with the subfoveal choroid, which is consistent with our results (Ramrattan et al. 1994; Fujiwara et al. 2009; Margolis & Spaide 2009). We found that the peripapillary choroid is thicker superiorly and thinner near the optic nerve head, especially inferiorly, in both healthy subjects and patients with MS, consistent with Jiang et al. (2015). The choroidal pattern is the same in patients with MS, but with thinner measurements, as shown in Fig. 3.

We found that the peripapillary choroid was thinner in patients with MS in all zones, and the differences tended to decrease as we moved away from the optic nerve head. This finding is consistent with results of Esen et al. (2016); who evaluated 68 eyes of patients with MS and 60 eyes of healthy subjects were evaluated, using manual choroidal measurements at seven points with EDI OCT, and found a decrease in mean subfoveal choroidal thickness in MS group. Li et al. (2013) studied choroidal thickness using a 360° 3.4-mm scan circle centred on the optic nerve head in 31 glaucoma patients and 31 healthy controls and found no significant differences. Ehrlich et al. (2011) also found no association between RNFL thickness and PPCT in glaucoma patients and glaucoma suspects. The imaging devices used in these previous studies, however, do not automatically segment the choroid, making manual calculations subjective to the operator's error; and they only analyzed a circle scan, not a wide area of choroid such as in our study. The SS-OCT used by these authors only evaluates 12 central degrees around the optic nerve and reports discrete manual measurements of the choroidal thickness in this

small area, while the DRI-OCT used in our study provides a total of 588 automatic measurements of the choroidal thickness in a broader area around the optic nerve (a square area of 5.2 \times 5.2 mm, that corresponds to ~20 central degrees). On the other hand, our choroidal measurements were automatic and did not depend on the observer or on potential errors in manual delimitation, making them more objective, reproducible and accurate. Peng et al. (2017) used SD-OCT automated segmentation to distinguish between eyes of patients with one episode of optic neuritis and patients with neuromyelitis, but they did not measure choroid.

Our results revealed that optic atrophy in MS eyes may cause the consequent reduction in blood flow in the optic nerve and neuroretinal structures, so we can intuit the following physiopathological cascade: axonal damage in the RNFL caused by MS neurodegeneration – blood flow decrease in the neuroretina – choroidal thinning (because choroid is a highly vascularized tissue) – more axonal damage in the RNFL caused by ischaemia. Neuro-ophthalmology researchers have found RNFL thinning in patients with MS, even when they do not have disease progression (EDSS and MSQOL stable) or MS relapses (Garcia-Martin et al. 2011, 2013; Martinez-Lapiscina et al. 2016). The progressive RNFL thinning in these patients may be explained by this ischaemic mechanism of action that would damage the optic nerve, similar to normotensive glaucoma with ischaemic component (Svrčinová et al. 2017). Thus, the potential clinical applications of our findings would be to identify MS patients with higher ischaemic component, to improve the blood flow in the optic nerve and delay or stop the RNFL

and choroidal thinning (Bathija 2000). Clinical trials are currently in progress for the treatment of normotensive glaucoma, with methods that increase blood flow in the optic nerve, such as medications that inhibit spasm of the vessels to the eye or that raise systemic blood pressure, removing the plaque in the carotid artery if it exists, or using a catheter with a balloon inserted through the artery in plaques located in smaller or harder-to-reach areas, or using Rho-associated coiled coil-forming protein kinase (ROCK) inhibitors (Y-27632 and Y39983) to relax rabbit ciliary arteries (Watabe et al. 2011).

Several methods have been used to measure blood flow in the optic nerve head, and may be useful to evaluate the accuracy of this ischaemic theory in the optic nerve of patients with MS: colour Doppler ultrasound imaging, confocal tomographic angiography, Heidelberg retinal flowmeter -HRF- (a confocal scanning laser device, which utilises the Doppler effect) (Bathija 2000). More studies using these techniques may provide information about physiopathological procedures in MS disease.

Histologic findings of the choroid are contradictory in studies of Yin et al. (1997) and Spraul et al. (2002). Our findings suggest that choroidal measurements with SS-OCT provide useful information, especially in cases in which common functional and structural tests do not provide consistent results.

In addition, we have found statistical reduction of BCVA and MD of the visual field in patients with MS, suggesting that even MS eyes without optic neuritis antecedent, present sub-clinical visual path affection (Garcia-Martin et al. 2013). This visual path atrophy may be involved in the physiopathological mechanism of choroidal thinning in patients with MS (Satue et al. 2018).

The present study has several limitations. First, there were no data on axial length in this study; however, there was no significant difference in the refractive error among groups. The axial length and refractive error variables are related, but not interchangeable, as the axial length tends not to change after the second decade of life, except in some cases. The refractive error, however, may fluctuate or change due to different factors (Chen et al. 2012). The

results from Ikuno & Tano (2009) using OCT suggest that refractive error and axial length may have similar relationship in OCT measurements. Second, the choroid can be influenced by circadian changes (Tan et al. 2012) and in the present study, we did not perform OCT examinations at the same time of day in all participants, although all OCT scans were acquired in the evening (between 16:00 and 20:00 hr). Third, we only measured choroidal thickness in the right eyes of each participant, and inter-eye differences were not assessed. Fourth, the patients with MS were not divided according to severity. Studies of the potential association between PPCT and MS severity and effects on the quality of life, or between PPCT and peripapillary RNFL thickness might produce interesting results. Finally, the reliability of automated choroidal thickness measurements obtained with this new SS-OCT is not yet established and should be confirmed in future studies.

In conclusion, the present study demonstrated a significant association between choroidal thickness in different zones of the retinal tissue around the optic disc and the presence of MS. Although these associations are statistically significant in all zones around the optic nerve, the association was higher in the area nearest the optic disc. The peripapillary choroidal tissue exhibits a similar pattern in healthy and MS eyes (thickest superiorly and thinnest inferiorly), but in MS eyes the PPCT is thinner than that in healthy eyes in all zones. More studies of choroidal thickness changes based on new technologies would help to elucidate the potential role of this evaluation in clinical practice.

References

- Abegão Pinto L, Willekens K, Van Keer K et al. (2016): Ocular blood flow in glaucoma - the Leuven Eye Study. *Acta Ophthalmol* **94**: 592-598.
- Adhi M, Liu JJ, Qavi AH et al. (2014): Choroidal analysis in healthy eyes using swept-source optical coherence tomography compared to spectral domain optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol* **157**: 1272-1281.
- Arora KS, Jefferys JL, Maul EA & Quigley HA (2012): The choroid is thicker in angle closure than in open angle and control eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **53**: 7813-7818.
- Banitt M (2013): The choroid in glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol* **24**: 125-129.
- Bathija R (2000): Optic nerve blood flow in glaucoma. *Chi Exp Optom* **83**: 180-184.
- Chakraborty R, Read SA & Collins MJ (2011): Diurnal variations in axial length, choroidal thickness, intraocular pressure, and ocular biometrics. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **52**: 5121-5129.
- Chen FK, Yeoh J, Rahaman W et al. (2012): Topographic variation and interocular symmetry of macular choroidal thickness using enhanced depth imaging optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **53**: 976-985.
- Dörr J, Wernecke KD, Böck M et al. (2011): Association of retinal and macular damage with brain atrophy in multiple sclerosis. *PLoS ONE* **6**: e18132.
- Edwards ME, Wang SS & Good TA (2001): Role of viscoelastic properties of differentiated SH-SY5Y human neuroblastoma cells in cyclic shear stress injury. *Biotechnol Prog* **17**: 760-767.
- Ehrlich JR, Peterson J, Parltitsis G et al. (2011): Peripapillary choroidal thickness in glaucoma measured with optical coherence tomography. *Exp Eye Res* **92**: 189-194.
- Esen E, Sizmaz S, Demir T et al. (2016): Evaluation of choroidal vascular changes in patients with multiple sclerosis using enhanced depth imaging optical coherence tomography. *Ophthalmologica* **235**: 65-71.
- Fisher JB, Jacobs DA, Markowitz CE et al. (2006): Relation of visual function to retinal nerve fiber layer thickness in multiple sclerosis. *Ophthalmology* **113**: 324-332.
- Frolman EM, Dwyer MG, Frolman T et al. (2009): Relationship of optic nerve and brain conventional and non-conventional MRI measures and retinal nerve fiber layer thickness, as assessed by OCT and GDx: a pilot study. *J Neurol Sci* **282**: 96-105.
- Fujiwara T, Imamura Y, Margolis R et al. (2009): Enhanced depth imaging optical coherence tomography of the choroid in highly myopic eyes. *Am J Ophthalmol* **148**: 445-450.
- García-Martín E, Pueyo V, Martín J et al. (2010): Progressive changes in the retinal nerve fiber layer in patients with multiple sclerosis. *Eur J Ophthalmol* **20**: 167-173.
- García-Martín E, Pueyo V, Ara JR et al. (2011): Effect of optic neuritis on progressive axonal damage in multiple sclerosis patients. *Mult Scler* **17**: 830-837.
- García-Martín E, Rodríguez-Mena D, Herrero R et al. (2013): Neuro-ophthalmologic evaluation, quality of life, and functional disability in patients with MS. *Neurology* **81**: 76-83.
- Gordon-Lipkin E, Chodkowski B, Reich DS et al. (2007): Retinal nerve fiber layer is associated with brain atrophy in multiple sclerosis. *Neurology* **69**: 1603-1609.
- Hirooka K, Tenkumo K, Fujiwara A et al. (2012): Evaluation of peripapillary choroidal thickness in patients with normal-tension glaucoma. *BMC Ophthalmol* **12**: 29.
- Ikuno Y & Tano Y (2009): Retinal and choroidal biometry in highly myopic eyes with spectral-domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **50**: 3876-3880.
- Jiang R, Wang YX, Wei WB et al. (2015): Peripapillary choroidal thickness in adult Chinese: the Beijing Eye Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **56**: 4045-4052.
- Li L, Bian A, Zhou Q & Mao J (2013): Peripapillary choroidal thickness in both eyes of glaucoma patients with unilateral visual field loss. *Am J Ophthalmol* **156**: 1277-1284.
- Margolis R & Spaide RF (2009): A pilot study of enhanced depth imaging optical coherence tomography of the choroid in normal eyes. *Am J Ophthalmol* **147**: 811-815.
- Martínez-Lapiscina EH, Arnou S, Wilson JA et al. (2016): Retinal thickness measured with optical coherence tomography and risk of disability worsening in multiple sclerosis: a cohort study. *Lancet Neurol* **15**: 574-584.
- Maul EA, Friedman DS, Chang DS et al. (2011): Choroidal thickness measured by spectral domain optical coherence tomography: factors affecting thickness in glaucoma patients. *Ophthalmology* **118**: 1517-1519.
- Park HY, Shin HY & Park CK (2014): Imaging the posterior segment of the eye using swept-source optical coherence tomography in myopic glaucoma eyes: comparison with enhanced-depth imaging. *Am J Ophthalmol* **157**: 550-557.
- Pedersen JA & Swartz MA (2005): Mechanobiology in the third dimension. *Ann Biomed Eng* **33**: 1469-1490.
- Peng C, Wang W, Xu Q et al. (2017): Thickness of macular inner retinal layers and peripapillary retinal nerve fibre layer in neuromyelitis optica spectrum optic neuritis and isolated optic neuritis with one episode. *Acta Ophthalmol* **95**: 583-590.
- Polman CH, Reingold SC, Banwell B et al. (2011): Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol* **69**: 292-302.
- Ramrattan RS, van der Schaaf TL, Mooy CM et al. (1994): Morphometric analysis of Bruch's membrane, the choriocapillaris, and the choroid in aging. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **35**: 2857-2864.
- Roberts KF, Artes PH, O'Leary N et al. (2012): Peripapillary choroidal thickness in healthy controls and patients with focal, diffuse, and sclerotic glaucomatous optic disc damage. *Arch Ophthalmol* **130**: 980-986.
- Satue M, Obis J, Alarcia R et al. (2018): Retinal and choroidal changes in patients with Parkinson's disease detected by swept-source optical coherence tomography. *Curr Eye Res* **43**: 109-115.
- Spaide RF, Koizumi H & Pozzoni MC (2008): Enhanced depth imaging spectral-domain optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol* **146**: 496-500.
- Spraul CW, Lang GE, Lang GK & Grossniklaus HE (2002): Morphometric changes of the choriocapillaris and the choroidal vasculature in eyes with advanced glaucomatous changes. *Vision Res* **42**: 923-932.
- Svrčinová T, Mareš J, Chrapek O et al. (2017): Changes in oxygen saturation and the retinal nerve fibre layer in patients with optic neuritis - a pilot study. *Acta Ophthalmol* <https://doi.org/10.1111/aos.13571>.
- Tan CS, Ouyang Y, Ruiz H & Sadda SR (2012): Diurnal variation of choroidal thickness in normal, healthy subjects measured by spectral domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **53**: 261-266.
- Usui S, Ikuno Y, Miki A et al. (2012): Evaluation of the choroidal thickness using high-penetration optical coherence tomography with long wavelength in highly myopic normal-tension glaucoma. *Am J Ophthalmol* **153**: 10-16.
- Watabe H, Abe S & Yoshitomi T (2011): Effects of Rho-associated protein kinase inhibitors Y-27632 and Y-39983 on isolated rabbit ciliary arteries. *Jpn J Ophthalmol* **55**: 411-417.
- Yin ZQ, Vaegani, Millar TJ et al. (1997): Widespread choroidal insufficiency in primary open-angle glaucoma. *J Glaucoma* **6**: 23-32.
- Zeis T, Graumann U, Reynolds R & Schaefer-Wiemers N (2008): Normal-appearing white matter in multiple sclerosis is in a subtle balance between inflammation and neuroprotection. *Brain* **131**: 288-303.
- Zhang X, Wang W, Aung T et al. (2015): Choroidal physiology and primary angle closure disease. *Surv Ophthalmol* **60**: 547-556.

Received on October 1st, 2017,

Accepted on April 1st, 2018.

Correspondence:

Elena García-Martín, PhD
Ophthalmology Department
Miguel Servet University Hospital
C/ Padre Arrupe, Consultas Externas de
Oftalmología 50009
Zaragoza
Spain
Tel: + 34.976.76.55.58
Fax: 0034-976566234
Email: egmvivax@yahoo.com

----- Mensaje reenviado -----

De: Journal of Neuro-Ophthalmology <em@editorialmanager.com>

Para: ELENA GARCIA-MARTIN <egmvivax@yahoo.com>

Enviado: lunes, 2 de marzo de 2020 16:10:23 CET

Asunto: JNO Decision

CC: laura.balcer@nyulangone.org

Mar 02, 2020

RE: JNO-D-19-00346R1, entitled "Progressive functional and neuro-retinal affection in multiple sclerosis patients treated with Fingolimod"

Dear Dr ELENA GARCIA-MARTIN,

We are pleased to accept your manuscript for publication in Journal of Neuro-Ophthalmology. All manuscript materials will be forwarded immediately to the production staff for placement in an upcoming issue.

Thank you for submitting your interesting and important work to the journal.

Sincerely,

Laura J. Balcer , MD, MSCE
Editor-in-Chief
Journal of Neuro-Ophthalmology
<https://www.editorialmanager.com/jno/>

Title: Progressive functional and neuro-retinal affectation in multiple sclerosis patients treated with Fingolimod

Authors: Elena Garcia-Martin PhD*^{1,2}; Erika Ruiz de Gopegui PhD^{1,2}; Maria Satue^{1,2}; Laura Gil-Arribas PhD^{1,2}; Laura Jarauta MD^{2,3}; Jose R. Ara PhD^{2,3}; Jesus Martin PhD^{2,3}; Francisco J. Fernandez PhD^{1,2}; Elisa Vilades MD^{1,2}; Maria J. Rodrigo PhD^{1,2}

AFFILIATIONS:

1 Ophthalmology Department, Miguel Servet University Hospital, Zaragoza (Spain)

2 Aragon Institute for Health Research (IIS Aragon). University of Zaragoza (Spain)

3 Neurology Department, Miguel Servet University Hospital, Zaragoza (Spain)

Corresponding Author:

Elena Garcia-Martin

C/ Padre Arrupe, Consultas Externas de Oftalmología,50009- Zaragoza (Spain)

Email: egmvivax@yahoo.com

Telephone number: 0034.976.76.55.58

Running title: Progressive visual affectation with Fingolimod

Number of tables: 4 Number of figures: 0

The authors have no proprietary interest.

Financial Support: This work was supported by PII17/01726 (Instituto de Salud Carlos III) and by MAT2017-83858-C2-2 MINECO/AEI/FEDER, UE

No additional data available

No conflicting relationship exists for any author. Conflict of interest disclosures: None

Search terms: Multiple sclerosis, Optical coherence tomography, Progression, Retinal nerve fiber layer, Neurodegenerative diseases.

ABSTRACT

Background: To evaluate the effect of Fingolimod in visual function and neuro-retinal structures in patients with Multiple Sclerosis (MS) during one year.

