



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Anàlisi del dany de la via visual i la seva associació amb la discapacitat en les malalties inflamatòries desmielinitzants del sistema nerviós central

Salut Alba Arbalat

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

Tesi doctoral

**Anàlisi del dany de la via visual i la seva
associació amb la discapacitat en les
malalties inflammatòries desmielinitzants del
sistema nerviós central**

Salut Alba Arbalat

Dirigida per:
Sara Llufríu Duran

Dirigida i tutoritzada per:
Bernardo Sanchez Dalmau

Setembre 2024

ANÀLISI DEL DANY DE LA VIA VISUAL I LA SEVA ASSOCIACIÓ AMB LA DISCAPACITAT EN LES MALALTIES INFLAMATÒRIES DESMIELINITZANTS DEL SISTEMA NERVIÓS CENTRAL

Memòria de tesi doctoral presentada per Salut Alba Arbalat per a optar al grau de doctora per la Universitat de Barcelona.

Dirigida per Sara Llufríu Duran, especialista en neurologia de l'Hospital Clínic Barcelona i cap del grup d'imatge avançada en malalties neuroimmunològiques de l'IDIBAPS i Bernardo F. Sanchez Dalmau, professor associat d'Oftalmologia a la Universitat de Barcelona i cap de servei d'Oftalmologia de l'Hospital Clínic de Barcelona.

Tutoritzada per Bernardo F. Sanchez Dalmau, professor associat d'Oftalmologia a la Universitat de Barcelona i cap de servei d'Oftalmologia de l'Hospital Clínic de Barcelona.

Programa de Doctorat Medicina i Recerca Translacional.

Facultat de Medicina i Ciències de la Salut. Universitat de Barcelona.

Setembre de 2024



UNIVERSITAT DE
BARCELONA



AGRAÏMENTS:

Aquesta tesi ha estat possible gràcies al treball col·laboratiu de tot l'equip ImaginEM i del grup d'estudi de les neuritis òptiques agudes al llarg dels anys. I que té els seus orígens al Laboratori de la Via Visual als departaments d'oftalmologia i neurologia de l'Hospital Clínic de Barcelona.

Vull expressar el meu agraïment en especial als directors de tesi:

Sara Llufríu per la seva orientació i guia, així com per la seva visió crítica i enfocament en la millora i el creixement continuat. Per la seva ment desperta que ha permès encaixar un treball com aquest i la seva dedicació infinita.

Bernardo Sanchez Dalmau per acollir-me a l'equip de neurooftalmologia i ajudar-me en la formació d'aquesta especialitat, amb un mestratge i una confiança admirable.

A tot l'equip ImaginEM. Especialment a l'Elisabeth Solana per acompanyar-me i guiar-me al llarg de tot el procés d'aprenentatge de manera incondicional i amb un esforç innegable, a partir dels seus comentaris crítics sempre d'elevada qualitat i positivitat. A l'Elisabet Lopez-Soley per donar-me l'oportunitat de profunditzar en l'aprenentatge de les valoracions cognitives. I també a la resta de l'equip, l'Eloy Martínez-Heras, l'Alberto Calvi, el Francesc Vivó i la Laura Planas per la seva feina i recolzament. També a la resta de l'equip de l'Hospital Clínic, la Yolanda Blanco, la Maria Sepúlveda, el Jose Maria Cabrera, l'Albert Saiz, l'Ana Hernando i la Montse Artola entre altres, pel seu suport. I a l'antic grup del laboratori de la via visual, el Magí Andorrà i la Irene Pulido per acompanyar-me en aquells primers moments.

Als companys de l'Institut Clínic d'Oftalmologia de l'Hospital Clínic (ICOF) així com a l'equip d'especialistes de neurooftalmologia Marina Dotti i Rafel Alcubierre, i especialment a l'Anna Camós per la seva ajuda en aquest treball i en la resta de feines en les quals col·laborem de manera continuada amb extrema facilitat.

A l'Elena H. Martinez-Lapiscina i al Pablo Villoslada per donar-me l'oportunitat de formar part del Laboratori de la Via Visual i començar un nou camí cap a la recerca.

A l'equip de l'Institut Oftalmològic del Pilar. El Marc Rubio, Guillermo Roca, Ramon Hirujo, Jaume Català, Octavi Pujol, Sílvia Sanz, Estefania Cobos, Jorge Loscos, Joan Prat, Enric Puigventós, Rosa Navarro i a la resta de companys i companyes que hem treballat plegats durant molts anys. Per permetre'm canviar de perspectiva professional endinsant-me en el món de l'optometria clínica, generosos en compartir els seus coneixements em van ajudar a fer un gran pas a la meua carrera professional.

Als meus companys i amics que han seguit l'evolució i els girs de guió realitzats al llarg de la vida tant a nivell personal com professional: Eulàlia Sánchez, Sandra Barroso, Gemma Mompart, Lúdia Orts i Sílvia Villanueva, entre altres, que m'han acompanyat i ajudat a ser qui soc.

A la Família. Al Lluís: per la seva capacitat crítica i de superació. Per la seva perseverança. Que va marxar massa aviat i encara el trobo a faltar. En aquell moment, tot just quan finalitzava la carrera no ens podíem imaginar que arribaria a fer un treball com aquest. A la Mare: a qui la vida va obligar a sumar un nou rol, passant de la música i els jocs a afegir-hi la força davant la pèrdua. Augmentant la crítica racional, l'esforç continuat i l'escolta activa. L'Ernest i l'Eulàlia, la Prado, el Paco, el Ferran, l'Ariadna, el Lluís Arnau, el Lluís i l'Armand. Que m'han atès amb interès i segueixen al meu costat.

També a l'Ignasi, al Lluc i la Noa per l'ajuda continuada, que sempre hi són i que quan necessito ajuda per petita que sigui sempre em donen la millor solució, des de fer un currtmetratge fins a la portada d'aquest mateix treball.

I, per acabar, el meu sincer agraïment a tots els pacients, als que poden participar en els estudis i regalen el seu temps, però també als que no poden fer-ho. Totes aquestes persones que conviuen amb la malaltia i em mostren una nova perspectiva de la vida que m'ajuda a millorar.

FINANÇAMENT

Els treballs que formen part han estat finançats per l'Instituto Carlos III (ISCIII) i cofinançats per la Unió Europea a través del Pla Estatal de Recerca Científica i Tècnica i d'Innovació (FEDER) 2015-2024 a partir dels projectes PI15/00587 concedit a Sara Llufríu (SL) i Albert Saiz (AS), PI15/00061 a Pablo Villoslada (PV), PI18/01030 a SL i AS, PI21/01189 a SL i AS, JR16/00006; MV17/00021; PI17/01228 a Elena H. Martínez-Lapiscina (EHML); FI16/00168 a PV i PI20/01236 a Bernardo F. Sánchez Dalmau (BFSD). Per la Red Española de Esclerosis Múltiple (REEM) els projectes RD16/0015/0002 i RD16/0015/0003, pel programa CERCA de la Generalitat de Catalunya a PV, per TEVA Spain, Bristol-Myers Squibb, per les Ayudas Merck de Investigación 2017 de la Fundació Merck Salut i el Projecte Societat Catalana de Neurologia 2017. Per l'MS Innovation GMSI, 2016 a EHML i la Fundació La Marató de TV3 (20142030 a EHML).

TAULA DE CONTINGUTS

LLISTAT DE FIGURES.....	10
LLISTAT DE TAULES	12
ABREVIATURES I ACRÒNIMS:.....	13
ENUMERACIÓ D'ARTICLES DE LA TESI	17
RESUM DE LA TESI.....	18
I. INTRODUCCIÓ.....	21
1. Malalties inflamatòries desmielinitzants del sistema nerviós central.....	22
1.1. Esclerosi Múltiple.....	23
1.1.1. Prevalença	24
1.1.2. Fisiopatologia.....	25
1.1.3. Expressivitat clínica de la malaltia: brots i progressió.	27
1.1.4. Escales de discapacitat física. Mesura EDSS i MSFC.	32
1.1.5. Discapacitat cognitiva.....	34
1.1.6. Tractaments.....	37
1.1.7. Ressonància magnètica	38
1.2 Neuritis òptica aguda	44
1.2.1. Neuritis òptica associada a l'esclerosi múltiple.	46
1.2.2. Neuritis associada a malaltia de l'espectre de neuromielitis òptica	48
1.2.3. Neuritis associada a la malaltia associada als anticossos contra la glicoproteïna de l'oligodendrocit.	49
1.2.4. NOA idiopàtica	50
1.2.5. Característiques dels diferents tipus de neuritis òptiques agudes.	51

2.	Estudi de la via visual	52
2.1	Proves funcionals de la visió.....	54
2.2	Tomografia de coherència òptica (OCT)	61
2.3	Potencials evocats visuals	65
2.4	Qualitat de vida percebuda en relació amb la qualitat de la visió	66
2.5	Espectroscòpia Raman.....	67
2.6	Resultats de les proves visuals a les malalties inflamatòries desmielinitzants del sistema nerviós central.	72
2.6.1.	Esclerosi múltiple	72
2.6.2.	Neuritis òptica aguda en el context d'altres malalties desmielinitzants	79
II.	HIPÒTESI	81
III.	OBJECTIUS.....	83
IV.	MATERIAL, MÈTODES I RESULTATS	85
	Treball 1: In Vivo Molecular Changes in the Retina of Patients With Multiple Sclerosis.	86
	Treball 2: Visual function after optic neuritis depends on the retina and the visual network damage and recovery.	105
	Treball 3: Predictive value of retinal atrophy for cognitive decline across disease duration in multiple sclerosis.	133
V.	DISCUSSIÓ.....	143
VI.	CONCLUSIONS	155
VII.	BIBLIOGRAFIA.....	157

LLISTAT DE FIGURES

Figura 1. Prevalença a escala mundial de persones amb esclerosi múltiple	24
Figura 2. Evolució de l'esclerosi múltiple en les seves formes clíniques en relació amb els brots i amb la discapacitat	28
Figura 3. Mecanismes pels quals s'assoleix la discapacitat	29
Figura 4. Rangs d'afectació del pacient en funció del grau de discapacitat (EDSS).....	33
Figura 5. Evolució de la cognició i dels diferents dominis cognitius en funció de la durada de la malaltia en persones amb esclerosi múltiple.....	35
Figura 6. Dinàmica de la pèrdua de volum cerebral en pacients amb esclerosi múltiple	38
Figura 7. Esquema de xarxa neural a partir de nodes i línies de corrent.....	40
Figura 8. Imatge de la via visual.....	53
Figura 9. Fracció d'Snellen	55
Figura 10. Test d'agudes visual ETDRS	56
Figura 11. Relació de la sensibilitat al contrast amb la freqüència espacial	56
Figura 12. Patrons de pèrdua de sensibilitat al contrast en relació amb les freqüències espacials.....	57
Figura 13. Optotips de baix contrast en relació amb la freqüència espacial	58
	10

Figura 14. Test d'agudesia visual de baix contrast, làmina Sloan 2,5%	58
Figura 15. Exemple de làmina pseudoisocromàtica en el test HRR	59
Figura 16. Camp visual dins els límits de la normalitat	60
Figura 17. Tomografia de coherència òptica macular, capes i esquema neuronal	62
Figura 18. Tomografia de coherència òptica papil·lar amb valors dins la normalitat d'un pacient amb esclerosi múltiple.....	64
Figura 19. Potencials evocats visuals multifocals en una persona sana.....	65
Figura 20. Espectre Raman pel lactat.....	67
Figura 21. Diferència de la pRNFL en diferents moments de la neuritis òptica aguda	72
Figura 22. Comparativa de potencials evocats visuals multifocals entre un ull sa i ull amb neuritis òptica aguda després de 6 mesos des de l'inici de la inflamació	73
Figura 23. Patrons d'afectació del camp visual (CV 24-2).....	74
Figura 24. Evolució de la pRNFL en la neuritis òptica aguda associada a esclerosi múltiple o idiopàtica durant els 200 dies següents a la inflamació	75
Figura 25. La via visual com a model d'estudi de la degeneració neuronal transinàptica retrògrada i anterògrada a l'esclerosi múltiple	76
Figura 26. Dinàmica de la pèrdua de les capes de la retina al llarg de l'esclerosi múltiple.	77

.

LLISTAT DE TAULES

Taula 1. Signes i símptomes de l'esclerosi múltiple en funció de la ubicació de la lesió.....	31
Taula 2. Sistemes funcionals avaluats a l'EDSS i la seva expressió clínica.	32
Taula 3. Mesures més utilitzades en les tècniques de grafs	41
Taula 4. Característiques dels diferents tipus de neuritis òptiques agudes estudiats	51
Taula 5. Equivalència dels valors d'agudes visual Snellen en peus, decimal i logMAR.....	55
Taula 6. Descripció de les capes de la retina analitzades a partir de la tomografia de coherència òptica	63
Taula 7. Molècules estudiades, funció i influència a l'esclerosi múltiple.....	69

ABREVIATURES I ACRÒNIMS:

AV: Agudeses visual

BRB-N: Bateria cognitiva de Rao

(The Rao's Brief Repeatable Neuropsychological Battery)

CV: Camp visual

EDSS: Escala de discapacitat ampliada

(Expanded Disability Status Scale)

EM: Esclerosi múltiple

EMRR: Esclerosi múltiple remitent recurrent

EMSP: Esclerosi múltiple secundària progressiva

EMPP: Esclerosi múltiple primària progressiva

ETDRS: Test estandarditzat d'agudeses visual, *Early Treatment Diabetic Retinopathy Study*

HRR: Test de visió dels colors, *Richmond Hardy-Rand-Rittler*

LCR: Líquid cefalorraquídi

LogMAR: logaritme de MAR

MAR: Mínim angle de resolució

MOG: Glicoproteïna oligodendròcita de la mielina

(myelin oligodendrocyte glycoprotein)

MOGAD: Malaltia associada als anticossos contra la glicoproteïna de l'oligodendròcit

(myelin oligodendrocyte glycoprotein associated disease)

MRS: Espectroscòpia per ressonància magnètica.

(Magnetic Resonance Spectroscopy)

MSFC: Qüestionari funcional per a l'esclerosi múltiple

(Multiple Sclerosis Functional Composite)

NEI-VFQ-25: Qüestionari de funcionament visual de l'institut nacional ocular

(National Eye Institute Visual Functioning Questionnaire-25)

NIR: Imatge en infraroig proper

(Near-infrared imaging)

NMOSD: Malaltia de l'espectre de neuromielitis òptica

(Neuromyelitis Optica spectrum disorder)

NMOSD-AQP4: NMOSD associada a anticossos contra l'aquaporina-4

NOA: Neuritis òptica aguda

OCT: Tomografia de coherència òptica

(Optical Coherence Tomography)

BM: Membrana de Bruch

(Bruch Membrane)

ELM: Membrana limitant externa

(External Limitant Membrane)

GCL: Capa de cèl·lules ganglionars

(Ganglion Cells Layer)

GCIPL: Capa de cèl·lules ganglionars amb plexiforme interna

(Ganglion Cell plus Inner Plexiform Layer)

ILM: Membrana limitant interna

(Internal Limiting Membrane)

INL: Capa nuclear interna

(Inner Nuclear Layer)

IPL: Capa plexiforme externa

(Inner Plexiform Layer)

mRNFL: Capa de fibres nervioses de la retina

(Macular Retinal Nerve Fiber Layer)

ONL: Capa nuclear externa

(Outer Nuclear Layer)

OPL: Capa plexiforme externa

(Outer Plexiform Layer)

RPE: Epiteli pigmentari de la retina

(Retinal Pigment Epithelium)

pRNFL: Capa de fibres del nervi òptic peripapil·lar

(peripapillary Retinal Nerve Fiber Layer)

PASAT: Prova auditiva de suma en sèrie

(Paced Auditory Serial Addition Test)

PET: Tomografia per emissió de positrons

(Positron Emission Tomography)

PIRA: Progressió independent de l'activitat per brot

(Progression Independent of Relapse Activity)

RAW: Empitjorament associat als brots

(Relapse-Associated Worsening)

RM: Ressonància magnètica

AD: Difusivitat axial

(Axial Diffusivity)

BOLD: Nivell d'oxigenació de la sang

(Blood Oxygenation Level–Dependent)

DTI: Imatge del tensor de difusió

(Diffusion Tensor Imaging)

DWI: Imatge ponderada de difusió

(Diffusion Weighted Imaging)

FA: Anisotropia fraccional

(Fractional Anisotropy)

FLAIR: Recuperació d'inversió atenuada en líquid

(Fluid-Attenuated Inversion Recovery)

MD: Difusivitat mitjana

(Mean Diffusivity)

ROI: Regions d'interès del cervell

(Region Of Interest)

RD: Difusivitat radial

(Radial Diffusivity)

rs: Estat de repòs

(Resting-State)

SCA: Síndrome Clínica Aïllada

SRA: Síndrome Radiològica Aïllada

SDMT: Prova de modalitats de símbols i dígit

(Symbol Digit Modalities Test)

SNC: Sistema Nerviós Central

T25FT: Marxa cronometrada dels 25 peus

(Timed 25-Foot Walk)

VEP: Potencials evocats visuals

(Visual Evoked Potentials)

mfVEP: Potencials evocats visuals multifocals

(multifocal visual evoked potential)

9HPT: Prova de la clavilla de 9 forats

(9-Hole Peg Test)

ENUMERACIÓ D'ARTICLES DE LA TESI

Tesi en format de compendi de publicacions.

La tesi consta de 3 objectius i 3 articles científics originals:

Article 1: **Alba-Arbalat S**, Andorra M, Sanchez-Dalmau B, Camos-Carreras A, Dotti-Boada M, Pulido-Valdeolivas I, Llufríu S, Blanco Y, Sepulveda M, Saiz A, Batet O, Bilbao I, Torre I, Amat-Roldan I, Martinez-Lapiscina EH, Villoslada P. In Vivo Molecular Changes in the Retina of Patients With Multiple Sclerosis. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 2021;62(6):11. Factor d'impacte 2021: 4.925. JCR Rànquing a la categoria "Ophthalmology-scie", Q1 (6/95), D1.

Article 2: Villoslada P, Solana E, **Alba-Arbalat S**, Martinez-Heras E, Vivo F, Lopez-Soley E, Calvi A, Camos-Carreras A, Dotti-Boada M, Alcubierre Bailac RA, Martinez-Lapiscina EH, Blanco Y, Llufríu S, Sanchez Dalmau BF. Retinal Damage and Visual Network Reconfiguration Defines Visual Function Recovery in Optic Neuritis. *Neurology-Neuroimmunology & Neuroinflammation*. 2024;11(6):e200288. Factor d'impacte 2023: 7,8. JCR Rànquing a la categoria "Clinical Neurology", Q1 (13/277), D1.

Article 3: **Alba-Arbalat S**, Solana E, Lopez-Soley E, Camos-Carreras A, Martinez-Heras E, Vivó F, Pulido-Valdeolivas I, Andorra M, Sepulveda M, Cabrera JM, Fonseca E, Calvi A, Alcubierre R, Dotti-Boada M, Saiz A, Martinez-Lapiscina EH, Villoslada P, Blanco Y, Sanchez-Dalmau B, Llufríu S. Predictive value of retinal atrophy for cognitive decline across disease duration in multiple sclerosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*. 2024;95(5):419-425. Factor d'impacte 2023: 8.7. JCR Rànquing a la categoria "Clinical Neurology", Q1 (9/277), D1.

RESUM DE LA TESI

Títol: Anàlisi del dany de la via visual i la seva associació amb la discapacitat en les malalties inflamatòries del sistema nerviós central

Introducció: L'esclerosi múltiple (EM), l'espectre de la neuromielitis òptica (NMOSD) i la malaltia associada als anticossos contra la glicoproteïna de la mielina (MOGAD) són malalties inflamatòries desmielinitzants del sistema nerviós central (SNC). La seva etiologia no és del tot coneguda i es caracteritzen per presentar una resposta autoimmune complexa influenciada per factors genètics, metabòlics i ambientals. La resposta produeix una inflamació que acaba afectant la beina de mielina i pot provocar un alentiment de la transmissió de l'impuls nerviós. En tot aquest procés les funcions metabòliques d'algunes molècules es poden veure alterades.

En el cas de l'EM es pot produir un augment de la discapacitat física i cognitiva degut tant a l'activitat inflamatòria com a la neurodegeneració. Una de les manifestacions clíniques més freqüents a l'inici o al llarg de la malaltia és la neuritis òptica aguda (NOA) en la qual es produeix una inflamació del nervi òptic i és la causa més freqüent de pèrdua de visió en joves adults. A més, la NOA també es pot produir en el context de la MOGAD o la NMOSD amb uns resultats visuals que difereixen entre elles. A més, el dany en el nervi òptic o en altres àrees de la via visual pot transmetre's de forma transinàptica i afectar regions més remotes. Aquestes característiques fan de la via visual un bon model per estudiar el dany inflamatori i neurodegeneratiu de l'EM.

Aquesta tesi busca aprofundir en el coneixement sobre la presència i l'impacte del dany a la via visual en les malalties desmielinitzants del SNC i pretén identificar biomarcadors que ajudin a la predicció de la discapacitat.

Hipòtesi: L'estudi de la via visual anterior i posterior mitjançant diversos biomarcadors d'imatge podria ajudar a comprendre els processos inflamatoris i neurodegeneratius així com identificar el risc de deteriorament en l'EM i la NOA.

Objectius: Caracteritzar el dany de la via visual en malalties desmielinitzants del SNC i la NOA, així com la seva relació amb la discapacitat visual i cognitiva a través de l'espectroscòpia Raman, la tomografia òptica de coherència (OCT) i la ressonància magnètica (RM). També es pretén predir la recuperació visual després d'una NOA i l'evolució del deteriorament cognitiu en pacients amb EM.

Mètodes: Aquesta tesi es compon de tres estudis observacionals longitudinals on s'inclouen pacients amb EM, altres malalties desmielinitzants i amb NOA de diferents cohorts prospectives que han estat estudiades entre 2011 i 2022 al Departament de Neurologia i d'Oftalmologia de l'Hospital Clínic de Barcelona.

La via visual dels pacients s'ha estudiat, depenent de l'objectiu del treball, a través de proves com la valoració de l'agudesia visual (AV), l'AV de baix contrast, la visió dels colors, el camp visual, l'OCT, l'espectroscòpia Raman, els potencials evocats visuals i la xarxa visual cortical estructural i funcional en ressonància magnètica. També s'ha avaluat el deteriorament físic i cognitiu dels participants.

Principals resultats: Els resultats de l'estudi d'espectroscòpia Raman revelen que en pacients amb un procés inflamatori crònic per EM, es redueixen els metabòlits implicats en la producció d'energia i la degeneració axonal a la retina. L'anàlisi longitudinal confirma la disminució de metabòlits relacionats amb les mitocondries i el subministrament energètic, afectats tant pel dany inflamatori agut com crònic a la retina. A més, els canvis en certes molècules, tant en la fase crònica com durant la inflamació aguda del nervi òptic, s'associen als canvis estructurals observats amb l'OCT

En les NOAs vàrem observar que durant els sis mesos posteriors a la inflamació de la NOA, les capes internes de la retina presenten un aprimament moderat durant el primer mes, que després es desaccelera i finalment s'estabilitza. D'altra banda, l'aprimament inicial de la capa de cèl·lules ganglionars és un indicador de l'AV de baix contrast al cap de sis mesos, i el llinard de $GCIPL \leq 75 \mu m$ és capaç de predir aquesta pèrdua. A més, l'estat d'alguns components de la xarxa visual estructural i funcional després de la NOA prediuen la discapacitat visual residual.

En l'estudi de l'EM hem trobat una forta relació entre la disminució del gruix de la retina i el deteriorament cognitiu al llarg de la malaltia, especialment a partir del 5è any des del seu inici. A més, els pacients amb un gruix de la capa de fibres nervioses de la retina $\leq 88\mu\text{m}$ tenen un risc més elevat de patir deteriorament cognitiu en comparació amb aquells amb un gruix superior, especialment després dels cinc anys.

Conclusions: Existeixen alteracions del metabolisme energètic, l'excitotoxicitat i el manteniment neuronal i sinàptic en l'EM i la NOA que es pot detectar a través de l'espectroscòpia Raman. Aquestes alteracions moleculars relacionades amb la degeneració axonal s'observen durant la neuroinflamació i mostren canvis dinàmics al llarg del temps suggerint la presència de neurodegeneració.

Després d'una NOA, les capes internes de la retina s'aprimen ràpidament i de manera severa, i la recuperació de la visió és incompleta un cop resolta la inflamació. Els gruixos inicials de les capes de la retina i les característiques de la xarxa visual estan associats amb la discapacitat visual a llarg termini i són predictors dels resultats visuals en la NOA. Aquests resultats indiquen que el dany es produeix poc després de l'inici de la malaltia i que pot tenir utilitat en definir la severitat de la NOA i l'actitud terapèutica.

L'atròfia de la retina està relacionada amb el deteriorament cognitiu en l'EM, demostrant la connexió entre l'empitjorament cognitiu i la neurodegeneració. Aquesta associació es fa més evident després dels primers cinc anys de la malaltia, indicant que la disfunció cognitiva és una manifestació tardana del dany neuroaxonal acumulat. Els resultats suggereixen una oportunitat primerenca per a teràpies neuroprotectores que evitin les alteracions cognitives. A més, la quantificació de la capa de fibres nervioses de la retina a la papil·la ha demostrat ser un bon predictor del deteriorament cognitiu global en pacients amb EM.

I. INTRODUCCIÓ

1. Malalties inflammatòries desmielinitzants del sistema nerviós central.

Les malalties inflammatòries desmielinitzants del sistema nerviós central (SNC) són un grup de malalties d'etiologia autoimmunitària en les quals es produeix una inflamació que afecta predominantment les beines de mielina. Entre elles destaquen l'esclerosi múltiple (EM), l'espectre de la neuromielitis òptica (NMOSD) i la malaltia associada als anticossos contra la glicoproteïna de la mielina (MOGAD). La inflamació del nervi òptic o neuritis òptica aguda (NOA) pot presentar-se com a manifestació d'aquestes malalties o bé ser de causa desconeguda o idiopàtica.

1.1. Esclerosi Múltiple

L'**esclerosi múltiple** (EM) és una malaltia crònica, inflamatòria, desmielinitzant i neurodegenerativa del SNC. Es considera la primera causa de discapacitat no traumàtica en joves adults. No se'n coneix la causa, però es creu que és heterogènia i multifactorial, mediada pel sistema immunitari i que es desenvolupa a partir de complexes interaccions entre la genètica i l'entorn [1].

Els símptomes poden diferir segons la ubicació de les lesions dins el SNC, manifestant-se amb dèficits motors, alteracions sensorials, alteracions visuals o símptomes neuropsicològics, entre altres [2].

1.1.1. Prevalença

L'edat més freqüent d'inici de l'EM és dels 20 als 35 anys, i majoritàriament la pateixen més les dones (ràtio de gènere 2:1, que està augmentant) [1,3,4] amb una prevalença que varia en funció de la zona geogràfica, sent els països de la latitud nord els que tenen una taxa més elevada [1,5] (Figura 1).

Segons l'edició més recent (any 2020) de l'Atles de la Federació Internacional de l'esclerosi múltiple, es calcula que a escala mundial hi havia 2,9 milions de persones amb EM [5], amb una prevalença de 43,95 persones per 100.000 habitants. A Nord-Amèrica era de 117,49 per 100.000 habitants i a Europa 142,81 per 100.000 habitants [6]. Concretament a Espanya la prevalença era de 123 persones per 100.000 habitants [5], amb un total d'11.500 persones afectades a Catalunya l'any 2019 [7].

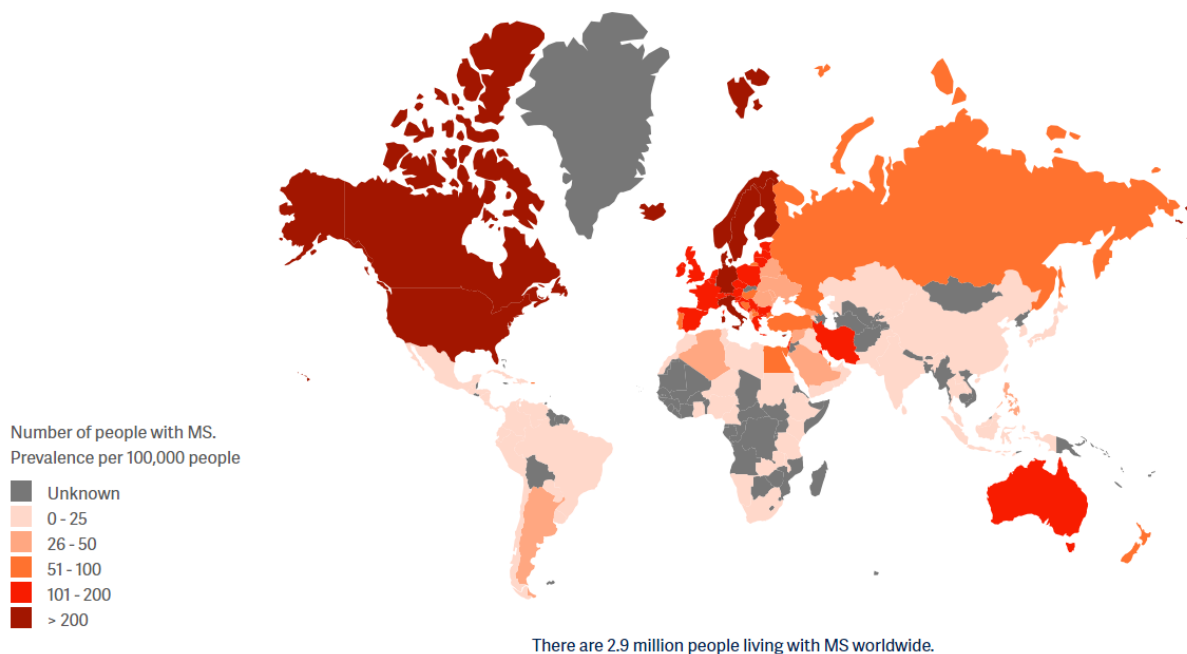


Figura 1. Prevalença a escala mundial de persones amb esclerosi múltiple [5].

1.1.2. Fisiopatologia

Mentre que la seva etiologia encara no està ben establerta, l'EM es considera una malaltia autoimmunitària complexa desencadenada per una reacció immune errònia i modulada per la genètica, el metabolisme i alguns factors ambientals [2,8]. S'especula que el seu origen pot ser una infecció vírica que juntament amb altres factors promou la creació d'anticossos que poden provocar una reacció immune errònia, a partir de la qual, i per mimetisme molecular amb el patògen, es produeix un atac a les proteïnes que conformen la mielina del SNC [9–11]. Aquesta compon la beina que recobreix els axons, facilita la conducció nerviosa saltatòria, afavoreix la rapidesa de transmissió de l'impuls nerviós [12] i està formada per lípids que contribueixen a la regeneració axonal, funcionen com a font d'energia i actuen com a molècules de senyalització [13].