Methods: This longitudinal and observational cohorts study included 78 eyes of 78 MS patients treated with Fingolimod. All subjects were evaluated every 3 months during 12 months, and compared with 32 patients treated with Interferon beta. All patients were examined for high and low contrast (2.5 and 1.25%) visual acuity, contrast sensitivity vision (CSV) (using Pelli Robson and CSV 1000E tests), color vision (Farnsworth and L'Anthony D15 desaturated tests), and retinal structural measurements (RNFL and GCL thickness) using optical coherence tomography (OCT) technology.

Results: MS patients treated with Fingolimod during one year presented significant reduction in 100% and 1.25% contrast visual acuity ($p=0.009$ and 0.008 respectively), an alteration of contrast sensitivity and color perception (Pelli-Robson, CSV-1000, Farnsworth and L'Anthony; $p<0.001$), ganglion cell layer (GCL) thickness reduction ($p=0.007$), and average macular central thickness increase of 2.6 microns ($p=0.006$). MS patients treated with Interferon beta did not present significant changes in visual function tests neither in macular thickness measurements, but they showed a significant reduction of GCL and RNFL thicknesses. The reduction in neuro-retinal structures by OCT was significantly higher in the Interferon beta group, but Fingolimod patients presented a significant increase in macular central thickness and a reduction in low contrast vision ($p<0.001$).

Conclusions: MS patients with Fingolimod treatment and no clinically observable macular edema present a significant change in visual function parameters and average macular central thickness increase compared with interferon beta. These findings are probably due to subclinical macular edema produced by Fingolimod which might be

considered as an indicator that pharmacovigilance of S1p inhibitors should be improved.

1 **INTRODUCTION**

2 Visual impairment is a key manifestation of multiple sclerosis (MS). Acute optic
3 neuritis is a common, often showing manifestation, however visual deficits and
4 structural loss of retinal axonal and neuronal integrity can occur even without a history
5 of optic neuritis. Partially in reaction to the improvement of sensitive visual function
6 evaluations, structural markers consisting of optical coherence tomography and
7 magnetic resonance imaging, and quality of life measurements which give medical
8 meaning to the structure-function correlations which are unique in the afferent visual
9 pathway [1] interest in vision in MS is growing. Abnormal eye movements are also
10 common in MS.

11 Low-contrast visual acuity has emerged as the main choice to measure visual
12 impairment in MS. It is related with vision-specific quality of life measurements,
13 providing information on medical relevance and with the structural integrity of the
14 retina measured by optical coherence tomography (OCT). Also, these factors have
15 resulted in a fast accumulation of information about visual impairment in optic neuritis
16 and MS [2].

17 Fingolimod (FTY720, [Gilenya[®], Novartis Pharmaceuticals, Basel, Switzerland]) is an
18 immunotherapeutic drug targeting the sphingosine-1-phosphate receptor. It was
19 regarded as the first oral disease-modifying therapy (DMT) for relapsing varieties of
20 MS by the US FDA in 2010, and eventually by the European Medicines Agency in
21 2011[3-4]. It belongs to a class of molecules addressing the sphingolipid-regulated
22 signaling system. The medical outcomes of this agent, confirmed in several massive,
23 randomized, controlled scientific trials of patients with relapsing–remitting MS
24 (RRMS), consisted of an early and sustained impact on brain atrophy [5-7].

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

25 Potential side effects such as bradycardia, infections, atrioventricular block, skin cancer,
26 teratogenicity and progressive multifocal leukoencephalopathy might appear during
27 therapy with Fingolimod; reactivation of MS activity may happen after fingolimod
28 cessation; therefore, patients should be closely monitored for disease activity for several
29 months after abandoning Fingolimod [8,9]. Concerning the eye and although its
30 incidence is low [10-12] Fingolimod-associated macular edema is recognized as an
31 adverse drug reaction during Fingolimod therapy for MS. Generally, Fingolimod is
32 simply interrupted when this sort of edema appears, and in most cases it gets better
33 without the need of other drugs [7].

34 The effects of MS on the central nervous system are generally difficult to examine
35 directly, but the retinal nerve fiber layer (RNFL) and the ganglion cell layer (GCL) can
36 be measured to directly assess neurons and axonal damage by using OCT [13-19].
37 However, only a few authors have examined the effects of MS treatments on visual
38 function or RNFL/GCL degeneration, including Fingolimod, with the particularity of
39 the associated macular edema.

40

41 **METHODS**

42 **This is a cohort observational longitudinal study.**

43 **Cohort description:** We performed a prospective longitudinal study with a 12-month
44 follow-up. Seventy eight eyes from 78 relapsing-remitting MS patients (RRMS) with
45 Fingolimod treatment were evaluated at baseline, 3, 6 and 12 months from the
46 beginning of the treatment; and 34 RRMS eyes from 34 patients were studied at
47 baseline treated with Interferon and 12 months. Recruitment began in 2018 and
48 evaluations were made between 2018 and 2019. We included only one eye from each

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72

patient randomly to avoid confusion bias for interrelation between two eyes from the same patient. In cases of patients with past history of ON, only the non-ON eye was selected for the study to avoid bias due to atrophy secondary to the inflammatory episode.

Patient and Public Involvement: All processes adhered to the tenets of the Declaration of Helsinki, and the local ethics committee accepted the experimental protocol (Code: 03/2012). All participants supplied informed consent to participate in the study and they were free to stop participating in the study at any time they desired. In the informed consent, the investigator explained research question and outcome measures to the patients remitted by neurologist with MS diagnosis. Results of the study was communicated to the patients in each visit and wrote in the clinical history of the patient to be read later by the neurologist.

All patients started treatment with Fingolimod or Interferon in less than two weeks' time from the baseline ophthalmic examination.

Study protocol: All subjects underwent a complete ophthalmological examination, including anterior segment, pupillary reflex and fundoscopic evaluation in order to rule out any concomitant eye condition. Only patients with relapsing-remitting MS were included in our study. Patients with visual acuity < 0.1 (6/60, using the Snellen chart), intraocular pressure > 20 mmHg and/or active MS outbreaks (of any neurologic deficit) in the 6 months preceding enrollment in the study were excluded from the study. Other exclusion criteria included the presence of other retinal pathologies, such as the presence of clinically observable macular edema, retinal atrophy, or other retinal alterations not related to MS that could interfere with OCT measurements. The presence of other neurological pathologies was also ruled out, as well as systemic diseases that

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

73 could interfere with retinal measurements (such as diabetes mellitus or uncontrolled
74 arterial hypertension)

75 Visual function became assessed via measuring best-corrected visual acuity (BCVA)
76 using an ETDRS chart with three different contrasts (100%, 2.50%, and 1.25%),
77 contrast sensitivity vision (CSV using CSV 1000E test and Pelli-Robson chart), and the
78 color vision by the Farnsworth desaturated D15 and L'Anthony desaturated D15 tests.
79 All visual function measurements were obtained under monocular and binocular vision,
80 with best correction, and controlled light conditions (photopic, high mesopic and low
81 mesopic). In addition, the Expanded Disability Status Scale (EDSS) score became
82 evaluated.

83 Contrast sensitivity vision (CSV) is a preferable means to test visual function than
84 visual acuity. CSV 1000E and the Pelli-Robson are the two tests used in its
85 measurement. The "contrast threshold" is the lowest contrast necessary for a set of
86 bands and letters to be noticed by the eye. The CSV-1000E device is used globally for
87 standardized CSV and glare examination. At a distance of 2.5 meters from the chart
88 under monocular vision at 4 different spatial frequencies (3, 6, 12, and 18 cycles per
89 degree [cpd]) were all patients evaluated, and a CSV curve is generated. The Pelli-
90 Robson chart comprises horizontal traces of capital letters over a white background,
91 organized in triplets, with two triplets per line, having each triplet the same contrast: the
92 contrast decreases from one triplet to the next.

93 Color vision was evaluated through the Color Vision Recorder program, a piece of
94 software which examines chromatic discernment by arrangement of colors. It comprises
95 the conventional test of Farnsworth 100-hue (FM-100), Farnsworth - Munsell D15, and
96 L'Anthony D15 [20-21]. All patients in the study underwent an evaluation using the
97 Farnsworth - Munsell D15 and L'Anthony D15 protocols (commonly used to

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

98 differentiate between patients with severe loss of color vision and those with milder or
99 normal color vision and or defects) and distinguish output parameters together with the
100 Confusion Index(C-index), the Color Confusion Index (CCI), the Confusion angle
101 (Conf Ang), and the Scatter Index (S-index) were recorded.

102 Structural examination of the retina was carried out using Spectral domain (SD) optical
103 coherence tomography (OCT) with the Cirrus High definition (HD) OCT (Carl Zeiss
104 Meditec Inc, Dublin, CA), and ganglion cell protocol (for individual analysis of this
105 layer). The OCT device was the identical experienced operator. An internal fixation
106 objective was used as it presents the highest reproducibility. Image quality assessment
107 depended on the signal strength measurement that connects the signal-to-noise ratio
108 with the uniformity of the signal within a scan (scale 1–10, being 1 poor image quality
109 and 10 excellent). Images included for testing had a quality score higher than 7. Scan
110 acquisition followed the OSCAR-IB criteria and scans were rejected following
111 published recommendations on decentration, poor scan quality, boundary line errors or
112 algorithm failures, and none of the retinal diseases included as to be considered in these
113 criteria was present.

114 The Cirrus OCT macular cube 512 x 128 protocol offers a macular volume measure and
115 retinal thickness values for 9 regions which correspond to the ETDRS. These areas
116 include a central 1-mm circle interpreting the fovea, an inner ring measuring 3 mm and
117 an outer ring measuring 6mm in diameter. These rings are separated into four quadrants
118 each: superior, nasal, inferior, and temporal. The Cirrus OCT optic disc protocol
119 generates 200 x 200 cube images with 200 linear scans allowing examination of the
120 RNFL of a 6-mm³ area around the optic nerve. For every scan series of RNFL
121 evaluation, the mean, superior, inferior, temporal, and nasal thickness were measured.
122 Cirrus segmentation analysis for retinal layers also provides measurements of the GCL

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

123 thickness, evaluating six areas of the macular cube (superior, superonasal, inferonasal,
124 inferior, inferotemporal, and superotemporal sectors) and measurements of the mean
125 and minimum GCL and the inner plexiform layer (GCL + IPL) value of a set of 360
126 spokes, in which each average outcome stand for the mean number of pixels along that
127 spoke which locates within the measurement annulus. The minimum is chosen because
128 the thinnest portion of the GCL + IPL within the perifoveal region is regarded to imply
129 damage to the ganglion cells.

130 **Statistical analysis:** All data analyses were performed using SPSS software version
131 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). The Kolmogorov-Smirnov test used to assess sample
132 distribution excluded standard values, so the Wilcoxon nonparametric test for paired
133 samples was used in the quantitative data analysis. For the qualitative data, Chi Square
134 test was performed. The Bonferroni correction for multiple comparisons was used in all
135 analyses, and values of $p \leq 0.05$ were considered to indicate statistical significance
136 The linear correlation between structural and functional parameters was established
137 through Spearman's correlation coefficient.

138 All-important data and results are provided in the article. Data not provided in the
139 article because of space limitations will be shared at the request of other investigators
140 for purposes of replicating procedures and results. Anonymized data will be shared by
141 request from any qualified investigator.

142

143 **RESULTS**

144 **Fingolimod group**

145 The Fingolimod group was composed by 78 RRMS patients, 14 men (17.95%) and 64
146 women (82.95%).

1 147 In the group treated with Fingolimod, 30.77% patients started Fingolimod as their first
2
3 148 treatment; on the other hand, 42.72% had used Interferon previously, 12.82% Glatimer
4
5 149 acetate, and 7.69% Natalizumab. The mean EDSS scale at the beginning of the study
6
7 150 was 2.70 ± 2.01 and 2.71 ± 1.88 in 1-year visit ($p > 0.05$).
8
9 151 A relative afferent pupillary defect (RAPD) was found in 4 patients (5.12%). A total of
10
11 152 20 patients had a history of optic neuritis in at least one eye (25.64%), with a minimum
12
13 153 distance of six months from the active episode and the inclusion in the study.
14
15
16 154 The functional analysis in Fingolimod group demonstrated that Farnsworth showed
17
18 155 alterations at the baseline visit in 12 patients (15.39%) and normal results in 66
19
20 156 (84.61%). L'Anthony D15 was normal in 30 cases (38.47%), and altered in 48 patients
21
22 157 (61.53%). Visual function parameters at baseline and at 3, 6 and 12 months are shown
23
24 158 in Table 1. Significant reduction in monocular and binocular VA measured at low
25
26 159 contrast conditions (1.25%) were found after 12 months of non-stop treatment with
27
28 160 Fingolimod ($p = 0.009$ and 0.008 respectively). Contrast sensitivity measured with Pelli-
29
30 161 Robson, monocular and binocularly, showed a significant slow and progressive
31
32 162 deterioration at 6 and 12-months examination ($p < 0.001$). Contrast sensitivity measured
33
34 163 with CSV 1000 did not find any significant differences in any of the four frequencies
35
36 164 analyzed along the 12 months of follow-up. Color vision examination (L'Anthony test
37
38 165 indexes and Farnsworth indexes) did not find statistically differences in the progressive
39
40 166 3, 6 or 12-months visits.
41
42
43 167 The retinal structure analysis in Fingolimod group proved significant differences
44
45 168 between the baseline and the 12 months examination are shown in Table 2. We detected
46
47 169 a significant increase in central macular thickness ($p = 0.006$), however, a significant
48
49 170 reduction was found in the macular temporal area of the outer ring ($p = 0.002$). Average
50
51 171 GCL value was significantly reduced when comparing the baseline and the 12-month
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

172 visits ($p=0.007$), and also a significant reduction was found when analyzing the GCL
173 division in the inferior sector ($p=0.008$) nasal inferior ($p= 0.009$), nasal superior
174 ($p<0.001$) and temporal inferior ($p=0.002$) (Fig. 1). RNFL comparisons showed
175 differences when analyzing the RNFL hour sectors 8, 11 and 12, with a significant
176 increment in thickness ($p= 0.001$, $p=0.002$ and $p=0.001$ respectively).
177 Correlation analysis was performed to determine the association between the changes in
178 visual function parameters and structural variables during the follow-up. The correlation
179 was of mild-moderate strength but did not prove significant when using the Bonferroni
180 correction for multiple comparisons.

181 **Interferon group**

182 The interferon group was composed by 34 RRMS patients, 6 men (17.65%) and 28
183 women (82.35%), and a relative afferent pupillary defect (RAPD) was found in 1
184 patient (2.94%). A total of 8 patients had history of optic neuritis in at least one eye
185 (25.00%), with a minimum distance of six months from the active episode and the
186 inclusion in the study. The mean EDSS scale was 2.67 ± 1.78 at the beginning of the
187 study and 2.69 ± 1.85 at 1 year.

188 The functional analysis at the baseline visit of the Interferon group demonstrated
189 alterations in 7 patients (20.58%) in Farnsworth D15 test, and 18 patients (52.94%) in
190 L'Anthony D15 test. Visual function parameters at baseline and at 12 months are shown
191 in Table 3. Reductions in monocular and binocular VA measured at low contrast
192 conditions (1.25%) were found after 12 months of non-stop treatment with Interferon,
193 but the changes were not significant using Bonferroni correction ($p=0.025$ and 0.031
194 respectively).

195 The neuro-retinal analysis by OCT in the Interferon group showed significant
196 differences between the baseline and the 12 months examination (Table 4) in all GCL

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

197 thicknesses ($p \leq 0.008$), in RNFL average thickness and in superior, inferior and temporal
198 RNFL sectors thicknesses ($p \leq 0.007$). Macular thickness did not show significant
199 changes.
200 Correlation analysis between the changes in functional and structural variables during
201 the follow-up showed did not show significant associations.

202 **Comparison of changes between Fingolimod and Interferon groups**

203 Before this analysis, no significant differences in EDSS and OCT parameters were
204 found between Fingolimod and Interferon group at the baseline visit.

205 Comparison of the change in variables during the one-year follow-up in both groups of
206 MS patients is represented in tables 3 and 4.

207 The Fingolimod group showed higher low contrast VA change (with monocular and
208 binocular vision) in the one-year follow-up compared to Interferon group ($p < 0.001$)
209 (table 3).

210 The reduction in GCL average thickness structures by OCT was significantly higher in
211 the Interferon group ($p < 0.006$) and in RNFL average, superior, inferior and temporal
212 RNFL sectors thickness ($p < 0.001$). Fingolimod patients presented a significant increase
213 in macular central thickness (in foveal, inferior inner and inferior outers sectors) and
214 reduction in low contrast vision compared with Interferon patients ($p < 0.007$) (table 4).

215

216

217 **DISCUSSION**

218 Macular edema is a prominent adverse event reported in diverse studies about
219 Fingolimod safety [22-24]. However, in the present study, we have analyzed and

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

220 quantified changes in visual function objective and measurable parameters and
221 identified potential changes in retinal morphological structure among RRMS patients
222 starting treatment with Fingolimod, with a 12-month follow-up, being this, to the best of
223 our knowledge, the first study with these characteristics.