L'EM es caracteritza per l'acumulació de lesions desmielinitzants predominantment a la substància blanca del SNC que evolucionen des de la inflamació a la desmielinització, amb una remielinització habitualment parcial. També afecta altres cèl·lules de la substància blanca, com els astròcits, així com a la substància grisa del cervell i la medulla espinal [1,14].

Des de la perspectiva fisiopatològica, es distingeixen dues fases en el dany tissular de l'EM. La primera es caracteritza per la inflamació i implica destrucció de la mielina, i a la segona s'observa principalment la degeneració axonal. En la fase inflamatòria, la infiltració de limfòcits T i macròfags conjuntament amb les seves citocines, provoca inflamació multifocal causant la desmielinització de les beines de mielina [15–17]. Els limfòcits B faciliten l'entrada dels limfòcits T al SNC travessant la barrera hematoencefàlica així com el seu manteniment al llarg del temps dins el mateix [18,19]. A més, els limfòcits B produeixen anticossos situats a líquid cefalorraquídi (LCR), coneguts com a bandes oligoclonals, que secreten toxines i poden atacar els oligodendròcits i, amb aquests, la mielina [20]. La remielinització d'aquests axons ajuda a reparar part de la desmielinització, i es produeix a partir de la colonització de les lesions per part de les cèl·lules progenitores oligodendrocitàries o bé aquestes cèl·lules contacten amb els axons desmielinitzats per generar beines de mielina funcionals [21]. En la segona fase es reflecteix l'efecte residual inflamatori anterior, que a causa de l'activació dels limfòcits T, produeix una alliberació dels mediadors inflamatoris, citocines i radicals lliures que indueixen al dany axonal [22,23]. Recentment, s'ha vist que els canvis inflamatoris influeixen en la funció de les mitocondries neuronals, provocant l'alteració en els canals de sodi/ potassi, que acaben

alterant l'intercanvi de sodi/calci. L'augment de calci intracel·lular produeix una disfunció mitocondrial i lesions de tipus hipòxiques, lesionant els axons i induint la neurodegeneració i la disminució del procés de remielinització [24]. En aquesta etapa del procés desmielinitzant existeixen plaques escleròtiques al SNC compostes per cèl·lules inflamatòries i els seus productes, axons desmielinitzats i seccionats, i astrogliosi tant a substància blanca com a substància grisa. Tot això pot afectar a la transmissió adequada dels impulsos nerviosos i produir disfuncions neuronals [14].

Tot el procés cel·lular ve mediat per algunes molècules que participen en el funcionament de les cèl·lules o en la formació i regeneració de la mielina. Aquests canvis moleculars també contribueixen en el procés d'inflamació a la retina, el qual es produeix majoritàriament per l'activació de la micròglia i inclou l'alliberament de citocines proinflamatòries i la creació de l'estrès oxidatiu que deteriora la funció neuronal i afavoreix el dany axonal. L'estudi en profunditat d'aquests canvis moleculars pot ajudar a millorar la comprensió dels mecanismes de pèrdua neuronal i la transacció axonal en l'EM, cosa que permet dissenyar assajos clínics i estratègies terapèutiques més dirigides [25].

1.1.3. Expressivitat clínica de la malaltia: brots i progressió.

L'EM s'ha classificat en diversos fenotips típics que descriurem a continuació.

En algunes persones que no han presentat símptomes de la malaltia i que es realitzen una ressonància magnètica per raons diferents que la sospita d'EM és possible detectar lesions típiques al SNC i es considera que tenen una síndrome radiològica aïllada (SRA). Algunes d'aquestes persones es diagnostiquen d'EM en presentar simptomatologia clínica en forma de brots o disfunció neurològica progressiva. Els brots es defineixen com a períodes d'empitjorament dels símptomes i posterior millora o recuperació. Aquests estan presents tant en la síndrome clínica aïllada (SCA) descrita com a primer episodi agut que afecta una o ocasionalment diverses localitzacions, com en la forma d'EM remitent-recurrent (EMRR) en què es compleixen els criteris diagnòstics de disseminació en temps i espai i representa el 85% dels casos aproximadament [1,8,14,26]. La forma EMRR pot evolucionar cap a l'EM secundària progressiva (EMSP), forma en què l'empitjorament dels símptomes és progressiu i en el qual se solen presentar menys brots. L'evolució a formes progressives ha disminuït en gran manera en els últims temps, passant del 25% al 2% durant els primers deu anys de malaltia, gràcies a la presència de millors tractaments i a un diagnòstic més inicial, millorant així la qualitat de vida dels pacients [27]. A més, l'EM es pot manifestar per l'empitjorament dels símptomes i la progressió des de l'inici, en una forma progressiva, referida com EM primària progressiva (EMPP) en aproximadament un 15% de les persones diagnosticades (Figura 2) [1,8,14].

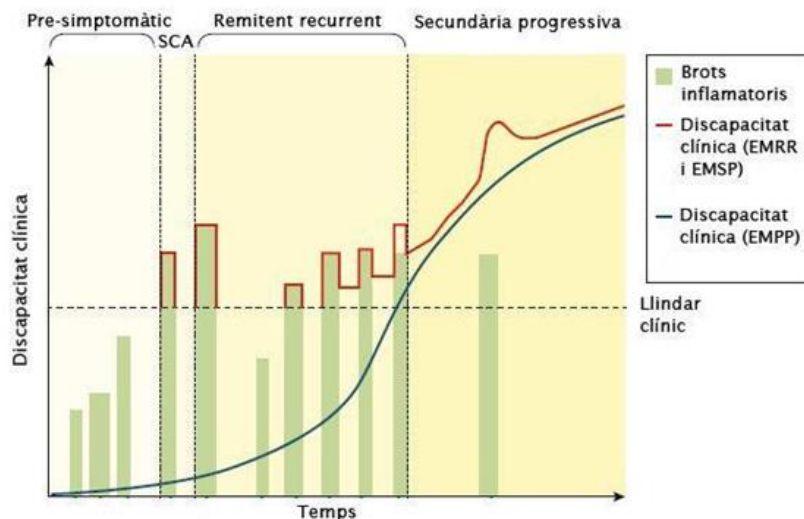


Figura 2. Evolució de l'esclerosi múltiple en les seves formes clíniques en relació amb els brots i amb la discapacitat. SCA: síndrome clínic aïllada; EMRR: esclerosi múltiple remitent recurrent; EMSP: esclerosi múltiple secundària progressiva; EMPP: esclerosi múltiple primària progressiva [1].

Els estudis realitzats en els últims anys posen en dubte aquesta classificació per fenotips, ja que les diferents formes d'EM comparteixen mecanismes de dany i part de l'evolució, i descriuen que la malaltia evoluciona de manera continuada en funció del moment d'inici i d'acord amb l'edat de la persona [28–30].

Durant els primers anys de l'EM és més freqüent que es produeixi una elevada activitat inflamatòria a escala focal acompanyada d'una pèrdua accelerada del volum cerebral [31,32]. Aquesta inflamació és un dels dos mecanismes que pot produir un augment de la discapacitat, l'associat a la falta de recuperació total o parcial del brot (RAW). El segon mitjà que pot produir un augment de la discapacitat està associat a mecanismes de neurodegeneració i és independent a la presència del brot (PIRA) (Figura 3). Tot i que les dues formes poden causar deteriorament permanent en qualsevol fase de la malaltia, RAW és més habitual en formes recurrents o en les primeres fases, mentre que PIRA ho és en les formes progressives o en etapes més tardanes, encara que la discapacitat de les formes recurrents o en les fases inicials de la malaltia també es pot donar sense l'efecte d'un brot [33].

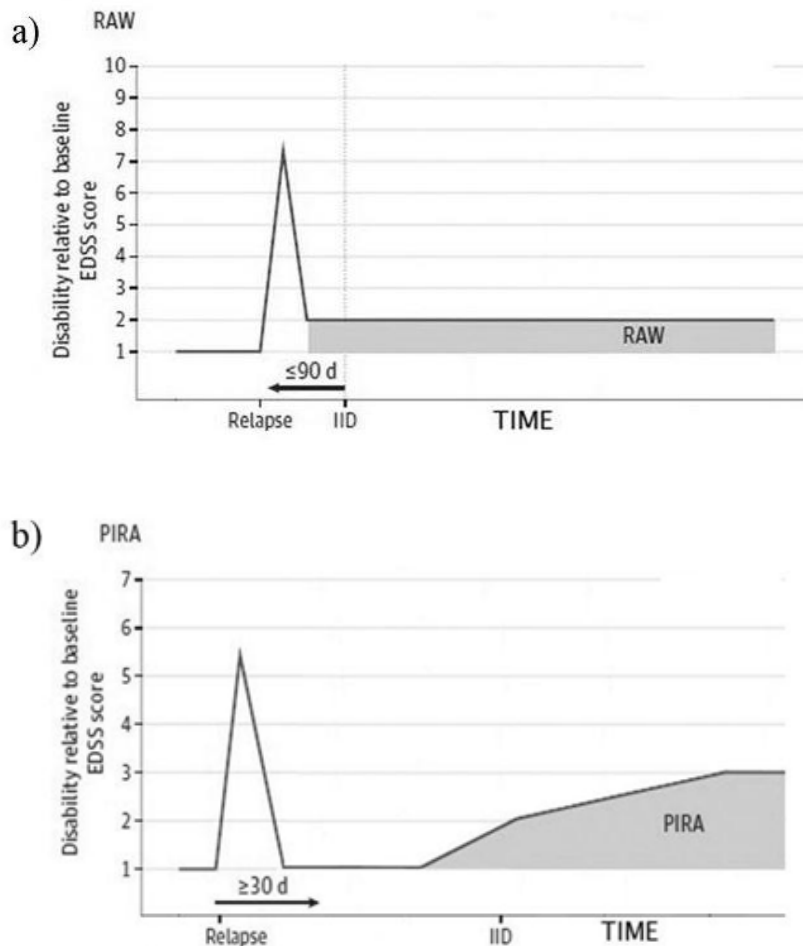


Figura 3. Mecanismes pels quals s'assoleix la discapacitat. a) RAW (empitjorament associat al brot). b) PIRA (progressió independent del brot) [28]. Figura adaptada.

A partir d'aquestes idees, la definició i l'evolució de la discapacitat en les persones amb EM, han fet replantejar alguns conceptes claus de la patologia, observant que la discapacitat està associada tant mecanismes inflamatoris com neurodegeneratius de la malaltia, la qual cosa dona suport al plantejament de la patologia com un contínuum i no pas a partir de fases clíniques.

D'altra banda, una mala recuperació del brot pot implicar una major severitat en els brots posteriors [34] i pot estar associada amb els mecanismes de plasticitat cerebral que decauen amb l'edat. D'aquesta manera, els pacients més grans i amb una major durada de la malaltia són els que recuperen pitjor, i els brots polisimptomàtics o localitzats a tronc encefàlic, cerebel o medul·la espinal tenen pitjor pronòstic [35]. De fet, la localització del brot, així com el nombre i el volum de les lesions, poden ser un factor predictiu sobre el risc de discapacitat, tant en la seva tipologia com en la mateixa discapacitat [36]. A més els brots que es presenten en

els primers anys són els més associats a la discapacitat a llarg termini, d'aquí la importància del control de l'activitat inflamatòria especialment a l'inici de la malaltia a través del tractament farmacològic. De fet, durant els primers cinc anys és quan es produeix una major taxa de pèrdua de volum cerebral [32,37].

A part de la discapacitat també la presentació clínica de l'EM és heterogènia, depenent de la localització de les lesions desmielinitzants dins el SNC (Taula 1). Les manifestacions clíniques més freqüents es donen tant en l'àmbit visual, en el cas de la neuritis òptica aguda (NOA), com en simptomatologia sensorial, manifestacions motores o alteracions de l'equilibri, però també hi ha altres símptomes com el deteriorament cognitiu, la fatiga o les alteracions de l'estat d'ànim que poden estar presents [1,2].

Taula 1. Signes i símptomes de l'esclerosi múltiple en funció de la ubicació de la lesió [14].

	Símptomes	Signes
Cervell	Dificultats cognitives	Dèficits en atenció, memòria i funcions executives (aviat).
	Hemisensorial i motor	Signes de neurones motores superiors
Nervi òptic	Dolor i pèrdua de visió monocular	Escotoma, agudesia visual disminuïda, alteració en la visió dels colors i defecte pupil·lar relatiu aferent.
Cerebel i vies cerebelars	Tremolor	Tremolor postural i d'acció, disàrtria
	Falta de destresa i d'equilibri	Falta de coordinació en les extremitats i atàxia de la marxa
Tronc encefàlic	Diplopia i oscil·lòpsia	Nistagmus, oftalmoplegia internuclear.
	Vertigen	
	Dificultats en la deglució	Disfàgia
	Neuràlgia del trigemin	Alteració dels parells cranials (hipoestèsia trigeminal, debilitat facial)
	Símptomes paroxístics	
Medul·la espinal	Debilitat	Signes de neurona motora superior Alteració de la sensibilitat superficial i profunda Atàxia sensitiva
	Alteració sensitiva	
	Inestabilitat	
	Rigidesa i espasmes dolorosos	Espasticitat
	Urgència i incontinència urinària. Dificultat per iniciar la micció	Bufeta hiperactiva
	Impotència erèctil	
Altres	Restrenyiment	
	Dolor	
	Fatiga	
	Sensibilitat a la temperatura i intolerància a l'exercici	

1.1.4. Escales de discapacitat física. Mesura EDSS i MSFC.

Per a avaluar els pacients amb EM, l'instrument més utilitzat és l'escala de discapacitat ampliada de Kurtzke (EDSS, *Expanded Disability Status Scale*) [38]. Aquesta escala examina els diferents sistemes funcionals del SNC (Taula 2), cosa que permet quantificar la progressió de la malaltia i valorar així l'eficàcia del tractament administrat. La seva puntuació està compresa entre 0 (estat neurològic normal) i 10 (mort per EM) en increments de 0.5 (excepte entre els valors de 0 a 1.0, en què l'increment és d'un punt). Els valors inferiors de l'escala mesuren deficiències basades en l'examen neurològic mentre que el rang superior a 4.0 depèn de la capacitat de caminar de forma autònoma o la necessitat de suport (ús de bastó, cadira de rodes o enllitament) (Figura 4) [39].

Taula 2. Sistemes funcionals avaluats a l'EDSS i la seva expressió clínica [38,40]. Taula adaptada.

Sistema funcional	Elements avaluats a l'exploració neurològica
Funcions piramidals	Reflexos, força a les extremitats inferiors i superiors
Tronc encefàlic	Moviments oculars externs, nistagmus, dany al trigemin, debilitat facial, pèrdua auditiva.
Visual	Agudeses visual, camp visual, escotoma i pal·lidesa en el disc òptic.
Cerebral	Memòria, concentració, estat d'ànim
Cerebel·lós	Coordinació de moviments o equilibri, tremolor, atàxia.
Sensitiu	Sensacions superficials de tacte, dolor, disestèsies, sensació de posició.
Funcions intestinals i de la bufeta urinària	Funcions urinàries, de tracte intestinal i sexuals.
Cerebral	Alteracions cognitives.

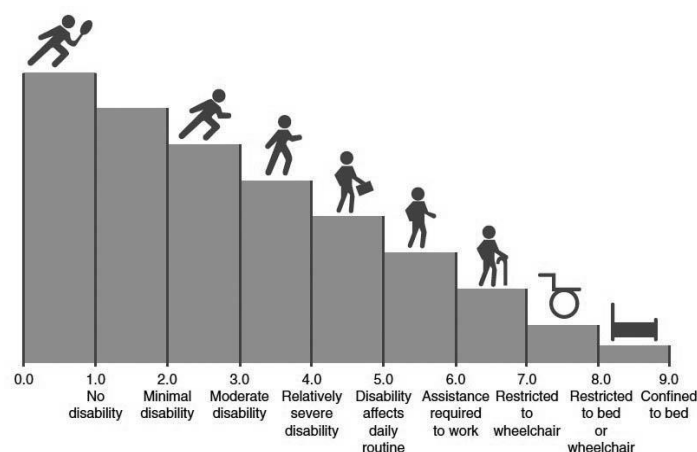


Figura 4. Rangs d'afectació del pacient en funció del grau de discapacitat (EDSS) [41].

Una altra escala per a valorar la discapacitat en EM és el *Multiple Sclerosis Functional Composite* (MSFC) [42], que inclou l'avaluació de la funció de les extremitats inferiors calculant el temps de marxa cronometrada en caminar 25 peus (T25FT), l'avaluació de la funció de les extremitats superiors a partir de la prova de la clavilla de 9 forats (9HPT) on es mesura la velocitat de col·locar unes clavilles en els forats destinats a aquesta funció i una prova d'atenció i memòria de treball per avaluar les funcions cognitives (PASAT, *Paced Auditory Serial Addition Test*).

L'EDSS és l'examen més acceptat per a l'avaluació de la funcionalitat en les persones amb EM a la consulta clínica, mentre que el MSFC és utilitzat (com a segona avaluació) a la recerca. De fet, es considera que ambdós exàmens són complementaris, ja que el MSFC proporciona informació sobre aquelles dimensions que no estan cobertes per l'EDSS, per exemple les funcions de les extremitats superiors o les habilitats cognitives [39].

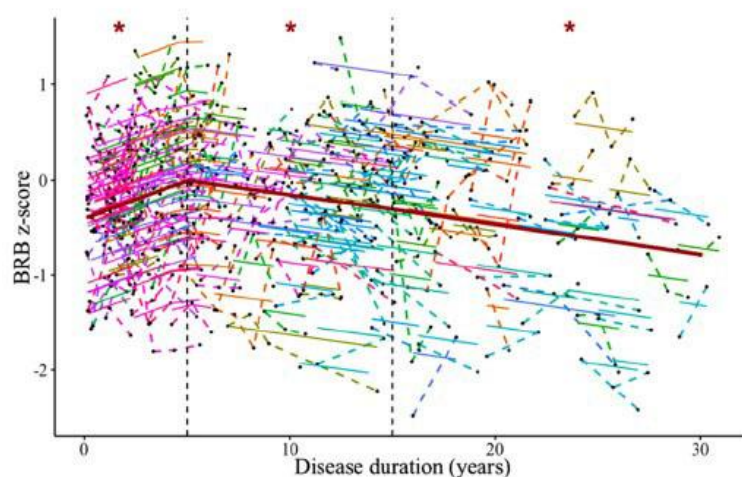
1.1.5. Discapacitat cognitiva. Evolució de l'afectació cognitiva i escales de la malaltia.

El deteriorament cognitiu afecta una gran proporció de persones amb EM, s'estima entre un 40 i un 70%, i pot estar present independentment de la discapacitat física [43], implicant una pitjor percepció de la qualitat de vida en la persona [44].

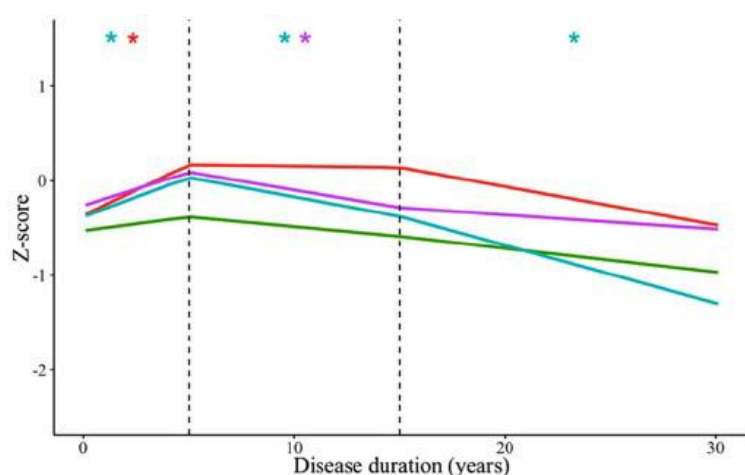
La cinquena edició del Manual diagnòstic i estadístic dels Trastorns Mentals (DSM-5, publicat per l'Associació Psiquiàtrica Americana) [45] avalua la simptomatologia dels trastorns cognitius a partir de sis dominis principals (atenció complexa, funcions executives, aprenentatge i memòria, llenguatge, habilitats perceptives motores i reconeixement social) i discuteix el cas de l'EM dins els trastorns cognitius lleus.

La varietat en les manifestacions clíniques, també en l'aspecte cognitiu, depèn principalment de la ubicació i l'extensió de les plaques del SNC, del dany cortical i l'afectació de les xarxes neuronals. Les funcions cognitives més freqüentment afectades són l'atenció, la velocitat de processament de la informació, l'aprenentatge i la memòria episòdica, tot i que també la memòria de treball, les funcions executives i la presa de decisions, i la memòria semàntica es poden veure alterades [46–48]. Encara que aquestes alteracions es produeixen lentament i poden presentar-se des de l'inici de la malaltia, són més freqüents en fases avançades i en persones amb formes progressives d'EM [49,50]. En concret, a partir del cinquè any de la malaltia les dificultats cognitives comencen a ser evidents [49,51]. Tot i això, no tots els dominis cognitius es deterioren de la mateixa manera. Mentre que alguns autors identifiquen alteracions en la velocitat de processament de la informació i l'atenció complexa en fases més inicials de la malaltia [52], altres descriuen que aquesta primera pèrdua es produeix en la memòria verbal i la memòria visual. A partir del quinzè any, quan comença el declivi de la malaltia observant-se els efectes de la pèrdua axonal i neurodegenerativa de l'etapa anterior, trobem una afectació cognitiva més global veient-se afectats la resta de dominis cognitius (Figura 5) [51].

a)



b)



Cognitive domains — Verbal memory — Visual memory — Attention-IPS — Semantic fluency

Figura 5. Evolució de la cognició i dels diferents dominis cognitius en funció de la durada de la malaltia en persones amb esclerosi múltiple. a) Valors globals de cognició. b) Diferents dominis cognitius [51].

Altres aspectes que estan relacionats amb la cognició i poden influir en els resultats de les avaluacions cognitives són el nivell educatiu així com l'exercici habitual dels hàbits intel·lectuals, anomenat reserva cognitiva, que es reconeix com un factor protector tant en la cognició global com en el domini de memòria verbal [46,53] ajudant a evitar el deteriorament cognitiu. A més, l'estat d'ànim alterat de la persona s'ha relacionat amb uns pitjors resultats en els exàmens cognitius, millorant aquests quan la simptomatologia depressiva disminueix [54].

L'heterogeneïtat de la malaltia i la falta de consens en l'avaluació cognitiva de l'EM fa que els resultats no siguin comparables en tots els estudis.

Des del punt de vista de l'examen cognitiu, es considera que és necessari fer una avaluació bàsica i un seguiment obligatori quan el pacient està estable com a mínim amb la prova de modalitats de símbols i dígit (SDMT), test que valora la velocitat de processament de la informació i l'atenció complexa i és utilitzat com a test de cribratge cognitiu [55]. Hi ha bateries de tests neuropsicològics que permeten fer un cribratge més detallat dels dèficits cognitius en l'EM. L'examen *The Rao's Brief Repeatable Neuropsychological Battery* (BRB-N) és una de les eines amb més sensibilitat i especificitat (71% sensibilitat i 94% especificitat) [56] i àmpliament utilitzada per detectar cinc dels sis dominis cognitius principals. Els exàmens que avaluen els diferents dominis cognitius són el PASAT [57] examina la memòria de treball, el SDMT [58] estudia la velocitat de processament de la informació i l'atenció complexa, el *Word List Generation Test* (WLG) [59] valora la funció lingüística i la fluència verbal, el *10/36 Spatial Recall Test* (SPART) [60] mesura la memòria perceptivomotora/visuoespacial i es refereix a alguns aspectes de les funcions executives i el *Selective Reminding Test* (SRT) [61] avalua l'aprenentatge i la memòria verbal [56,62].

1.1.6. Tractaments

Les opcions de tractament de l'EM són múltiples i van dirigides a modificar-ne l'evolució; sent l'objectiu final evitar els brots de la malaltia i la progressió de la discapacitat. Els tractaments modificadors de la malaltia es divideixen entre els d'eficàcia moderada i baix risc i que tradicionalment han estat prescrits com a primera opció, i quan l'activitat de la malaltia no està ben controlada es canvien habitualment per fàrmacs d'alta eficàcia, amb més risc d'efectes adversos. Avui en dia els tractaments es prescriuen de manera individualitzada i consensuada amb el pacient segons la història i evolució de la seva malaltia, els factors pronòstics i les comorbiditats, seguint els criteris de recomanació descrits i actualitzats [63,64].

1.1.7. Ressonància magnètica

La ressonància magnètica (RM) té una elevada sensibilitat per a detectar anormalitats macroscòpiques al cervell i a la medul·la espinal de forma no invasiva, localitzant les plaques escleròtiques típiques en aquesta malaltia [1]. En el cas de la RM convencional, és la prova més utilitzada per a donar suport al diagnòstic segons els criteris de McDonald 2017, criteri que actualitza les versions anteriors [65], així com per a monitorar el seguiment. En concret mostra lesions a la substància blanca amb seqüències ponderades en T2, inclosa la recuperació d'inversió atenuada en líquid (FLAIR), que permeten la visualització de diferents graus d'inflamació, desmielinització, gliosi i dany axonal, i seqüències ponderades en T1 que permeten visualitzar lesions actives realçades amb el contrast gadolini [66,67]. Es considera el *Gold Standard* entre les tècniques d'imatge per a monitorar l'evolució de l'EM [68].

En l'EM hi ha una pèrdua de volum cerebral accelerada que ja és present en etapes primerenques [69]. Concretament, la pèrdua de volum cerebral, de volum talàmic i de substància grisa sembla ser més ràpida durant els primers 5 anys de la malaltia [31,32], i després es desaccelera (Figura 6). A més, aquesta pèrdua de volum està associada als nivells de discapacitat física i cognitiva [70].

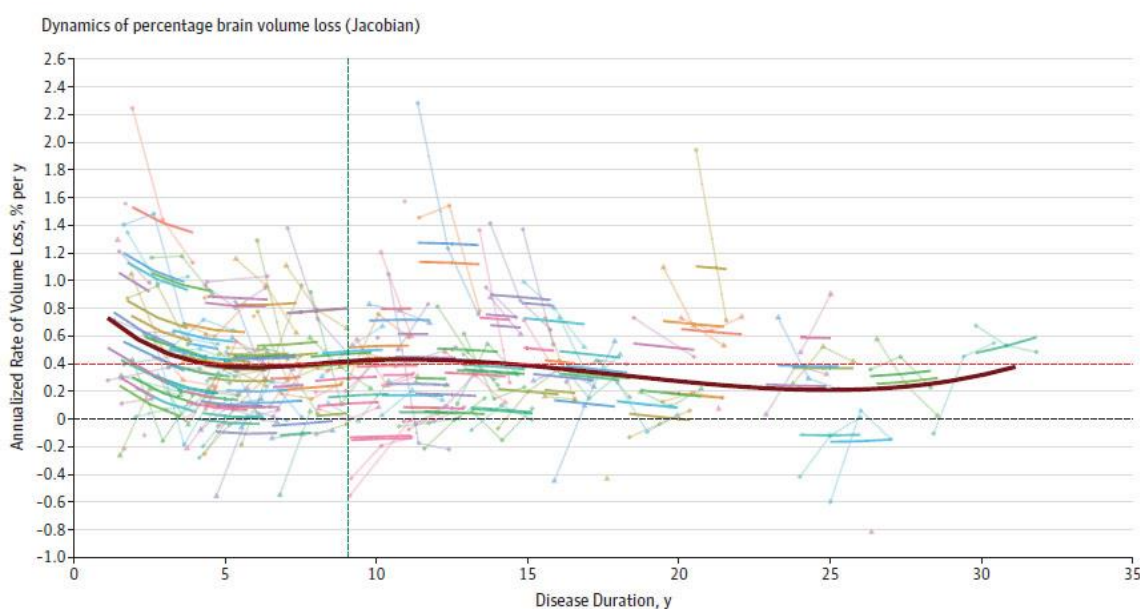


Figura 6. Dinàmica de la pèrdua de volum cerebral en pacients amb esclerosi múltiple. Els punts de color units per una línia representen les trajectòries individuals de canvi en el volum cerebral. La línia vermella fosca representa el model poblacional [31].

La RM no convencional o avançada, que ens permet quantificar de forma més precisa els processos patològics subjacents de la malaltia, ha demostrat tenir una major sensibilitat per detectar el dany cerebral i una major associació amb els canvis clínics. La imatge ponderada de difusió (DWI) mesura el moviment microscòpic de les molècules d'aigua obstaculitzat per les estructures cel·lulars i ha permès descriure els canvis microestructurals relacionats amb la desmielinització i el dany axonal en l'EM [71,72]. A partir d'aquesta informació i conjuntament amb càlculs matemàtics complexos s'obtenen les imatges del tensor de difusió (DTI). Les imatges de DTI proporcionen diversos valors, com el factor d'anisotropia fraccional (FA), que indica la direccionalitat dels axons del SNC (substància blanca), la difusivitat radial/axial (RD i AD) i difusivitat mitjana (MD) que quantifiquen la magnitud de la difusió dins el vòxel [73]. Les mètriques quantitatives de DTI, com el FA, AD, RD i MD, són altament sensibles a canvis a escala microestructural. Tot i això, sovint són difícils d'interpretar a causa de la seva limitada especificitat biològica, ja que diverses característiques biològiques (com la mielinització, la densitat axonal i la dispersió de l'orientació de les fibres) poden influir en els valors de cadascuna de les mètriques de DTI. Recentment, s'han desenvolupat tècniques avançades de RM de difusió amb millor sensibilitat i especificitat a certes propietats microestructurals [74].

El procés de tractografia, basat en imatges de DWI, permet reconstruir les trajectòries de les fibres de substància blanca en el cervell. Aquesta tècnica utilitza algoritmes de seguiment de fibres per crear mapes tridimensionals que representen les connexions estructurals entre diferents regions cerebrals. La tractografia és una eina poderosa per estudiar la connectivitat estructural del cervell i proporcionar informació quantitativa sobre la integritat i l'organització de les vies neuronals mitjançant la teoria de grafs [75].

Una altra modalitat d'imatge avançada és la ressonància magnètica funcional (RM funcional). Aquest tipus d'imatges permeten detectar canvis en el senyal dependent del nivell d'oxigenació de la sang (BOLD) a les regions de la substància grisa, reflectint indirectament l'activació neuronal en viu. En aquest cas es té en compte la presència d'hemoglobina desoxigenada respecte a l'oxihemoglobina, que tenen propietats magnètiques diferents, per a detectar el senyal BOLD [76,77]. Per tant, a partir dels nivells d'oxigen, aquesta tècnica obté imatges que reflecteixen l'activació de diferents zones del cervell. Hi ha dos paradigmes principals de RM funcional, el primer es basa en tasques, on s'avaluen les regions cerebrals activades durant una tasca específica (com cognitiva o motora), el segon és en estat de repòs (rs: *resting-state*), que

mesura les fluctuacions espontànies del senyal BOLD entre diferents regions del cervell, reflectint relacions funcionals "intrínseques" [77].

La representació de la connectivitat estructural i funcional es pot visualitzar mitjançant mapes de connexions que mostren com les diferents regions del cervell estan interconnectades a través de la substància blanca o funcionalment. Aquests mapes són essencials per entendre les xarxes neuronals i poden ajudar a identificar alteracions en la connectivitat associades a la malaltia. La teoria de grafs s'utilitza per analitzar el connectoma cerebral i pot contribuir a comprendre l'organització de les diferents regions del cervell i la connectivitat entre elles. L'anàlisi de connectivitat mitjançant aquesta teoria defineix diferents regions d'interès del cervell (ROI) i les representa a partir de nodes (regions de substància grisa cerebral) interconnectats a partir d'arestes (*edges*: fibres de substància blanca cerebral, valors de DTI o senyals BOLD) formant així una xarxa neural (Figura 7) [78] que s'explica a partir de diverses mesures que estan descrites a la Taula 3. Per tant, la combinació de la connectivitat estructural i funcional proporciona una comprensió més completa funcionament del cervell.

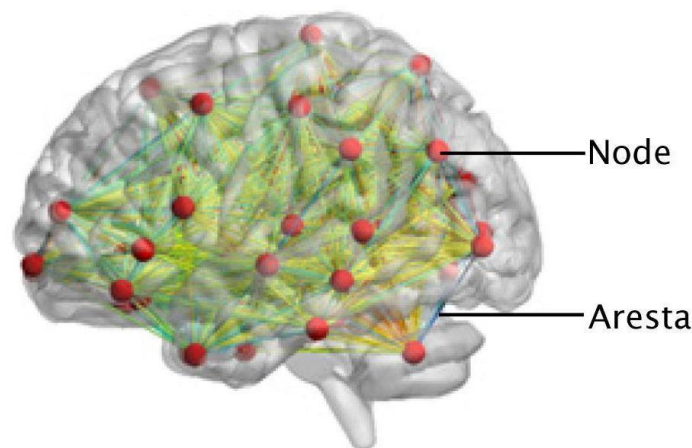


Figura 7. Esquema de xarxa neural a partir de nodes i línies de corrent [79]. Figura adaptada.

Taula 3. Mesures més utilitzades en les tècniques de grafs [77].

Node (*node*): regions cerebrals.

Aresta (*edge*): relació funcional o estructural entre regions cerebrals.

Fortalesa del node (*nodal strength*): suma dels pesos de totes les connexions que estan associats amb aquest node.

Longitud del camí i eficiència (*Path length and efficiency*): La longitud del camí (*path length*) és el nombre mínim d'arestes que cal recórrer per anar d'un node a un altre. La inversa de la longitud mitjana del camí més curt és una mesura relacionada coneguda com a eficiència global (*global efficiency*). La longitud del camí i l'eficiència global mesuren la capacitat d'intercanvi d'informació a tota la xarxa. L'eficiència local (*local efficiency*) d'un node concret és la inversa del camí més curt mitjà que connecta a tots els seus nodes veïns, i mesura la transferència d'informació a la proximitat immediata de cada node.

Coeficient d'agrupament i transivitat (*Clustering coefficient and transitivity*): La fracció de triangles al voltant d'un node individual es coneix com a coeficient d'agrupament (*clustering coefficient*), i equival a la fracció de veïns del node que també són veïns entre si. El coeficient d'agrupament reflecteix la segregació de la xarxa (*network segregation*), la capacitat que es produeixi un processament especialitzat dins de grups interconnectats de regions cerebrals. La transivitat (*transitivity*) és la ràtio de triangles a tríades a la xarxa i és una alternativa al coeficient d'agrupament.

Modularitat (*modularity*): Mesura la qualitat de la divisió d'una xarxa en mòduls.

Centralitat (*centrality*): Mesura la importància relativa d'un node o aresta dins de l'arquitectura global d'una xarxa.

Grau (*degree*): Nombre d'arestes unides a un node determinat.

Node central (*Hub*): Node que ocupa una posició central en l'organització general d'una xarxa.

Assortativitat i jerarquia (*Assortativity and hierarchy*): L'assortativitat (*Assortativity*) és una mesura de la tendència dels nodes a connectar-se amb altres nodes de grau igual o similar. La jerarquia (*Hierarchy*) és la tendència dels nodes a connectar-se amb altres nodes que no estan connectats entre si. L'augment de l'assortativitat i la reducció de la jerarquia indiquen un deteriorament de l'eficiència del cablejat pel que fa al sistema.

Grau mitjà de la xarxa (*Mean network degree*): grau mitjà de tots els nodes de la xarxa i una mesura de la densitat de la xarxa.

Eficiència del mòdul (*Module efficiency*): Avaluació de l'eficiència de la comunicació tant dins de les xarxes estructurals com entre elles. Eficiència intramòdul: Mesura l'eficiència global de la transferència d'informació dins del mòdul. Eficiència intermòdul: Mesura l'eficiència global de la transferència paral·lela d'informació entre dos mòduls diferents. Mòdul: Grup de nodes que manté un gran nombre de connexions mútues i un petit nombre de connexions amb nodes fora del seu grup.

Eficàcia de la xarxa (*Network efficiency*): Avaluació del rendiment de l'intercanvi d'informació de les xarxes funcionals cerebrals de petit món (*small world*), on l'agrupament és elevat i les distàncies baixes.

En l'EM, les mètriques de DTI s'han utilitzat per descriure les alteracions del teixit del SNC i predir la progressió de la discapacitat, encara que només proporcionen una aproximació de les propietats del teixit [80]. Els estudis de DTI indiquen una disminució de FA i un augment de MD/RD i AD en diverses regions de substància blanca en pacients amb EM, reflectint un dany en la integritat tissular així com desmielinització, dany axonal o gliosi [81]. Concretament, s'ha relacionat el rendiment físic i motor amb canvis en FA al cos callós i el tracte piramidal [82,83], i la discapacitat cognitiva amb les vies que connecten les àrees cerebrals corticals frontoparietals, els nuclis profunds de la substància grisa i l'ínsula [79,84]. L'augment de MD com a mesura de la pèrdua d'integritat microestructural en la substància grisa està també associada amb l'empitjorament de la discapacitat clínica [85,86]. A més, en el seguiment de pacients amb EM, la discapacitat global i motora està més estretament relacionada amb la substància blanca que amb la microestructura de la substància grisa, mentre que la cognició s'associa principalment amb les propietats microestructurals de la substància grisa [87].

Aquesta tècnica no únicament ha permès demostrar que la xarxa estructural en pacients amb EM és diferent que en subjectes sans, o que l'estructura de la xarxa està relacionada amb la discapacitat física i cognitiva i la quantitat de lesions. A més, ha permès identificar l'existència d'un elevat nombre de connexions alterades i la seva relació amb el rendiment cognitiu [79,88]. També s'ha estudiat com la progressió de la malaltia pot disminuir la connectivitat cerebral en pacients amb EM [89,90]. I en el cas de la connectivitat funcional en estat de repòs, els pacients amb EM han mostrat una reducció de la xarxa en comparació amb els subjectes control, correlacionant aquesta reducció amb un deteriorament clínic i cognitiu més greu [91]. De fet, aquests biomarcadors poden ajudar a conèixer millor les bases per les quals es produeix la discapacitat en l'EM. Tot i això, avui dia encara hi ha incongruències entre l'augment i la disminució de la connectivitat en aquests pacients depenent del moment de l'anàlisi, sent necessàries noves dades que ho clarifiquin [92]

A banda de la valuosa informació que ens aporta la RM, aquesta té unes limitacions tals com l'elevat cost de l'aparell, la durada de les adquisicions i la dificultat de processament de les imatges així com del mateix procés d'adquisició especialment en subjectes que pateixen claustrofòbia. És per aquesta raó que és necessari trobar nous biomarcadors complementaris a la RM per comprendre l'evolució de la malalta. En aquest aspecte hi ha un elevat potencial dels biomarcadors que analitzen la via visual com a model per comprendre el dany inflamatori i neurodegeneratiu de la malaltia.

1.2 Neuritis òptica aguda

La **Neuritis òptica aguda** (NOA) és la causa més freqüent de pèrdua de visió en joves adults. Es tracta d'una inflamació del nervi òptic que pot estar associada a l'EM com el primer brot o donar-se al llarg de la malaltia. També es pot associar a altres trastorns inflamatoris, com la malaltia de l'espectre de neuromielitis òptica (NMOSD) o la malaltia associada als anticossos contra la glicoproteïna de la mielina (MOGAD). A més quan es presenta de forma aïllada es considera idiopàtica [93].

En l'àmbit fisiopatològic, la NOA implica inflamació i desmielinització del nervi òptic. Igual que amb l'EM, en el moment de la inflamació s'activen els limfòcits T perifèrics que es desplacen a través de la barrera hematoencefàlica i alliberen citocines i altres mediadors inflamatoris que condueixen a la degeneració axonal i la mort neuronal [94]. A més, en aquest procés estan implicades algunes molècules que participen tant en el procés inflamatori com en el funcionament cel·lular, o en la formació i regeneració de la mielina.

De les diferents formes en la que es pot manifestar la NOA, el diagnòstic etiològic precís en el seu inici no és senzill i es basa tant en l'avaluació clínica com en la utilització d'imatges cerebrals, orbitals i de la retina. La detecció d'anticossos pot indicar-ne la causa. El diagnòstic adequat pot facilitar el tractament oportú dels pacients [93,95].

La simptomatologia entre les diferents etiologies de NOA pot variar en la seva severitat, però essencialment els pacients pateixen pèrdua d'agudes visual o borrositat, discromatòpsia, reducció del camp visual i dolor ocular, especialment quan hi ha moviment dels ulls [96].

Els tractaments depenen principalment de la gravetat de la neuritis. Per atacs aguts de neuritis òptica es prescriuen corticoides a altes dosis, també es poden realitzar recanvis plasmàtics en casos refractaris greus. Per tal de valorar l'impacte de la medicació sobre la discapacitat visual dels pacients amb NOA, actualment s'està estudiant la importància de la dosi de tractament en el moment agut i l'impacte del temps que es tarda fins al moment d'inici d'aquest [97].

Depenent de l'etiologia de la NOA és possible que el pacient requereixi un tractament immunosupressor per evitar recurrències o brots desmielinitzants en altres localitzacions [93].

D'altra banda, és important distingir la causa subjacent de les neuritis òptiques perquè algunes teràpies utilitzades per tractar l'EM poden empitjorar el curs de la malaltia NMOSD [98,99].

1.2.1. Neuritis òptica associada a l'esclerosi múltiple.

La NOA amb freqüència pot representar el primer símptoma de l'EM, entre un 20 i un 40% dels casos, o es pot presentar com un brot al llarg de la malaltia fins a un 80%. En ambdós casos és generalment lleu i respon al tractament amb corticoides [100].

El 50% de les NOAs desenvolupen EM al cap de 15 anys [101]. La seva incidència s'estima entre 1,5-5,1 casos per 100.000 habitants, afecta majoritàriament dones joves caucàsiques i la mitjana d'edat d'aparició és de 31-32 anys [95].

A escala fisiopatològica, les lesions del nervi òptic són molt similars a les lesions cerebrals en l'EM. Durant la fase aguda, es produeix una inflamació desmielinitzant que pot provocar diversos graus de bloqueig en la conducció del nervi i pèrdua visual. En aquesta etapa, s'observa una activació predominant de les cèl·lules T, amb alliberació de citocines proinflamatòries, encara que també poden estar implicades les cèl·lules B i la micròglia. La resolució de la inflamació i la recuperació visual es produeix en les setmanes següents. Encara que es produeix una certa remielinització, en el qual els canals de sodi es redistribueixen en els segments desmielinitzants millorant la conducció nerviosa, aquesta sol ser parcial augmentant la vulnerabilitat dels axons que sobreviuen al dany. Com a conseqüència, la recuperació visual pot ser incompleta, probablement degut als efectes de la desmielinització persistent i la pèrdua axonal [102].

A escala clínica, la NOA es caracteritza per la pèrdua visual parcial o total en l'ull que la pateix, amb afectació del camp visual (CV) en forma d'escotoma central, discromatòpsia i dolor a l'òrbita (peri-orbital o retro-orbital) que es veu agreujat amb el moviment ocular [102–104]. La seva recuperació sol ser bona i la simptomatologia residual resultant acostuma a ser discromatòpsia i una agudesa visual de baix contrast reduïda. Alguns pacients tenen dificultats amb la percepció dels moviments en objectes llunyans (fenomen de Pulfrich) i empitjorament transitori de la visió relacionat amb els canvis de temperatura corporal (fenomen d'Uhthoff) [103,105]. Respecte als signes que la identifiquen, en el fons d'ull es pot observar el nervi òptic com a normal si la inflamació es troba a la porció retrobulbar del nervi, mentre que aproximadament una tercera part dels pacients poden tenir inflamació del disc òptic o papil·litis i edema de disc causat per la neuritis. Generalment, l'afectació del nervi òptic és curta i unilateral. La recuperació visual es detecta cap als 60-70 dies sent la seva restauració màxima al cap de 6 mesos des de l'inici de la inflamació [96,106].

Es recomana avaluar els pacients amb EM o sospita de la mateixa encara que no tinguin queixes visuals per la possibilitat que existeixi una NOA amb manifestacions més subtils, com defecte pupil·lar aferent o anomalies en les proves complementàries (per exemple, potencials evocats visuals, tomografia de coherència òptica o ressonància magnètica) [1,98].

1.2.2. Neuritis associada a malaltia de l'espectre de neuromielitis òptica (NMOSD)

La NMOSD és una malaltia poc freqüent, crònica, desmielinitzant i autoimmune del SNC caracteritzada per episodis aguts autolimitats de neuritis òptica aguda, mielitis transversa i/o síndromes cerebrals, com l'àrea postrema, presentacions diencefàliques o hemisfèriques. Es calcula que un 75% de pacients amb NMOSD són seropositius per anticossos contra l'aquaporina 4 (AQP4) [107].

El rang de prevalença de la NMOSD és de 0,5-4/100.000 habitants, però pot arribar a 10/100.000 habitants en certs grups racials [108]. A Catalunya l'any 2016, la prevalença observada era de 0,89/100.000 habitants. Majoritàriament dones (relació 3:1), de mitjana d'edat 42 anys, i un 73% AQP4 seropositius [109].

Des del punt de vista de la fisiopatologia, els canals d'aigua AQP4 es concentren en els botons terminals dels astròcits i les cèl·lules de Müller, tenen una funció facilitadora del moviment bidireccional d'aigua entre el cervell i la sang i entre la sang i el LCR i també es troben implicats en la neuroexcitació, la migració astrocitària i la neuroinflamació [110]. En unir-s'hi la immunoglobulina G patogènica AQP4 (marcador AQP4-Ig) s'inicia el procés inflamatori a través dels limfòcits B, provocant finalment la mort dels astròcits, la desmielinització inflamatòria del SNC i el dany al teixit neural [110,111]. La localització i distribució dels astròcits i la seva funció al llarg del nervi òptic de forma extensa podria ser la causa que els anticossos contra l'AQP4 afectin a tot el nervi i no únicament a la porció més anterior del mateix [100].

Es reconeix una forta associació entre la seropositivitat a l'AQP4 i la presència de NOA [112]. En aquest cas, la NOA acostuma a ser greu i amb mala recuperació, resultant una agudesa visual final de 0,1 o pitjor en molts dels casos. A més, l'afectació pot ser bilateral en aproximadament un 20% dels pacients i freqüentment recurrent. Hi pot haver edema de disc i la lesió se sol situar al llarg del nervi òptic, a més també es pot veure afectat el quiasme i les cintetes òptiques de manera més comuna que en altres tipus de NOA [98].

1.2.3. Neuritis associada a la malaltia associada als anticossos contra la glicoproteïna de l'oligodendròcit (MOGAD).

La MOGAD és una malaltia desmielinitzant inflamatòria del SNC amb la presència d'anticossos que reaccionen específicament contra la glicoproteïna de la mielina de l'oligodendròcit (MOG) [113]. La NOA és la presentació clínica més comuna, tant en adults com en infants, seguida de la mielitis transversa i també, en menor freqüència, es pot presentar afectació a altres àrees del SNC. En nens és freqüent també la forma d'encefalomielitis [114].

Tot i que la seva prevalença mundial no està ben definida, els estudis realitzats indiquen que a Europa és de 2,0-2,5 persones/100.000 habitants [113] i a Catalunya, la prevalença l'any 2016, era de 0,42/100.000 habitants [109].

En l'àmbit fisiopatològic, aquesta malaltia es caracteritza per la presència d'anticossos que reaccionen específicament contra la MOG, proteïna present a la mielina [100,113]. Es considera un atac "de fora cap a dins" on els anticossos i les cèl·lules immunitàries activades (limfòcits T) a la sang perifèrica creuen la barrera hematoencefàlica en el moment de l'atac o brot i tenen com a objectiu la mielina [115].

En referir-nos a la simptomatologia, la pèrdua de visió acostuma a ser greu (inferior a 0,1 a l'inici de la malaltia), però típicament es recupera bastant bé (únicament el 5-14% tenen una agudesia visual igual o pitjor a 0,1 al final). Es manifesta amb dolor en la majoria dels casos (80%) i acostuma a ser bilateral fins a un 50% dels pacients. El dolor i la pèrdua visual acostumen a respondre bé al tractament amb corticoides a altes dosis [98,116,117].

A l'exploració, l'edema de disc és comú (70-80%) [98,116,117]. La majoria dels pacients (80%) tenen afectat gran part de la longitud del nervi òptic, veient-se involucrat també el quiasme òptic [118].

A diferència de la NOA associada a NMOSD i l'associada a l'EM, la NOA MOGAD pot existir com a malaltia que es dona en un sol cop o de forma recurrent. Tot i que és menys severa que la NMOSD associada a AQP-4, la freqüència dels episodis fa que pugui existir una major pèrdua visual a llarg termini [114].

1.2.4. NOA idiopàtica

Es parla de neuritis òptica idiopàtica quan es presenta de manera aïllada i no hi ha evidència de lesions a altres parts del SNC (cervell o medul·la espinal) ni s'ha trobat cap anticòs potencialment patògen associat a la mateixa [93].

Al cap de 15 anys després d'una NOA idiopàtica, es calcula que el risc de desenvolupar una EM és del 25% [96].

La seva incidència varia segons l'ètnia, la geografia, els criteris diagnòstics i el temps de seguiment. Dels estudis realitzats, al Japó parlen d'una incidència d'1,03 casos/100.000 habitants [119], mentre que a Finlàndia es descriu que hi ha 3 casos/100.000 habitants [120]. Del total de NOA típiques, es considera que un 27% són idiopàtiques [96].

Fisiopatològicament, tot i tenir unes característiques similars a la NOA associada a l'EM, no se'n coneixen les causes subjacents [98].

Els signes i símptomes que presenten aquests pacients són similars a la NOA associada a l'EM i de fet, són considerades conjuntament en molts estudis [121]. Es tracta de persones amb bona recuperació visual, tot i que entre un 5 i un 10% tenen una recuperació pobre, i refereixen dèficits en la qualitat visual residual, probablement degut a l'elevada freqüència de les neuritis òptiques recurrents en alguns casos [98,122,123].

1.2.5. Característiques dels diferents tipus de neuritis òptiques agudes.

Taula 4. Característiques dels diferents tipus de neuritis òptiques agudes estudiats. Es considera que tant la neuritis òptica aguda (NOA) associada a l'esclerosi múltiple com la NOA idiopàtica tenen unes característiques similars [98]. Taula adaptada.

	NOA associada a EM/ idiopàtica	NOA associada a MOGAD	NOA associada a NMOSD
Edat	més prevalent en adults que en nens	igual de prevalent en nens que en adults	més prevalent en adults que en nens
Ràtio de gènere (dona: home)	2:1	1:1	9:1
Dolor	freqüent (90%)	freqüent (90%)	comú (50%)
Bilateral	inusual (5%)	comú (40%)	ocasional (20%)
Pèrdua severa de visió <20/200 o inferior	33%	>80% Greu	>80% Greu
Visió del color	anormal	anormal	anormal
Patró de camp visual	difús 37%, central 29%	difús 22%, central 73%	difús 26%, central 46%, altitudinal 22%
Fons d'ull (examen clínic)	edema de disc lleu infreqüent: 36%	Freqüent edema de disc 70–80%, comunament de moderat a sever: 56%	edema de disc lleu infreqüent: 30 %
Recuperació	Bona recuperació	Bona recuperació	Mala recuperació

2. Estudi de la via visual.

La via visual s'ha considerat una finestra cap al cervell i un bon model per conèixer l'afectació del SNC [124], ja que es compon d'un sistema visual anterior i un de posterior molt ben definits. Un dels principals components, la retina, té una formació similar al còrtex [125], és una estructura fàcilment visible amb gran definició amb tècniques d'imatge, i està ben caracteritzada des del punt de vista anatòmic. Així, la via visual ens pot permetre identificar l'alteració del SNC en viu en les malalties desmielinitzants, ja que permet estudiar l'impacte del dany directe dels seus components, com quan hi ha una NOA, i també del dany transinàptic que es transmet entre les diferents parts de la via visual.

En aquest sentit, es pot distingir entre (Figura 8):

- Via visual anterior: des de la retina fins al cos geniculat lateral del tàlem.

La retina està formada per les següents cèl·lules [126]:

- Els fotoreceptors (cons i bastons) són els transductors sensorials del sistema visual que converteixen l'energia electromagnètica (llum) en senyal nerviosa.
- Les cèl·lules bipolars, n'hi ha de diferents tipus i la seva funció és la percepció visual, la distinció de colors, contrastos, etc.
- Les cèl·lules ganglionars de la retina, mantenen una resposta sostinguda a la il·luminació que reben en relació amb la diferència de contrast entre el centre i l'entorn.

A més, la informació d'aquestes neurones ve modulada per les cèl·lules amacrines i les horitzontals.

Posteriorment, el nervi òptic (format pels axons de les cèl·lules ganglionars) creua les fibres nasals al quiasme òptic, resultant les cintetes òptiques (formada per fibres nasals de l'ull contralateral amb les temporals del mateix ull). Les cintetes o tractes òptics sinapten amb el cos geniculat lateral.

- Via visual posterior: des de cos geniculat lateral fins al còrtex visual.

Composta pels axons del cos geniculat lateral que comprenen les radiacions òptiques i projecten al còrtex visual primari (V1).

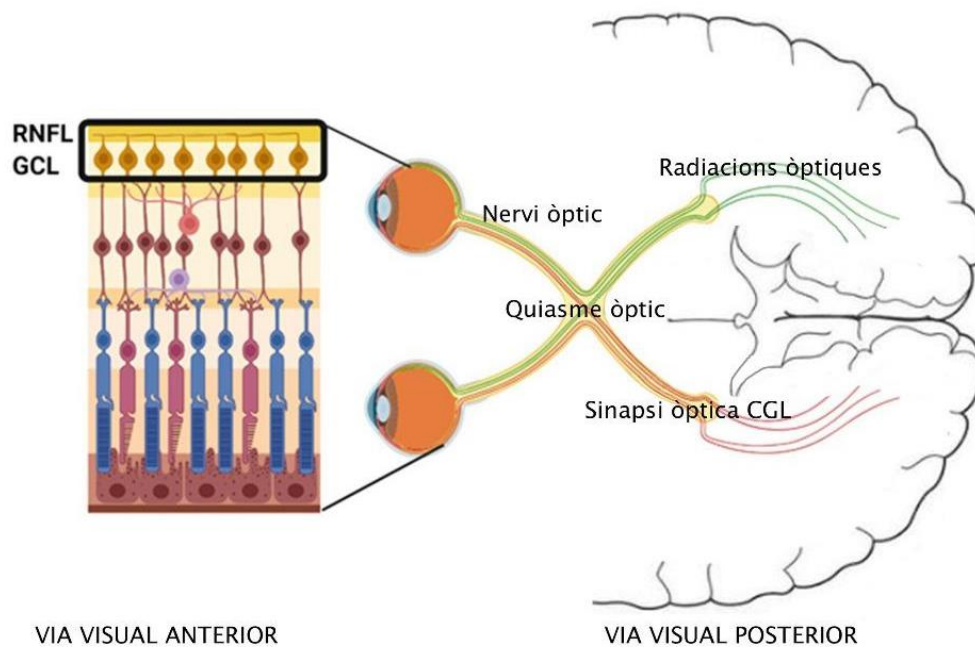


Figura 8. Imatge de la via visual [127]. Figura adaptada.

Per tal d'avaluar la via visual s'utilitzen diverses proves que seran descrites a continuació.

2.1 Proves funcionals de la visió

La via visual aferent es pot avaluar a través de diverses proves funcionals que quantifiquen l'agudesa visual, l'agudesa visual de baix contrast, la visió dels colors i el camp visual. Aquestes proves són altament reproduïbles [128] i han estat estudiades en relació amb la discapacitat dels pacients amb EM i en la NOA.

Agudesa visual (AV)

Es defineix l'**agudesa visual** com la capacitat del sistema visual per discriminar dos estímuls en l'espai. Per tal de determinar l'AV, es presenten tests (optotips) amb un elevat contrast i amb lletres de diferents dimensions a una distància fixa. La mida més petita de lletra que l'observador és capaç de veure es considera el valor llindar d'AV.

L'AV es pot expressar amb diferents nomenclatures o unitats, i totes elles es basen en la definició de l'angle mínim de resolució (MAR). Aquest permet al sistema òptic humà distingir dos punts com a estímuls diferents i no depèn de la distància a la qual es presenta l'objecte. L'agudesa visual es calcula com la inversa d'aquest llindar [129].

De les diferents nomenclatures, la fracció d'Snellen és una de les més utilitzades. En ella el numerador és la distància a la qual el pacient està situat respecte al test i el denominador la distància a la qual una persona amb visió perfecta hauria de veure la línia més petita d'aquest test. Es pot expressar en metres o en peus (Figura 9) [130]. L'AV decimal s'obté de la divisió de la fracció d'Snellen. La inversa de la fracció d'Snellen representa el mínim angle de resolució (MAR). I el logaritme en base 10 de MAR (inversa de la fracció d'Snellen) és LogMAR, que representa un sistema de puntuació lineal en contrast amb totes les altres puntuacions no lineals d'agudesa visual. A la taula 5 es presenten les equivalències entre les diferents nomenclatures d'AV.

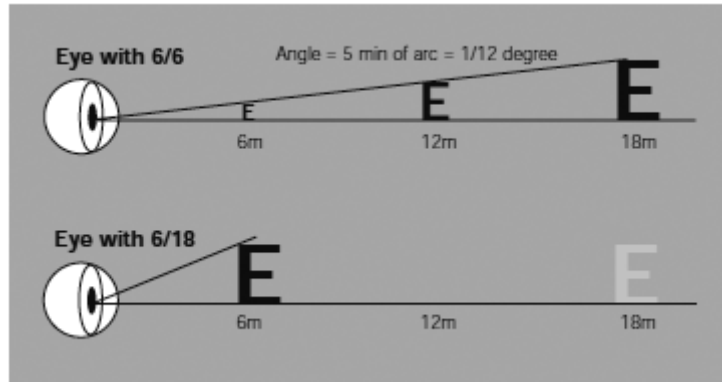


Figura 9. Fracció d'Snellen. A la imatge superior l'objecte és vist a la distància esperada amb AV 6/6, a la imatge inferior l'objecte és vist a una distància inferior (en aquest cas l'agudesa visual és menor) [131].

Es considera que l'AV objectiu o normal és 1,0, 20/20, logMAR 0, en la que MAR és 1'.

Taula 5. Equivalència dels valors d'agudesa visual Snellen en peus, decimal i logMAR [129].
Taula adaptada.

Snellen	Decimal	logMAR
20/20	1,0	0
20/25	0,8	0,1
20/32	0,63	0,2
20/40	0,5	0,3
20/50	0,4	0,4
20/63	0,32	0,5
20/80	0,25	0,6
20/100	0,2	0,7
20/200	0,1	1

L'AV es pot mesurar amb elevada precisió a partir del test estandarditzat *Early Treatment Diabetic Retinopathy Study* (ETDRS) que és l'optotip més utilitzat en recerca (Figura 10). El test està estandarditzat segons la quantitat de lletres per línia, l'espai entre les lletres a cada línia, la diferència de grandària que hi ha entre les línies i la il·luminació del mateix test [132,133] i va ser dissenyat segons la nomenclatura logMAR amb la intenció d'incloure un rang molt ampli d'AV i per tal d'estandarditzar les mesures [134].

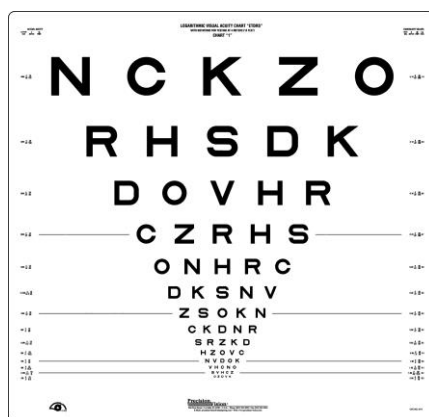


Figura 10. Test d'agudes visual ETDRS [132,133]

Agudes visual de baix contrast (AV de baix contrast)

La **sensibilitat al contrast** és l'habilitat del sistema visual per a diferenciar un objecte respecte al fons, i dona informació sobre els detalls dels objectes, per exemple reconèixer la cara d'una persona o desplaçar-se distingint cantonades o desnivells. Per a cada freqüència espacial (cicles/grau), mesura que es pot assimilar a l'AV, es determina un llindar de sensibilitat al contrast que és capaç de veure la persona, tal com es veu representat a la figura 11.