224 The overall goal of this study is to describe and characterize the changes due
225 exclusively to this pharmacological treatment in particular, not the changes observed in
226 other MS patients and caused by the neurodegenerative process itself, and the aim was
227 to establish the differences between macular edema and other alterations clearly.

228 Visual Acuity is most of the times the only objective parameter about visual function or
229 quality which is measured in routine ophthalmologic examinations, but Contrast
230 Sensitivity evaluation is a much more valuable test, able to identify visual impairment
231 in early stages, especially when measured in high spatial frequencies. We evaluated the
232 visual function by quantifying not only VA, which is most of the times the only
233 objective parameter about visual function or quality measured in routine
234 ophthalmologic examinations, but also the VA at three different contrast levels,
235 providing much more information.

236 Sensitive visual outcome measurements are relevant when examining the effect of
237 treatment since visual dysfunction is one of the most common manifestations of MS. In
238 addition, MS patients often show subclinical changes in visual function without
239 apparent visual symptoms. Such impairments can remain undetected, because of the
240 lack of sensitivity of some visual function assessments, particularly those based solely
241 on high- contrast acuity. The tests which measure low-contrast vision (with shades of
242 grey on a white background) are more sensitive medical measurements of visual
243 disorder in MS and can detect abnormalities even in MS patients with otherwise evident

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

244 good visual acuity. One of such tests used in our evaluation of patients was the Pelli-
245 Robson chart, which measure contrast sensitivity at a spatial frequency of 1 cpd, and it
246 was used in the Optic Neuritis Treatment Trial [25]. Thus it became a practical and
247 sensitive indicator of visual disorder in optic neuritis.

248 In our study, we have found a slight alteration in VA when measured at low contrast
249 conditions, but it is much more remarkable the significant finding of a progressive
250 dysfunction in the Contrast Sensitivity perception when measured with Pelli-Robson
251 along 12 months of follow-up.

252 We also observed structural macular changes during the follow up of patients treated
253 with Fingolimod. Macular thickness decreased slightly at 6 months and was followed by
254 a significant increase of central macular thickness at 12 months, compared to base line
255 measurements. This significant increase may be attributed to the high probability of
256 Fingolimod inducing macular edema, which is widely accepted as an undesirable side
257 effect from the medication and described by many authors [22,25-27]. This subclinical
258 macular edema might only appear after 6 months of treatment, following structural
259 changes caused by the natural course of the disease.

260 Garcia-Martin et al concluded that treatment might be a protective factor against RNFL
261 loss associated with disease progression [28] and such protective effect might also be
262 present in the case of patients treated with Fingolimod. However, it seems clear that
263 there is a need of further longitudinal studies using Fingolimod to confirm the potential
264 damage induced directly in the visual pathway, apart from the macular edema already
265 accepted as a secondary effect.

266 In the last years, the ganglion cell layer (GCL) measurement has become a more
267 specific parameter for neurological damage in neurodegenerative disorders than the

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

268 isolated RNFL measurements, and so has been described in the medical literature by
269 Chiara and other authors [29-31]. In our study, we found an alteration in all the GCL
270 variables analyzed, when using the segmentation software for the 12 months follow-up.
271 The RNFL layer seemed to be increased after 12 months. This paradoxical fact may be
272 explained by the macular edema associated to Fingolimod, because the RNFL
273 measurements include the macula in the Cirrus OCT. However, when analyzing the
274 GCL alone we observe this apparent increase in the RNFL does not correspond to the
275 real damage found in the GCL. We believe that changes observed in the GCL at 6
276 months (decrease) correspond to the natural course of the disease affecting the retinal
277 neurons. As observed in macular total thickness, the GCL thickness also increased at 12
278 months, but thickness at one year was significantly lower than base line measurements.
279 When comparing groups of treatment, patients using Fingolimod seemed to preserve
280 better GCL thickness than interferon beta patients. However, this result should be
281 interpreted with caution, since the increase of the GCL found at 12 months in the
282 Fingolimod group might be caused by macular edema affecting segmentation
283 measurements, not real loss of ganglion cells.
284 One of the limitations of this study is that Interferon beta patients were visited only at
285 baseline and 12 months visit, but not after 3 and 6 months. The reason is that our
286 interest was focused on evaluating early macular effect in patients who started with
287 Fingolimod based on previous bibliography, but Interferon beta treatments have been
288 used for many years, their effect in OCT thicknesses is well known, and no evidence of
289 macular affectation has been found [22-24]. Another potential limitation of the study is
290 that the previous treatment that the patients had received (before being included in the
291 study) could have affected some of the parameters studied to some extent. We have
292 tested that no differences existed between Fingolimod and Interferon groups at the

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

293 beginning of the study in functional and structural parameters, and neither in disability
294 score (EDSS) that was used to represent the severity scale in these MS patients.

295 Macular volume increase secondary to Fingolimod should be taken into consideration
296 when evaluating visual function and retinal OCT measures in these patients. The
297 alteration in contrast sensitivity vision might be a sign of early subclinical macular
298 edema and further structural evaluation should be carried out to confirm the presence of
299 possible incipient macular changes. Further psychophysical and structural evaluations
300 of vision in patients taking Fingolimod may be helpful to comprehend better this
301 phenomenon.

302

303

304

305

306

307

308

309

310

311

312

313

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

314

315

316

317

318 **BIBLIOGRAPHY**

319 1. Graves J, Balcer LJ. Eye disorders in patients with multiple sclerosis: natural history
320 and management. Clin Ophthalmol. 2010;4:1409-22.

321 2. Frohman EM, Fujimoto JG, Frohman TC, Calabresi PA, Cutter G, Balcer LJ. Optical
322 coherence tomography: a window into the mechanisms of multiple sclerosis. Nat Clin
323 Pract Neurol. 2008;4:664-75.

324 3. Food and Drug Administration. Gilenya US prescribing information. Revised August
325 2015. Available
326 from: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2015/022527s019lbl.pdf.

327 4. European Medicines Agency. Gilenya EU summary of product characteristics, latest
328 update of May 2015. Available
329 from: [http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002202/WC500104528.pdf)
330 [_Product_Information/human/002202/WC500104528.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002202/WC500104528.pdf).

331 5. Izquierdo G, O'Connor P, Montalban X, Von Rosenstiel P, Cremer M, de Vera, et al.
332 Five-year results from a phase 2 study of oral fingolimod in relapsing multiple
333 sclerosis. Mult. Scler. 2013;20:877-81.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

334 6. Cohen JA, Barkhof F, Comi G, Hartung HP, Khatri BO, Montalban X, et al. Oral
335 fingolimod or intramuscular interferon for relapsing multiple sclerosis. *N. Engl. J.*
336 *Med.* 2010;362:402-15.

337 7. Kappos L, Antel J, Comi G, Montalban X, O'Connor P, Polman CH, et al. Oral
338 fingolimod (FTY720) for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2006;
339 355(11):1124-40.

340 8. Kappos L, Radue EW, O'Connor P, Polman C, Hohlfeld R, Calabresi P, et al. A
341 placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis. *N Engl J*
342 *Med* 2010; 362:387-401.

343 9. Khatri B, Barkhof F, Comi G, Hartung HP, Kappos L, Montalban X, et
344 al. Comparison of fingolimod with interferon beta-1a in relapsing-remitting multiple
345 sclerosis: a randomized extension of the TRANSFORMS study. *Lancet*
346 *Neurol* 2011;10:520-9.

347 10. Jain N, Bhatti MT. Fingolimod-associated macular edema. Incidence, detection, and
348 management. *Neurology* 2012;78:672-80.

349 11. Saida T, Kikuchi S, Itoyama Y, Hao Q, Kurosawa T, Nagato K, et al. A randomized,
350 controlled trial of fingolimod (FTY720) in Japanese patients with multiple
351 sclerosis. *Mult Scler* 2012;18:1269-77.

352 12. Turaka K, Bryan JS. Does fingolimod in multiple sclerosis patients cause macular
353 edema? *J Neurol* 2012;259:386-8.

354 13. Khanifar AA, Parlitsis GJ, Ehrlich JR, Aaker GD, D'Amico DJ, Gauthier SA, et al.
355 Retinal nerve fiber layer evaluation in multiple sclerosis with spectral domain optical
356 coherence tomography. *Clin Ophthalmol* 2010;4:1007-13.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

357 14. Sergott RC. Optical coherence tomography: measuring in-vivo axonal survival and
358 neuroprotection in multiple sclerosis and optic neuritis. *Curr Opin Ophthalmol*
359 2005;16:346-50.

360 15. Zaveri MS, Conger A, Salter A, Frohman TC, Galletta SL, Markowitz CE et al.
361 Retinal imaging by laser polarimetry and optical coherence tomography evidence of
362 axonal degeneration in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2008;65:924-8.

363 16. Gundogan FC, Demirkaya S, Sobaci G. Is optical coherence tomography really a
364 new biomarker candidate in multiple sclerosis? A structural and functional evaluation.
365 *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:5773-81.

366 17. Garcia-Martin E, Pueyo V, Martin J, Almarcegui C, Ara JR, Dolz I, et al.
367 Progressive changes in the retinal nerve fiber layer in patients with multiple sclerosis.
368 *Eur J Ophthalmol* 2010;20:167-73.

369 18. Sergott RC. Optical coherence tomography: measuring in-vivo axonal survival and
370 neuroprotection in multiple sclerosis and optic neuritis. *Curr Opin Ophthalmol*
371 2005;16:346-50.

372 19. Zaveri MS, Conger A, Salter A, Frohman TC, Galetta SL, Markowitz CE, et al.
373 Retinal imaging by laser polarimetry and optical coherence tomography evidence of
374 axonal degeneration in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2008;65:924-8.

375 20. Vingrys AJ, King-Smith PE. A quantitative scoring technique for panel tests of
376 color vision. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1988;29(1):50-63.

377 21. Bowman AJ. A method for quantitative scoring of the Farnsworth panel D15. *Acta*
378 *Ophthalmologica* 1982;60:907-16.

379 22. Mandal P, Gupta A, Fusi-Rubiano W, Keane PA, Yang Y. Fingolimod: therapeutic
380 mechanisms and ocular adverse effects. *Eye (Lond)* 2017;31(2):232-40.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

381 23. Jain N, Bhatti MT. Fingolimod-associated macular edema: incidence, detection, and
382 management. *Neurology* 2012;78(9):672-80.

383 24. Liu L, Cuthbertson F. Early bilateral cystoid macular oedema secondary to
384 fingolimod in multiple sclerosis. *Case Rep Med* 2012;2012:134636.

385 25. Trobe JD, Beck RW, Moke PS, Cleary PA. Contrast sensitivity and other vision
386 tests in the optic neuritis treatment trial. *Am J Ophthalmol* 1996;121:547-53.

387 26. Guarnera C, Bramanti P, Mazzon E. Comparison of efficacy and safety of oral
388 agents for the treatment of relapsing–remitting multiple sclerosis. *Drug Des Devel*
389 *Ther.* 2017;11:2193-207

390 27. Ontaneda D, Hara-Cleaver C, Rudick RA, Cohen JA, Bermel RA. Early tolerability
391 and safety of fingolimod in clinical practice. *J Neurol Sci.* 2012;323(0):167-72.

392 28. García-Martín E, Pueyo V, Fernández J, Martín J, Ara JR, Almarcegui C, et al.
393 Effect of treatment in loss of retinal nerve fibre layer in multiple sclerosis patients. *Arch*
394 *Soc Esp Oftalmol.* 2010;85(6):209-14.

395 29. La Morgia C, Di Vito L, Carelli V, Carbonelli M. Patterns of retinal ganglion cell
396 damage in neurodegenerative disorders: parvocellular vs magnocellular degeneration in
397 optical coherence tomography studies. *Front Neurol.* 2017;22(8):710.

398 30. Jones-Odeh E, Hammond CJ. How strong is the relationship between glaucoma, the
399 retinal nerve fibre layer, and neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease
400 and multiple sclerosis? *Eye (Lond)* 2015;29(10):1270-84.

401 31. Satue M, Obis J, Rodrigo MJ, Otin S, Fuertes MI, Vilades E, et al. Optical
402 coherence tomography as a biomarker for diagnosis, progression, and prognosis of
403 neurodegenerative diseases. *J Ophthalmol.* 2016;2016:8503859.

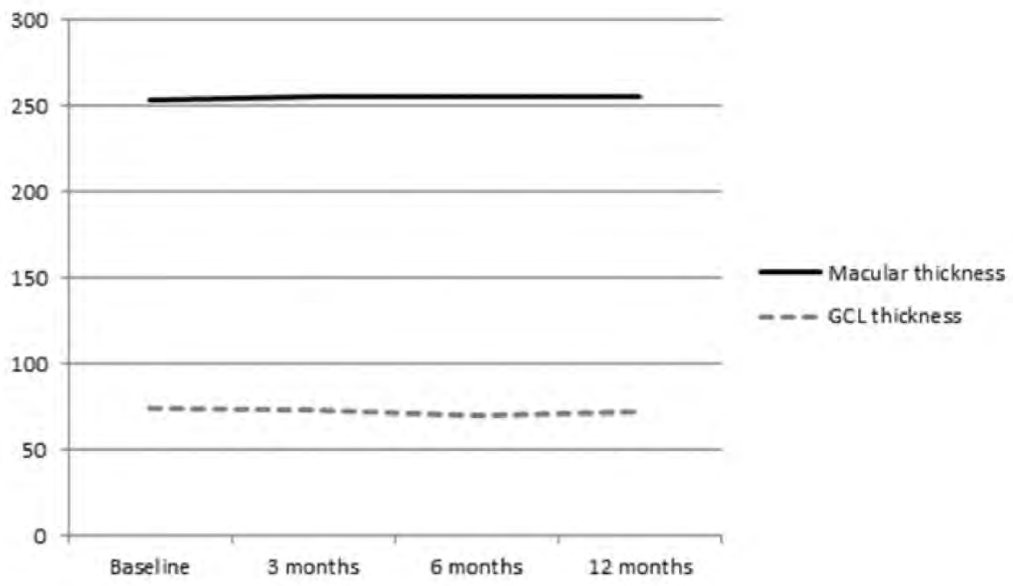
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

404 **FIGURE LEGEND.**

405 **Figure 1:** Macular central thickness and ganglion cell layer (GCL) average thickness
406 during the 1 year follow up in the group of patients treated with Fingolimod. The slight
407 decrease-increase slope at 6-12 months can be observed in the GCL. Measurements in
408 the Y axis are in microns.

Figure 1

[Click here to access/download;Figure;Figure 1.jpg](#)



Table

| VISUAL FUNCIONAL TEST FINGOLIMOD GROUP | BASELINE | 3 MONTHS VISIT | | 6 MONTHS VISIT | | 12 MONTHS VISIT | |
|--|-----------|----------------|----------------------|----------------|----------------------|-----------------|----------------------|
| | Mean±SD | Mean±SD | P (with basal visit) | Mean±SD | P (with basal visit) | Mean±SD | P (with basal visit) |
| AV 100% | 0.09±0.17 | 0.08±0.19 | 0.119 | 0.08±0.24 | 0.123 | 0.13±0.20 | 0.013 |
| AV 100% AO | 0.06±0.15 | 0.04±0.13 | 0.016 | 0.04±0.39 | 0.015 | 0.05±0.14 | 0.087 |
| AV 2.5% | 0.59±0.24 | 0.56±0.28 | 0.355 | 0.61±0.19 | 0.613 | 0.58±0.19 | 0.520 |
| AV 2.5% AO | 0.43±0.20 | 0.43±0.15 | 0.783 | 0.42±0.18 | 0.414 | 0.41±0.12 | 0.612 |
| AV 1.25% | 0.71±0.22 | 0.69±0.17 | 0.045 | 0.74±0.22 | 0.039 | 0.66±0.17 | 0.009* |
| AV 1.25% AO | 0.57±0.21 | 0.56±0.18 | 0.825 | 0.56±0.21 | 0.189 | 0.53±0.16 | 0.008* |
| PelliRobson | 1.72±0.32 | 1.68±0.23 | 0.010* | 1.63±0.31 | <0.001* | 1.64±0.20 | <0.001* |
| PelliRobson AO | 1.85±0.30 | 1.79±0.20 | 0.009* | 1.72±0.36 | <0.001* | 1.71±0.12 | <0.001* |
| CSV Frequency A | 1.60±0.42 | 1.64±0.20 | 0.656 | 1.54±0.21 | 0.543 | 1.64±0.20 | 0.432 |
| CSV AO Frequency A | 1.76±0.49 | 1.71±0.18 | 0.274 | 1.61±0.19 | 0.123 | 1.74±0.12 | 0.216 |
| CSV Frequency B | 1.81±0.39 | 1.80±0.21 | 0.517 | 1.76±0.31 | 0.847 | 1.83±0.19 | 0.501 |
| CSV AO Frequency B | 1.95±0.42 | 1.94±0.16 | 0.945 | 1.90±0.25 | 0.097 | 1.97±0.16 | 0.732 |
| CSV Frequency C | 1.41±0.41 | 1.41±0.34 | 0.516 | 1.41±0.37 | 0.404 | 1.40±0.33 | 0.663 |
| CSV AO Frequency C | 1.52±0.44 | 1.64±0.19 | 0.136 | 1.44±0.46 | 0.109 | 1.65±0.18 | 0.578 |
| CSV Frequency D | 0.96±0.35 | 0.98±0.30 | 0.327 | 0.89±0.43 | 0.798 | 1.01±0.29 | 0.341 |
| CSV AO Frequency D | 1.14±0.39 | 1.15±0.23 | 0.405 | 0.93±0.48 | 0.371 | 1.19±0.22 | 0.498 |

Table 1. Functional parameters obtained at baseline and at 3, 6 and 12 months examinations in Fingolimod group. Results reported as mean and standard deviation in parentheses. Values of $p < 0.05$ were considered to indicate statistical significance; and p-values marked with * indicate statistical significance using Bonferroni's correction for multiple comparisons.