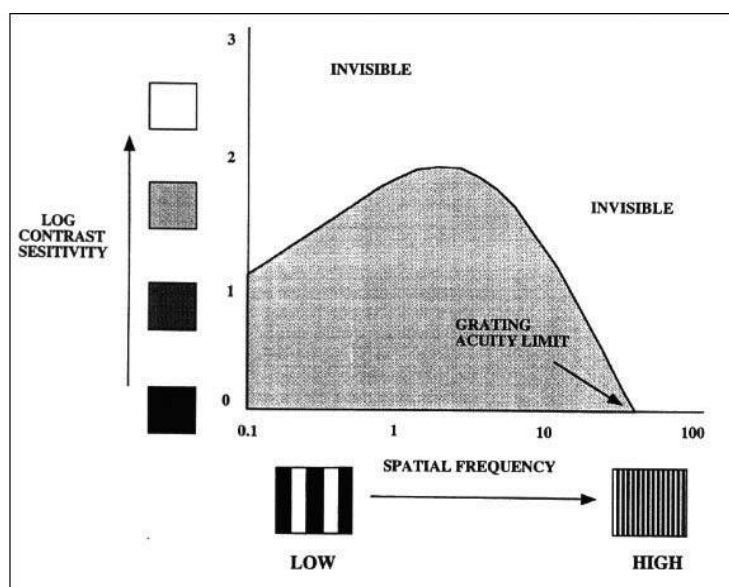


Figura 11. Relació de la sensibilitat al contrast amb la freqüència espacial [135]

Els valors de la sensibilitat al contrast depenen de la graduació òptica no corregida, de l'edat de la persona, de l'existència de malalties oculars (cataractes, degeneració macular associada

a l'edat...) o del diàmetre pupil·lar que té la persona, i per tant es tracta d'una mesura complexa d'estandarditzar [136].

El processament de la informació de la via visual es produeix a través de diferents canals basats en la selectivitat de les neurones, especialment a partir de les cèl·lules bipolars i les ganglionars, que responen selectivament a l'orientació i la freqüència espacial de l'estímul i transmeten aquesta informació al còrtex visual [135].

Per altra banda, es defineixen tres tipus de patrons de pèrdua de sensibilitat al contrast que veiem representats a la Figura 12. El patró tipus 1 mostra una pèrdua típica de sensibilitat al contrast amb freqüències espacials elevades i és normal en les baixes. Aquest patró és típic en etapes inicials de malalties oculars com la degeneració macular associada a l'edat o les cataractes. A mesura que aquestes malalties avancen, es veuen alterades les freqüències espacials baixes passant al patró tipus 2. El patró tipus 3 mostra una sensibilitat al contrast normal per freqüències elevades (i AV normal) i reduïda en freqüències espacials baixes (i baixa AV). Aquest patró és típic en persones amb EM, NOA, glaucoma primari d'angle obert, papil·ledema i diabetis [135].

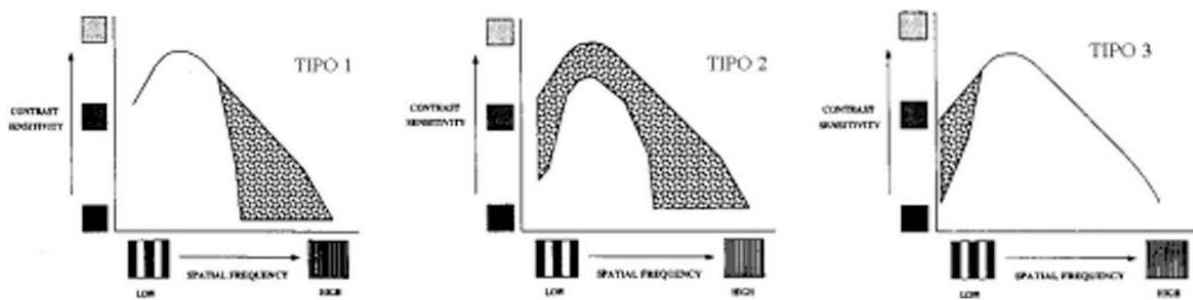
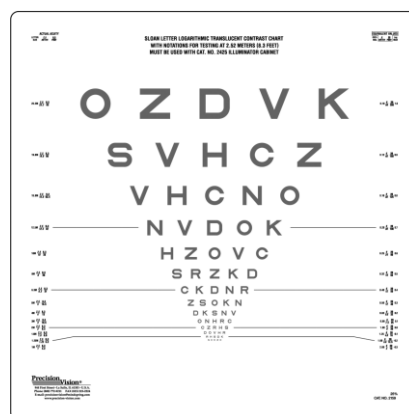


Figura 12. Patrons de pèrdua de sensibilitat al contrast en relació amb les freqüències espacials [135]

Hi ha diversos exàmens que permeten l'avaluació de la sensibilitat al contrast, els més utilitzats a l'EM són el test Pelli-Robson, que valora la sensibilitat al contrast avaluant la mateixa mida de lletres però disminuint-ne el contrast, i l'Sloan que avalua la mínima mida de lletra que el subjecte pot veure amb un contrast fix.

L'**AV de baix contrast** s'avalua amb el test d'Sloan, que està estandarditzat de la mateixa manera que l'ETDRS i que es pot presentar en diferents percentatges de contrast (10%, 5%

Les proves amb el test Sloan 2,5% (Figura 14) tenen una major sensibilitat per a detectar valors anormals en aquesta mesura que les proves amb el Pelli-Robson, en què el resultat és inferior a l'esperat en pacients amb NOA no recuperada. Per aquesta raó, la prova més utilitzada en l'actualitat en pacients amb EM és el test d'Sloan 2,5% [137,139], ja que avalua la zona de pèrdua del patró 3 de sensibilitat al contrast amb relació a les freqüències espacials.



En el test d'Sloan 2,5%, una diferència de 7-10 lletres és estadísticament significativa i s'utilitza per a caracteritzar un individu valorant la discrepància de resultats entre els dos ulls

o la seva millora al llarg del temps, i també per a descriure els canvis en l'àmbit poblacional [106,137,139].

Aquesta mesura pot estar alterada en persones encara que tinguin una bona AV, la qual cosa justificaria la mala percepció que pot tenir l'individu respecte a la seva qualitat visual, i la dificultat en algunes activitats de la vida diària tals com la lectura, el reconeixement facial o la conducció [137]. D'altra banda, tot i ser una mesura molt sensible, també té certes limitacions com el valor sòl per AV baixes o per gruixos de les capes de la retina molt disminuïts [139].

Visió dels colors

L'alteració en la **visió dels colors** es produeix a conseqüència de l'afectació d'alguns dels cons que formen la capa dels fotoreceptors (*R-red*, alteració en la percepció dels vermells i els verds. *G-green*, alteració en la percepció dels verds i vermells. *B-blue*, alteració la percepció de blaus i grocs).

Es pot valorar a partir de diferents tests, els més utilitzats són l'Ishihara, habitualment utilitzat per descartar discromatòpsies congènites, com a test de cribratge que utilitza làmines pseudoisocromàtiques i té un gran potencial per detectar discapacitat en la visió del color a l'eix verd-vermell, i el test de Farnsworth-Munsell compost per petites fitxes (pot presentar-se amb 15, 28 o 100 peces) que el pacient ha d'ordenar per tons de color i avalua els tres eixos de color. El Richmond Hardy-Rand-Rittler (HRR) (Figura 15) és un test que utilitza làmines pseudoisocromàtiques i permet l'avaluació en els tres eixos de color RGB, tant en color com en saturació [140,141].

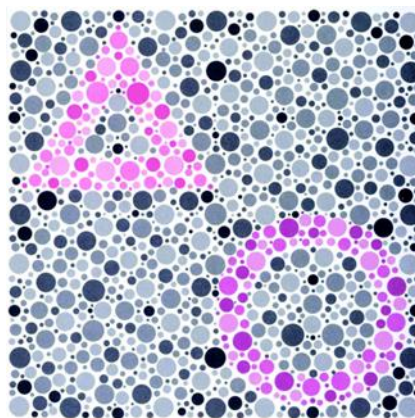


Figura 15. Exemple de làmina pseudoisocromàtica en el test HRR [141].

Camp visual (CV)

La mesura del **Camp visual (CV)** s'utilitza per a avaluar la visió perifèrica quan la persona està mirant un objecte central, la qual és útil des del punt de vista funcional per a ajudar en la seva orientació i la mobilitat [142].

En la perimetria estàtica automatitzada, normalment s'avaluen els 24-30 graus centrals del CV i es presenten estímuls lluminosos fixos de diferents intensitats per mapar el CV del pacient, habitualment durant 200 ms. Aquests estímuls apareixen en ubicacions preestablertes pel perímetre i tenen diverses intensitats, en funció de la resposta del pacient. La intensitat es refereix a la mida, la luminància i la força de l'estímul lluminós. Un exemple de perimetria automatitzada és el camp visual de Humphrey (Figura 16).

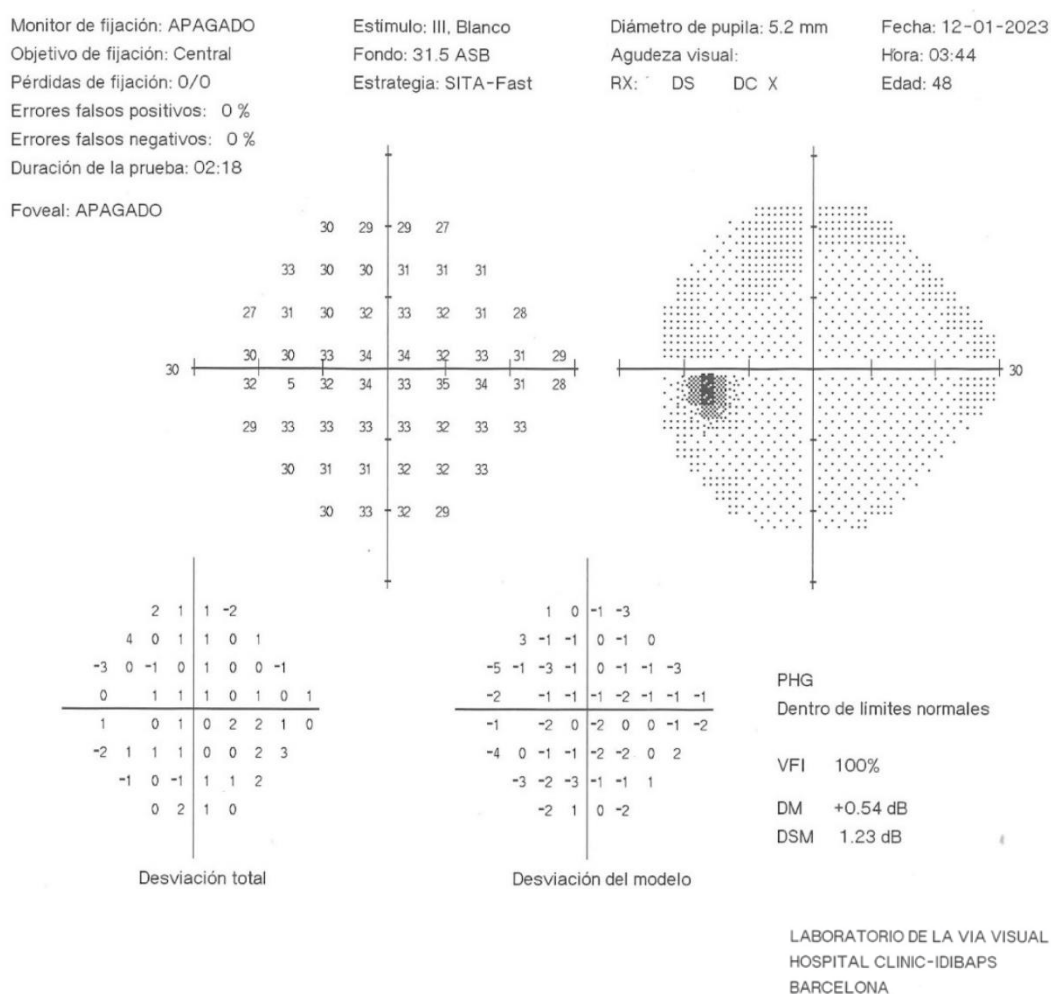


Figura 16. Camp visual dins els límits de la normalitat

2.2 Tomografia de coherència òptica (OCT)

L'OCT és una tècnica de diagnòstic per a la imatge, no invasiva, reproduïble, econòmica i ben tolerada realitzada a partir d'imatges tomogràfiques (per seccions) en tres dimensions. Utilitza un làser de baixa coherència en l'espectre de l'infraroig (840 nm), que permet obtenir imatges de la retina en viu dels teixits biològics en el segment anterior i posterior de l'ull [68]. De fet, s'ha descrit com una manera d'observar les capes de la retina similar a una "biòpsia òptica" en temps real [143], que permet la identificació de detalls morfològics que anteriorment només es podien veure a partir de les anàlisis histopatològiques [144] d'un pacient mort o un ull enucleat.

La valoració realitzada a partir de l'anàlisi de l'OCT retinal està centrada tant en les mesures maculars com papil·lars. Els nous algorismes de segmentació aplicats a l'OCT analitzen les diferents capes de la retina amb elevada precisió [68,145,146], i això permet tant l'avaluació *in situ* (o transversal) com el seguiment al llarg del temps o longitudinalment.

L'OCT ha contribuït al coneixement de la patofisiologia de l'EM i la NOA. Les capes estudiades amb més freqüència són la pRNFL (capa de fibres nervioses de la papil·la) i la GCIPL (capa de cèl·lules ganglionars més plexiforme interna) a la màcula [1], que permeten valorar la via visual aferent [128]. Així i tot, la resta de capes maculars, especialment amb pacients amb NOA, també han estat analitzades [106].

L'OCT macular permet distingir les diferents capes que formen la retina (Figura 17) descrites a la taula 6:

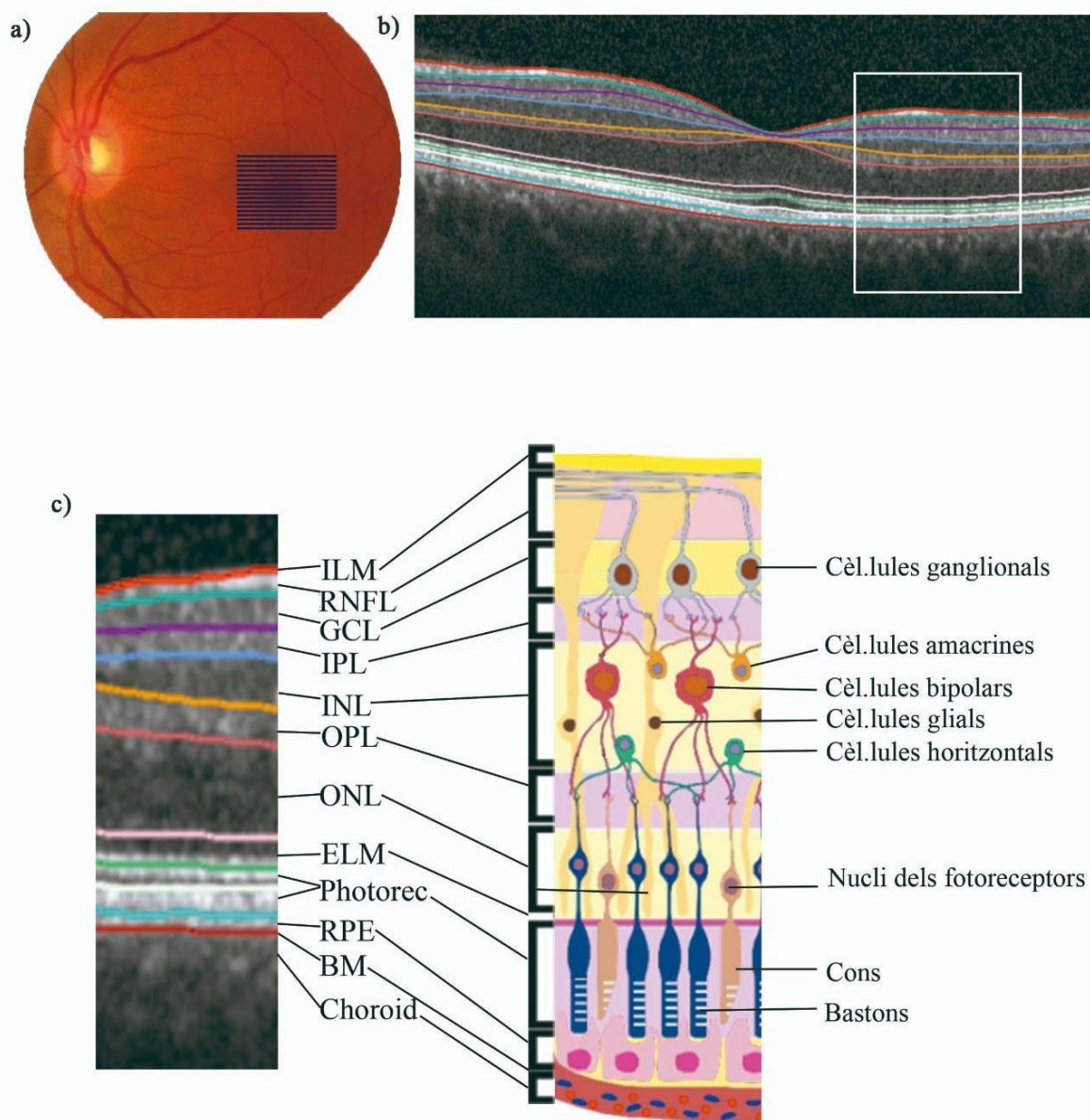


Figura 17. Tomografia de coherència òptica macular, capes i esquema neuronal. a) Fons d'ull b) OCT macular dins la normalitat (Spectralis®, Heidelberg Engineering). c) Esquema neuronal amb relació a l'OCT [147]. Figura adaptada.

Taula 6. Descripció de les capes de la retina analitzades a partir de la tomografia de coherència òptica.

Capa	Sigles	Descripció i funció
Membrana limitant interna	ILM (<i>Internal limiting membrane</i>)	Capa més interna de la retina.
Capa de fibres nervioses de la retina	mRNFL (<i>Macular retinal nerve fiber layer</i>)	Axons de les cèl·lules ganglionars que formen el nervi òptic.
Capa de cèl·lules ganglionars	GCL (<i>Ganglion cells layer</i>)	Nuclis de les cèl·lules ganglionars.
Capa plexiforme externa	IPL (<i>Inner plexiform layer</i>)	Sinapsis de les cèl·lules bipolars amb les cèl·lules ganglionars.
Capa nuclear interna	INL (<i>Inner nuclear layer</i>)	Cèl·lules bipolars, amacrines i horitzontals. Presència de nuclis de les cèl·lules glials o de Müller.
Capa plexiforme externa	OPL (<i>Outer plexiform layer</i>)	Sinapsis dels fotoreceptors amb les cèl·lules bipolars i horitzontals.
Capa nuclear externa	ONL (<i>Outer nuclear layer</i>)	Nucli dels fotoreceptors (cons i bastons).
Membrana limitant externa	ELM (<i>External limiting membrane</i>)	Membrana per on passen les fibres dels cons i els bastons.
Fotoreceptors	Photoreceptors	Cons i bastons.
Epiteli pigmentari de la retina	RPE (<i>Retinal pigment epithelium</i>)	Capa de cèl·lules que forma la barrera hematoretiniana externa i controla el pas de fluids i soluts des de la coroides cap a l'interior de la retina.
Membrana de Bruch	BM (<i>Bruch membrane</i>)	Es produeix el transport dels residus metabòlics dels fotoreceptors fins a la coroides.
Coroides		A través dels vasos sanguinis que hi són presents es nodreix i subministra oxigen a la retina.

La capa de cèl·lules ganglionars s'estudia conjuntament amb la plexiforme interna per la falta de definició entre elles. Per tant, a partir d'ara parlarem de les dues capes conjuntes com a

GCIPL (*Ganglion Cell plus Inner Plexiform Layer*).

A la figura 18 observem la capa peripapil·lar de fibres nervioses del nervi òptic (pRNFL) que està formada pels axons de les cèl·lules ganglionars. El gruix de la pRNFL mesura de manera específica la pèrdua axonal del SNC que no es veu afectada per la inflamació (excepte durant la NOA) i està menys influenciada per l'astrogliosi que la pèrdua de volum cerebral mesurada a través de la RM [148].

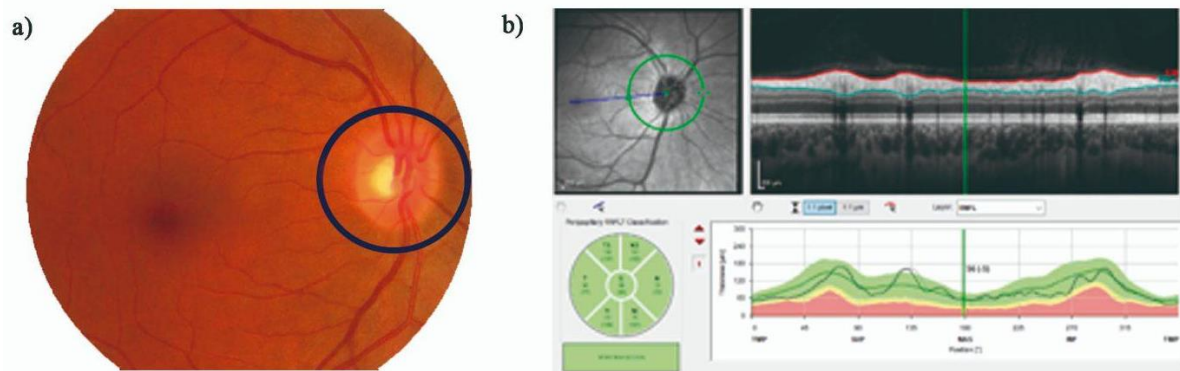


Figura 18. Tomografia de coherència òptica papil·lar amb valors dins la normalitat d'un pacient amb esclerosi múltiple a) Fons d'ull. b) OCT papil·lar (Spectralis®, Heidelberg)

2.3 Potencials evocats visuals

Els potencials evocats visuals (VEP) són senyals en resposta a estímuls visuals que es recuperen de l'activitat electroencefalogràfica al còrtex visual i es registren mitjançant elèctrodes col·locats a cuir cabellut [149].

VEP és un mitjà d'avaluació funcional de la integritat de la via visual en la NOA. L'examen de mfVEP (*multifocal VEP*) permet l'avaluació de petites regions independents dins el camp visual i fer un seguiment de la funció del nervi òptic (Figura 19) [150].

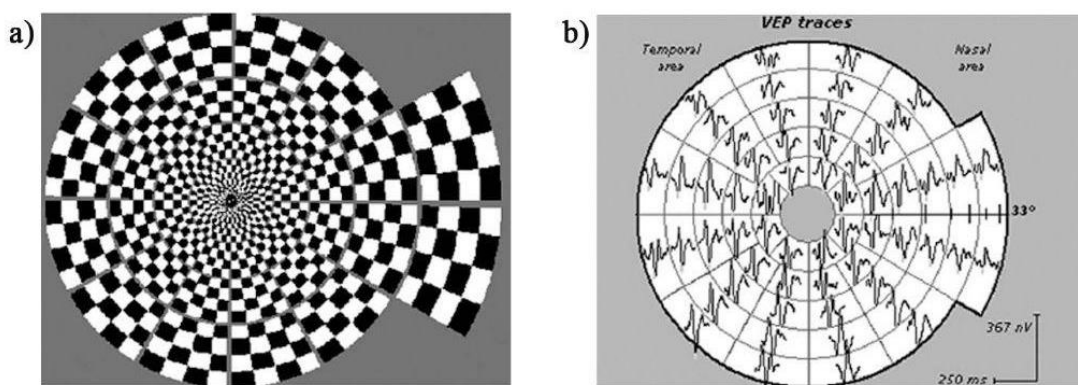


Figura 19. Potencials evocats visuals multifocals en una persona sana. a) Imatge visualitzada pel pacient. b) Resultats a la prova en tot el camp [151]

Es considera que l'amplitud dels VEP reflecteix el nombre de fibres nervioses òptiques funcionals, i per tant informa sobre la gravetat de la inflamació del nervi òptic en l'etapa aguda de la NOA i la degeneració axonal en etapes posteriors [152]. La latència, en canvi, mostra principalment la velocitat de la conducció del nervi òptic [150], sent una mesura sensible a la desmielinització i remielinització del nervi òptic i pot millorar amb un tractament remielinitzant [153].

2.4 Qualitat de vida percebuda en relació amb la qualitat de la visió

La necessitat de valorar la qualitat de visió percebuda en pacients amb dificultats visuals ha implicat la creació de qüestionaris que estudien la qualitat de vida en relació amb els problemes visuals.

En l'EM i la NOA el qüestionari més utilitzat per a valorar la qualitat de visió percebuda és el NEI-VFQ25 més el seu suplement neurooftalmològic, que avalua les dimensions de salut més importants percebudes pels pacients que tenen malalties visuals cròniques [154–156].

2.5 Espectroscòpia Raman

L'espectroscòpia Raman és una tècnica làser que permet detectar els canvis d'estat de l'energia vibracional molecular quan la llum hi incideix, i el seu estudi ha permès identificar un patró (espectre Raman) per a cada molècula avaluada.

Es planteja utilitzar l'espectroscòpia Raman per fer la valoració dels canvis moleculars a través de la retina en viu, ja que aquesta tècnica té la màxima especificitat entre les tècniques òptiques per a detectar canvis moleculars. Tot i això, la seva interpretació és complexa perquè les biomolècules tenen moltes bandes Raman i algunes d'elles tenen estructures moleculars similars, sent complicada la seva distinció. Després d'anys de recerca, l'aplicació estadística de resolució multivariant de corbes ha permès extreure de manera eficaç la informació codificada en els espectres complexos, com els obtinguts en l'espectroscòpia Raman, tot i que hi ha molècules més fàcilment distingibles que altres, a causa del mateix soroll de la tècnica [25,157].

A través d'una anàlisi de mostres de cultiu de cèl·lules ganglionars extretes de retina de ratolins, s'han identificat algunes molècules que poden tenir un rol important en la neuroinflamació i neurodegeneració de la malaltia. Les molècules seleccionades tenen una bona relació senyal/soroll (Figura 20) i existeix una correlació entre la concentració molecular i la intensitat del Raman [25]. Les molècules estudiades en dissolució estan descrites a la taula 7.

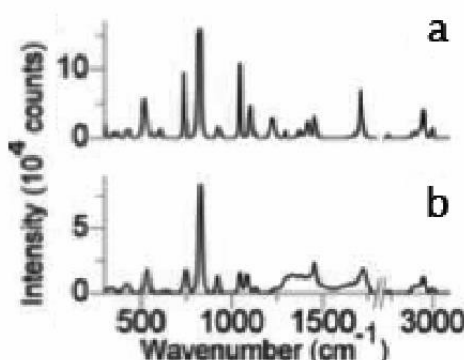


Figura 20. Espectre Raman pel lactat a) en pols b) en solució salina [25]

Per tal d'analitzar els canvis de les molècules seleccionades a través de la retina en viu s'ha creat un prototip d'espectroscòpia Raman (Raman spectrophotometer v1.0) conjuntament amb Ymaging SL adaptant un aparell Spectralis® Heidelberg Engineering. **Potencialment, aquesta tècnica pot permetre quantificar les molècules de la retina en els pacients amb un dany del**

SNC per una malaltia desmielinitzant i en NOA, ajudant a entendre millor com es desenvolupa aquest dany i identificant biomarcadors útils per dissenyar noves estratègies neuroprotectores.

Taula 7. Molècules estudiades, funció i influència a l'esclerosi múltiple.

Molècula	Funció	Influència a l'EM
Citocrom C [158]	Proteïna transportadora d'electrons dels mitocondris de les plaquetes.	Els mitocondris ajuden a preservar la integritat estructural dels axons mielinitzats. Una disminució en el Citocrom C pot implicar estrès oxidatiu que produiria una interferència en el transport d'electrons i la funció mitocondrial, que finalment pot causar una important mort cel·lular. Les alteracions i deficiències mitocondrials podrien comprometre la funció i estructura dels axons desmielinitzants supervivents contribuint a la discapacitat neurològica i la progressió de l'EM.
Flavina adenina dinucleòtid (FAD) [159]	Ajuda en les reaccions enzimàtiques implicades en el metabolisme energètic. Es tracta d'un transportador d'electrons intermedi entre el NADPH i la tioredoxina)	Té efectes neuroprotectors en trastorns neurològics, inclosa l'EM, a causa de la seva participació en el metabolisme dels àcids grassos essencials i la formació de la mielina. Se suggereix que pot afectar el nivell d'homocisteïna a plasma que pot exercir efectes en el SNC a través de la seva acció neurotòxica o agreujar els processos neuroinflamatoris implicats en l'EM.
Nicotinamida adenina dinucleòtid (NAD⁺/NADH) [160].	NAD ⁺ /NADH són coenzims que participen en la reacció d'oxidació-reducció durant el procés de producció d'ATP.	Durant la inflamació crònica del SNC l'estrès oxidatiu pot exercir un paper crític en la desmielinització i la neurodegeneració observades. NAD ⁺ /NADH es veuen alterades per les citocines derivades de Th-1 i IFN- γ , que augmenten la generació de radicals lliures durant la inflamació. La reducció de NAD ⁺ sembla provocar pèrdua en la funció cel·lular i del metabolisme que culmina amb la mort cel·lular.

Molècula	Funció	Influència a l'EM
Glutamat [161]	Utilitzat per neurones, astròcits, oligodendròcits i micròglia com a neurotransmissor excitatori.	Quan existeix excitotoxicitat del glutamat hi ha una elevada quantitat de glutamat que sobreactiva els seus receptors cel·lulars i n'indueix al mort.
Fosfatidil-etanolamina i Fosfatidil-colina [162]	Principal component estructural de la mielina, situat a la membrana cel·lular.	Tenen un important paper en els mecanismes inflamatoris i neurodegeneratius de la malaltia, com a conseqüència secundària dels canvis patològics que es produeixen a la malaltia (degradació de la mielina i lesió axonal) o formant part de l'esforç compensatori i protector de l'organisme.
N-acetil aspartat (NAA) [163,164]	Les cèl·lules gials (micròglia, astròcits i oligodendròcits, en aquests últims es metabolitza l'NAA) són reguladores del procés de remielinització en resposta del dany neuronal.	NAA proporciona grups acetil per a la síntesi de lípids que contribueixen a la remielinització dels axons. Una disminució de l'NAA pot traduir una major dificultat per la remielinització dels axons.

Molècula	Funció	Influència EM
β Amiloide (Aβ) [165,166].	Proteïna transmembrana derivada de la proteïna precursora d'amiloide, amb funcions de creixement de neurites i sinaptogènesi, trànsit de proteïnes al llarg dels axons, adhesió cel·lular, metabolisme de calci i transducció de senyals.	La producció de l'A β és un fenomen adaptatiu en resposta a l'estrès oxidatiu que atenua la lesió causada pels radicals lliures. D'aquesta manera, la seva disposició a les parets dels vasos sanguinis i la producció en forma de plaques senils, és probable que sigui una resposta per a pal·liar l'efecte de la lesió.
τ i α-sinucleïna [167]	Proteïna localitzada als terminals sinàptics neurals, potenciadora de l'activitat sinàptica.	La sobreexposició de α -sinucleïna causa pèrdua de neurones dopaminèrgiques i oligodendròcits, associant-se amb l'estimulació de la microglia, el dany axonal i la neurodegeneració. És freqüent la localització difusa d'aquesta proteïna a les vores de les plaques suggerint que l'expressió inicial del factor tòxic en les neurones podria desencadenar l'activitat patològica de l'EM.

2.6 Resultats de les proves visuals a les malalties inflammatòries desmielinitzants del sistema nerviós central.

2.6.1. Esclerosi múltiple

A l'inici de la malaltia, durant els primers anys de l'EM, és habitual que es produeixi una elevada activitat inflammatòria a escala focal acompanyada d'una pèrdua accelerada del volum cerebral [31,32], provocant dany neuroaxonal al SNC. Els episodis inflamatoris es poden donar en forma de NOA o localitzats en altres zones del SNC [14,100]. Els canvis inflamatoris focals, tant a l'inici com al llarg de la malaltia, s'han pogut estudiar a la NOA amb elevat detall gràcies a les diferents proves estructurals i funcionals de la via visual.

Estructuralment, l'OCT permet fer un seguiment del procés des de la inflamació inicial fins a la neurodegeneració, identificant prematurament la gravetat i ajudant a predir la recuperació visual que tindrà la persona amb NOA. Aquest dany observat a través de l'OCT és un reflex del dany axonal i neurodegeneratiu que es produeix a la retina causa del procés inflamatori [168]. En el curs inflamatori, s'observa un major aprimament en la pRNFL i la GCIPL [106] i en menor grau a les capes exteriors de la retina (INL, ONL, i fotoreceptors) durant els primers 45 dies posteriors a la inflamació en les NOAs per EM [106,168], seguit d'una disminució continuada més lleu en els gruixos d'aquestes capes de la retina fins als 6 mesos aproximadament (Figura 21), moment en què s'estabilitza aquest procés [106,169].

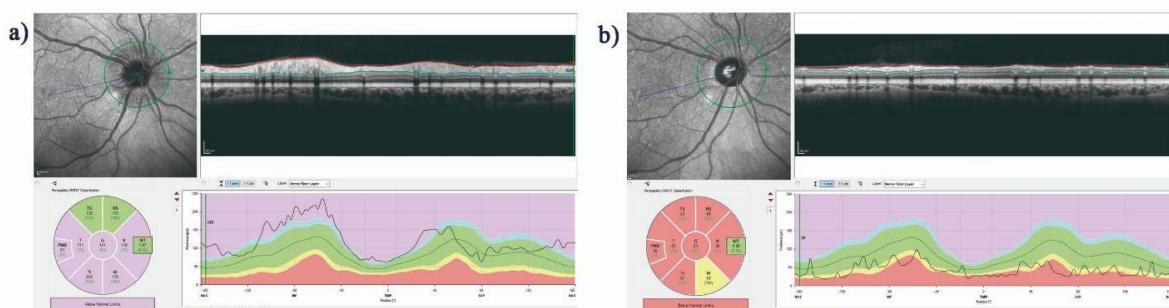


Figura 21. Diferència de la pRNFL en diferents moments de la neuritis òptica aguda a) basal. b) al cap de 6 mesos.

La diferència de gruixos de la pRNFL i la GCIPL entre els dos ulls, pot ajudar a identificar possibles NOAs subclíniques [148,170,171]. Això permet confirmar l'afectació del nervi òptic i detectar la presència d'un nou brot de la malaltia durant el seguiment.

Des del punt de vista visual, la pèrdua màxima d'AV es produeix al cap d'una setmana des de l'inici de la inflamació i el seu rang és molt variable. Al cap d'un any el 90% dels pacients tenen una AV superior a 20/40 (0,5), mentre que al cap de 15 anys, el 72% mantenen l'AV completament recuperada (20/20= 1,0) i únicament un 2% presenten una AV<20/40 (0,5) [96,172]. La pèrdua d'AV s'associa amb el procés d'inflamació i la majoria de pacients veuen recuperada l'AV al final del seguiment, tot i que freqüentment segueixen referint una mala qualitat visual que pot influir en les activitats de la vida diària. Per tant, l'AV d'alt contrast no permetrà realitzar un seguiment de les millores més fines a llarg termini de la NOA [106,173]. En canvi, i de manera més sensible, l'AV de baix contrast i la valoració de la visió dels colors són mesures que podrien indicar una recuperació incompleta de la NOA, ja que no acostumen a arribar a uns valors similars als anteriors a la inflamació, i estan fortament correlacionades amb la disminució dels gruixos de les capes de la retina (pRNFL i GCIPL) [173]. També s'associen amb un augment en la latència dels potencials visuals evocats (VEP) (Figura 22) [137,174,175], indicant una disminució en la velocitat de conducció de l'impuls nerviós al llarg del nervi òptic.

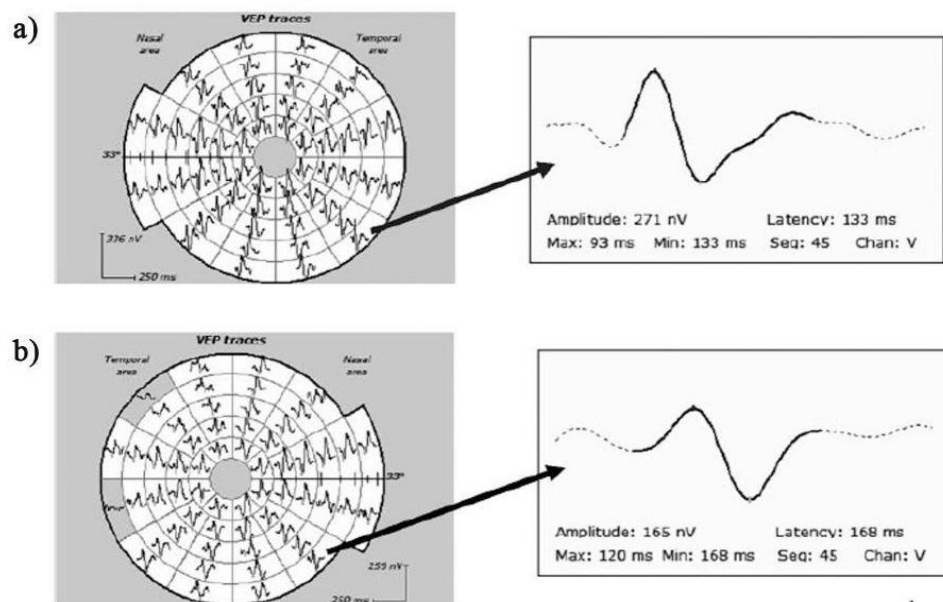


Figura 22. Comparativa de potencials evocats visuals multifocals entre (a) un ull sa i (b) ull amb neuritis òptica aguda després de 6 mesos des de l'inici de la inflamació [150].

En la majoria dels casos, l'alteració inicial del CV té un defecte difós generalitzat, però també es pot presentar en forma d'escotoma central o de patró altitudinal [176,177]. La seva recuperació és variable així com el patró resultant: amb freqüència es troben més pèrdues centrals que perifèriques, així com patrons centrocecal, altitudinals, defectes arquejats i nasals, en alguns casos poden presentar patrons hemianòptics (Figura 23) [96,102].

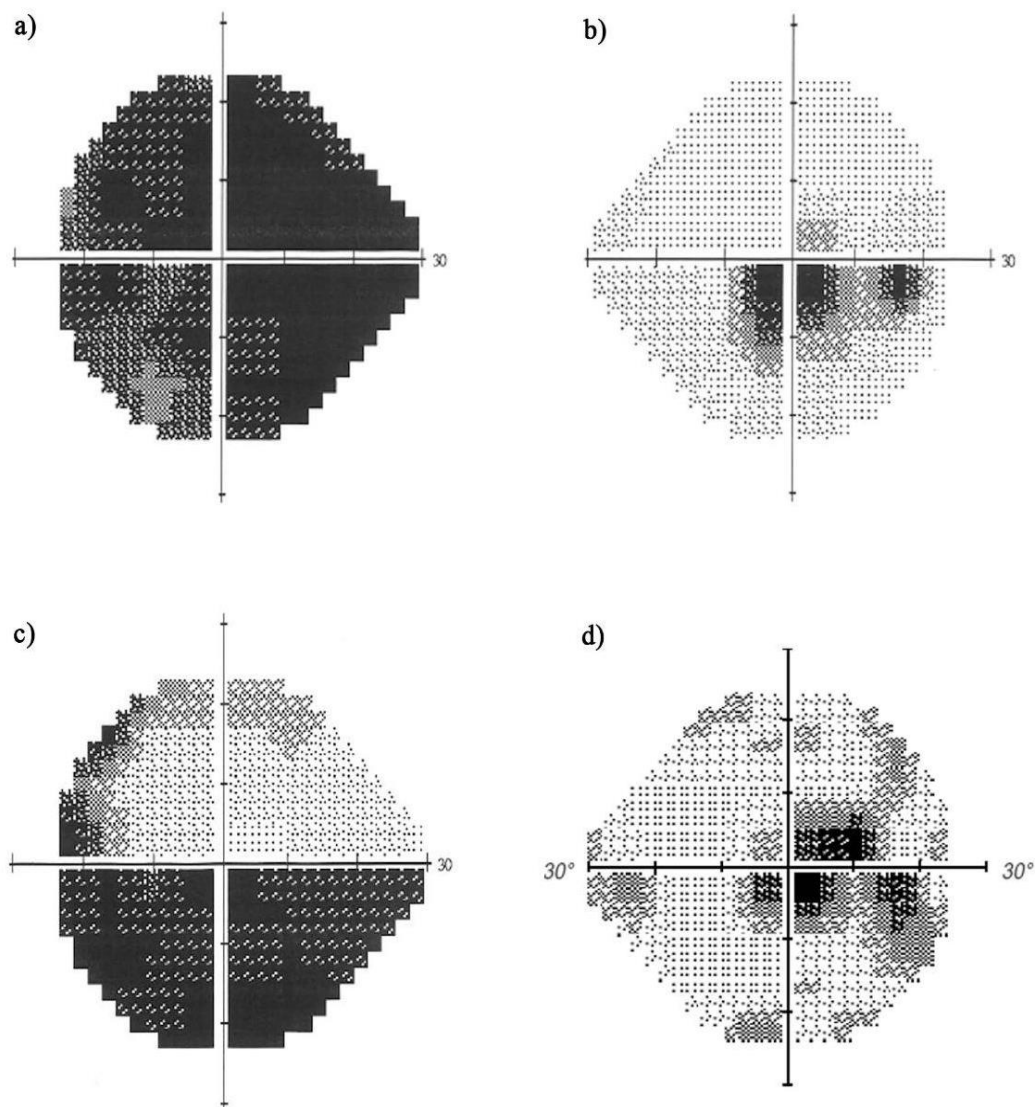


Figura 23. Patrons d'afectació del camp visual (CV 24-2). a) Defecte generalitzat difós. b) Escotoma central. c) Defecte altitudinal inferior. d) Defecte centro cecal.

La mala recuperació del CV pot estar associada amb un gruix disminuït en les fibres de la retina ($pRNFL \leq 75$ micres) [139,178]. A més, el valor inicial del CV pot ajudar a predir l'AV de baix contrast al cap d'un mes des de l'inici de la NOA [173] i, per tant, la recuperació visual que percep el pacient.

Així doncs, la ràpida evolució de la NOA i la facilitat de seguiment a través de l'OCT (Figura 24) [106], de l'AV de baix contrast [106,137,139] i la sensibilitat de la latència per a detectar la desmielinització i remielinització dels VEP [153], fa que se la consideri un bon model per a provar l'eficàcia dels tractaments immunomoduladors o neuroreparadors en l'EM en assajos clínics [106].

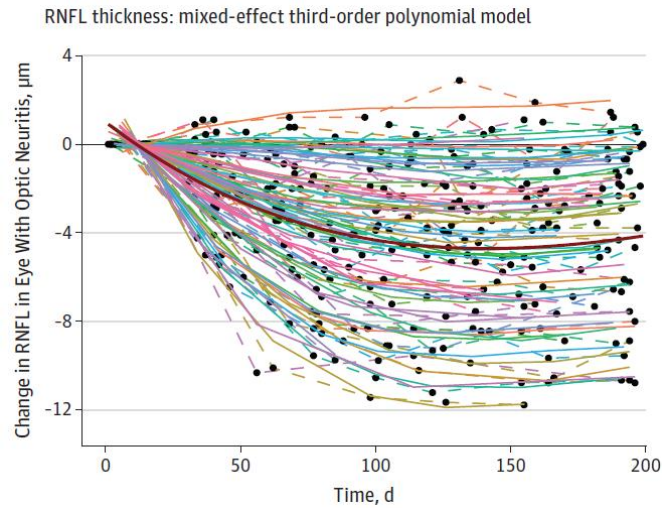


Figura 24. Evolució de la pRNFL en la neuritis òptica aguda associada a esclerosi múltiple o idiopàtica durant els 200 dies següents a la inflamació. Els punts de color units per una línia representen les trajectòries individuals de canvi en el gruix de la pRNFL. La línia vermella fosca representa el model poblacional [106].

A més, l'estudi de la via visual s'ha utilitzat per a demostrar en viu la presència del dany transinàptic en l'EM. En pacients amb NOA la gravetat del dany del nervi òptic està associada amb l'atròfia del còrtex visual suggerint que existeixen mecanismes de degeneració transinàptica retrògrada. I en pacients amb EM sense antecedents de NOA el dany del còrtex visual o les radiacions òptiques s'associa als valors de l'OCT, indicant la presència de degeneració transinàptica anterògrada (Figura 25) [179].

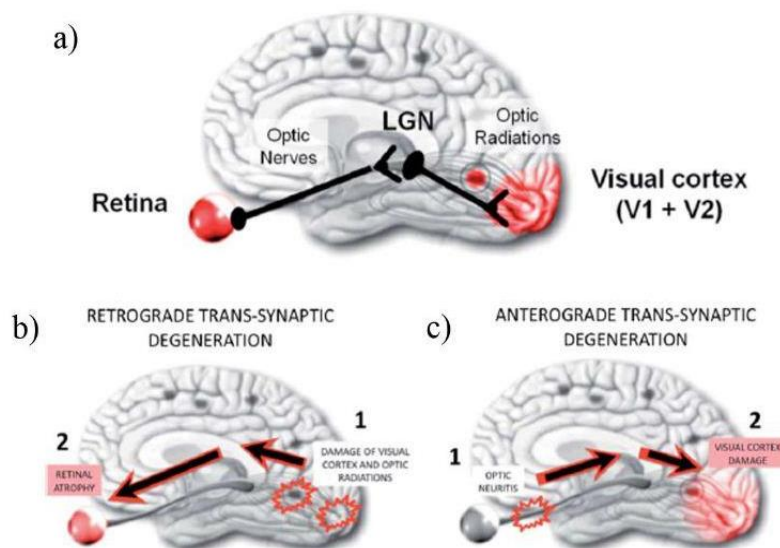


Figura 25. La via visual com a model d'estudi de la degeneració neuronal transinàptica retrògrada i anterògrada a l'esclerosi múltiple. a) Distinció entre la via visual anterior i la via visual posterior, ambdues connectades per la sinapsi que es produeix al cos geniculat lateral. b) Model de degeneració transinàptica retrògrada representat com l'efecte del dany de la via visual posterior sobre l'atròfia retinal. c) Model de degeneració transinàptica anterògrada representat com l'efecte de la neuritis òptica a la via visual posterior [179].

En l'EM sense antecedents de NOA també s'observen alteracions en diverses proves de la via visual. Des del punt de vista estructural, la disminució dels gruixos de les capes de la retina obtingudes mitjançant l'OCT s'associen amb la disminució del volum global del cervell i de regions específiques rellevants (com la substància grisa cortical, el tàlem i el tronc encefàlic) [68,180]. Per tant, és un marcador del dany neuroaxonal de la malaltia i pot ajudar en el monitoratge d'aquesta. Respecte a les proves funcionals de la visió, l'alteració de l'AV i el CV és poc freqüent i els valors que s'obtenen són similars als de les persones sanes [176,177,181]. En canvi, l'AV de baix contrast pot mostrar valors reduïts en aquests pacients, i es relaciona amb un major volum de lesions a la RM en seqüències T2 [137,182–184], i amb un menor gruix de les capes de la retina (pRNFL i GCIPL) [137,185–187].

L'evolució de l'OCT ha estat estudiada al llarg de la malaltia, considerat que és durant els primers cinc anys quan es produeix una pèrdua axonal i neurodegenerativa més accelerada, descrita a partir de la pèrdua de volum cerebral de la RM així com de l'aprimament de les capes de la retina (Figura 26) [32].

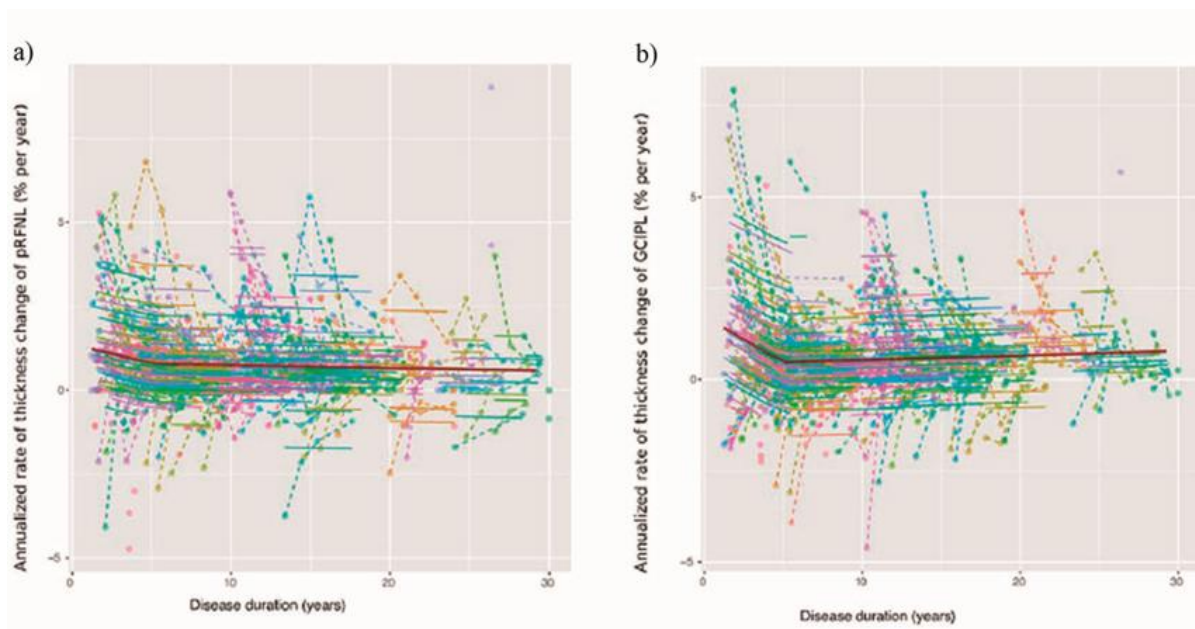


Figura 26. Dinàmica de la pèrdua de les capes de la retina al llarg de l'esclerosi múltiple. a) pRNFL i b) GCIPL. Els punts de color units per una línia representen les trajectòries individuals de canvi a les capes de la retina. La línia vermella fosca representa el model poblacional [32].

De fet, l'AV baix contrast i l'aprimament de les capes de la retina mesurada mitjançant l'OCT s'associen amb la discapacitat clínica i cognitiva [68,180,188]. A més, alguns autors parlen que uns mals resultats de l'AV de baix contrast poden ajudar a identificar la discapacitat a l'EM que encara no ha pogut ser capturada a través de l'EDSS i el MSFC [137,182,189], a més d'afegir informació en els pacients que tenen un EDSS estable [137,183]. En concret, una pRNFL <87-88 micres (en funció de l'aparell, Cirrus® o Spectralis®) implica un major risc de discapacitat i d'empitjorament al llarg del temps (mesurat amb l'escala de discapacitat EDSS i MSFC) [148,190], o un major risc de deteriorament cognitiu (mesurat a partir del SDMT) [191,192], en persones que no han tingut NOA prèvia [1,68]. A més, un valor de GCIPL inferior a 70 o 77 micres (en funció de l'estudi), també pot comportar un major risc de discapacitat, física o cognitiva, mesurada amb l'EDSS o el SDMT [191,193,194].

Malgrat l'existència d'aquestes dades, encara es desconeix la utilitat de l'OCT per predir una afectació cognitiva més global, més enllà de l'atenció o la velocitat de processament de la informació. A més, donada l'evolució de l'OCT observada al llarg de la malaltia, que mostra una pèrdua axonal i neurodegenerativa més accelerada durant els primers anys, continua sent una incògnita si aquests canvis van en paral·lel o són previs a l'afectació cognitiva en l'EM.

Per tant, és necessari realitzar estudis prospectius per caracteritzar l'evolució i la relació entre els canvis en l'OCT que reflecteix el dany neuroaxonal i la cognició, així com per conèixer la utilitat predictiva de l'OCT sobre l'evolució de la cognició.

2.6.2. Neuritis òptica aguda en el context d'altres malalties desmielinitzants

L'afectació visual i les seves característiques diferencials de les NOAs associades a la NMOSD, al MOGAD i a l'EM han estat descrites a la taula 4.

En termes visuals, la NOA associada a la NMOSD sol causar una alteració de l'agudesia visual greu i amb mala recuperació ($AV = 20/200$ o pitjor) en un 30% dels casos, que sol augmentar fins al 70% a causa de la freqüència dels casos recurrents. A més, un 20% dels casos tenen NOA bilateral [96], la qual cosa empitjora l'impacte funcional de la pèrdua visual sobre el pacient. En canvi, la NOA associada a la MOGAD causa una pèrdua visual severa en la seva fase aguda, amb $AV \leq 20/200$ (0,1) en molts pacients [99], però amb bona recuperació, majoritàriament l'AV mitjana és superior a 20/25 (0,8) i únicament un 5-15% dels pacients tenen una $AV \leq 20/200$ (0,1) en finalitzar l'episodi de brot. En la meitat dels casos, la NOA associada a MOGAD pot ser bilateral i simultània [96,117], empitjorant la qualitat de vida mentre durant episodi en aquestes persones. La NOA associada a NMOSD obté uns resultats pitjors en l'AV i l'AV de baix contrast que en la NOA associada a MOGAD, la qual cosa estaria relacionada amb una major pèrdua en els gruixos de les capes de la retina [96,195,196], encara que alguns estudis refereixen que les dues malalties tenen uns gruixos similars en la pRNFL i la GCIPL tot i els pitjors resultats visuals en el NMOSD [197,198]. Aquesta disparitat en els resultats es podria justificar per l'empitjorament dels pacients amb NOA associada a NMOSD a causa de la recurrència dels brots.

Les proves de visió en la NOA associada a la NMOSD i al MOGAD obtenen uns resultats inferiors respecte a la NOA associada a l'EM, sent l'alteració de la visió dels colors i la pèrdua d'AV i d'AV de baix contrast més severa en aquests casos [96,199]. D'igual manera, la disminució en els gruixos de les capes de la retina (pRNFL i GCIPL) és major en la NOA associada a la NMOSD que en l'associada a l'EM [195,197], mentre que en el cas de la NOA associada a MOGAD el gruix en la pRNFL és inferior respecte a MS [195], però no queda clar si passa el mateix amb la GCIPL, ja que alguns estudis indiquen que és inferior [198], mentre altres que és similar [195,200].

En la NOA associada a la NMOSD l'afectació inicial del CV és severa, amb una recuperació al cap d'un mes que amb freqüència presenta un defecte difós generalitzat. El patró resultant (al cap de 6 mesos) pot estar representat per una afectació en algun quadrant del CV,

caracteritzat en molts casos com una hemianòpsia altitudinal [176,201]. En canvi, en el cas de la NOA associada al MOGAD, la campimetria pot revelar qualsevol patró de pèrdua de camp, inclòs l'escotoma central o una depressió severa generalitzada que pot afectar els dos ulls [202].

En la NOA associada a NMOSD i la MOGAD les latències dels VEP estan allargades amb resultats superiors a la NOA associada a l'EM [196,203], indicant una menor velocitat en la conductivitat del nervi òptic.

Els diferents tipus de NOAs han estat estudiades a partir de la xarxa visual cortical estructural i funcional. Amb la tècnica de grafs en RM funcional s'ha pogut fer un seguiment de la NOA, observant una activitat en estat de repòs més alta del normal en la fase aguda, la qual disminueix en la fase de recuperació [204]. A més, un cop passada la fase inflamatòria, a la RM estructural s'observa una major alteració de la xarxa en pacients amb SCA que amb NMOSD mentre que amb la RM funcional s'ha observat una reducció de l'activació, i per tant una connectivitat disminuïda, en les àrees visuals primerenques, però no en les àrees visuals secundàries en ambdós ulls, tant en NMOSD com en SCA en comparació amb els controls [205,206]. A més, l'augment de la connectivitat de la xarxa visual primària en NMOSD s'ha correlacionat amb una reducció de l'AV i la sensibilitat al contrast baix i danys retinals més severos mesurats a través de l'OCT, la qual cosa podria reflectir un intent de mecanisme de reorganització de la xarxa en resposta al dany [207].

Malgrat això, es desconeix si l'afectació de la connectivitat funcional i estructural de la xarxa visual estan relacionades amb la recuperació final de la NOA.

L'OCT podria ajudar a predir la discapacitat visual en les neuritis òptiques agudes. A més, és possible que les noves tècniques per avaluar la connectivitat en RM permetin conèixer els canvis de la xarxa visual després de patir una neuritis òptica aguda i relacionar-los amb la recuperació visual.

II. HIPÒTESI

Hipòtesi general: L'estudi de la via visual anterior, realitzat a través de l'espectroscòpia Raman i la tomografia de coherència òptica podria ajudar a comprendre els processos inflamatoris i neurodegeneratius així com identificar el risc de deteriorament en les malalties inflamatòries desmielinitzants del sistema nerviós central. A més, l'anàlisi de la via visual posterior, en concret la xarxa visual cortical, mitjançant la ressonància magnètica podria ajudar a predir el risc de discapacitat visual en les neuritis òptiques agudes.

1. L'estudi de la retina mitjançant l'espectroscòpia Raman podria ajudar a caracteritzar els canvis moleculars in vivo que es produeixen a la retina de pacients amb esclerosi múltiple i neuritis òptica aguda. Aquesta informació podria contribuir a comprendre millor la relació entre inflamació i dany neurodegeneratiu en les malalties desmielinitzants del sistema nerviós central.
2. La neuritis òptica aguda pot produir diferents graus de discapacitat visual a llarg termini. És possible que el dany a la via visual anterior (mesurat a través de la tomografia de coherència òptica) i posterior (estudiat a partir de la ressonància magnètica i els potencials evocats visuals) estiguin relacionats amb la funció visual i puguin predir la discapacitat visual permanent en les neuritis òptiques.
3. L'evolució del dany neuroaxonal de la via visual, mesurat mitjançant el gruix de la retina en la tomografia de coherència òptica podria estar relacionat amb l'evolució del deteriorament cognitiu dels pacients amb esclerosi múltiple. Malgrat això, és possible que l'associació entre els canvis neuroaxons i cognitiu sigui diferent en fases més inicials de la malaltia respecte a fases avançades, on el dany tissular és més greu. A més, la presència d'un aprimament sever en la retina podria indicar un major risc d'empitjorament progressiu de la cognició.

III. OBJECTIUS

Objectiu general: Caracteritzar el dany de la via visual en les malalties desmielinitzants del sistema nerviós central i la neuritis òptica aguda i ampliar el coneixement en la relació entre aquest i la discapacitat tant visual com cognitiva. Predir l'evolució del deteriorament cognitiu en l'esclerosi múltiple i la recuperació visual després d'una neuritis òptica aguda mitjançant diversos biomarcadors de la via visual.

1. Caracteritzar en viu els canvis metabòlics de la retina dels pacients amb esclerosi múltiple, i altres malalties inflamatòries desmielinitzants del SNC, en fase crònica i durant la inflamació del nervi òptic en la neuritis òptica aguda, mitjançant l'espectroscòpia Raman. Conèixer l'evolució de les alteracions metabòliques al llarg del temps.
2. Definir el curs de la neuritis òptica aguda en termes de resultats visuals, canvis en el gruix de les capes de la retina i en la xarxa visual cortical en els 6 primers mesos. Conèixer la capacitat de predicció del gruix de les capes de la retina i els canvis en la xarxa visual cortical sobre la discapacitat visual després d'una neuritis òptica aguda.
3. Comprendre l'associació entre els canvis en la tomografia de coherència òptica i el deteriorament cognitiu en l'esclerosi múltiple. Avaluar si aquesta associació és igual en pacients en els primers 5 anys de la malaltia que en pacients amb una duració de la malaltia més llarga. Analitzar la capacitat predictiva de les mesures del gruix de la retina sobre l'empitjorament cognitiu al llarg del temps i establir llindars d'aquestes mesures que ajudin a identificar els pacients amb major risc de deteriorament.

IV. MATERIAL, MÈTODES I RESULTATS

Treball 1: In Vivo Molecular Changes in the Retina of Patients With Multiple Sclerosis.

Autors: Salut Alba-Arbalat, Magi Andorra, Bernardo Sanchez-Dalmau, Anna Camos-Carreras, Marina Dotti-Boada, Irene Pulido-Valdeolivas, Sara Llufríu, Yolanda Blanco, Maria Sepulveda, Albert Saiz, Oscar Batet, Iker Bilbao, Iratxe Torre, Ivan Amat-Roldan, Elena H. Martinez-Lapiscina i Pablo Villoslada.

Article publicat a *Investigative ophthalmology & visual science*, l'11 de maig de 2021

Amb l'objectiu d'avaluar els canvis metabòlics en la retina de pacients amb EM vàrem construir un prototip d'espectroscòpia Raman.

A través de l'espectroscòpia vam avaluar els espectres de 10 molècules implicades en el subministrament d'energia, la biologia dels axons o el dany sinàptic alterades a la retina de pacients amb EM tant en la fase crònica com durant els brots de neuritis òptica aguda (NOA). Aquestes molècules havien estat seleccionades d'acord amb el coneixement generat per un treball anterior amb participació del mateix grup amb tècniques in vitro, i es van elegir tenint en compte la seva influència en aquests processos biològics i la relació senyal/ soroll.