Table

| OCT PARAMETERS IN FINGOLIMOD GROUP | | BASAL VISIT | 3 MONTHS VISIT | 6 MONTHS VISIT | 12 MONTHS VISIT | CHANGE (12 months) | P |
|---|--------------------------|--------------|----------------|----------------|-----------------|--------------------|---------|
| Macular thickness (ETDRS sectors) | Macular central | 253.24±21.14 | 255.83±20.46 | 255.40±19.47 | 255.84±23.93 | 2.60 | 0.006* |
| | Macular superior inner | 312.05±19.9 | 313.03±21.49 | 304.25±15.43 | 311.88±25.01 | -0.17 | 0.243 |
| | Macular nasal inner | 312.87±20.64 | 313.83±23.55 | 305.60±16.86 | 312.41±25.83 | -0.46 | 0.439 |
| | Macular inferior inner | 307.61±19.83 | 307.72±21.39 | 307.95±17.25 | 307.85±23.98 | 0.24 | 0.314 |
| | Macular temporal inner | 300.02±18.92 | 299.75±21.87 | 291.55±15.64 | 298.47±24.33 | -1.55 | 0.065 |
| | Macular superior outer | 275.84±16.30 | 278.17±19.07 | 267.05±14.48 | 279.84±22.19 | 4.00 | 0.001* |
| | Macular nasal outer | 285.28±19.90 | 285.74±22.01 | 275.30±67.02 | 288.47±21.99 | 3.19 | 0.002* |
| | Macular inferior outer | 263.04±15.61 | 262.51±16.53 | 252.70±12.97 | 264.03±18.65 | 0.99 | 0.047 |
| | Macular temporal outer | 258.80±15.08 | 259.78±15.91 | 249.25±10.78 | 255.39±26.72 | -3.41 | 0.002* |
| | GCL average | 74.53±13.34 | 72.88±9.95 | 69.60±8.51 | 72.53±12.10 | -2.00 | 0.007* |
| Coughlin cell analysis (GCL) | GCL superior | 75.49±10.72 | 73.41±10.04 | 71.10±9.04 | 74.25±12.21 | -1.24 | 0.015 |
| | GCL inferior | 74.46±11.97 | 73.79±12.20 | 68.90±9.41 | 72.66±14.18 | -1.8 | 0.008* |
| | GCL nasal inferior NI | 73.30±11.47 | 71.59±11.52 | 67.90±10.14 | 71.75±12.58 | -1.55 | 0.009 |
| | GCL nasal inferior NS | 73.81±10.04 | 71.62±10.62 | 68.70±8.76 | 70.16±14.97 | -3.65 | <0.001* |
| | GCL temporal inferior TI | 75.69±9.78 | 73.94±10.31 | 70.75±9.26 | 73.09±12.25 | -2.60 | 0.002* |
| | GCL temporal superior TS | 74.54±9.99 | 72.79±9.33 | 70.20±8.70 | 73.31±10.52 | -1.23 | 0.018 |
| Retinal nerve fibre layer (RNFL) protocol (quadrants and sectors) | RNFL average | 84.47±14.08 | 82.42±18.22 | 84.71±10.23 | 88.22±11.48 | 3.75 | 0.009 |
| | RNFL superior quadrant | 104.09±19.32 | 104.21±18.55 | 107.29±15.93 | 109.80±19.28 | 5.71 | 0.004 |
| | RNFL nasal quadrant | 68.81±13.47 | 65.68±17.27 | 67.92±8.51 | 66.14±12.87 | -2.67 | 0.016 |
| | RNFL inferior quadrant | 112.35±23.02 | 108.95±36.62 | 112.86±10.00 | 116.77±19.64 | 4.42 | 0.008 |
| | RNFL temporal quadrant | 52.67±13.14 | 50.63±10.01 | 50.86±7.63 | 59.51±14.93 | 6.84 | 0.004 |
| | RNFL hour sector 1 | 105.50±28.28 | 108.63±28.11 | 107.50±25.94 | 105.51±25.99 | 0.01 | 0.764 |
| | RNFL hour sector 2 | 96.59±22.84 | 95.42±21.34 | 104.71±18.44 | 97.14±21.48 | 0.55 | 0.700 |
| | RNFL hour sector 3 | 86.63±22.85 | 81.05±21.81 | 84.50±17.03 | 81.34±18.93 | -5.29 | 0.005 |
| | RNFL hour sector 4 | 55.39±11.51 | 55.79±15.84 | 52.93±7.51 | 53.69±8.96 | -1.70 | 0.132 |
| | RNFL hour sector 5 | 64.33±13.78 | 59.33±17.37 | 66.07±12.66 | 63.51±21.65 | -0.82 | 0.345 |
| | RNFL hour sector 6 | 99.07±25.75 | 96.37±38.09 | 102.93±19.58 | 95.86±26.44 | -3.21 | 0.012 |
| | RNFL hour sector 7 | 128.99±33.01 | 130.68±51.58 | 125.21±15.19 | 130.94±29.88 | 1.95 | 0.371 |
| RNFL hour sector 8 | 109.05±26.65 | 99.63±31.99 | 139.86±92.78 | 123.49±27.84 | 14.44 | 0.001* | |
| RNFL hour sector 9 | 52.38±14.86 | 48.11±19.13 | 45.64±10.05 | 56.74±19.92 | 4.36 | 0.090 | |
| RNFL hour sector 10 | 43.38±11.53 | 42.58±12.45 | 42.93±12.79 | 46.74±10.53 | 3.36 | 0.014 | |
| RNFL hour sector 11 | 63.37±18.62 | 61.37±10.35 | 64.14±11.08 | 76.40±19.43 | 13.03 | 0.002* | |
| RNFL hour sector 12 | 111.20±26.68 | 108.53±21.47 | 109.57±26.63 | 126.37±26.58 | 15.17 | 0.001* | |

Table 2. Structural parameters obtained at baseline and at 3, 6 and 12 months examinations in Fingolimod group. Results reported as mean and standard deviation in parentheses. Values of p<0.05 were considered to indicate statistical significance; and p-values marked with * indicate statistical significance using Bonferroni's correction for multiple comparisons.

Table

| VISUAL FUNCIONAL TEST INTERFERONS GROUP | BASALINE | 12 MONTHS VISIT | | P (Change in Fingolimod vs Interferons) |
|---|-----------|-----------------|----------------------|---|
| | Mean±SD | Mean±SD | P (with basal visit) | |
| AV 100% | 0.09±0.19 | 0.10±0.25 | 0.103 | 0.032 |
| AV 100% AO | 0.07±0.18 | 0.08±0.17 | 0.140 | 0.098 |
| AV 2.5% | 0.61±0.29 | 0.60±0.18 | 0.443 | 0.329 |
| AV 2.5% AO | 0.49±0.24 | 0.50±0.15 | 0.348 | 0.432 |
| AV 1.25% | 0.74±0.27 | 0.77±0.19 | 0.025 | <0.001* |
| AV 1.25% AO | 0.61±0.25 | 0.64±0.15 | 0.031 | <0.001* |
| PelliRobson | 1.70±0.29 | 1.68±0.27 | 0.109 | 0.133 |
| PelliRobson AO | 1.80±0.33 | 1.76±0.23 | 0.099 | 0.188 |
| CSV Frequency A | 1.66±0.39 | 1.65±0.41 | 0.649 | 0.342 |
| CSV AO Frequency A | 1.80±0.38 | 1.78±0.22 | 0.190 | 0.453 |
| CSV Frequency B | 1.92±0.37 | 1.90±0.24 | 0.220 | 0.366 |
| CSV AO Frequency B | 1.97±0.48 | 1.97±0.22 | 0.365 | 0.290 |
| CSV Frequency C | 1.48±0.39 | 1.47±0.33 | 0.601 | 0.593 |
| CSV AO Frequency C | 1.56±0.39 | 1.55±0.27 | 0.490 | 0.481 |
| CSV Frequency D | 0.98±0.40 | 0.99±0.31 | 0.298 | 0.762 |
| CSV AO Frequency D | 1.17±0.29 | 1.15±0.28 | 0.309 | 0.808 |

Table 3. Functional parameters obtained at baseline and 12 months examinations in Interferons group and significance of change during the follow-up. The last column represents the significance of the comparison between 12 months changes between Interferons and Fingolimod groups. Results reported as mean and standard deviation in parentheses. Values of $p < 0.05$ were considered to indicate statistical significance and parameters marked with * showed significance using Bonferroni's correction for multiple comparisons.

Table

| OCT PARAMETERS IN INTERFERONS GROUP | BASAL VISIT | 12 MONTHS VISIT | CHANGE (12 months) | P(1) | P(2) | |
|---|--------------------------|-----------------|--------------------|---------------|-------------------|-------------------|
| Macular thickness (ETDRS sectors) | Macular central | 256.43±19.02 | 255.38±18.44 | -1.05 | 0.074 | <0.001* |
| | Macular superior inner | 312.33±17.99 | 312.70±23.70 | 0.37 | 0.348 | 0.076 |
| | Macular nasal inner | 311.08±21.51 | 310.67±24.48 | -0.41 | 0.521 | 0.932 |
| | Macular inferior inner | 305.55±18.03 | 304.25±26.71 | -1.30 | 0.529 | 0.007* |
| | Macular temporal inner | 298.44±18.11 | 296.54±23.76 | -1.90 | 0.081 | 0.772 |
| | Macular superior outer | 274.69±17.77 | 275.45±23.79 | 0.76 | 0.660 | 0.010 |
| Ganglion cell analysis (GCL) | Macular nasal outer | 280.18±21.19 | 281.95±19.19 | 1.77 | 0.104 | 0.102 |
| | Macular inferior outer | 264.83±16.61 | 263.93±17.09 | -0.90 | 0.555 | 0.006* |
| | Macular temporal outer | 260.32±17.79 | 258.31±19.10 | -2.01 | 0.001 | 0.412 |
| | GCL average | 77.31±16.90 | 73.52±13.44 | -3.79 | <0.001* | 0.006* |
| | GCL superior | 77.98±14.21 | 75.97±15.41 | -2.01 | 0.006* | 0.315 |
| | GCL inferior | 75.21±12.22 | 73.10±16.09 | -2.11 | 0.005* | 0.192 |
| Retinal nerve fibre layer (RNFL) protocol (quadrants and sectors) | GCL nasal inferior NI | 75.88±11.93 | 73.98±15.34 | -1.90 | 0.003* | 0.440 |
| | GCL nasal inferior NS | 75.01±12.65 | 71.89±17.80 | -3.12 | <0.001* | 0.398 |
| | GCL temporal inferior TI | 77.07±11.15 | 74.17±15.12 | -2.90 | <0.001* | 0.243 |
| | GCL temporal superior TS | 75.63±10.72 | 73.84±13.61 | -1.79 | 0.008 | 0.308 |
| | RNFL average | 86.21±17.65 | 83.32±18.21 | -2.89 | 0.004* | <0.001* |
| | RNFL superior quadrant | 106.44±20.45 | 103.89±19.12 | -2.55 | 0.006* | <0.001* |
| | RNFL nasal quadrant | 69.01±16.98 | 67.03±17.01 | -1.98 | 0.043 | 0.105 |
| | RNFL inferior quadrant | 114.76±25.51 | 112.64±23.76 | -2.12 | 0.007* | <0.001* |
| | RNFL temporal quadrant | 52.07±17.31 | 50.40±19.03 | -1.67 | 0.005* | <0.001* |
| | RNFL hour sector 1 | 106.00±27.00 | 104.49±28.02 | -1.51 | 0.432 | 0.027 |
| | RNFL hour sector 2 | 97.79±28.11 | 95.98±25.92 | -1.81 | 0.543 | <0.006* |
| | RNFL hour sector 3 | 88.32±25.10 | 84.30±20.20 | -4.02 | 0.005* | 0.329 |
| RNFL hour sector 4 | 56.01±17.92 | 54.99±17.91 | -1.02 | 0.243 | 0.481 | |
| RNFL hour sector 5 | 63.19±16.19 | 61.64±20.43 | -1.55 | 0.404 | 0.598 | |
| RNFL hour sector 6 | 98.02±29.23 | 95.81±26.98 | -2.21 | 0.043 | 0.721 | |
| RNFL hour sector 7 | 129.11±29.01 | 130.06±28.01 | 0.95 | 0.606 | 0.255 | |
| RNFL hour sector 8 | 111.58±31.29 | 109.04±30.30 | -2.54 | 0.010 | <0.001* | |
| RNFL hour sector 9 | 53.90±24.46 | 50.89±25.11 | -3.01 | 0.008 | <0.001* | |
| RNFL hour sector 10 | 46.14±17.21 | 43.58±16.67 | -2.56 | 0.023 | <0.001* | |
| RNFL hour sector 11 | 64.85±22.27 | 61.36±23.63 | -3.49 | 0.006* | <0.001* | |
| RNFL hour sector 12 | 110.37±28.82 | 106.97±25.98 | -3.40 | 0.007* | <0.001* | |

Table 4. Structural parameters obtained at baseline and 12 months examinations in Interferons group. Results reported as mean and standard deviation in parentheses. P(1) shows significance when compared Interferons group between basal and one year visit. P(2) represents significance when compared change during the one year flow-up in Fingolimod group vs change in Interferons group. Values of p<0.05 were considered to indicate statistical significance; and p-values marked with * indicate statistical significance using Bonferroni's correction for multiple comparisons.

STROBE Statement—Checklist of items that should be included in reports of *cohort studies*

| | Item No | Recommendation | Page No |
|------------------------------|----------------|--|----------------|
| Title and abstract | 1 | (a) Indicate the study's design with a commonly used term in the title or the abstract | 3 |
| | | (b) Provide in the abstract an informative and balanced summary of what was done and what was found | 3 |
| Introduction | | | |
| Background/rationale | 2 | Explain the scientific background and rationale for the investigation being reported | 5 |
| Objectives | 3 | State specific objectives, including any prespecified hypotheses | 5-6 |
| Methods | | | |
| Study design | 4 | Present key elements of study design early in the paper | 6-7 |
| Setting | 5 | Describe the setting, locations, and relevant dates, including periods of recruitment, exposure, follow-up, and data collection | 6-7 |
| Participants | 6 | (a) Give the eligibility criteria, and the sources and methods of selection of participants. Describe methods of follow-up (b) For matched studies, give matching criteria and number of exposed and unexposed | 6-7 |
| Variables | 7 | Clearly define all outcomes, exposures, predictors, potential confounders, and effect modifiers. Give diagnostic criteria, if applicable | 7 |
| Data sources/ measurement | 8* | For each variable of interest, give sources of data and details of methods of assessment (measurement). Describe comparability of assessment methods if there is more than one group | 7-9 |
| Bias | 9 | Describe any efforts to address potential sources of bias | 7-9 |
| Study size | 10 | Explain how the study size was arrived at | 8 |
| Quantitative variables | 11 | Explain how quantitative variables were handled in the analyses. If applicable, describe which groupings were chosen and why | 8-9 |
| Statistical methods | 12 | (a) Describe all statistical methods, including those used to control for confounding (b) Describe any methods used to examine subgroups and interactions (c) Explain how missing data were addressed (d) If applicable, explain how loss to follow-up was addressed (e) Describe any sensitivity analyses | 9 |
| Results | | | |
| Participants | 13* | (a) Report numbers of individuals at each stage of study—eg numbers potentially eligible, examined for eligibility, confirmed eligible, included in the study, completing follow-up, and analysed (b) Give reasons for non-participation at each stage (c) Consider use of a flow diagram | 10-11 |
| Descriptive data | 14* | (a) Give characteristics of study participants (eg demographic, clinical, social) and information on exposures and potential confounders (b) Indicate number of participants with missing data for each variable of interest (c) Summarise follow-up time (eg, average and total amount) | 10-11 |
| Outcome data | 15* | Report numbers of outcome events or summary measures over time | 11-12 |

| | | | |
|--------------------------|----|---|-------|
| Main results | 16 | (a) Give unadjusted estimates and, if applicable, confounder-adjusted estimates and their precision (eg, 95% confidence interval). Make clear which confounders were adjusted for and why they were included (b) Report category boundaries when continuous variables were categorized (c) If relevant, consider translating estimates of relative risk into absolute risk for a meaningful time period | 12-13 |
| Other analyses | 17 | Report other analyses done—eg analyses of subgroups and interactions, and sensitivity analyses | 12 |
| Discussion | | | |
| Key results | 18 | Summarise key results with reference to study objectives | 13 |
| Limitations | 19 | Discuss limitations of the study, taking into account sources of potential bias or imprecision. Discuss both direction and magnitude of any potential bias | 15 |
| Interpretation | 20 | Give a cautious overall interpretation of results considering objectives, limitations, multiplicity of analyses, results from similar studies, and other relevant evidence | 13-14 |
| Generalisability | 21 | Discuss the generalisability (external validity) of the study results | 13-14 |
| Other information | | | |
| Funding | 22 | Give the source of funding and the role of the funders for the present study and, if applicable, for the original study on which the present article is based | 1 |

*Give information separately for exposed and unexposed groups.