Aquest treball va identificar una disminució significativa en NADH i una tendència a la disminució en NAA en pacients amb EM, així com un augment en A β comparat amb controls sans. La NADH i FAD van augmentar amb el temps en pacients amb EM, mentre que A β es reduïa. En pacients amb inflamació aguda de la retina deguda a NOA, hi va haver un augment significatiu en FAD i una disminució en SNCA en la retina afectada. Els nivells de glutamat van augmentar en els ulls afectats després de 6 mesos de seguiment. Els resultats van demostrar canvis significatius associats l'edat en individus sans en totes aquestes molècules.

Aquests resultats van permetre identificar alteracions de molècules relacionades amb la degeneració axonal durant la neuroinflamació i caracteritzar els canvis dinàmics amb el temps, suggerint una neurodegeneració progressiva en pacients amb EM detectable amb l'espectroscòpia Raman.

In Vivo Molecular Changes in the Retina of Patients With Multiple Sclerosis

Salut Alba-Arbalat,^{1,2} Magi Andorra,¹ Bernardo Sanchez-Dalmau,^{1,2} Anna Camos-Carreras,^{1,2} Marina Dotti-Boada,^{1,2} Irene Pulido-Valdeolivas,^{1,3} Sara Llufrú,^{1,3} Yolanda Blanco,^{1,3} Maria Sepulveda,^{1,3} Albert Saiz,^{1,3,4} Oscar Batet,⁵ Iker Bilbao,⁵ Iratxe Torre,⁵ Ivan Amat-Roldan,⁵ Elena H. Martinez-Lapiscina,^{1,3} and Pablo Villoslada^{1,6}

¹Center of Neuroimmunology, Institut d'Investigacions Biomediques August Pi Sunyer, Barcelona, Spain

²Department of Ophthalmology, Hospital Clinic, University of Barcelona, Barcelona, Spain

³Department of Neurology, Hospital Clinic, University of Barcelona, Barcelona, Spain

⁴Institut de Neurociències, University of Barcelona, Barcelona, Spain

⁵Expert Ymaging SL, Barcelona, Spain

⁶Stanford University, Stanford, California, United States

Correspondence: Pablo Villoslada, Rosello 149, Barcelona 08036, Spain; pvillos@clinic.cat, pvillos@stanford.edu.

SAA and MA contributed equally to this work.

Received: December 22, 2020

Accepted: March 15, 2021

Published: May 11, 2021

Citation: Alba-Arbalat S, Andorra M, Sanchez-Dalmau B, et al. In vivo molecular changes in the retina of patients with multiple sclerosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2021;62(6):11. <https://doi.org/10.1167/iov.62.6.11>

PURPOSE. Raman spectroscopy allows molecular changes to be quantified in vivo from the tissues like the retina. Here we aimed to assess the metabolic changes in the retina of patients with multiple sclerosis (MS).

METHODS. We built a Raman spectroscopy prototype by connecting a scanning laser ophthalmoscope to a spectrophotometer. We defined the spectra of 10 molecules participating on energy supply, axon biology, or synaptic damage, which have been shown to be altered in the brain of patients with MS: cytochrome C, flavin adenine dinucleotide (FAD), nicotinamide adenine dinucleotide (NADH), N-acetyl-aspartate (NAA), excitotoxicity, glutamate, amyloid β (A β), τ and α -synuclein (SNCA), phosphatidyl-ethanolamine, and phosphatidyl-choline. We studied these molecules in a prospective cohort of patients with MS, either in the chronic phase or during relapses of acute optic neuritis (AON).

RESULTS. Significant changes to all these molecules were associated with age in healthy individuals. There was a significant decrease in NADH and a trend toward a decrease in NAA in patients with MS, as well as an increase in A β compared with healthy controls. Moreover, NADH and FAD increased over time in a longitudinal analysis of patients with MS, whereas A β diminished. In patients with acute retinal inflammation due to AON, there was a significant increase in FAD and a decrease in SNCA in the affected retina. Moreover, glutamate levels increased in the affected eyes after a 6-month follow-up.

CONCLUSIONS. Alterations of molecules related to axonal degeneration are observed during neuroinflammation and show dynamic changes over time, suggesting progressive neurodegeneration.

Keywords: molecular imaging, retina, multiple sclerosis, Raman spectroscopy

The ability to monitor molecular changes in the central nervous system (CNS) in vivo is paramount to improve our understanding of disease pathogenesis or to identify new therapeutic targets, particularly in patients with acute or chronic diseases. At present, the molecular imaging technologies available to interrogate the CNS include positron emission tomography (PET), magnetic resonance spectroscopy (MRS), and near-infrared imaging (NIR), yet they each have several drawbacks. PET imaging has limited spatial and temporal resolution and requires specific radioligands, restricting the number of molecules that can be interrogated. MRS also has limited spatial and temporal resolution and is limited to just a few molecules. Finally, NIR also suffers from restricted spatial resolution and requires the use of specific fluorophores. Therefore, new technological solutions are required to obtain more comprehensive

and higher-resolution assessment of the molecular changes in the CNS associated with disease. One potential solution is to take advantage of the potential of light-based technologies, such as Raman spectroscopy, and the accessibility of the retina as a part of the CNS.

Raman spectroscopy is a laser-based technique that identifies the chemical properties of tissues as it detects the molecular vibration frequencies that characterize molecular bonds and chemical structures.¹ Raman spectroscopy has been successfully used to discriminate tumor-infiltrated tissues from noninfiltrated tissues in brain surgery based on the molecular differences in these tissues.² Because the retina is a portion of the CNS that is directly accessible to laser-based technologies, Raman spectroscopy can be used to achieve molecular imaging of CNS and retina diseases in vivo.³ Like other gray matter structures, the retina exhibits



both inflammation and neurodegeneration in many brain diseases.⁴ Indeed, we have previously shown in preclinical studies that Raman spectroscopy can detect *in vitro* relevant molecular changes in retinal inflammation, such as an increase of immune mediators (lipoxygenase, inducible nitric oxide synthase, and TNF α), changes in molecules involved in energy production (cytochrome C [CytC], phenylalanine, and nicotinamide adenine dinucleotide [NADH]/NAD⁺), and a decrease of phosphatidylcholine (PC).⁵

Optical coherence tomography (OCT) studies have revealed that the retina is damaged in neuroinflammatory diseases, particularly during acute inflammation such as that occurring in acute optic neuritis (AON)⁶ or neuromyelitis optica (NMO).⁷ Although chronic and progressive damage can also be detected in patients with multiple sclerosis (MS).⁸ Indeed, retinal atrophy is associated with brain atrophy in MS, suggesting that both gray matter structures undergo similar degenerative processes.⁹ Thus, if structural changes in the retina parallel structural changes in the brain, molecular imaging of the retina is likely to be informative of the molecular basis of CNS damage in demyelinating diseases.

The aim of this study was to assess *in vivo* several molecules in the retina of patients with MS during the chronic phase or during the acute inflammation due to AON by Raman spectroscopy. As such, we built a prototype Raman spectroscopy device by adapting a scanning laser ophthalmoscope and coupling it to a spectrophotometer (Fig. 1). The Raman spectrophotometer was designed to obtain 80% of the signal from the retinal ganglion cell (RGC) layer, although other layers also contribute to the signal. We performed a hypothesis-based study by quantifying the levels of 10 relevant molecules associated with energy and axon biology (CytC, flavin adenine dinucleotide [FAD], NADH, *N*-acetyl-aspartate [NAA]), excitotoxicity (glutamate [Glu]), neuronal and synaptic damage (amyloid-beta [A β], τ and α -synuclein [SNCA]), and lipids with cell signaling activities (phosphatidyl-ethanolamine [PE] and PC).

METHODS

Study Design and Subjects

We conducted an observational study in prospective cohorts of patients with MS. The patients with MS studied here were part of the prospective MS-VisualPath cohort followed at the Hospital Clinic of the University of Barcelona, Spain. The cohort was set up in 2011, and it remains open and is described in detail elsewhere.^{10,11} For this analysis, we included 143 consecutive patients with MS fulfilling the 2010 McDonald criteria¹² and with up to 5 years of follow-up. Changes in disease-modifying therapies were allowed following standard-of-care practices as described before.¹¹ We also analyzed 15 consecutive patients with AON enrolled into the Barcelona prospective AON-VisualPath cohort at the Hospital Clinic of the University of Barcelona, Spain, from 2017 to 2019. This cohort is described elsewhere, including detailed ophthalmologic examination.^{6,13} Indeed, we analyzed 5 patients with NMO and anti-aquaporin-4 antibodies (NMO-AQP4) and 3 with myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG)-associated encephalitis (MOGAD) with anti-MOG antibodies, as described previously.⁷ Regarding the healthy controls, we collected 34 healthy volunteers matched for sex and age with the MS cohort as well as 12 healthy volunteers older than 55 years to analyze the effect

of age on each of the molecules. Patients and controls were evaluated by the neuro-ophthalmologists (BS-D, AC-C, MD-B) and an optometrist (SA-A) to exclude underdiagnosed cases of ophthalmic diseases (e.g., glaucoma). Patients were also excluded if they had severe myopia (>-6.0 dioptres (dp) or axial eye length >26 mm), severe hypermetropia (>5 dp), cylinder >3 dp, optic nerve drusen, cataracts, current or previous glaucoma, lens opacities, previous surgery, or any other retinal disease, which may be relevant for the older control group. In addition, the neurology team (IP-V, SL, MS) ruled out other neurologic conditions that may influence the retina (neurodegenerative diseases, stroke, etc.) as well as systemic conditions such as diabetes, hyperlipidemia, or obesity. The study is reported following Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) guidelines.

Ethical Statement

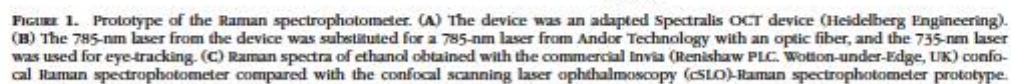
The study was approved by the Hospital Clinical Ethical Committee, and the patients were recruited by their neurologist after providing their signed informed consent.

Clinical Outcomes

The clinical scales used to collect information on the patients with MS annually over the first 3 years and then on year 5 were the Expanded Disability Status Scale (EDSS)¹⁴ and low-contrast visual acuity using the Sloan 2.5% contrast cards (SL25).¹⁵ Patients with AON were assessed by high-contrast visual acuity using the Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) plates, as well as using the SL25, and color vision was evaluated using the Hardy Rand and Rittler pseudochromatic plates at baseline and monthly until month 6, as described in Lampert et al.¹⁶ Patients with NMO-AQP4 and MOGAD were evaluated with the EDSS scale.

Raman Spectroscopy of the Retina

Raman spectroscopy was conducted using a Raman spectrophotometer v1.0 (Ymaging SL, Barcelona, Spain). The system was developed by adapting a Spectralis OCT device (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany), which was used to noninvasively capture molecular information of the retina in less than 2.5 minutes per eye (Fig. 1). The 785-nm laser from the OCT was substituted for another 785-nm laser with higher thermal stability, and the device was connected to a spectrophotometer (Andor Technology, Belfast, UK) with an optic fiber. The 735-nm laser of the OCT was used for eye-tracking. The Spanish Agency of Medicines and Medical Devices approved the device for human use (AEMPS ref. 497/14/EC). The prototype has the confocal point in the ganglion cell layer (GCL) so that 80% of the signal comes from the GCL and the surrounding layers (retinal nerve fiber layer [RNFL] and inner plexiform layer [IPL]) (Fig. 1).⁵ We used a black tarp covering the subject to avoid any external light during acquisition, without pupillary dilatation. We acquired five measurements (30 seconds each) from a 15° segment of the central retina in each eye. The quality of the signal was monitored during the acquisition, and the optometrist had the possibility of increasing the number of acquisitions to a maximum of eight measurements per eye if the signal-to-noise ratio was not sufficiently good to



(D) Reproducibility of the Raman signal from the retina of 10 healthy subjects. (E) Raman signal from healthy and inflamed retina. The confocal point of the prototype lies in the GCL, such that 80% of the signal comes from the GCL and its surrounding layers (retinal nerve fiber layer and inner plexiform layer), and the central retina (15°) was analyzed with a raster scan.

ensure a Raman signal of sufficient quality. The Raman spectroscopy results are taken from one randomly chosen eye of the controls. For patients with MS and NMO, we only used eyes with no previous optic neuritis, whereas we used only the eye with incident AON for the patients with AON.

The Raman spectra of the candidate molecules were defined as described previously.² Briefly, CytC, FAD, NADH, NAA, Glu, A β , SNCA, PE, and PC were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) and used without further modification. For the spectra of the molecules in solution, the powders were mixed with a small amount (one to two drops) of PBS (1 $\times$, pH 7.4) and imaged at this high concentration, with the exception of NADH, which was measured in Tris pH 7.5 due to its interactions with the phosphate in PBS.¹⁷ Eight different concentrations were prepared in PBS/Tris by dilution (4 M, 3 M, 2 M, 1 M, 0.5 M, 0.1 M, 0.05 M, and 0.01 M; pH 7). Three to five spectra were taken at each concentration.

Optical Coherence Tomography

Retinal scans were performed using a Spectralis OCT device (Heidelberg Engineering) under standard conditions and using the eye-tracking modality without pupillary dilatation. The peripapillary retinal thickness (pRNFL, μ m) was measured using a ring scan of 12° diameter, automatically centered on the optic nerve head (automatic real time [ART] = 100; 1536 A-scans per B-scan). Macular layer thicknesses were evaluated using a 20 $\times$ 20-degree horizontal raster scan centered on the fovea, including 25 B-scans (ART $\geq$ 9; 512 A-scans per B-scan). Intraretinal layer segmentation was performed in a semiautomated fashion using the Spectralis segmentation algorithm (6.0c version) and a 6-mm ring area grid, with an optometrist manually correcting obvious errors blind to the conditions. We estimated the thicknesses (μ m) of the RNFL, ganglion cell plus inner plexiform layer (GCIPL), inner nuclear layer, outer plexiform layer, outer nuclear layer (ONL), and photoreceptor layer (PRL). All spectral-domain OCT scans fulfilled OSCAR-IB criteria,² and scans with a sub-standard signal-to-noise ratio or retinal thickness algorithm failure were repeated or the data were excluded.

Statistical Analysis

All analyses were carried out using R software, first testing that the variables conformed to a normal distribution with the Shapiro-Wilks test. We described the baseline features of the study population and the clinical characteristics using the absolute and relative frequencies for categorical variables. For quantitative variables, we used medians and the interquartile range to describe the basal features of the study population. No imputation strategies were applied, and missing data were omitted. The percentage of missing data for independent variables did not exceed 7% in any of the data sets at each visit. Test-retest analysis was assessed through the relative error. A *t*-test, ANOVA, and pairwise comparisons were performed to compare the groups as appropriate, and correlations were analyzed using a Pearson correlation.

Correction for multiple testing was done using false discovery rate with Benjamini-Hochberg procedure.

RESULTS

The Retina of Healthy Controls and the Molecular Changes With Age and Sex

We analyzed two groups of healthy controls (HCs, *n* = 68) to evaluate the influence of age on the levels of the molecules studied in the retina when assessed by Raman spectroscopy (Table 1). One group (*n* = 56) was composed of young adults matched with the relapsing-remitting multiple sclerosis (RRMS) group with a mean age of 38.2 years (range, 29.8–45.4), of whom 39 were females 39 (65%), while the other group (*n* = 12) was composed of older subjects with a mean age of 66.0 years (range, 61.8–68.4), of whom 8 were female (67%). We found that age significantly influenced the levels of all the molecules examined, with an increase in Glu, A β , SNCA, and PE and a decrease in CytC, FAD, NAA, NADH, PC, and τ with age (Fig. 2A). By contrast, we did not find a significant effect of sex on any of the molecules (Supplementary Fig. S1). Considering the effect of age in the levels of these molecules, an analysis by disease subtype was not performed due to the strong interaction between age and progressive disease.

In order to assess the test-retest consistency of the molecular quantification by Raman spectroscopy, we rescanned a subgroup of 6 HCs and 5 MS cases at 1 and 12 hours. We found that the molecules studied had a relatively low error in the 1-hour retest, in general less than 5%, except for A β and SNCA. Similarly, in the 12-hour retest, only PE and SNCA showed a relative error above 5%, with no differences between the HCs or patients with MS (Fig. 2B and Table 2).

Molecular Profiles in the Retina of Patients With MS

To examine the changes in the candidate molecules due to retinal damage in patients with MS (Table 1), we first analyzed the differences during the remission phase relative to the HCs in a cross-sectional manner. There was a significant decrease in NADH levels in the retinas from patients with MS and a trend toward a decrease in NAA levels and an increase in A β levels relative to the controls (Fig. 3A). Indeed, we found that the NAA levels were correlated with 2.5% low-contrast vision (r = -0.36 , unadjusted P = 0.027), although such correlation was not significant after correction for multiple testing (adjusted P = 0.27). In addition, we compared the changes in the candidate molecules in the retina of patients with MS with those in patients with NMO, with the latter associated with more severe CNS damage. Similar trends to those detected in patients with MS were observed in the retinas of patients with NMO-AQP4 and MOGAD, although they were not significant due to the small sample size of the NMO group (Supplementary Fig. S2). These results suggest that chronic retinal damage in demyelinating diseases is associated with a common metabolic profile.

TABLE 1. Clinical Characteristics of Patients With Demyelinating Diseases

Characteristic	MS	AON	NMO Anti-AQP-4 ⁺	MOGAD	Young HCs	Old HCs
n	143	15	5	3	34	12
Sex (female), n (%)	101 (70.62)	11 (73.33)	2 (40.0)	1 (33.0)	39 (64.83)	8 (66.66)
Age, years	43.5 [36.3–52.6]	31.4 [26.7–37.3]	42.8 [38.0–44.9]	53.8 [52.9–54.4]	38.2 [29.8–45.4]	66.0 [61.8–68.4]
Disease duration*	9.66 [5.50–15.8] years	15 [11–118] days	3.84 [0.99–5.38] years	1.54 [0.96–6.59] years	NA	NA
Subtype	RRMS: 124 CIS: 7 PPMS: 9 SPMS: 3	Idiopathic: 5 MS: 10 •Relapse: 2 •First relapse: 8	NA	NA	NA	NA
EDSS	1.5 [1–2]	NA	NA	NA	NA	NA
SL25†	23 [11.5–25.5]	ON: 0 [0–14.5] NON: 32 [28–33.5]	NA	NA	NA	NA
DMT	Yes [‡] : 104 No: 31 NA: 8	NA	NA	NA	NA	NA

CIS, clinically isolated syndrome; DMT, disease modifying therapy; NA, not available; ON, optic neuritis; NON, non-optic neuritis; PPMS, primary-progressive multiple sclerosis; RRMS, relapsing-remitting multiple sclerosis; SPMS, secondary-progressive multiple sclerosis.

*AON disease duration: days since the onset of AON.

†SL25 in patients with MS: mean of both eyes for NON eyes.

‡Disease-modifying therapies in patients with MS, number of patients: fingolimod, 3; glatiramer acetate, 22; interferon beta1b, 21; interferon beta1b i.m., 15; interferon beta1a s.c., 23; natalizumab, 9; teriflunomide, 4; dimethyl-fumarate, 5.

TABLE 2. Test–Retest of the Molecules at 1 and 12 Hours in Controls (n = 11)

Molecule	1-h Retest	12-h Retest
Aβ	8.583 (7.373)	4.582 (2.999)
CytC	3.425 (1.528)	2.573 (2.728)
FAD	4.581 (3.750)	1.690 (1.775)
Glu	3.392 (2.738)	2.956 (2.273)
NAA	3.622 (2.079)	2.397 (1.646)
NADH	4.713 (2.442)	4.470 (3.110)
PC	4.277 (3.307)	3.941 (2.733)
PE	4.325 (2.460)	6.982 (5.324)
SNCA	6.568 (5.018)	10.700 (15.774)
τ	3.451 (2.662)	2.881 (3.150)

The results shown are the mean (SD) of relative error [(Absolute difference/mean) * 100%].

We also analyzed the changes to the molecules in the retina of patients with MS over time in our prospective cohort. The longitudinal analysis in patients with MS was done on an annual basis, with a mean follow-up of 560 (0–784) days and a median of 2 (1–3) visits. We found a significant increase in NADH over time (unadjusted $P = 0.011$), although it was not significant after adjustment for multiple comparisons (adjusted $P = 0.081$) and a trend toward an increase in FAD ($P = 0.06$), whereas we observed a significant decrease in Aβ over time (unadjusted $P = 0.012$, adjusted $P = 0.066$; Fig. 3B).

Finally, we analyzed the relationship between structural and molecular changes in the retina, assessing the correlation between the levels of each molecule and the thickness of the retinal layers measured by OCT in patients with MS. We observed significant correlations between the thickness of the pRNFL and PE levels ($r = 0.36$, unadjusted $P = 0.0026$, adjusted $P = 0.026$); the thickness of the GCIPL and PE levels ($r = 0.3$, unadjusted $P = 0.015$, adjusted $P = 0.15$); the ONL thickness and beta-amyloid (BA) ($r = -0.27$, unadjusted $P = 0.027$, adjusted $P = 0.11$); PC ($r = 0.24$, unadjusted $P = 0.056$, adjusted $P = 0.11$), and SNCA ($r = -0.22$, unadjusted $P = 0.075$, adjusted $P = 0.12$); and the photoreceptor layer (PRL) thickness and FAD ($r = 0.34$, unadjusted $P = 0.005$, adjusted $P = 0.024$), PC ($r = 0.35$, unadjusted $P = 0.0043$,

adjusted $P = 0.024$), SNCA ($r = -0.3$, unadjusted $P = 0.016$, adjusted $P = 0.04$), and τ ($r = 0.31$, $P = 0.011$, adjusted $P = 0.038$) (Supplementary Fig. S3). Therefore, damage to the retina in MS is associated with a molecular signature that is indicative of neuronal and synaptic damage.

Changes to Retinal Molecules During Acute Inflammation in AON

To assess the changes in the metabolic profile of the retina during acute inflammation, we analyzed a prospective cohort of patients with AON both in the acute phase and longitudinally during recovery. We evaluated each of the molecules in the affected eye in the acute/inflammatory phase (baseline visit <30 days after onset) and after recovery (last visit >180 days after onset). In the acute phase, there was a significant increase in FAD (unadjusted $P = 0.008$, adjusted $P = 0.042$) in the affected retinas (AON eyes) and a decrease in SNCA levels (unadjusted $P = 0.0016$, adjusted $P = 0.015$) (Fig. 4A). No correlations between the levels of any of the molecules and visual acuity were found at baseline. When the longitudinal changes to these molecules were assessed by comparing their levels at baseline with those during the recovery process at months 2, 4, and 6 after AON onset, a significant increase in Glu was observed by month 6 (unadjusted $P = 0.036$, adjusted $P = 0.24$) (Fig. 4B). Finally, the relationship between the structural changes to the retina assessed by OCT and the molecular changes was evaluated by analyzing the correlation between the distinct molecules and the retina layer thickness in the acute disease phase. A significant correlation was detected between the pRNFL thickness and Glu levels ($r = -0.62$, unadjusted $P = 0.025$, adjusted $P = 0.089$), as well as for the GCIPL thickness and FAD levels ($r = -0.62$, unadjusted $P = 0.025$, adjusted $P = 0.33$) (Supplementary Fig. S4).

DISCUSSION

In this study, we found that there are changes in several key molecules in the retina of patients with acute or chronic

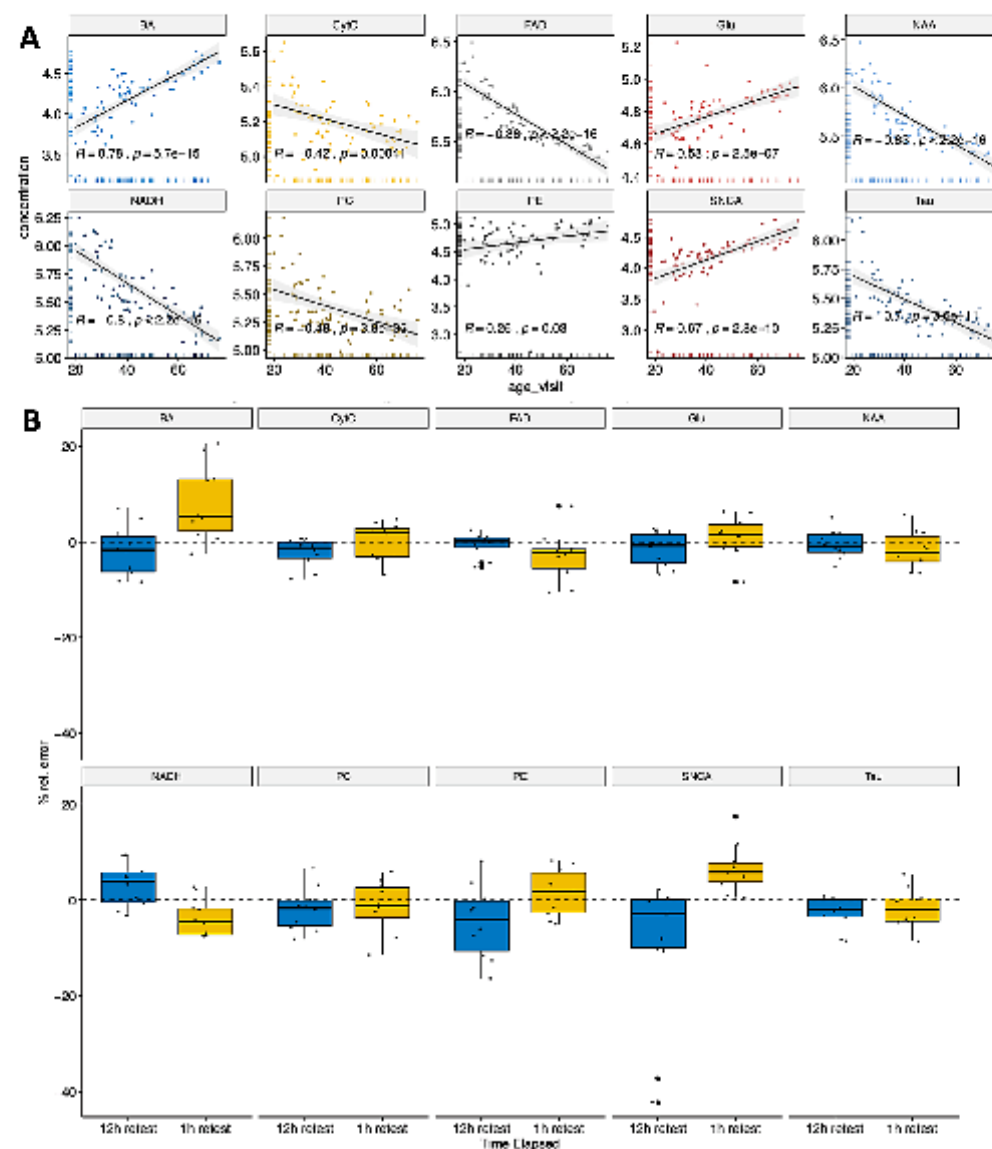


FIGURE 2. Retinal molecules in healthy controls measured by Raman spectroscopy. (A) Levels of the different proteins and age distribution: the scatterplots show the levels of CytC, FAD, Glu, NAA, NADH, PC, PE, Aβ, SNCA, and τ quantified by Raman spectroscopy on one randomly selected eye from healthy controls of different ages. The Pearson correlation r value and P value are shown. (B) Test-retest variability of the molecules in the retina at 1 and 12 hours (see Table 2 for numerical values). The results are shown as the relative error [(absolute difference/mean) * 100%].

damage due to neuroinflammation that are related to energy supply, as well as axon and synapse biology. In patients with a chronic inflammatory process due to MS, there is

a loss of metabolites involved in energy production and axon degeneration in the retina, such as NADH and NAA,¹⁰ and these levels are correlated with scales of disability.

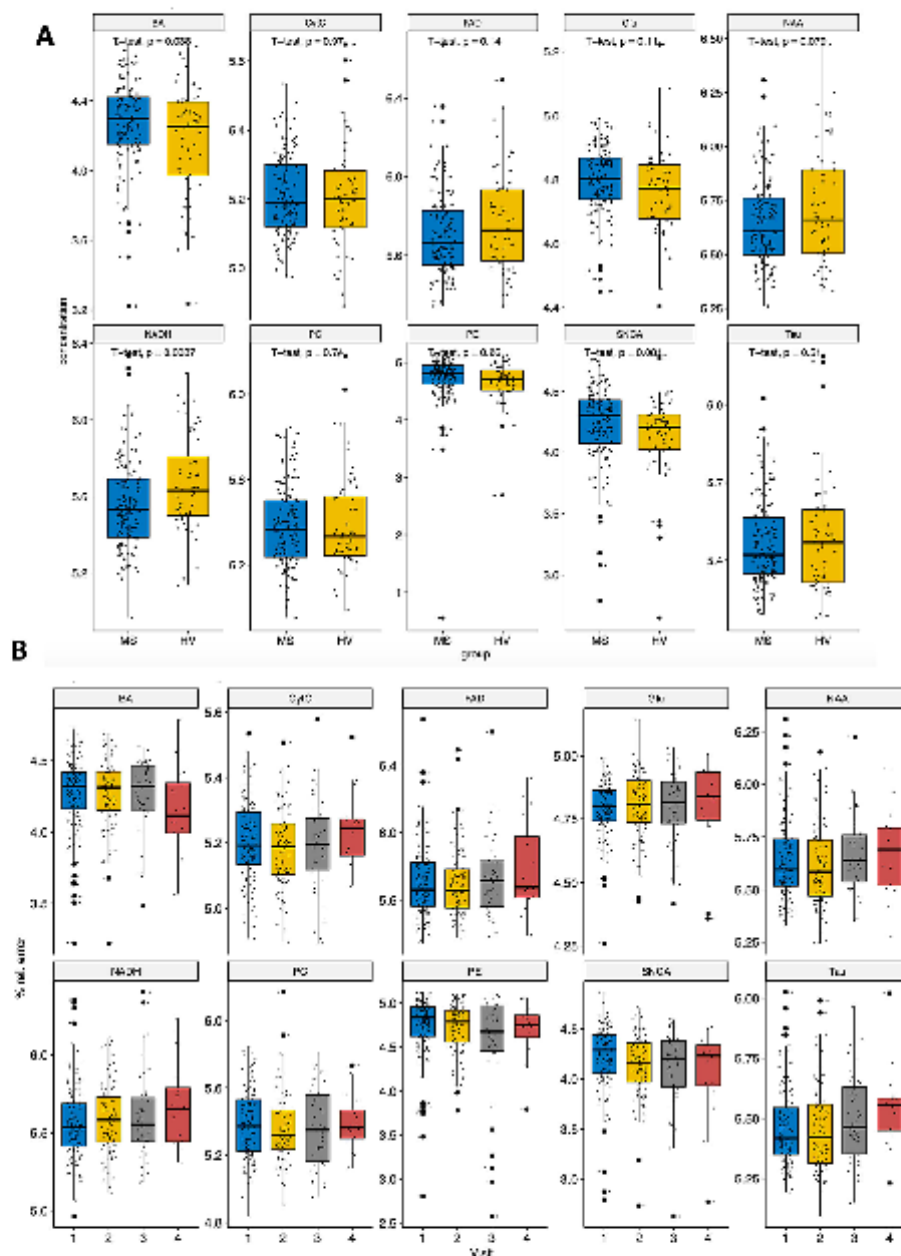


FIGURE 3. Differences in the retinal molecules in patients with MS. (A) Cross-sectional analysis. (B) Longitudinal analysis. Group comparisons were performed with a *t*-test and the time-series analyses were carried out with a repeated-measurements ANOVA.

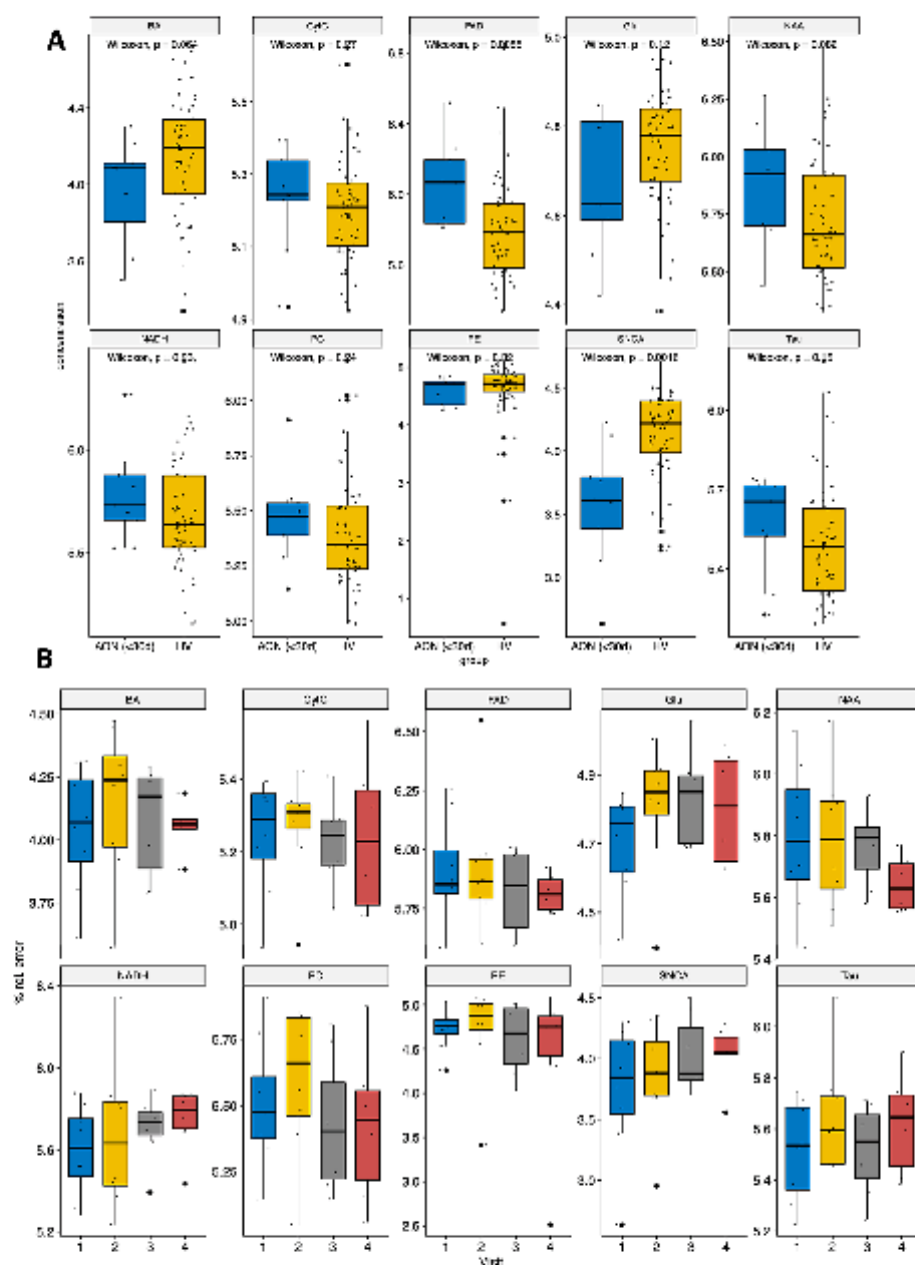


FIGURE 4. Differences in the retinal molecules in AON eyes. (A) Cross-sectional analysis. (B) Longitudinal analysis. Group comparisons were performed with a *t*-test and the time-series analyses were done with a repeated-measures ANOVA.

Longitudinal assessment confirmed the chronic decrease of NADH and FAD, and the retinas from patients with MS had higher levels of A β that decreased over time. In association with acute inflammation due to AON, there was more FAD in the retina and less SNCA at disease onset, with Glu levels increasing during the recovery period. In addition, we found a correlation between retinal atrophy and the changes to several of the molecules tested, indicating a structural-molecular relationship in inflammatory CNS diseases.

The most prominent changes detected were in metabolites related to the mitochondria and energy supply (NADH, FAD), which are affected by both acute and chronic inflammatory damage to the retina.^{18,20} These results are consistent with the abundant literature describing the impairment of mitochondrial function, preferentially affecting complex I and IV in the brain of patients with MS,²¹ as well as altered mitochondrial transport along the axons.²² In addition, more NADH and less NAD⁺ have been described in the serum of patients with MS,²³ probably secondary to the chronic oxidative stress observed in the brain of patients with MS. Moreover, after axonal transection due to inflammatory damage, axonal degeneration is regulated by several key molecules that influence NAD levels, such as nicotinamide nucleotide adenyltransferase 2 (NMNAT2), sterile alpha and TIR motif 175 containing 1 (Sarm1), and phosphate starvation response 1 (PHR1),¹⁸ suggesting that NADH levels may also reflect the extent of axon damage.

Similarly, there was a decrease in another marker of axon function, NAA, in association with chronic inflammatory damage to the retina, and indeed, NAA abnormalities (including the NAA/myo-inositol ratio) have been identified in the brain of patients with MS by MRS.^{24,25} Finally, the evolution of acute retinal inflammation was associated with an increase in glutamate, suggesting a role for excitotoxicity in the evolution of focal MS lesions, such as AON.²⁶ Altered glutamate levels in the brain of patients with MS also have been observed by MRS,^{27–29} supporting a role for glutamate-mediated excitotoxicity in the evolution of MS.

Our study also identified alterations to several peptides/proteins related to the maintenance of neurons, axons and synapses, and neurodegeneration, such as A β , τ , and SNCA. Several amyloid-forming molecules are found in MS brain lesions, including alpha beta crystallin alpha B (CRYAB), amyloid precursor protein, major prion protein, and τ .³⁰ A β levels decrease in the cerebrospinal fluid (CSF) of patients with MS in accordance with the pro- and anti-inflammatory cytokines detected.^{31–33} Indeed, the accumulations of A β aggregates and oligomers in the brain and CSF of patients with MS³⁴ suggest A β may be implicated in the response to inflammatory damage to neurons and synapses. By using radioligands targeting A β for PET imaging studies (the PIB compound), a significant loss in the A β signal was seen in patients with MS, which may be related to either neuroaxonal damage or myelin loss.³⁵ SNCA is known to modulate T-cell activation in the peripheral immune system and during CNS inflammation in the animal model of MS.^{36,37} Indeed, the immune response to another member of the synuclein family, β -synuclein, can trigger gray matter-specific autoimmune attack in animal models, and β -synuclein-specific T cells are enriched in progressive MS.³⁸ SNCA is altered in the CSF of patients with MS,^{39,40} and its expression increases in active plaques within the brain,⁴¹ possibly an indicator of synaptic dysfunction, axon damage, and/or neuronal loss. Therefore, the alterations to

A β and SNCA in the retina of patients with demyelinating disease may be surrogates of neuronal damage, and thus, they might represent biomarkers of CNS degeneration in neuroinflammatory diseases.

Our study has several limitations. First, the Raman signal (A-scans) was obtained from a cylinder across all retina layers with particular focus on the RGC layer, which constitutes about 80% of the signal.⁵ However, other layers also contribute, limiting the interpretation regarding the layer/cell specificity. In addition, the retinas were imaged using a raster scan covering the central retina, and the signal was averaged. For this reason, the results represent an analysis of a diffuse damage to the retina, the most commonly observed in MS,⁴² but they lose topographic definition. Therefore, the molecular information derived from this approach lacks cellular resolution, impeding the identification of the cellular sources of each metabolite. Second, we conducted a candidate analysis of 10 molecules previously identified as relevant to key pathways of CNS damage in MS, some of which were previously seen to be altered in association with retinal inflammation by Raman spectroscopy (CytC, NADH, NAA, and PC).⁵ Many other molecules may be altered in demyelinating disease, and some may be better biomarkers of the process. We selected the candidate approach to interrogate well-known biological features with this technology, yet future studies involving metabolomic screening should be able to identify other molecules and pathways altered in the retina of patients with demyelinating diseases. The signal-to-noise ratio was not very high with this prototype due to the small power of the Raman signal. However, our results are consistent with the literature, and the longitudinal analysis contributes to improve the reliability of the results. Future technological developments in this technology with enhanced ratios will improve the clinical usefulness of retina Raman spectroscopy. Considering the design as a pilot study, the results are provided as unadjusted *P* values as well as adjusted for multiple comparisons. This implies that validation in new cohorts will be required to confirm the findings not significant after multiple comparisons adjustment. In addition, standardization between Raman devices will be required before generalization of the results.⁴³

In conclusion, this study indicates that acute and chronic inflammation of the retina induced by demyelinating diseases is associated with significant alterations in molecules related to energy metabolism and excitotoxicity, as well as with neuronal and synaptic maintenance. Considering that the retina is considered a gray matter structure of the CNS and given the association between retinal and CNS damage in patients with MS, the molecular changes observed here are likely to be representative of the overall molecular changes in the gray matter associated with demyelinating diseases.

Acknowledgments

The authors thank Mark Sefton for assistance with the English language revision of the manuscript and Santiago Ortiz-Perez for drawing the cartoon shown in Figure 1E.

Supported by an unrestricted grant from Merck KGaA (Darmstadt, Germany), the Instituto de Salud Carlos III (Spain) and Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER—P115/0061), the CERCA Program of the Generalitat de Catalunya to PV, and Fundació CELLEX and Fundació Marató TV3 to EHML. The funding agencies played no role in the study design, data collection, data analysis, data interpretation writing of the report,

or the decision to publish. The corresponding author had full access to all the study data and is ultimately responsible for the decision to submit for publication.

Anonymized data will be shared by request from any qualified investigator for the purpose of replicating the results, provided that data transfer follows the European Union legislation on general data protection.

Disclosure: S. Alba-Arbalat, None; M. Andorra, None; B. Sanchez-Dalmau, None; A. Camos-Carreras, None; M. Dotti-Boada, None; I. Pulido-Valdeolivas, UCB Pharma (E); S. Llufrí, Merck (C); Y. Blanco, None; M. Sepulveda, None; A. Saiz, Merck-Serono (C); O. Batet, Ymaging SL (E); I. Bilbao, Ymaging SL (E); I. Torre, Ymaging SL (E); I. Amat-Roldán, Ymaging SL (E); E.H. Martínez-Lapiscina, European Medicines Agency (Human Medicines) (E); P. Villoslada, Accure Therapeutics (C), Spiral Therapeutics (C), Attune Neurosciences (C), NeuroPrex (C), QMENTA (C), and CLight (C)

References

- Neelam T, K'Ogorman N, Nolan J, et al. Measurement of macular pigment: Raman spectroscopy versus heterochromatic flicker photometry. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005;46:1023-1032.
- Hollon T, Lewis S, Freudiger CW, Sunney Xie X, Orringer DA. Improving the accuracy of brain tumor surgery via Raman-based technology. *Neurosurg Focus*. 2016;40:E9.
- Stiebing C, Schie IW, Knorr F, et al. Nonresonant Raman spectroscopy of isolated human retina samples complying with laser safety regulations for in vivo measurements. *Neurophotonics*. 2019;6:041106.
- Green AJ, McQuaid S, Hauser SL, Allen IV, Lyness R. Ocular pathology in multiple sclerosis: retinal atrophy and inflammation irrespective of disease duration. *Brain*. 2010;133:1591-1601.
- Marro M, Taubes A, Abernathy A, et al. Dynamic molecular monitoring of retina inflammation by in vivo Raman spectroscopy coupled with multivariate analysis. *J Biophotonics*. 2014;7:724-734.
- Andorra M, Alba-Arbalat S, Camos-Carreras A, et al. Using acute optic neuritis trials to assess neuroprotective and remyelinating therapies in multiple sclerosis. *JAMA Neurol*. 2019;7:234-244.
- Martínez-Lapiscina EH, Sepulveda M, Torres-Torres R, et al. Usefulness of optical coherence tomography to distinguish optic neuritis associated with AQP4 or MOG in neuromyelitis optica spectrum disorders. *Ther Adv Neurol Disord*. 2016;9:436-440.
- Petzold A, Balcer LJ, Calabresi PA, et al. Retinal layer segmentation in multiple sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol*. 2017;16:797-812.
- Saidha S, Al-Louzi O, Ratchford JN, et al. Optical coherence tomography reflects brain atrophy in multiple sclerosis: a four-year study. *Ann Neurol*. 2015;78:801-813.
- Martínez-Lapiscina E, Sanchez-Dalmau B, Fraga-Pumar E, et al. The visual pathway as a model to understand brain damage in multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2014;20:1678-1685.
- Andorra M, Nakamura K, Lampert EJ, et al. Assessing biological and methodological aspects of brain volume loss in multiple sclerosis. *JAMA Neurol*. 2018;75:1246-1255.
- Polman CH, Reingold SC, Banwell B, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol*. 2011;69:292-302.
- Pulido-Valdeolivas I, Andorra M, Gomez-Andres D, et al. Retinal and brain damage during multiple sclerosis course: inflammatory activity is a key factor in the first 5 years. *Sci Rep*. 2020;10:13333.
- Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*. 1983;33:1444-1452.
- Balcer LJ, Raynowska J, Nolan R, et al. Validity of low-contrast letter acuity as a visual performance outcome measure for multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2017;23:734-747.
- Lampert EJ, Andorra M, Torres-Torres R, et al. Color vision impairment in multiple sclerosis points to retinal ganglion cell damage. *J Neurol*. 2015;262:2491-2497.
- Rover Junior I, Fernandes JC, de Oliveira Neto G, Kubota LT, Katekawa E, Serrano SH. Study of NADH stability using ultraviolet-visible spectrophotometric analysis and factorial design. *Anal Biochem*. 1998;260:50-55.
- Ding C, Hammarlund M. Mechanisms of injury-induced axon degeneration. *Curr Opin Neurobiol*. 2019;57:171-178.
- Kleerekooper I, Petzold A, Trip SA. Anterior visual system imaging to investigate energy failure in multiple sclerosis. *Brain*. 2020;143:1999-2008.
- Campbell G, Mahad DJ. Mitochondrial dysfunction and axon degeneration in progressive multiple sclerosis. *FEBS Lett*. 2018;592:1113-1121.
- Mahad DJ, Ziabreva I, Campbell G, et al. Mitochondrial changes within axons in multiple sclerosis. *Brain*. 2009;132:1161-1174.
- Errea O, Moreno B, Gonzalez-Franquesa A, Garcia-Roves P, Villoslada P. The disruption of mitochondrial axonal transport is an early event in neuroinflammation. *J Neuroinflammation*. 2015;12:152-167.
- Braid N, Lim CK, Grant R, Brew BJ, Guillemin GJ. Serum nicotinamide adenine dinucleotide levels through disease course in multiple sclerosis. *Brain Res*. 2013;1537:267-272.
- Llufrí S, Kornak J, Ratiney H, et al. Magnetic resonance spectroscopy markers of disease progression in multiple sclerosis. *JAMA Neurol*. 2014;71:840-847.
- Wood ET, Ercan E, Sati P, Cortese ICM, Ronen I, Reich DS. Longitudinal MR spectroscopy of neurodegeneration in multiple sclerosis with diffusion of the intracellular constituent N-acetylaspartate. *Neuroimage Clin*. 2017;15:780-788.
- Kostic M, Zivkovic N, Stojanovic I. Multiple sclerosis and glutamate excitotoxicity. *Rev Neurosci*. 2013;24:71-88.
- Srinivasan R, Sailasuta N, Hurd R, Nelson S, Pelletier D. Evidence of elevated glutamate in multiple sclerosis using magnetic resonance spectroscopy at 3 T. *Brain*. 2005;128:1016-1025.
- Nantes JC, Proulx S, Zhong J, et al. GABA and glutamate levels correlate with MTR and clinical disability: insights from multiple sclerosis. *Neuroimage*. 2017;157:705-715.
- Azevedo CJ, Kornak J, Chu P, et al. In vivo evidence of glutamate toxicity in multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2014;76:269-278.
- Han MH, Hwang SI, Roy DB, et al. Proteomic analysis of active multiple sclerosis lesions reveals therapeutic targets. *Nature*. 2008;451:1076-1081.
- Stampanoni Bassi M, Garofalo S, Marfia GA, et al. Amyloid-beta homeostasis bridges inflammation, synaptic plasticity deficits and cognitive dysfunction in multiple sclerosis. *Front Mol Neurosci*. 2017;10:390.
- Mori F, Rossi S, Sancesario G, et al. Cognitive and cortical plasticity deficits correlate with altered amyloid-beta CSF levels in multiple sclerosis. *Neuropsychopharmacology*. 2011;36:559-568.
- Pietroboni AM, Caprioli M, Carandini T, et al. CSF beta-amyloid predicts prognosis in patients with multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2019;25:1223-1231.

34. David MA, Tayebi M. Detection of protein aggregates in brain and cerebrospinal fluid derived from multiple sclerosis patients. *Front Neurol.* 2014;5:251.
35. Zeydan B, Lowe VJ, Reichard RR, et al. Imaging biomarkers of Alzheimer disease in multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 2020;87:556–567.
36. Kuhbandner K, Hoffmann A, Gonzalez Alvarado MN, et al. Alpha-synuclein: a modulator during inflammatory CNS demyelination. *J Mol Neurosci.* 2020;70:1038–1049.
37. Eitle B, Kuhbandner K, Jorg S, Hoffmann A, Winkler J, Linker RA. Alpha-synuclein deficiency promotes neuroinflammation by increasing Th1 cell-mediated immune responses. *J Neuroinflammation.* 2016;13:201.
38. Lodygin D, Hermann M, Schweingruber N, et al. Beta-synuclein-reactive T cells induce autoimmune CNS grey matter degeneration. *Nature.* 2019;566:503–508.
39. Antonelou R, Emmanouilidou E, Gasparinatos G, Velona T, Voumvourakis KI, Stefanis L. Decreased levels of alpha-synuclein in cerebrospinal fluid of patients with clinically isolated syndrome and multiple sclerosis. *J Neurochem.* 2015;134:748–755.
40. Wang H, Wang K, Xu W, et al. Cerebrospinal fluid alpha-synuclein levels are elevated in multiple sclerosis and neuromyelitis optica patients during relapse. *J Neurochem.* 2012;122:19–23.
41. Lu JQ, Fan Y, Mitha AP, et al. Association of alpha-synuclein immunoreactivity with inflammatory activity in multiple sclerosis lesions. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2009;68:179–189.
42. Ortiz-Perez S, Andorra M, Sanchez-Dalmau B, et al. Visual field impairment captures disease burden in multiple sclerosis. *J Neurol.* 2016;263:695–702.
43. Guo S, Beleites C, Neugebauer U, et al. Comparability of Raman spectroscopic configurations: a large scale cross-laboratory study. *Anal Chem.* 2020;15745–15756.

Material supplementari:

Figure S1

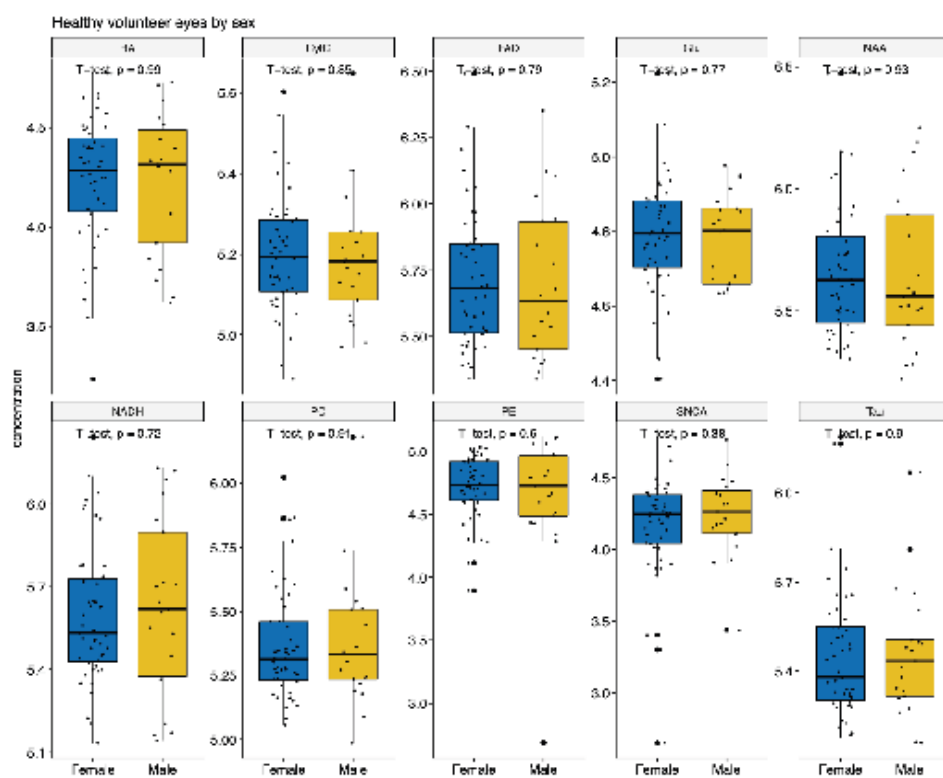


Figure S2

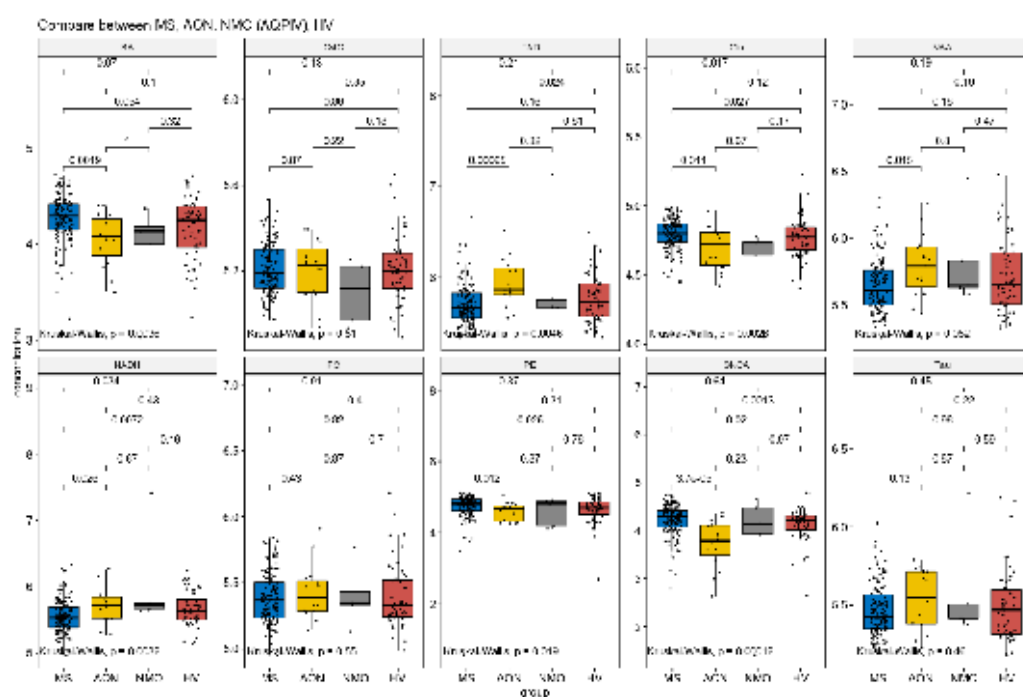


Figure S3

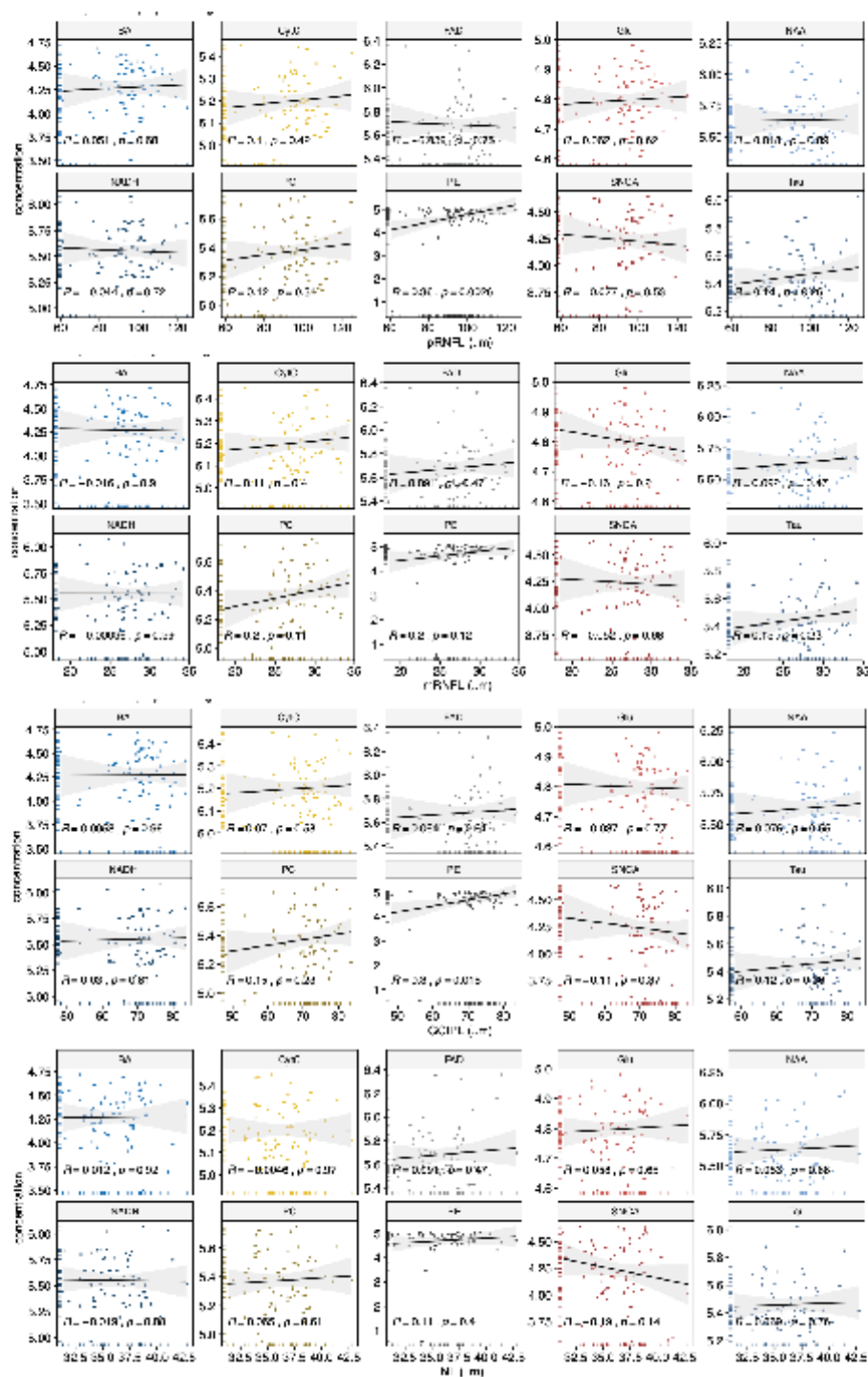


Figure S3 cont.