Note: An Explanation and Elaboration article discusses each checklist item and gives methodological background and published examples of transparent reporting. The STROBE checklist is best used in conjunction with this article (freely available on the Web sites of PLoS Medicine at <http://www.plosmedicine.org/>, Annals of Internal Medicine at <http://www.annals.org/>, and Epidemiology at <http://www.epidem.com/>). Information on the STROBE Initiative is available at <http://www.strobe-statement.org>.

9. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

A continuación, se enumeran las principales limitaciones observadas en los cuatro trabajos que componen la presente tesis doctoral:

1) La falta de colaboración debido al estado físico y emocional del paciente puede estar presente en algunos casos, predominantemente en pacientes en fases más avanzadas de la EM. Esta situación podría reflejar resultados de función visual inferiores a los que corresponderían para dicho paciente, pero en nuestra población el grado de deterioro no era elevado y creemos que no fue relevante.

2) Podríamos haber tenido pequeñas pérdidas o alteraciones de datos en los espesores de las capas de la retina en la OCT, debido a mínimos artefactos o errores de segmentación casi inapreciables al observar las imágenes. Como hemos descrito en la metodología, excluimos imágenes con artefactos o de baja calidad en el análisis, por lo que esta limitación es muy poco probable.

3) El tamaño muestral del estudio que utiliza la unidad multifuncional Monpack One fue pequeño, lo que disminuye la validez externa de sus resultados. Un tamaño muestral mayor podría haber detectado diferencias significativas en los parámetros del CSV de altas frecuencias y una significancia mayor en el aumento de latencias de la onda N95, datos que se describen en estudios previos (159,160).

4) En este mismo estudio se encontró que la correlación entre algunos de los parámetros funcionales y estructurales no tenían suficiente fuerza estadística debido a que los cambios estructurales no ocurren al mismo tiempo que los cambios funcionales. Esto se puede explicar porque preferentemente se usaron test no paramétricos, más exigentes a la hora de encontrar significancia estadística y también porque los dispositivos usados en estudios previos para evaluar la función visual no fueron los mismos que el utilizado en nuestro estudio (unidad multifuncional Monpack One). Tampoco se registraron diferencias significativas entre los grupos de estudio en los parámetros de la ERG (al contrario de algunos estudios previos) (159), lo que sugiere que nuestro tamaño muestral fue limitado y que se necesitan estudios con poblaciones mayores para conocer la capacidad real de unidad multifuncional para detectar alteraciones en el ERG de los pacientes con EM.

5) En el estudio sobre la capacidad del Triton DRI SS-OCT para detectar cambios retinianos y coroides se observó que el cuadrante nasal estaba afectado únicamente en la GCL+ (y no en CFNR ni GCL+), lo que sugiere que las mediciones en esta capa pueden tener una mayor afectación en la neurodegeneración que el espesor de la CFNR. Para corroborar estos resultados se necesitan más trabajos que utilicen el SS-OCT e incluyan mediciones del espesor de todas las capas.

6) Otra limitación de este trabajo es que, dado que las mediciones de la coroides se obtienen de forma automática, podrían observarse artefactos de segmentación; pero por otro lado también se obtendría una disminución de errores inducidos por la medición manual. Como ya se comentó, todas las imágenes eran examinadas tras cada adquisición y únicamente las de alta calidad fueron seleccionadas para análisis. Para mayor fiabilidad, creemos que se necesitan más trabajos que analicen los espesores de la coroides mediante SD-OCT y SS-OCT.

7) Se ha podido incluir algún ojo con glaucoma subclínico no detectable, a pesar de que todos los sujetos fueron cribados mediante la medición de la PIO y alteraciones morfométricas en la cabeza del nervio óptico (pero no mediante cambios glaucomatosos en la perimetría). Sin embargo, dado que esto habría afectado aleatoriamente a ambos grupos, no consideramos que nuestros resultados se hayan visto alterados de forma significativa ni que suponga un sesgo que afecte a un grupo del estudio con mayor impacto.

8) En el tercer trabajo, que analiza los cambios en el espesor coroidal peripapilar medido mediante SS-OCT, no se incluyeron datos sobre la longitud axial; sin embargo, no hubo diferencias significativas entre el defecto de refracción entre grupos. La longitud axial y el error de refracción están relacionados, pero no son intercambiables ya que la longitud axial tiende a no modificarse después de la segunda década de la vida y el error de refracción, sin embargo, puede fluctuar o cambiar a lo largo de la vida debido a diferentes factores (161). Los resultados de trabajos previos (162) sugieren que el error de refracción y la longitud axial tiene una relación similar en las medidas por OCT, por lo que sólo incluimos el error de refracción y no la longitud axial. Lo ideal sería tener ambos valores en el estudio.

9) Otra limitación de este trabajo es que la capa coroidea puede verse influida por los ritmos circadianos (163) y en nuestro trabajo no se realizaron las evaluaciones mediante OCT a la misma hora en todos los pacientes, aunque sí se realizaron por la tarde, en una franja horaria entre las 16:00 y las 20:00 horas, por lo que creemos que esta limitación debería interferir poco en nuestros resultados.

10) Sólo se analizó la coroides de los ojos derechos de todos los sujetos, no siendo valoradas las diferencias inter-oculares.

11) Los pacientes con EM no fueron divididos según la severidad de la enfermedad. Estudios que evalúen la asociación entre los espesores peripapilares y la severidad de la EM y sus efectos en la calidad de vida podrían proporcionar resultados muy interesantes.

12) La fiabilidad de las mediciones automáticas del espesor de la coroides obtenidas mediante SS-OCT todavía no está bien establecida y debe ser confirmada en futuros trabajos.

13) En el último estudio sobre la afectación ocular en pacientes tratados con Fingolimod, el grupo tratado con interferón beta fue examinado únicamente de forma basal y a los 12 meses, pero no a los 3 y 6 meses como en el grupo tratado con Fingolimod. El motivo fue que nuestro interés se centraba en evaluar el daño macular de forma precoz en pacientes que iniciaban tratamiento con Fingolimod. El interferón beta se ha usado durante muchos años en pacientes EM y su efecto a nivel estructural es bien conocido, no encontrando evidencias de afectación macular (2,164,165).

14) Los tratamientos usados previamente en ambos grupos podrían haber afectado en cierta manera a algunos de los parámetros evaluados en el estudio. Para evitar esta posibilidad se comprobó que no había diferencias entre ambos grupos al comienzo del estudio ni en los parámetros funcionales ni estructurales, así como tampoco en la escala de discapacidad (EDSS).

15) Los cuatro estudios son monocéntricos, y todos los sujetos eran blancos caucásicos, por lo que sería deseable disponer de una base de datos de pacientes y sujetos de control de varios centros y valorar si los resultados varían en función de la etnia y/o raza y de los condicionantes geográficos.

16) No se han analizado las posibles correlaciones entre las variables de la OCT registradas y los resultados de la RM. Si se corroboraran los hallazgos de neurodegeneración mediante RM (considerado gold estándar en esta patología), podría demostrarse con fiabilidad si la técnica OCT es un biomarcador accesible y rentable para usar en la práctica clínica diaria.

10. CONCLUSIONES

- I. La unidad multifuncional Monpack One detecta alteraciones de la función visual en pacientes con esclerosis múltiple sin episodios de neuritis óptica previos. Los parámetros que se reducen de forma significativa en los pacientes con respecto a los controles son la agudeza visual a bajo contraste, la sensibilidad al contraste a medias y bajas frecuencias, la visión del campo visual y la amplitud de la onda P100 en los potenciales evocados multifocales. Estos resultados son concordantes con los publicados en estudios previos y confirman la presencia de daño axonal secundario a la esclerosis múltiple aunque no haya antecedentes de neuritis ópticas.
- II. La correlación entre parámetros funcionales (medidos mediante la unidad multifuncional Monpack One) y los parámetros estructurales (medidos mediante tomografía de coherencia óptica tipo Swept-source) demuestra una asociación marcada entre los test de sensibilidad al contraste y el campo visual y los espesores maculares y peripapilares. La electroretinografía Monpack One no muestra diferencias significativas entre el grupo de pacientes con esclerosis múltiple y el grupo control, ni correlaciones significativas con las pruebas estructurales.
- III. La unidad multifuncional Monpack One es una herramienta rápida y útil para proporcionar una evaluación completa del daño axonal en pacientes con esclerosis múltiple; si bien la electroretinografía es un test poco sensible para detectar anomalías en estos pacientes con respecto a los sujetos sanos de su misma edad y sexo.
- IV. La nueva tecnología Triton de tomografía de coherencia óptica tipo Swept-source detecta el adelgazamiento macular y peripapilar de la retina, de la capa de fibras nerviosas de la retina y de la capa de células ganglionares en pacientes con esclerosis múltiple; además de proporcionar una evaluación objetiva y automatizada de los espesores de la capa de la coroides.

- V. Mediante el software automático del dispositivo Triton de tomografía de coherencia óptica tipo Swept-source se observa que la coroides se va adelgazando concéntricamente al acercarse a la cabeza del nervio óptico: la zona más cercana a la cabeza del nervio óptico tiene una coroides más delgada y la zona más alejada al mismo, tiene una coroides más gruesa.
- VI. La coroides peripapilar presenta un patrón concéntrico similar en ojos de sujetos sanos y pacientes con esclerosis múltiple (más grueso en las zonas superiores y más adelgazado en las inferiores) pero en pacientes con esclerosis múltiple el espesor peripapilar es más delgado que en controles sanos en todas las áreas.
- VII. El dispositivo Triton de tomografía de coherencia óptica tipo Swept-source es una herramienta eficaz para discriminar entre sujetos sanos y pacientes afectados de esclerosis múltiple en la práctica clínica diaria, pero se necesitan más estudios para corroborar estos resultados.
- VIII. Los pacientes tratados con Fingolimod durante un año, asintomáticos desde el punto de vista visual, muestran cambios en la función visual significativos en los test de agudeza visual a bajo contraste (1,25%) y en la sensibilidad al contraste medida mediante el test de Pelli-Robson a 1 ciclo por grado, pudiendo ser este último hallazgo un signo precoz de edema macular subclínico.
- IX. En los pacientes con esclerosis múltiple tratados con Fingolimod se registra un aumento significativo del espesor macular a partir de los 6 meses de seguimiento, probablemente atribuido a un edema macular subclínico causado como efecto secundario de esta medicación.
- X. En los pacientes tratados con interferón beta no se observan cambios en la función visual ni en el espesor macular pero sí se objetiva una reducción significativa en el espesor de capa de células ganglionares y capa de fibras nerviosas de la retina, mayor a la encontrada en el grupo de pacientes tratados con Fingolimod, por lo que este fármaco parece tener un mayor efecto neuroprotector para frenar la pérdida axonal por esclerosis múltiple que el interferón beta.

11. APORTACIONES DEL DOCTORANDO

La aportación de la doctoranda al trabajo de investigación de esta tesis doctoral ha consistido básicamente en los siguientes aspectos:

- Realización del trabajo de campo con los pacientes afectados de EM: La doctoranda ha realizado la evaluación neurológica de estos sujetos, tanto el proceso diagnóstico, como en el reclutamiento y en las pruebas del protocolo exploratorio neurológico, que incluyó:
 - o Registro del tiempo de evolución de la enfermedad desde su diagnóstico.
 - o Valoración del fenotipo de EM (recidivante-remitente, primaria progresiva, y secundaria progresiva).
 - o Puntuación en la escala de disfunción neurológica (EDSS).
 - o Registro de los tratamientos recibidos.
 - o Presencia de brotes agudos de EM y de episodios previos de neuritis óptica.
- Recogida de datos de la exploración neurológica y registro de los mismos en una base diseñada para el estudio.
- Participación activa en el análisis estadístico y su interpretación científica.
- Participación en la redacción de los 4 artículos que componen la tesis doctoral, así como en sus revisiones hasta publicación en las revistas.

Los artículos que componen la presente tesis aportan un nuevo análisis de los parámetros funcionales y estructurales en pacientes con EM gracias al uso de la tecnología de última generación, logrando innovadores métodos de optimización del diagnóstico incluso en fases precoces de la EM y sin antecedentes de neuritis óptica.

Es de sobra conocida la capacidad de la OCT para detectar cambios estructurales en la neuro-retina de pacientes con EM, como el adelgazamiento del espesor de la CFNR peripapilar en ojos de pacientes con EM sin episodios de neuritis óptica previa. Pero hasta ahora, estos estudios se habían realizado con dispositivos Spectral Domain. La tesis incluye el primer estudio que analiza estas alteraciones mediante el dispositivo de última generación Triton SS-OCT y las compara con controles sanos. El software de este dispositivo permite realizar un escaneo a una velocidad superior, proporcionando mayor profundidad en el análisis de la retina y la coroides.

Con este mismo dispositivo Triton SS-OCT, se han conseguido definir 4 áreas coroideas alrededor de la cabeza del nervio óptico de controles sanos, basándose en el espesor de esta capa vascular.

Los dispositivos SS-OCT usados en otros trabajos evalúan únicamente 12 grados centrales alrededor de la cabeza del nervio óptico y realizan mediciones manuales, mientras que con el SS-OCT se realizan un total de 588 mediciones automáticas del espesor coroideo alrededor del nervio óptico.

Estas zonas bien definidas fueron comparadas entre pacientes con EM y controles sanos de su misma edad y sexo, observando que el patrón de adelgazamiento coroideo era similar entre ambos grupos pero que el espesor peripapilar coroideo en pacientes EM era significativamente más delgado que en controles sanos en todas las áreas.

Con el hallazgo del patrón de adelgazamiento coroideo podríamos plantear la cascada fisiológica que se produciría en pacientes sin episodios de neuritis óptica; en donde la primera fase sería el daño axonal en la CFNR causado por la neurodegeneración, seguido de un descenso de flujo sanguíneo en la neuro-retina y después en la coroides, con el subsiguiente adelgazamiento de esta última capa y como última fase del proceso un mayor daño axonal en la CFNR secundario a la isquemia. El adelgazamiento progresivo de la CFNR en estos pacientes sin neuritis óptica previa podría explicarse entonces por un mecanismo de acción isquémico.

Otra de las aportaciones de esta tesis ha sido el estudio funcional y neurofisiológico completo llevado a cabo mediante un único dispositivo, la unidad de multifunción Monpack One. Hemos demostrado que se trata de una herramienta rápida y eficaz para realizar una evaluación completa de la función visual y del daño axonal en pacientes con EM.

En relación al tratamiento modificador de la enfermedad, hemos estudiado los cambios funcionales y estructurales de pacientes tratados con Fingolimod y los hemos comparado con un grupo de pacientes tratados con interferón beta. Hemos registrado una mayor capacidad del Fingolimod a la hora de detener la pérdida axonal en comparación con el interferón beta. También hemos observado un aumento del espesor macular a partir de los 6 meses de seguimiento en el grupo de pacientes de EM tratados con Fingolimod, probablemente atribuido al edema macular subclínico que causa este fármaco. Además, también se observaron alteraciones en diferentes parámetros de la función visual no observados en el grupo tratado con interferón beta.

A tenor de los resultados obtenidos en esta tesis, nos reafirmamos en que la OCT es una herramienta de gran utilidad en la práctica clínica diaria para el manejo de pacientes con EM y podemos confirmar la capacidad del nuevo SS-OCT para detectar cambios estructurales con más precisión y en tejidos más profundos como la coroides. Es una técnica no invasiva y coste-eficiente para el sistema de salud, además de ser muy cómoda para el paciente por su rapidez de escaneo y su accesibilidad.

12. BIBLIOGRAFIA

1. Polman CH, Reingold SC, Edan G, Filippi M, Hartung HP, Kappos L, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 Revisions to the “McDonald Criteria.” *Ann Neurol.* 2005;58(6):8406.
2. Jain N, Bhatti MT. Fingolimod-associated macular edema: Incidence, detection, and management. *Neurology.* 2012;78(9):672-80.
3. Saida T, Kikuchi S, Itoyama Y, Hao Q, Kurosawa T, Nagato K, et al. A randomized, controlled trial of fingolimod (FTY720) in Japanese patients with multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2012;18(9):1269-77.
4. Oh J, Vidal-Jordana A, Montalban X. Multiple sclerosis: Clinical aspects. *Curr Opin Neurol.* 2018;31(6):752–9.
5. Palace J. Inflammation versus neurodegeneration: Consequences for treatment. *J Neurol Sci.* 2007;259(1-2):46-9.
6. Hauser SL, Oksenberg JR. The Neurobiology of Multiple Sclerosis: Genes, Inflammation, and Neurodegeneration. *Neuron.* 2006;52(1):61-76.
7. Khanifar AA, Parlitsis GJ, Ehrlich JR, Aaker GD, D’Amico DJ, Gauthier SA, et al. Retinal nerve fiber layer evaluation in multiple sclerosis with spectral domain optical coherence tomography. *Clin Ophthalmol.* 2010;4:1007-13.
8. Sergott RC. Optical coherence tomography: Measuring in-vivo axonal survival and neuroprotection in multiple sclerosis and optic neuritis. *Curr Opin Ophthalmol.* 2005;16(6):346-50.
9. Zaveri MS, Conger A, Salter A, Frohman TC, Galetta SL, Markowitz CE, et al. Retinal imaging by laser polarimetry and optical coherence tomography evidence of axonal degeneration in multiple sclerosis. *Arch Neurol.* 2008;65(7):924-8.
10. Gundogan FC, Demirkaya S, Sobaci G. Is optical coherence tomography really a new biomarker candidate in multiple sclerosis? - A structural and functional evaluation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48(12):5773-81.
11. García-Martín E, Pueyo V, Martín J, Almarcegui C, Ara JR, Dolz I, et al. Progressive changes in the retinal nerve fiber layer in patients with multiple sclerosis. *European Journal of Ophthalmology.* 2010;20(1):167–73.
12. Garcia-Martin E, Pueyo V, Pinilla I, Ara JR, Martín J, Fernandez J. Fourier-Domain OCT in multiple sclerosis patients: Reproducibility and ability to detect retinal nerve fiber layer atrophy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(7):4124-31.
13. Frohman EM, Dwyer MG, Frohman T, Cox JL, Salter A, Greenberg BM, et al. Relationship of optic nerve and brain conventional and non-conventional MRI measures and retinal nerve fiber layer thickness, as assessed by OCT and GDx: A pilot study. *Journal of the Neurological Sciences.* 2009;282(1–2):96–105.

14. Talman LS, Bisker ER, Sackel DJ, Long DA, Galetta KM, Ratchford JN, et al. Longitudinal study of vision and retinal nerve fiber layer thickness in multiple sclerosis. *Annals of Neurology*. 2010;67(6):749–60.
15. Rodrigo Sanjuán MJ. Evaluación de la función visual en enfermedades neurodegenerativas: Alzheimer, Parkinson y Esclerosis Múltiple. [Tesis Doctoral]. Zaragoza:Universidad de Zaragoza; 2017. Recuperado a partir de: <https://zaguan.unizar.es/record/61573>.
16. Lamirel C, Newman NJ, Biousse V. Optical coherence tomography (OCT) in optic neuritis and multiple sclerosis. *Rev Neurol (Paris)*. 2010;166(12):978-86.
17. Simpson S, Blizzard L, Otahal P, van der Mei I, Taylor B. Latitude is significantly associated with the prevalence of multiple sclerosis: A meta-analysis. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*. 2011;82(10):1132–41.
18. Browne P, Chandraratna D, Angood C, Tremlett H, Baker C, Taylor B v., et al. Atlas of multiple sclerosis 2013: A growing global problem with widespread inequity. *Neurology*. 2014;83(11):1022–4.
19. Kingwell E, Marriott JJ, Jetté N, Pringsheim T, Makhani N, Morrow SA, et al. Incidence and prevalence of multiple sclerosis in Europe: A systematic review. *BMC Neurol*. 2013;13:128.
20. Aguirre-Cruz L, Flores-Rivera J, de La Cruz-Aguilera DL, Rangel-Lpez E, Corona T. Multiple sclerosis in Caucasians and Latino Americans. *Autoimmunity*. 2011;44(7):571–5.
21. Tarlinton RE, Khaibullin T, Granatov E, Martynova E, Rizvanov A, Khaiboullina S. The interaction between viral and environmental risk factors in the pathogenesis of multiple sclerosis. *Int J Mol Sci*. 2019;20(2):303.
22. Browne P, Chandraratna D, Angood C, Tremlett H, Baker C, Taylor B v., et al. Atlas of multiple sclerosis 2013: A growing global problem with widespread inequity. *Neurology*. 2014;83(11):1022-4.
23. Pérez-Carmona N, Fernández-Jover E, Sempere ÁP. Epidemiology of multiple sclerosis in Spain. *Rev Neurol*. 2019 Jul 1;69(1):32-38.
24. Rotstein DL, Chen H, Wilton AS, Kwong JC, Marrie RA, Gozdyra P, et al. Temporal trends in multiple sclerosis prevalence and incidence in a large population. *Neurology* [Internet]. 2018 [Consultado 17 Mar 2021];90(16):e1435-e1441.doi: 10.1212/WNL.0000000000005331.
25. Koch-Henriksen N, Sørensen PS. The changing demographic pattern of multiple sclerosis epidemiology. *Lancet Neurol*. 2010 May;9(5):520-32.
26. Zeydan B, Atkinson EJ, Weis DM, Smith CY, Gazzuola Rocca L, Rocca WA, et al. Reproductive history and progressive multiple sclerosis risk in women. *Brain Commun*. 2020;2(2):fcaa185.

27. Dunn SE, Gunde E, Lee H. Sex-based differences in multiple sclerosis (MS): Part II: Rising incidence of multiple sclerosis in women and the vulnerability of men to progression of this disease. *Curr Top Behav Neurosci*. 2015;26:57-86.
28. MACKAY RP. Multiple Sclerosis in Twins and Their Relatives. *AMA Arch Neurol Psychiatry*. 1958;80(6):667-74.
29. Sadovnick AD, Baird PA, Ward RH. Multiple sclerosis: Updated risks for relatives. *m J Med Genet*. 1988;29(3):533-41.
30. Willer CJ, Dyment DA, Risch NJ, Sadovnick AD, Ebers GC, Paty DW, et al. Twin concordance and sibling recurrence rates in multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(22):12877-82.
31. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet*. 2002; 359(9313):1221-31
32. Gourraud PA, Harbo HF, Hauser SL, Baranzini SE. The genetics of multiple sclerosis: An up-to-date review. *Immunol Rev*. 2012;248(1):87-103.
33. Fernández Ó, Tintoré M, Saiz A, Calles-hernández MC, Comabella M, Ramió-torrentà L, et al. Revision de las novedades del Congreso ECTRIMS 2017, presentadas en la X Reunion Post-ECTRIMS (I) *Rev Neurol*. 2018;67(1):15-27.
34. Goldberg P. Multiple sclerosis: vitamin D and calcium as environmental determinants of prevalence, *International Journal of Environmental Studies*. 1974;6:1,19-27.
35. Kępczyńska K, Zajda M, Lewandowski Z, Przedlacki J, Zakrzewska-Pniewska B. Bone metabolism and vitamin D status in patients with multiple sclerosis. *Neurol Neurochir Pol*. 2016;50(4):251-7.
36. Pandit L, Ramagopalan S v., Malli C, D’Cunha A, Kunder R, Shetty R. Association of vitamin D and multiple sclerosis in India. *Mult Scler*. 2013;19(12):1592-6.
37. Gianfrancesco MA, Stridh P, Rhead B, Shao X, Xu E, Graves JS, et al. Evidence for a causal relationship between low Vitamin D, high BMI, and pediatric-onset MS. *Neurology*. 2017;88(17):1623-1629.
38. Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*. 2004;80(6):1678S-88S.
39. Becklund BR, Severson KS, Vang S v., DeLuca HF. UV radiation suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis independent of vitamin D production. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(14):6418-23.
40. Ascherio A, Munger KL, Simon KC. Vitamin D and multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 2010;9(6):599-612.
41. Bradshaw MJ, Holick MF, Stankiewicz JM. (2020) Vitamin D and Multiple Sclerosis. En: Rizvi S., Cahill J., Coyle P. (eds) *Clinical Neuroimmunology*. Current Clinical Neurology. Humana, Cham. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-3-030-24436-1_10.

42. Dobson R, Giovannoni G, Ramagopalan S. The month of birth effect in multiple sclerosis: Systematic review, meta-analysis and effect of latitude. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2013;84(4):427-32.
43. Guerrero-García JDJ, Carrera-Quintanar L, López-Roa RI, Márquez-Aguirre AL, Rojas-Mayorquín AE, Ortuño-Sahagún D. Multiple Sclerosis and Obesity: Possible Roles of Adipokines. *Mediators Inflamm* [Internet]. 2016 [Consultado 17 Mar 2021];2016:4036232. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2016/4036232>.
44. Colomba P, Zizzo C, Alessandro R, Cammarata G, Scalia S, Giordano A, et al. Fabry disease and multiple sclerosis misdiagnosis: The role of family history and neurological signs. *Oncotarget*. 2018;9(8):7758-7762.
45. Mokry LE, Ross S, Timpson NJ, Sawcer S, Davey Smith G, Richards JB. Obesity and Multiple Sclerosis: A Mendelian Randomization Study. *PLoS Med* [Internet]. 2016 [Consultado 18 Mar 2021];13(6):e1002053. doi: 10.1371/journal.pmed.1002053.
46. Bagur MJ, Antonia Murcia M, Jiménez-Monreal AM, Tur JA, Mar Bibiloni M, Alonso GL, et al. Influence of diet in multiple sclerosis: A systematic review. *Adv Nutr*. 2017;8(3):463-472.
47. Mielcarz DW, Kasper LH. The Gut Microbiome in Multiple Sclerosis. *Curr Treat Options Neurol*. 2015;17(4):344.
48. Heydarpour P, Manouchehrinia A, Beiki O, Mousavi SE, Abdolalizadeh A, Lakeh MM, et al. Smoking and worsening disability in multiple sclerosis: A meta-analysis. *Acta Neurol Scand*. 2018;138(1):62-69.
49. Hachim MY, Elemam NM, Maghazachi AA. The beneficial and debilitating effects of environmental and microbial toxins, drugs, organic solvents and heavy metals on the onset and progression of multiple sclerosis. *Toxins (Basel)*. 2019;11(3):147.
50. Río J, Montalbán X. Descripción actual de la esclerosis múltiple. *Medicina Clinica* [Internet]. 2014 [Consultado 18 Mar 2021];143(S3):3–6. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/S0025-7753\(15\)30002-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0025-7753(15)30002-6).
51. Toussirost E, Béreau M, Vauchy C, Saas P. Could sodium chloride be an environmental trigger for immune-mediated diseases? An overview of the experimental and clinical evidence. *Front Physiol*. 2018;9:440.
52. Wu C, Yosef N, Thalhamer T, Zhu C, Xiao S, Kishi Y, et al. Induction of pathogenic TH 17 cells by inducible salt-sensing kinase SGK1. *Nature*. 2013;496(7446):513-7.
53. Haase S, Wilck N, Kleinewietfeld M, Müller DN, Linker RA. Sodium chloride triggers Th17 mediated autoimmunity. *J Neuroimmunol*. 2019;329:9-13.
54. Ascherio A, Munger KL. Epstein-barr virus infection and multiple sclerosis: A review. *J Neuroimmune Pharmacol*. 2010;5(3):271-7.
55. Makhani N, Banwell B, Tellier R, Yea C, McGovern S, O'Mahony J, et al. Viral exposures and MS outcome in a prospective cohort of children with acquired demyelination. *Mult Scler*. 2016;22(3):385-8.

56. Morandi E, Tanasescu R, Tarlinton RE, Constantinescu CS, Zhang W, Tench C, et al. The association between human endogenous retroviruses and multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One* [Internet]. 2017 [Consultado 18 Mar 2021];12(2):e0172415. doi: 10.1371/journal.pone.0172415.
57. Zivadinov R, Nasuelli D, Tommasi MA, Serafin M, Bratina A, Ukmar M, et al. Positivity of cytomegalovirus antibodies predicts a better clinical and radiological outcome in multiple sclerosis patients. *Neurol Res*. 2006;28(3):262-9.
58. Lublin FD, Reingold SC, Cohen JA, Cutter GR, Soelberg Sørensen P, Alan Thompson DmsJ, et al. VIEWS & REVIEWS Defining the clinical course of multiple sclerosis. *Neurology*. 2014;83(3):278-86.
59. Hospital la Mancha Centro de Alcazar de San Juan, Hospital General de Tomelloso. Guía para el manejo del paciente con Esclerosis Múltiple. Consulta de Neuroinmunología [Internet]. 2019 [Consultado 18 Mar 2021];70. Disponible en: https://www.serviciofarmaciamanchacentro.es/images/stories/recursos/recursos/protocolo/neurologia/gua_esclerosis_mltiple_farmacia_neuro_completa.pdf
60. National Multiple Sclerosis Society. Types of MS. New York. 2020. <http://www.nationalmssociety.org/What-is-MS/Types-of-MS>
61. McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, McFarland HF, Paty DW, Polman CH, Reingold SC, Sandberg-Wollheim M, Sibley W, Thompson A, van den Noort S, Weinshenker BY, Wolinsky JS. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2001 Jul;50(1):121-7.
62. Polman CH, Reingold SC, Edan G, Filippi M, Hartung HP, Kappos L, Lublin FD, Metz LM, McFarland HF, O'Connor PW, Sandberg-Wollheim M, Thompson AJ, Weinshenker BG, Wolinsky JS. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria". *Ann Neurol*. 2005 Dec;58(6):840-6.
63. Polman CH, Reingold SC, Banwell B, Clanet M, Cohen JA, Filippi M, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 Revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol*. 2011;69(2):292-302.
63. Sociedad Española de Neurología. Guía oficial de práctica clínica en esclerosis múltiple [Internet]. Madrid: Qurtuba editores S. L; 2014 [Consultado 18 Marzo 2021]. Disponible en: [Guia_oficial_de_practica_clinica_en_esclerosis_multiple_2014.pdf](#)
64. Barkhof F, Filippi M, Miller DH, Scheltens P, Campi A, Polman CH, et al. Comparison of MRI criteria at first presentation to predict conversion to clinically definite multiple sclerosis. *Brain*. 1997;120 (Pt 11):2059-69.
65. Tintoré M, Rovira A, Martínez MJ, Rio J, Díaz-Villoslada P, Brieva L, et al. Isolated demyelinating syndromes: Comparison of different MR imaging criteria to predict conversion to clinically definite multiple sclerosis. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2000;21(4):702-6.
66. Montalban X, Tintoré M, Swanton J, Barkhof F, Fazekas F, Filippi M, et al. MRI criteria for MS in patients with clinically isolated syndromes. *Neurology*. 2010;74(5):427-34.

67. Swanton JK, Fernando K, Dalton CM, Miszkial KA, Thompson AJ, Plant GT, et al. Modification of MRI criteria for multiple sclerosis in patients with clinically isolated syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2006;77(7):830-3.
68. Swanton JK, Rovira A, Tintore M, Altmann DR, Barkhof F, Filippi M, et al. MRI criteria for multiple sclerosis in patients presenting with clinically isolated syndromes: a multicentre retrospective study. *Lancet Neurol*. 2007;6(8):677-86.
69. Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, Carroll WM, Coetzee T, Comi G, et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurology*. 2018;17(2):162–73.
70. Tintore M, Rovira À, Río J, Otero-Romero S, Arrambide G, Tur C, et al. Defining high, medium and low impact prognostic factors for developing multiple sclerosis. *Brain*. 2015;138(7):1863–74.
71. Huss AM, Halbgebauer S, Öckl P, Trebst C, Spreer A, Borisow N, et al. Importance of cerebrospinal fluid analysis in the era of McDonald 2010 criteria: a German–Austrian retrospective multicenter study in patients with a clinically isolated syndrome. *J Neurol*. 2016;263(12):2499–504.
72. Comabella M, Sastre-Garriga J, Montalban X. Precision medicine in multiple sclerosis: Biomarkers for diagnosis, prognosis, and treatment response. *Curr Opin Neurol*. 2016 Jun;29(3):254-62.
73. Saidha S, Al-Louzi O, Ratchford JN, Bhargava P, Oh J, Newsome SD, et al. Optical coherence tomography reflects brain atrophy in multiple sclerosis: A four-year study. *Ann Neurol*. 2015;78(5):801-13.
74. Olesen MN, Soelberg K, Debrabant B, Nilsson AC, Lillevang ST, Grauslund J, et al. Cerebrospinal fluid biomarkers for predicting development of multiple sclerosis in acute optic neuritis: A population-based prospective cohort study. *J Neuroinflammation*. 2019;16(1):59.
75. A García Merino, J Ramón Ara Callizo, O Fernández Fernández , L Landete Pascual, E Moral Torres, A Rodríguez-Antigüedad Zarrantz. Consenso para el tratamiento de la esclerosis múltiple 2016. *Sociedad Española de Neurología. Neurología*. 2017;32(2):113-119.
76. A. García-Merino, Ó. Fernández, X. Montalbán, C. de Andrés, C. Oreja-Guevara, A. Rodríguez-Antigüedad y T. Arbizu. Documento del Grupo de Consenso de la Sociedad Española de Neurología sobre el uso de medicamentos en esclerosis múltiple. *Neurología*. 2013;28(6):375–8.
77. Salter AR, Tyry T, Vollmer T, Cutter GR, Marrie RA. “Seeing” in NARCOMS: A look at vision-related quality of life in the NARCOMS registry. *Mult Scler*. 2013;19(7):953-60.
78. Donze C, Malapel L. Prise en charge des troubles neurovisuels de la sclérose en plaques. *Lett Med Phys Readapt*. 2010;26(4):175–179.
79. Balcer LJ, Miller DH, Reingold SC, Cohen JA. Vision and vision-related outcome measures in multiple sclerosis. *Brain*. 2015;138(Pt 1):11-27.

80. Burman J, Raininko R, Fagius J. Bilateral and recurrent optic neuritis in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand.* 2011;123(3):207-10.
81. Brodsky M, Nazarian S, Orengo-Nania S, Hutton GJ, Buckley EG, Massey EW, et al. Multiple sclerosis risk after optic neuritis: Final optic neuritis treatment trial follow-up. *Arch Neurol.* 2008;65(6):727-32.
82. Leat SJ, Legge GE, Bullimore MA. What is low vision? A re-evaluation of definitions. *Optom Vis Sci.* 1999;76(4):198-211.
83. Virgo JD, Plant GT. Internuclear ophthalmoplegia. *Pract Neurol.* 2017;17(2):149-153.
84. Young DD. Internuclear ophthalmoplegia. *Clinical Eye and Vision Care.* 1995;7,(1): 39-42.
85. Jasse L, Vukusic S, Durand-Dubief F, Vartin C, Piras C, Bernard M, et al. Persistent visual impairment in multiple sclerosis: Prevalence, mechanisms and resulting disability. *Mult Scler.* 2013;19(12):1618-26.
86. Barr D, Kupersmith MJ, Turbin R, Bose S, Roth R. Isolated sixth nerve palsy: An uncommon presenting sign of multiple sclerosis. *J Neurol.* 2000;247(9):701-4.
87. Barnes D, McDonald WI. The ocular manifestations of multiple sclerosis 2 Abnormalities of eye movements. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1992;55(10):863-8.
88. Nerrant E, Tilikete C. Ocular Motor Manifestations of Multiple Sclerosis. *J Neuroophthalmol.* 2017;37(3):332-340.
89. Ficha técnica fingolimod. 2013;53(9):1689–99.
90. Baldwin KJ, Hogg JP. Progressive multifocal leukoencephalopathy in patients with multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol.* 2013;26(3):318-23.
91. Sood AB, Kumar G, Robinson J. Bilateral acute retinal necrosis in a patient with multiple sclerosis on natalizumab. *J Ophthalmic Inflamm Infect.* 2016;6(1):26.
92. Rios Zuluaga JD, Bettin Torres L, Naranjo Salazar S, Suárez Garavito JA, de Vivero Arciniegas C. Pautas para el examen oftalmológico. Enfoque para el estudiante de medicina y el médico general. *Universitas Médica.* 2017;58(2).
93. Boyd S. Anatomía y Fisiología del vítreo y la retina. En: Ruíz Moreno JM, Arias Barquet L. *Manual de retina SERV [Internet]. Sociedad española de retina y vítreo. Elsevier;2013.[Consultado 18 Mar 2021]. ISBN: 9781473127876.*
94. Solé González L, Abreu González R, Alonso Plasencia M, Abreu Reyes P. Espesor y volumen macular normal, mediante tomografía de coherencia óptica de dominio espectral, en nuestra población de referencia. *Arch Soc Esp Oftalmol.* 2013;88(9):352-8.
95. Pinilla I, Ruiz-Moreno JM, Cuenca N. ARCHIVOS DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE OFTALMOLOGÍA Correlación de la tomografía de coherencia óptica con la histología retiniana. *Arch Soc Esp Oftalmol.* 2012;87(9):275-277.

96. Alonso R, Gonzalez-Moron D, Garcea O. Optical coherence tomography as a biomarker of neurodegeneration in multiple sclerosis: A review. *Mult Scler Relat Disord*. 2018;22:77-82.
97. Satue M, Obis J, Rodrigo MJ, Otin S, Fuertes MI, Vilades E, et al. Optical Coherence Tomography as a Biomarker for Diagnosis, Progression, and Prognosis of Neurodegenerative Diseases. *J Ophthalmol [Internet]*. 2016 [Consultado 18 Mar 2021];2016:8503859. doi: 10.1155/2016/8503859.
98. Manogaran P, Samardzija M, Schad AN, Wicki CA, Walker-Egger C, Rudin M, et al. Retinal pathology in experimental optic neuritis is characterized by retrograde degeneration and gliosis. *Acta Neuropathol Commun*. 2019;7(1):116.
99. Gaetani L, Iaccheri B, Cerquaglia A, Gentili L, Fiore T, di Gregorio M, et al. Visual pathway involvement in multiple sclerosis: Look straight in the eyes. *Mult Scler Relat Disord*. 2017;17:217-219.
100. Green AJ, McQuair S, Hauser SL, Allen I v., Lynedd R. Ocular pathology in multiple sclerosis: Retinal atrophy and inflammation irrespective of disease duration. *Brain*. 2010;133(6):1591-601.
101. Balk LJ, Cruz-Herranz A, Albrecht P, Arnow S, Gelfand JM, Tewarie P, et al. Timing of retinal neuronal and axonal loss in MS: a longitudinal OCT study. *J Neurol*. 2016;263(7):1323–31.
102. Ratchford JN, Saidha S, Sotirchos ES, Oh JA, Seigo MA, Eckstein C, et al. Active MS is associated with accelerated retinal ganglion cell/inner plexiform layer thinning. *Neurology*. 2013;80(1):47–54.
103. Borrelli E, Sarraf D, Freund KB, Sadda SR. OCT angiography and evaluation of the choroid and choroidal vascular disorders. *Prog Retin Eye Res*. 2018;67:30-55.
104. López Martínez F. Estudio de la retina y la coroides mediante tomografía de coherencia óptica, retinografía y autofluorescencia en mujeres con cáncer de mama en tratamiento con tamoxifeno. [Tesis Doctoral]. Moncada (Valencia) : Universidad CEU Cardenal Herrera, Facultad de Ciencias de la Salud: 2017;1–322. Recuperado a partir de: <http://hdl.handle.net/10637/8725>.
105. Viladés E, Palomar AP del, Cegoñino J, Obis J, Satue M, Orduna E, et al. Physiological changes in retinal layers thicknesses measured with swept source optical coherence tomography. *PLoS One [Internet]*. 2020 [Consultado 18 Mar 2021];15(10):e0240441. doi: 10.1371/journal.pone.0240441.
107. Higashiyama T, Nishida Y, Ohji M. Optical coherence tomography angiography in eyes with good visual acuity recovery after treatment for optic neuritis. *PLoS One [Internet]*. 2017[Consultado 18 Mar 2021];13;12(2):e0172168. doi: 10.1371/journal.pone.0172168.
108. Esen E, Sizmaz S, Demir T, Demirkiran M, Unal I, Demircan N. Evaluation of Choroidal Vascular Changes in Patients with Multiple Sclerosis Using Enhanced Depth Imaging Optical Coherence Tomography. *Ophthalmologica*. 2016;235(2):65-71.

109. Laviers H, Zambarakji H. Enhanced depth imaging-OCT of the choroid: a review of the current literature. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2014;252(12):1871-83.
110. Fisher JB, Jacobs DA, Markowitz CE, Galetta SL, Volpe NJ, Nano-Schiavi ML, et al. Relation of visual function to retinal nerve fiber layer thickness in multiple sclerosis. *Ophthalmology*. 2006;113(2):324-32.
111. Gordon-Lipkin E, Chodkowski B, Reich DS, Smith SA, Pulicken M, Balcer LJ, et al. Retinal nerve fiber layer is associated with brain atrophy in multiple sclerosis. *Neurology*. 2007;69(16):1603-9.
112. Garcia-Martin E, Pueyo V, Ara JR, Almarcegui C, Martin J, Pablo L, et al. Effect of optic neuritis on progressive axonal damage in multiple sclerosis patients. *Mult Scler*. 2011;17(7):830-7.
113. Parisi V, Manni G, Spadaro M, Colacino G, Restuccia R, Marchi S, et al. Correlation between morphological and functional retinal impairment in multiple sclerosis patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1999;40(11):2520-7.
114. Lambe J, Murphy OC, Saidha S. Can Optical Coherence Tomography Be Used to Guide Treatment Decisions in Adult or Pediatric Multiple Sclerosis? *Curr Treat Options Neurol*. 2018;20(4):9.
115. Chavis PS. Multiple Sclerosis: Current Status and Strategies for the Future. *J Neuroophthalmol*. 2004;24(2):179.
116. Satue M, Rodrigo MJ, Otin S, Bambo MP, Fuertes MI, Ara JR, et al. Relationship between visual dysfunction and retinal changes in patients with multiple sclerosis. *PLoS One* [Internet]. 2016 [Consultado 18 Mar 2021];11(6):e0157293. doi: 10.1371/journal.pone.0157293.
117. Martinez-Lapiscina EH, Arnow S, Wilson JA, Saidha S, Preiningerova JL, Oberwahrenbrock T, et al. Retinal thickness measured with optical coherence tomography and risk of disability worsening in multiple sclerosis: A cohort study. *Lancet Neurology*[Internet].2016[Consultado 18 Mar 2021];15(6):574–84.Available from: doi: 10.1016/S1474-4422(16)00068-5.
118. London A, Benhar I, Schwartz M. The retina as a window to the brain - From eye research to CNS disorders. *Nat Rev Neurol*. 2013;9(1):44-53.
119. Garcia-Martin E, Ara JR, Martin J, Almarcegui C, Dolz I, Vilades E, et al. Retinal and Optic Nerve Degeneration in Patients with Multiple Sclerosis Followed up for 5 Years. *Ophthalmology*. 2017;124(5):688-696.
120. Carcelén-Gadea M, Quintanilla-Bordás C, Gracia-García A, García-Villanueva C, Jannone-Pedro N, Álvarez-Sánchez L, et al. Functional and structural changes in the visual pathway in multiple sclerosis. *Brain Behav*[Internet].2019[Consultado 18 Mar 2021];9(12):e01467. doi: 10.1002/brb3.1467.
121. Henderson APD, Trip SA, Schlottmann PG, Altmann DR, Garway-Heath DF, Plant GT, et al. A preliminary longitudinal study of the retinal nerve fiber layer in progressive multiple sclerosis. *J Neurol*. 2010;257(7):1083-91.

122. Oreja-Guevara C, Noval S, Manzano B, Diez-Tejedor E. Optic neuritis, multiple sclerosis-related or not: Structural and functional study. *Neurología (English Edition)*. 2010;25(2):78-82.
123. Graham EC, You Y, Yiannikas C, Garrick R, Parratt J, Barnett MH, et al. Progressive Loss of Retinal Ganglion Cells and Axons in Nonoptic Neuritis Eyes in Multiple Sclerosis: A Longitudinal Optical Coherence Tomography Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016;57(4):2311-7.
124. Saidha S, Syc SB, Ibrahim MA, Eckstein C, Warner C v., Farrell SK, et al. Primary retinal pathology in multiple sclerosis as detected by optical coherence tomography. *Brain*. 2011;134(Pt 2):518-33.
125. González-López JJ, Rebolleda G, Leal M, Oblanca N, Muñoz-Negrete FJ, Costa-Frossard L, et al. Comparative diagnostic accuracy of ganglion cell-inner plexiform and retinal nerve fiber layer thickness measures by Cirrus and spectralis optical coherence tomography in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Biomed Res Int [Internet]* 2014 [Consultado 18 Mar 2021];2014:128517. doi: 10.1155/2014/128517.
126. Klistorner A, Arvind H, Garrick R, Graham SL, Paine M, Yiannikas C. Interrelationship of optical coherence tomography and multifocal visual-evoked potentials after optic neuritis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51(5):2770-7.
127. Laron M, Cheng H, Zhang B, Schiffman JS, Tang RA, Frishman LJ. Assessing visual pathway function in multiple sclerosis patients with multifocal visual evoked potentials. *Mult Scler*. 2009;15(12):1431-41.
128. Hirata M, Tsujikawa A, Matsumoto A, Hangai M, Ooto S, Yamashiro K, et al. Macular choroidal thickness and volume in normal subjects measured by swept-source optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(8):4971-8.
129. Copete S, Flores-Moreno I, Montero JA, Duker JS, Ruiz-Moreno JM. Direct comparison of spectral domain and swept-source OCT in the measurement of choroidal thickness in normal eyes. *r J Ophthalmol*. 2014;98(3):334-8.
130. Adhi M, Liu JJ, Qavi AH, Grulkowski I, Lu CD, Mohler KJ, et al. Choroidal analysis in healthy eyes using swept-source optical coherence tomography compared to spectral domain optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol*. 2014;157(6):1272-1281.e1.
131. Park HYL, Shin HY, Park CK. Imaging the posterior segment of the eye using swept-source optical coherence tomography in myopic glaucoma eyes: Comparison with enhanced-depth imaging. *Am J Ophthalmol*. 2014;157(3):550-7.
132. Banitt M. The choroid in glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol*. 2013;24(2):125-9.
133. Abegão Pinto L, Willekens K, van Keer K, Shibesh A, Molenberghs G, Vandewalle E, et al. Ocular blood flow in glaucoma – the Leuven Eye Study. *Acta Ophthalmol*. 2016;94(6):592-8.
134. Ehrlich JR, Peterson J, Parlitsis G, Kay KY, Kiss S, Radcliffe NM. Peripapillary choroidal thickness in glaucoma measured with optical coherence tomography. *Exp Eye Res*. 2011;92(3):189-94.

135. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: An expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*. 1983;33(11):1444-52.
136. Moraleda Borlado A, González Martínez F, Encabo Solanas T, Navarro Gutiérrez S. Escalas clínicas en pacientes con esclerosis múltiple en atención primaria. [Clinical scales in patients with multiple sclerosis in primary care]. *Aten Primaria*. 2003;32(10):604-5.
137. Bailey IL, Lovie-Kitchin JE. Visual acuity testing. From the laboratory to the clinic. *Vision Res*. 2013;90:2-9.
138. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Design and Baseline Patient Characteristics: ETDRS Report Number 7. *Ophthalmology*. 1991;98(5):741-56.
139. Bailey IL, Lovie JE. New design principles for visual acuity letter charts. *Am J Optom Physiol Opt*. 1976;53(11):740-5.
140. Owsley C, Sloane ME. Contrast sensitivity, acuity, and the perception of "real-world" targets. *Br J Ophthalmol*. 1987;71(10):791-6.
141. Lara M. Resultados del test de sensibilidad al contraste Pelli-Robson en la población sin patología oftalmológica.[Trabajo fin de grado].Universidad politécnica de Catalunya. Facultad de óptica y optimetría de Terrasa: 2015;1. Recuperado a partir de: <http://hdl.handle.net/2117/89732>.
142. Kaur M, Saxena R, Singh D, Behari M, Sharma P, Menon V. Correlation between structural and functional retinal changes in Parkinson disease. *J Neuroophthalmol*. 2015;35(3):254-8.
143. Polo V, Satue M, Rodrigo MJ, Otin S, Alarcia R, Bambo MP, et al. Visual dysfunction and its correlation with retinal changes in patients with Parkinson's disease: An observational cross-sectional study. *BMJ Open* [Internet]. 2016[Consultado 18 Mar 2021];6(5):e009658. doi: 10.1136/bmjopen-2015-009658.
144. Almog Y, Nemet A. The Correlation Between Visual Acuity and Color Vision as an Indicator of the Cause of Visual Loss. *Am J Ophthalmol*. 2010;149(6):1000-4.
145. Grigsby SS, Vingrys AJ, Benes SC, King-Smith PE. Correlation of chromatic, spatial, and temporal sensitivity in optic nerve disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1991 Dec;32(13):3252-62.
146. Bowman KJ. A method for quantitative scoring of the Farnsworth Panel D-15. *Acta Ophthalmol(Copenh)*. 1982;60(6):907-16.
147. Vingrys AJ, King-Smith PE. A quantitative scoring technique for panel tests of color vision. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1988;29(1):50-63.
148. Johnson CA, Wall M, Thompson HS. A history of perimetry and visual field testing. *Optom Vis Sci*. 2011;88(1):E8-15.
149. Kedar S, Ghate D, Corbett JJ. Visual fields in neuro-ophthalmology. *Indian J Ophthalmol*. 2011;59(2):103-9.

150. Ayuso T, Aliseda D, Ajuria I, Zandío B, Mayor S, Navarro MC. Neuritis óptica inflamatoria [Inflammatory optic neuritis]. *An Sist Sanit Navar*. 2009;32(2):249-63.
151. Molina N, Milla E, Bitrian E, Larena C, Martínez L. Comparación del tonómetro de Goldmann, neumotonómetro de contacto y el efecto del grosor corneal [Comparison of Goldmann tonometry, pneumotonometry and the effect of the central corneal thickness]. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2010;85(10):325-8.
152. Honan González A, Herrera Hernández N, Darias Rendón G. Tonometría neumática vs tonometría aplanación, en sospechosos de glaucoma. *Med. Electrón*. [Internet]. 2011 [citado 17 Mar 2021]; 33(6):[aprox. 6 p.]. Disponible en: <http://www.revmedicaelectronica.sld.cu/index.php/rme/article/view/880>.
153. Griño C, Lugo Quintas F, León M, Ruiz Moreno JM, Ligeró S, Montero Moreno J. Tomografía de Coherencia Óptica (OCT) Funcionamiento y utilidad en patología macular (I). *Gaceta Optica*. 2008;427(1):12-4.
154. Tewarie P, Balk L, Costello F, Green A, Martin R, Schippling S, et al. The OSCAR-IB consensus criteria for retinal OCT quality assessment. *PLoS One*[Internet]. 2012[Consultado 18 Mar 2021];7(4):e34823. doi: 10.1371/journal.pone.0034823.
155. Obis Alfaro J, Martín G. Alteraciones de la función visual y la estructura neuroretiniana en la Enfermedad de Parkinson. [Tesis Doctoral]. Zaragoza:Universidad de Zaragoza; 2019. Recuperado a partir de: zaguan.unizar.es/record/79386/files.
156. Martín EG, Lázaro IF, Tirado FJF, Júlvez LEP. Usefulness of the new Spectral-Domain Optical Coherence Tomography (SD-OCT) devices in the study of degenerative dementias. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2011;86(11):347-50.
157. Garcia-Martin E, Pueyo V, Almarcegui C, Martín J, Ara JR, Sancho E, et al. Risk factors for progressive axonal degeneration of the retinal nerve fibre layer in multiple sclerosis patients. *Br J Ophthalmol*. 2011;95(11):1577-82.
158. Satue M, Obis J, Alarcía R, Orduna E, Rodrigo MJ, Vilades E, et al. Retinal and Choroidal Changes in Patients with Parkinson's Disease Detected by Swept-Source Optical Coherence Tomography. *Curr Eye Res*. 2018;43(1):109-115.
159. Rodríguez-Mena D, Almarcegui C, Dolz I, Herrero R, Bambo MP, Fernández J, et al. Electropysiological evaluation of the visual pathway in patients with multiple sclerosis. *J Clin Neurophysiol*. 2013;30(4):376-81.
160. Owidzka M, Wilczynski M, Omulecki W. Evaluation of contrast sensitivity measurements after retrobulbar optic neuritis in Multiple Sclerosis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2014;252(4):673-7.
161. Chen FK, Yeoh J, Rahman W, Patel PJ, Tufail A, da Cruz L. Topographic variation and interocular symmetry of macular choroidal thickness using enhanced depth imaging optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(2):975-85.
162. Ikuno Y, Tano Y. Retinal and choroidal biometry in highly myopic eyes with spectral-domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009;50(8):3876-80.

163. Tan CS, Ouyang Y, Ruiz H, Sadda SR. Diurnal variation of choroidal thickness in normal, healthy subjects measured by spectral domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012;53(1):261-6.
164. Mandal P, Gupta A, Fusi-Rubiano W, Keane PA, Yang Y. Fingolimod: Therapeutic mechanisms and ocular adverse effects. *Eye (Lond).* 2017;31(2):232-240.
165. Liu L, Cuthbertson F. Early bilateral cystoid macular oedema secondary to fingolimod in multiple sclerosis. *Case Rep Med[Internet].* 2012[Consultado 18 Mar 2021];2012:134636. doi: 10.1155/2012/134636.
166. Rodriguez-Mena D, Almarcegui C, Dolz I, Pablo LE, Garcia-Martin E. Application of electrophysiological tests in the study of neurological diseases with visual involvement. *Arch Soc Esp Oftalmol.* 2012;87(10):311-4.
167. Boxer Wachler BS, Krueger RR. Normalized contrast sensitivity values. *J Refract Surg.* 1998;14(4):463-6.

13. APÉNDICES

Apéndice I. Factor de impacto de las revistas y áreas temáticas.

Functional evaluation of the visual pathway in patients with multiple sclerosis using a multifunction stimulator monitor. Satue M, Jarauta L, Obis J, Cipres M, Rodrigo MJ, Almarcegui MC, Dolz I, Ara JR, Martin J, Pablo LE, Garcia-Martin E.

Revista: Journal of Ophthalmology.

ISSN: 2090-004X.

Índice de impacto (JCR 2019): 1.447.

Área temática de la revista: Oftalmología.

Posición entre las revistas de oftalmología en el JCR 2018: 41/60 (Q3).

Abilify of swept-source optical coherence tomography of detect reinal and choroidal changes in patients with multiple sclerosis. Garcia-Martin E, Jarauta L, Vilades E, Ara JR, Martin J, Polo V, Larrosa JM, Pablo LE, Satue M.

Revista: Journal of Ophthalmology.

ISSN: 2090-004X.

Índice de impacto (JCR 2018): 1.580.

Área temática de la revista: Oftalmología.

Posición entre las revistas de oftalmología en el JCR 2017: 39/60 (Q3).

Changes in Peripapillary Choroidal Thickness in Patients with Multiple Sclerosis. Garcia-Martin E, Jarauta L, Pablo LE, Bambo MP, Ara JR, Martin J, Polo V, Larrosa JM, Vilades E, Ramirez T, Satue M.

Revista: Acta Ophthalmologica.

ISSN: 1755-375X.

Índice de impacto (JCR 2019): 3.362.

Área temática de la revista: Oftalmología.

Posición entre las revistas de oftalmología en el JCR 2019: 11/60 (Q1).

Progressive Functional and Neuro-retinal Affectation in Multiple Sclerosis Patients Treated with Fingolimod. Garcia-Martin E, Ruiz de Gopegui E, Satue M, Gil-Arribas L, Jarauta L, Ara JR, Martin J, Fernandez FJ, Vilades E, Rodrigo MJ.

Revista: Journal of neuro-ophthalmology 2020, in press.

ISSN: 1070-8022.

Índice de impacto (JCR 2019): 2.513.

Área temática de la revista: Oftalmología.

Posición entre las revistas de oftalmología en el JCR 2017: 21/60 (Q2).

Apéndice II. Renuncia de los coautores no doctores a usar el artículo en su propia tesis doctoral.




Escuela de Doctorado
Universidad Zaragoza

**RENUNCIA DE LOS COAUTORES DE LOS TRABAJOS PRESENTADOS
COMO PARTE DE UNA TESIS DOCTORAL EN LA MODALIDAD DE
COMPENDIO DE PUBLICACIONES**

| 1.- Datos personales del coautor | | |
|----------------------------------|---------------------|---|
| Apellidos: Ciprés Alastuey | Nombre: Marta | |
| DNI/Pasaporte/NIE: 18453783 D | Teléfono: 639960074 | Correo electrónico: martacipres90@gmail.com |

| 2.- Tesis Doctoral |
|--|
| Título: ESTUDIO DE LOS CAMBIOS ESTRUCTURALES Y FUNCIONALES EN RETINA Y COROIDES EN PACIENTES CON ESCLEROSIS MÚLTIPLE MEDIANTE TECNOLOGÍA DE ÚLTIMA GENERACIÓN. |
| Autor: Laura Jaruta Lahoz |
| Programa de doctorado: MEDICINA |

| 3.- Publicaciones que formarán parte de la tesis y de las que el firmante es coautor |
|---|
| Functional Evaluation of the Visual Pathway in Patients with Multiple Sclerosis Using a Multifunction Stimulator Monitor. Satue M, Jarauta L, Obis J, Ciprés M, Rodrigo MJ, Almarcegui MC, Dolz I, Ara J.R, Martín J, Pablo L.E, García-Martin E. J Ophthalmol. 2019 Sep 18;2019:2890193. doi:10.1155/2019/2890193. |

| RENUNCIA: |
|---|
| Renuncio a que las publicaciones anteriores puedan ser presentadas como parte de otra tesis doctoral en la modalidad de compendio de publicaciones. |
| <lugar>, <fecha> Zaragoza 26/02/2021 |
| Firma:  |

Conforme a lo dispuesto en la legislación vigente (Reglamento (UE) 2016/679, de 27 de abril), de protección de datos de carácter personal, le informamos que sus datos pasarán a ser tratados por la Universidad de Zaragoza con la finalidad de tramitar la gestión académica y administrativa de sus estudiantes, así como su participación en actividades y servicios universitarios. Puede ejercer sus derechos de acceso, rectificación, limitación, oposición o portabilidad ante el Gerente de la UZ.

Apéndice III. Consentimientos.

Evaluación de los tratamientos para la Esclerosis Múltiple empleando el análisis periódico de la capa de fibras nerviosas de la retina como marcador de degeneración axonal.

Versión 2, fecha de 12/Febrero/2012.

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

Se le va a realizar una evaluación de su función visual para valorar si se encuentra afectada como consecuencia de la degeneración neuronal que aparece de modo subagudo a lo largo de la evolución de la enfermedad de Esclerosis Múltiple. Con el objetivo de mejorar continuamente la calidad asistencial a los pacientes, los Servicios de Oftalmología, Neurología y Neurofisiología del Hospital Miguel Servet de Zaragoza están desarrollando un estudio de investigación en que se pretende cuantificar la afectación visual de pacientes que como usted padecen Esclerosis Múltiple y determinar si dicha evaluación puede ser útil como marcador de progresión de la enfermedad y de respuesta a los tratamientos administrados.

Para ello se le llevarán a cabo las exploraciones enumeradas a continuación: agudeza visual (que consiste en cuantificar cuántas letras puede usted discriminar a 6 metros de distancia), sensibilidad al contraste (que consiste en cuantificar cuántas letras puede usted discriminar a 1 metro de distancia variando la luminosidad de las letras), visión de colores (que consiste en cuantificar si es capaz de distinguir los colores entre si), Tomografía de coherencia óptica (que consiste en una fotografía del ojo que nos permite observar sus estructuras), Potenciales evocados visuales y Electro-retinograma (que son dos pruebas en las que usted deberá mirar un punto fijo en una pantalla mientras le registramos su actividad cerebral con un casco colocado sobre su cabeza). Todas estas exploraciones son no invasivas ni dolorosas y se llevarán a cabo en las consultas externas del Hospital Miguel Servet, en una revisión a cargo del Servicio de Oftalmología y otra del Servicio de Neurofisiología. Estas pruebas nos permiten evaluar el estado de su sistema visual y detectar la presencia de patologías del mismo en caso de que existan, posibilitando así su posterior tratamiento si se considerara adecuado.

Su participación en este estudio no implica la realización de exploraciones complementarias que no le serían realizadas en caso de no participar en el mismo, sino la aceptación de que, de modo absolutamente confidencial, sean recogidos y utilizados los resultados de sus exploraciones con el objetivo de dicho proyecto de investigación. Su participación es voluntaria y puede abandonar el estudio en el momento en que lo decida, sin que esto tenga repercusión alguna en su atención sanitaria futura.

El equipo investigador encargado de dicho estudio serán las doctoras Elena García Martín y Raquel Herrero Latorre, oftalmólogas del Hospital Miguel Servet de Zaragoza; con las que podrá contactar a lo largo del estudio en cualquier momento que así lo desee, acudiendo al servicio de oftalmología de dicho hospital.

Evaluación de los tratamientos para la Esclerosis Múltiple empleando el análisis periódico de la capa de fibras nerviosas de la retina como marcador de degeneración axonal.
Versión 2, fecha de 12/Febrero/2012.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del proyecto: “Evaluación de los tratamientos para la Esclerosis Múltiple empleando el análisis periódico de la capa de fibras nerviosas de la retina como marcador de degeneración axonal.”

Yo, (nombre y apellidos) he leído la hoja de información que se me ha entregado, he podido hacer preguntas sobre el estudio, habiendo recibido suficiente información sobre el estudio.

Comprendo que mi participación es voluntaria y que puedo retirarme del estudio en el momento en que lo desee, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

De este modo, presto libremente mi conformidad para participar en el estudio y para que mis datos clínicos sean revisados para los fines del mismo, consciente de que este consentimiento es revocable.

Firma del paciente

DNI:

Fecha:

Como investigador del estudio he explicado la naturaleza y el propósito del mismo al paciente mencionado.

Firma del investigador

Nº Colegiado:

Fecha:

Apéndice IV. Documentación del Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón (CEICA).



Informe Dictamen Favorable
Proyecto Investigación Biomédica

C.P. - C.I. PI12/0015

15 de febrero de 2012

/CEIC Aragón (CEICA)

Dña. María González Hinjos, Secretaria del CEIC Aragón (CEICA)

CERTIFICA

1º. Que el CEIC Aragón (CEICA) en su reunión del día 15/02/2012, Acta Nº 03/2012 ha evaluado la propuesta del investigador referida al estudio:

Título: Evaluación de los tratamientos para la Esclerosis Múltiple y de su impacto sobre la calidad de vida del paciente mediante el análisis periódico de la capa de fibras nerviosas de la retina.

Versión Protocolo: 2011

Versión hoja de información al paciente y consentimiento informado

V2, de 12/02/2012

1º. Considera que

- El proyecto se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y su realización es pertinente.
- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.
- La capacidad de los Investigadores y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

2º. Por lo que este CEIC emite un **DICTAMEN FAVORABLE**.

3º. Este CEIC acepta que dicho estudio sea realizado en los siguientes Centros por los Investigadores:

Luis Emilio Pablo Júlvez

Lo que firmo en Zaragoza, a 15 de febrero de 2012

Fdo:

Dña. María González Hinjos
Secretaria del CEIC Aragón (CEICA)

Departamento de Salud y Consumo del Gobierno de Aragón
Avda Gómez Laguna 25 Zaragoza 50009 Zaragoza España

Página 1 de 1

Tel. 976 71 48 57 Fax. 976 71 55 54 Correo electrónico mgonzalezh.ceic@aragob.es

COMPOSICIÓN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE ARAGÓN

Dra. María González Hinjos, Secretaria del Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón,

CERTIFICA

1º En la reunión celebrada el día 15 de febrero de 2012, correspondiente al Acta nº CP03/2012, se cumplieron los requisitos establecidos en la legislación vigente -Real Decreto 223/2004 y Decreto 26/2003 del Gobierno de Aragón, modificado por el Decreto 292/2005- para que la decisión del citado CEIC sea válida.

3º El CEIC de Aragón, tanto en su composición, como en sus PNT, cumple con las normas de BPC.

4º La composición del CEIC de Aragón en la citada fecha, era la siguiente:

- **Presidente:** Cesar Loris Pablo; Médico. Servicio de Pediatría. Hospital Universitario Miguel Servet. Representante de Comisión de Investigación.
- **Vicepresidente:** Carlos Aibar Remón; Médico. Servicio de Medicina Preventiva y Salud Pública. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Profesional Sanitario experto en epidemiología clínica.
- **Secretaria:** María González Hinjos; Farmacéutica.
- Pilar Comet Cortés; Enfermera. Unidad Mixta de Investigación. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa.
- Marina Heredia Ríos; Representante de las Organizaciones de Consumidores y Usuarios.
- Gabriel Hernández Delgado; Médico. Servicio de Radiología. Hospital Universitario Miguel Servet. Representante de Comisión de Investigación.
- Angela Idoipe Tomás; Farmacéutica. Servicio de Farmacia. Hospital Universitario Miguel Servet. Farmacéutica de Hospital.
- María Jesús Lallana Álvarez. Farmacéutica de Atención Primaria de Zaragoza Sector III.
- Jesús Magdalena Bello; Médico. Centro de Salud de Azuara. Médico con labor asistencial y representante del Comité de Ética Asistencial del Área de Atención Primaria II y V.
- Mariano Mateo Arrizabalaga; Médico. Servicio de Farmacología Clínica. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa.
- Elisa Moreu Carbonell; Jurista. Profesora de la Facultad de Derecho, Universidad de Zaragoza.
- Javier Perfecto Ejarque; Médico. Centro de Salud Arrabal. Médico con labor asistencial.
- Alexandra Prados Torres; Médico. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud. Representante de Comisión de Investigación.
- José Puzo Foncillas; Médico. Servicio de Bioquímica. Hospital General San Jorge. Representante de Comisión de Investigación.
- Mónica Torrijos Tejada; Médico. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud.

Para que conste donde proceda, y a petición del promotor,

Zaragoza, a 15 de febrero de 2012


Firmado: María González Hinjos