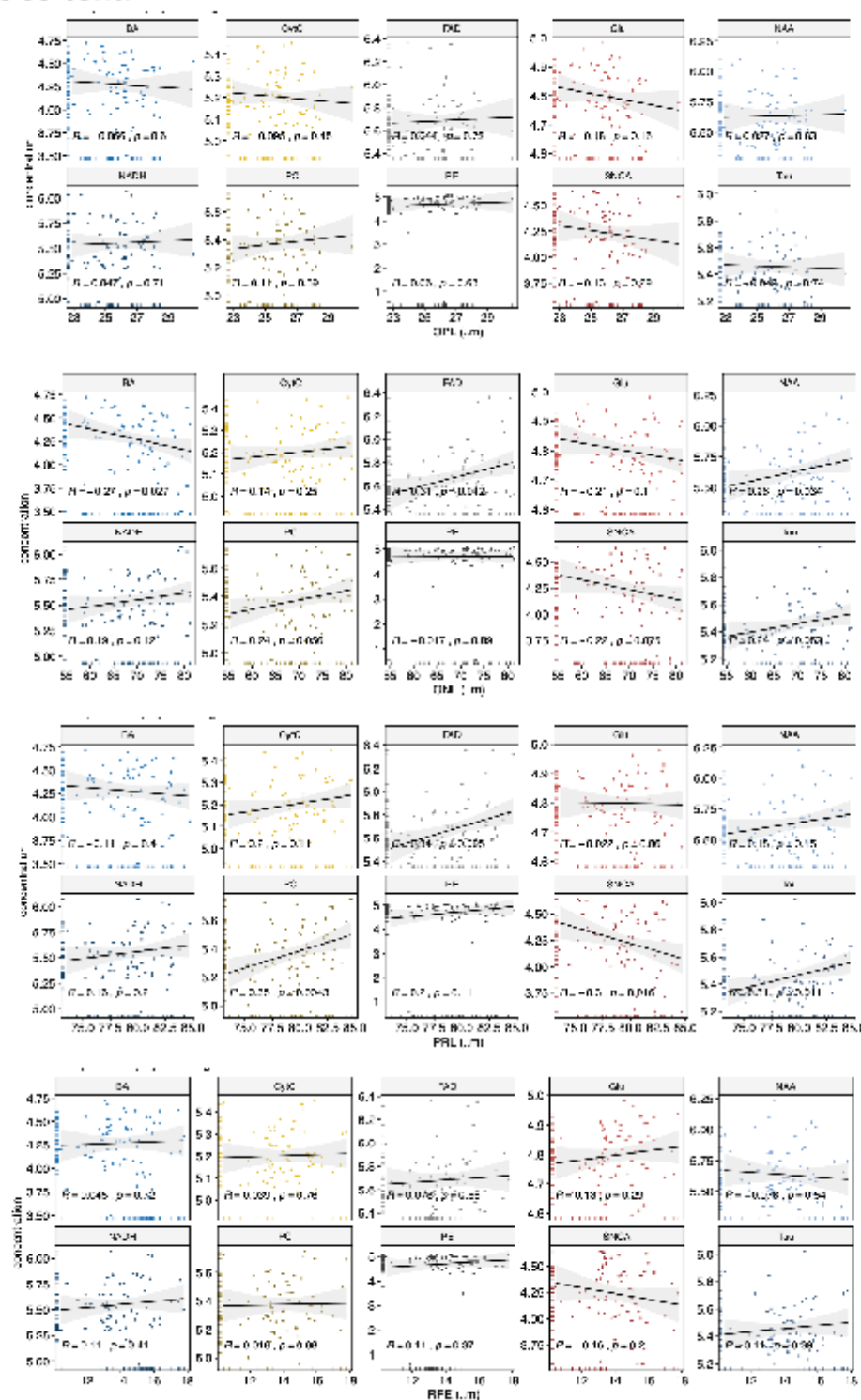


Figure S4

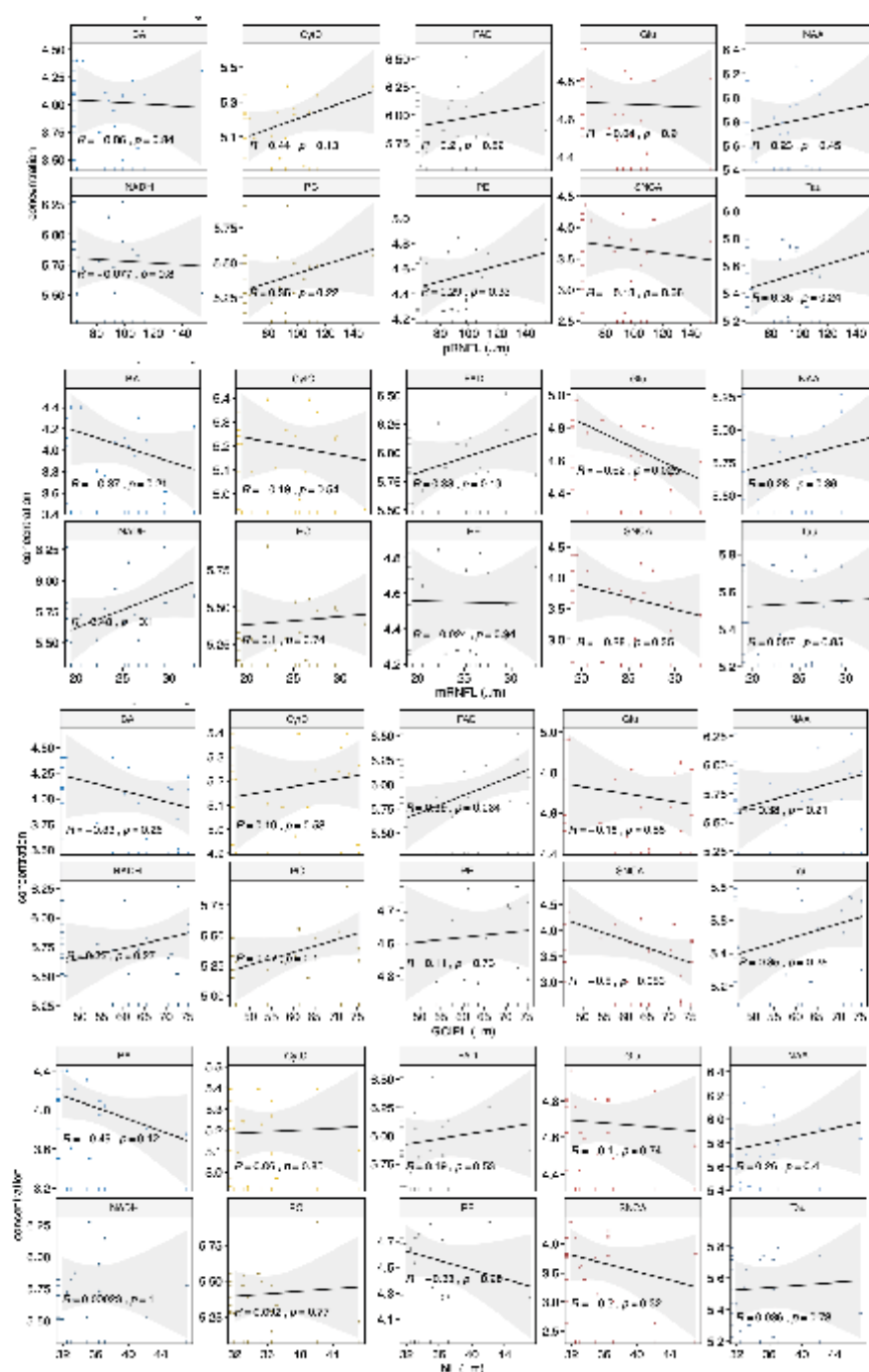


Figure S4 cont.

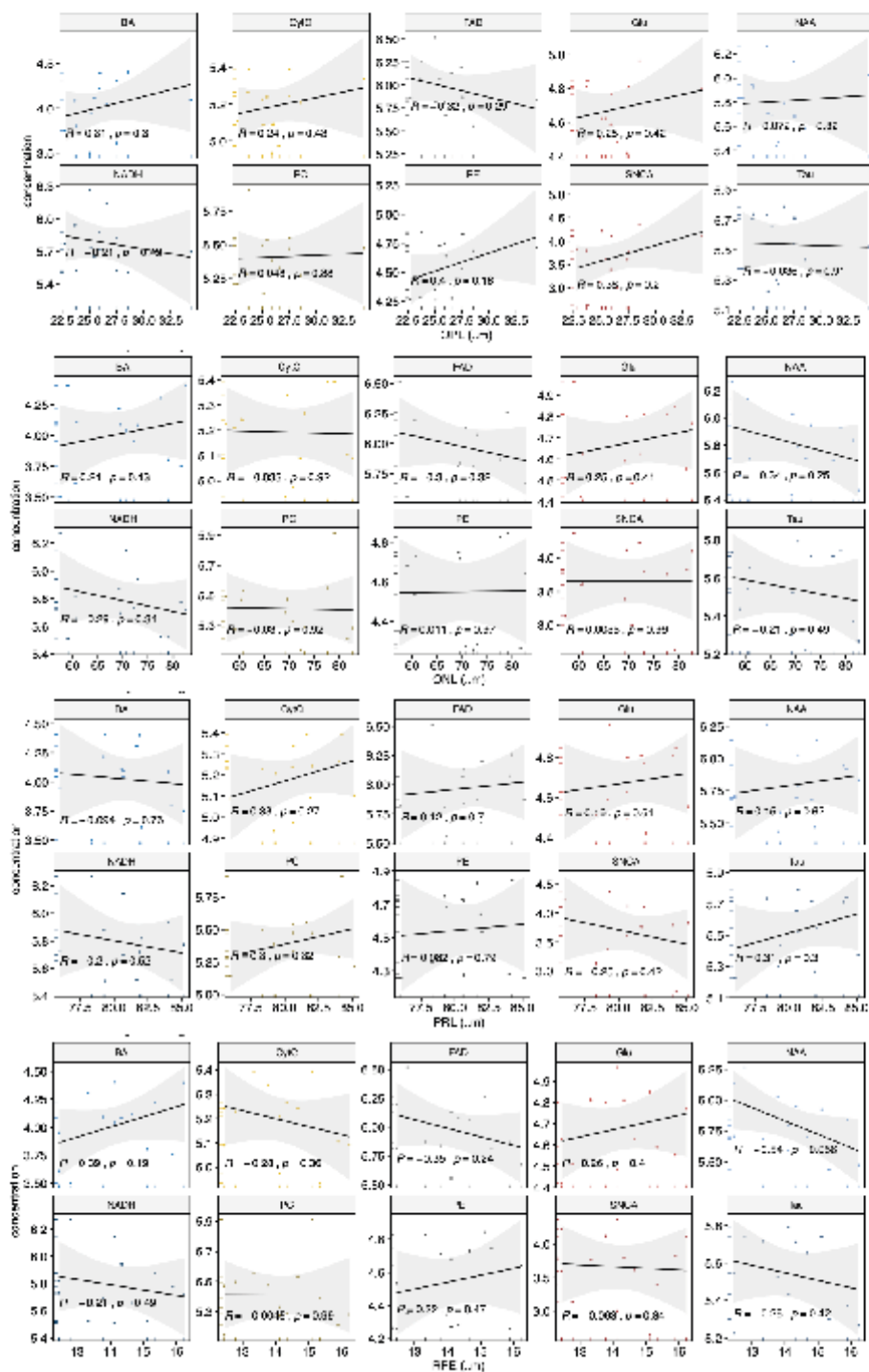


Figure S1. Effect of sex on the retinal molecules

Figure S2. Differences in the molecules between the MS, NMO-AQP4, AON and Healthy Control retinas

Figure S3. Correlation between retinal layer thickness and the levels of the molecules in MS patients

Figure S4. Correlation between retinal layer thickness and molecular levels in AON patients

Treball 2: Visual function after optic neuritis depends on the retina and the visual network damage and recovery.

Autors: Pablo Villoslada, Elisabeth Solana, **Salut Alba-Arbalat**, Eloy Martinez-Heras, Francesc Vivo, Elisabet Lopez-Soley, Alberto Calvi, Anna Camos-Carreras, Marina Dotti-Boada, Rafel Alcubierre, Elena H Martinez-Lapiscina, Yolanda Blanco, Sara Llufrui i Bernardo Sanchez-Dalmau

Article publicat a *Neurology-Neuroimmunology & Neuroinflammation*, el 30 d'agost de 2024

En aquest treball vam portar a terme un seguiment de 88 pacients amb NOA des de l'inici de l'esdeveniment inflamatori fins als 6 mesos, utilitzant mesures visuals i tècniques d'imatge per a analitzar la xarxa visual cortical. Preteníem predir, mitjançant models de regressió amb efectes mixtos i multivariables, la mala recuperació visual mesurada a partir de l'AV de baix contrast i el test de qualitat de visió. El gruix de la capa de cèl·lules ganglionars en el moment basal es va demostrar com un bon predictor de l'AV de baix contrast al cap de 6 mesos. La xarxa visual cortical estructural i funcional al moment basal també va predir la visió amb baix contrast, identificant diversos paràmetres específics com a millors predictors. Així doncs, els resultats suggereixen que l'anàlisi de la via visual en fases inicials de la NOA pot contribuir a predir la discapacitat visual permanent i d'aquesta manera pot ajudar a establir la severitat de l'esdeveniment i orientar l'estratègia terapèutica.

Retinal Damage and Visual Network Reconfiguration Defines Visual Function Recovery in Optic Neuritis

Pablo Villoslada, MD, Elisabeth Solana, PhD, Salut Alba-Arbalat, MSc, Eloy Martínez-Heras, PhD, Francesc Vivo, MD, Elisabet López-Soley, PhD, Alberto Calvi, MD, Anna Camós-Cameras, MD, Marina Dotti-Boada, MD, Rafael Alcubierre Baillac, MD, FEBO, Elena H. Martínez-Lapiscina, MD, PhD, MPH, Yolanda Blanco, MD, PhD, Sara Llufrui, MD, PhD, and Bernardo F. Sánchez Dalmau, MD, PhD

Correspondence
Dr. Villoslada
pablo.villoslada@upf.edu
or Dr. Sánchez Dalmau
bsanchez@clinic.cat

NeuroImmunoNeuroinflamm 2024;11:e200288. doi:10.1212/NX100000000200288

Abstract

Background and Objectives

Recovery of vision after a acute optic neuritis (AON) is critical to improving the quality of life of people with demyelinating diseases. The objective of the study was to prospectively assess the changes in visual acuity, retinal layer thickness, and cortical visual network in patients with AON to identify the predictors of permanent visual disability.

Methods

We studied a prospective cohort of 88 consecutive patients with AON with 6-month follow-up using high and low-contrast (2.5%) visual acuity, color vision, retinal thickness from optical coherence tomography, latencies and amplitudes of multifocal visual evoked potentials, mean deviation of visual fields, and diffusion-based structural ($n = 53$) and functional ($n = 19$) brain MRI to analyze the cortical visual network. The primary outcome was 2.5% low-contrast vision, and data were analyzed with mixed-effects and multivariate regression models.

Results

We found that after 6 months, low-contrast vision and quality of vision remained moderately impaired. The thickness of the ganglion cell layer at baseline was a predictor of low-contrast vision 6 months later ($\beta = 0.49$ [CI 0.11–0.88], $p = 0.012$). The structural cortical visual network at baseline predicted low-contrast vision, the best predictors being the betweenness of the right parahippocampal cortex ($\beta = -0.36$ [CI -0.66 to 0.06], $p = 0.021$), the node strength of the right V3 ($\beta = 1.72$ [CI 0.29–3.15], $p = 0.02$), and the clustering coefficient of the left intraparietal sulcus ($\beta = 57.8$ [CI 12.3–103.4], $p = 0.015$). The functional cortical visual network at baseline also predicted low-contrast vision, the best predictors being the betweenness of the left ventral occipital cortex ($\beta = 8.6$ [CI: 4.03–13.3], $p = 0.009$), the node strength of the right intraparietal sulcus ($\beta = -2.79$ [CI: -5.1–0.4], $p = 0.03$), and the clustering coefficient of the left superior parietal lobule ($\beta = 501.5$ [CI 50.8–952.2], $p = 0.03$).

Discussion

The assessment of the visual pathway at baseline predicts permanent vision disability after AON, indicating that damage is produced early after disease onset and that it can be used for defining vision impairment and guiding therapy.

Introduction

Acute optic neuritis (AON) of demyelinating origin is commonly observed as a relapse of multiple sclerosis (MS), MOG-associated disease (MOGAD), AQP-4 neuromyelitis optica

From the Department of Neurology (P.V.), Hospital Hospital del Mar–Pompeu Fabra University, Barcelona; Neurology Service and Laboratory of Advanced Imaging in Neuro-Immunological Diseases (E.S., S.A.-A., E.M.-H., F.V., E.L.-S., A.C., E.H.M.-L., Y.B., S.L.) Hospital Clinic of Barcelona; and Ophthalmology Service (S.A.-A., A.C.-C., M.D.-B., R.A.B., S.L., B.F.S.D.), Hospital Clinic of Barcelona, Spain.

Go to Neurology.org/NN for full disclosures. Funding information is provided at the end of the article.

The Article Processing Charge was funded by the authors.

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives License 4.0 (CC BY-NC-ND) which permits downloading and sharing the work provided it is properly cited. The work cannot be changed in any way or used commercially without permission from the journal.

Copyright © 2024 The Author(s). Published by Wolters Kluwer Health, Inc. on behalf of the American Academy of Neurology.

e200288(1)

Glossary

AON = acute optic neuritis; AQP4-NMOSD = AQP-4 neuromyelitis optica spectrum disorder; DTI = diffusion tensor model; DWI = diffusion-weighted imaging; FA = fractional anisotropy; GCIPL = ganglion cell plus inner plexiform layer; HCVA = high-contrast visual acuity; INL = inner nuclear layer; LCVA = low-contrast visual acuity; MOGAD = MOG-associated disease; mRNFL = macular RNFL; MS = multiple sclerosis; OCT = optical coherence tomography; pRNFL = peripapillary retinal nerve fiber layer; rs-fMRI = resting-state functional MRI; VEP = visual evoked potentials; VFQ-25 = Visual Functioning Questionnaire-25.

spectrum disorder (AQP4-NMOSD), or idiopathic.¹⁻⁵ AON is commonly seen at the clinic, with a mean annual prevalence of 8 cases per 100,000 person-year and AON mean annual incidence rate of 5 cases per 100,000 person-years (approximately 130,000 patients yearly).⁶ In AON, the autoimmune process destroys the myelin and sever axons, inducing retrograde degeneration of the retinal ganglion cells, with subsequent inner retina atrophy, as well as anterograde functional impairment to the posterior visual pathway, leading to visual impairment.⁷ The thinning of the ganglion cell plus inner plexiform layer (GCIPL) or peripapillary retinal nerve fiber layer (pRNFL) takes place in the first 3 to 4 months, but mainly in the first 4 weeks after onset and remains almost stable since that.^{8,9} After inflammation resolution, remyelination may occur approximately 1 month after onset, but pathologic and molecular abnormalities remain, contributing to permanent visual disability.^{10,11} The cortical visual network changes over time in response to the damage and may contribute to clinical recovery.¹²⁻²¹ The standard of care for AON is high-dose corticosteroid therapy, and in cases with suboptimal response, plasmapheresis is used.^{22,23} However, whether the use of corticosteroid therapy influences the residual disability after AON, based on the results of the Optic Neuritis Treatment Trial, is under discussion.²⁴ For this reason, it has been proposed that early treatment, in the first 7–10 days, should be pursued,^{25,26} defining AON as an emergency,²⁷ the “Optic Neuritis Code.”

Recovery from AON is often incomplete and impairs patients' quality of life.^{2,3} There is the misperception that recovery is good because of the lack of sensitivity of high-contrast visual acuity in this condition.²⁸ However, when using the most sensitive visual outcomes, such as 25% low-contrast vision or the visual quality-of-life tool Visual Functioning Questionnaire-25 (VFQ-25) plus 10 neuro-ophthalmologic items, it is observed that most of the cases suffer moderate vision impairment in the long term.²⁹ Previous studies have identified that visual acuity and color vision loss, retinal atrophy, length of the optic nerve damage on MRI, or latencies of the visual evoked potentials (VEPs) may predict visual recovery after AON,³⁰⁻³⁵ but not all studies have found such predictors.³⁶ However, a comprehensive prospective analysis of the anterior and posterior visual pathway damage and its role in predicting long-term visual disability is still lacking.

The objective of this project was to define the course of AON in terms of visual outcomes, changes in retina thickness, and visual network metrics to identify predictors of permanent

visual disability. To this aim, we analyzed the AON-Vis prospective cohort from Barcelona that follows patients for 6 months with visual acuity assessment and quality of vision, optical coherence tomography (OCT), VEPs, and advanced brain MRI characteristics.^{37,38} The specific aims were (1) to define the visual impairment by the end of follow-up (month 6) and the retinal and cortical visual network changes at structural and functional levels from baseline to month 6; (2) to identify predictors of low-contrast visual acuity (LCVA) as the primary end point, as well as high-contrast visual acuity (HCVA), color vision, and quality of vision by the end of follow-up (month 6) as secondary end points, using retina assessments and cortical visual network as predictors.

Methods

Standard Protocol Approvals, Registrations, and Patient Consents

The Institutional Review Board of the Hospital Clinic of Barcelona approved the study, and all participants provided written informed consent. The article follows the EQUATOR guidelines and Advised Protocol for SD-OCT Study Terminology and Elements (APOSTEL) recommendations.³⁹

Subjects

We analyzed the first 88 consecutive patients with AON recruited into the Barcelona AON-Vis prospective cohort at the Hospital Clinic of Barcelona enrolled from February 2011 to November 2022 as described before.^{37,38} We included patients with unilateral AON, including idiopathic (AON-idiopathic), AON as MS onset with dissemination in space (AON-CIS), AON as a relapse in relapsing-remitting MS (AON-MS), and AON as a relapse of MOGAD (AON-MOGAD). We excluded bilateral AON and AON in the setting of AQP4-NMOSD (by detecting anti-aquaporin-4 antibody) or systemic immune-mediated disorders because of the most severe damage and the different topographic damage of the retina compared with AON in MS.

Procedures

All subjects underwent weekly OCT assessments during the first month and then monthly for 6 months. Month 6 was defined as the follow-up end point because no further changes are observed in visual disability and retinal thickness after such a time point.³⁸ Moreover, patients conducted brain MRI, perimetry, and multifocal visual evoked potential (mfVEP) evaluations at baseline and month 6 as described before.³⁸ A

certified optometrist masked to the statistical plan of the study evaluated monocular 2.5% LCVA using EDTRS Sloan plates, HCVA using EDTRS plates with LogMAR transformation, color vision using the Hardy Rand and Rittler Pseudoisochromatic Plates with the best correction. We evaluated the quality of life related to visual impairment with the VFQ-25 with the 10 neuro-ophthalmologic items as described before.³⁰

Spectral-domain OCT was obtained using a Spectralis device to quantify the thickness of the pRNFL, macular RNFL (mRNFL), GCIPL, and inner nuclear layer (INL) as described before.³⁸ The mVEPs were recorded using the monocular VisionSearch1 as described before.³⁸

Brain MRI

MRI was performed on 53 patients with a 3T Magnetom Trio scanner (Siemens, Erlangen, Germany) with a 32-channel phased-array head coil. The protocol included structural 3D-magnetization prepared rapid acquisition gradient echo (MPRAGE, TR = 2200 ms, TE = 3 ms, FA = 7°, 1.0-mm isotropic voxels),⁴⁰ 3D-T2 fluid-attenuated inversion recovery (TR = 3,780 ms, TE = 96 ms, FA = 120°, voxel size 0.8 × 0.6 × 3.0 mm, 3.0-mm thick, 0.3-mm gap between slices, 40 axial slices) and diffusion-weighted imaging (DWI) (TR = 14,800 ms; TE = 103 ms; 100 contiguous axial slices; 1.5 mm isotropic voxel size; 154 × 154 matrix size; b value = 1,000 s/mm²; 60 diffusion encoding directions and a single baseline image acquired at 0 s/mm²).

Resting-state functional MRI (rs-fMRI) was acquired in 19 patients using a gradient-echo echo-planar pulse sequence sensitive to blood oxygenation level-dependent contrast (TR = 2,000 ms, TE = 30 ms, FA = 85°, 3.0-mm isotropic voxels, 3.0-mm thick, no gap between slices), acquiring a total of 450 frames over an acquisition time of 15:14 min as described before.⁴¹

Visual Network Parcellation

The visual network framework was derived from T1w images and integrated 50 nodes based on reference 42, which corresponded to 25 distinct topographic areas in each hemisphere. This included 8 ventral-temporal (V1v, V2v, V3v, hV4, VO1, VO2, PHC1, and PCH2), 9 dorsal-lateral (V1d, V2d, V3d, V3A, V3B, LO1, LO2, TO1, and TO2), 7 parietal (IPS0, IPS1, IPS2, IPS3, IPS4, IPS5, and SPL1), and 1 frontal (hFEF) regions (eFigure 1 and eTable 1). After this, the lateral geniculate nucleus (LGN) from both hemispheres was segmented using the FSL-FIRST package, resulting in 52 nodes. The volumetry of these regions was computed after normalizing by the skull size.

Diffusion-Weight Connectome

The diffusion MRI preprocessing pipeline involved the following steps: DWI denoising, Gibbs ringing correction, motion-induced distortion correction, and phase unwrapping procedure to correct geometric distortion using gradient field

maps and bias field correction.⁴³ After implementing the necessary corrections, a fractional anisotropy (FA) scalar map was derived from the diffusion tensor model (DTI) using FSL's DTIFIT. Based on FA-weighted indices, the matrices for structural visual connectivity were formed using outcomes from the advanced probabilistic streamline tractography. To validate the biological plausibility of the reconstructed streamlines, connectome reconstruction incorporated the Anatomical Constrained Tractography framework. From this, a subset of 6M of streamlines was chosen, followed by post-processing based on anatomical exclusion criteria, as detailed in references 44 and 45. The parcelling approach of the visual network, consisting of 52 nodes from the anatomical image, was aligned to the FA map. Finally, the average FA value along each connection between a pair of nodes was used to form the FA-weighted adjacency matrix for the visual network's structural connectome.

Functional MRI Connectome

For the functional connectivity rs-fMRI analysis, brain signal correlation or synchronization was captured based on the Duke resting state pipeline approach.⁴⁶ This method encompassed several preprocessing stages, including slice timing adjustment, motion correction, spatial normalization to a standard template, and band-pass filtering to isolate frequencies between 0.001 and 0.08 Hz, all achieved using FSL tools described elsewhere.⁴⁷ The predetermined parcellation scheme was used to extract the average time series for each of the 52 visual regions, resulting in a functional connectivity matrix.

Topologic Analysis of Brain Connectivity Networks

Both structural (DTI) and functional (resting-state) connectivity matrices were adjusted for age and gender influences using linear regression, reducing potential biases.⁴⁸ After these adjustments, the matrices underwent normalization to ensure uniformity in connectivity measures across all participants. Afterward, using the Brain Connectivity toolbox⁴⁹ to compute graph measures from weighted connectivity data, we analyzed the topologic characteristics of networks in both structural and functional domains. On a global scale, we assessed the following average graph measures: betweenness centrality, which reflects the fraction of all shortest paths passing through a node, highlighting nodes that play a crucial role in information flow. Global efficiency, calculated as average inverse shortest path length, provides insight into overall network efficiency in information transmission. Node strength, representing the sum of weights of links connected to a node, offers insights related to the influence of individual nodes. The clustering coefficient, indicating the proportion of interconnected neighbors of a node, provides valuable perspectives on network tendency to form subnetworks. Finally, assortativity reflects the network propensity to connect nodes of similar degree⁴⁵ (see supplementary material eMethods for details on graph analysis). On a more regional level, for each of the 52 nodes defined by the parcellation visual scheme, we

computed measures including betweenness centrality, node strength, and clustering coefficient.⁴⁸

Statistical Analyses

We described qualitative variables using absolute and relative numbers and quantitative variables using medians and interquartile ranges (IQR = P_{25} – P_{75}). We plotted the absolute thickness change of each macular retinal layer, referred to as baseline value, from the first symptom in each visit up to the 6-month visit. For the pRNFL thickness, we estimated the intereye asymmetry as the baseline value in the ON eye. Group comparison was performed with the *t*-test. We analyzed the temporal changes of retinal layer thickness using mixed-effects models with 2 knots for the 25th and 75th percentiles. We did not impute missing values, assuming missing at random, because of the robustness of mixed-effect models to missing data. Predicting visual acuity by month 6 was conducted using multiple linear regression models with splines using the published cutoffs of 60 and 75 μ m of the pRNFL^{36,50–52} and the median of the pRNFL and GCIPL from our study. The primary end point (dependent variable) was the 2.5% LCVA by month 6, and the independent variables were GCIPL and pRNFL thickness, nodal volumes and network metrics, latencies and amplitudes of the mfVEP, sex, age, and use of corticosteroids at baseline (the EDSS was not included because it includes visual acuity in the subscore). Statistical analyses were performed using R. We used false discovery rate (FDR) to correct for multiple comparisons.

Results

Visual Disability After AON

Consecutive patients ($n = 88$) with demyelinating AON, either idiopathic or due to MS or MOGAD, were recruited to this prospective study and followed for up to 6 months. Demographics and clinical characteristics at baseline and by month 6 are summarized in Table 1. At baseline, eyes with AON showed a profound impairment on 2.5% LCVA and mild impairment on HCVA and color vision. By the end of the follow-up (month 6), prominent LCVA disability remained (Sloan 2.5% chart: 19 letters out of 70), whereas HCVA and color vision significantly improved to almost complete recovery. At baseline, eyes showed an intermediate impairment of the visual fields (mean deviation: -11.39), prolonged latencies (173 ms), and decreased amplitudes (121 mV) of the mfVEP, which partially recovered by the end of follow-up (month 6), except for the latencies that remained significantly prolonged (168 ms). Regarding the quality of vision, even if the global quality of vision (VFQ25) returned to normal, it remained impaired for the score combined with the neuro-ophthalmologic items, below the cutoff of 85 (Table 1). In summary, patients with AON showed a moderate-to-severe visual disability at presentation and moderate residual disability (low-contrast vision and quality of vision) at the end of follow-up.

Table 1 Demographics and Clinic Characteristics of Patients With AON at Baseline

Patients with AON		
n	84	
Age (y)	34.8 (29.3–42.7)	
Sex (female)	65 (76%)	
Duration (d)	9.0 (6.0–15.0)	
Etiology	Idiopathic: 20 (24%); MS: 26 (31%); CIS: 32 (38%); MOGAD: 6 (7%)	
Affected eye (right)	50 (59%)	
Corticosteroid therapy	IV high dose: 47 (55%); oral high dose: 19 (22%); oral low dose: 3 (4%); none: 15 (19%)	
Disease-modifying therapies baseline^a	16 (24%)	
Visual function affected eye	Baseline	Month 6
HCVA (EDTRS, logMar)	0.34 (0.08 to 0.86)	0 (–0.06 to 0.07)
2.5% LCVA (Sloan, # letters)	0 (0 to 0)	19 (3.5 to 28.5)
Color vision (HRR, # letters)	21 (0 to 31.25)	36 (32 to 36)
Visual fields (mean deviation)	–11.39 (–21.35 to –5.08)	–4.82 (–4.82 to –1.82)
VEP latencies (msec)	173 (165 to 177)	168 (159 to 178)
VEP amplitudes (mV)	121 (61 to 149)	136 (102 to 172)
EDSS	2.0 (1.5 to 3.0)	1.0 (0 to 1.5)
VFQ25 global	—	92.3 (85.5 to 99)
VFQ25 + 10 items neuro-ophthalmology	—	75.1 (63.1 to 84.2)

Abbreviations: EDSS = Expanded Disability Status Scale; HCVA = high-contrast visual acuity using EDTRS charts; HRR = Hardy Rand and Rittler Pseudochromatic Plates; LCVA = low-contrast visual acuity using 2.5% contrast Sloan charts; VEP = visual evoked potential; VFQ25 = Visual Function Questionnaire. Data are shown as mean and interquartile range (IQR) or number (percentage). Visual acuity refers to the affected eye. ^a DMDs: teriflunomide: 1 (6%), interferon-beta: 5 (32%), glatiramer acetate: 4 (25%), fingolimod: 1 (6%), dimethyl fumarate: 1 (6%), anti-CD20: 4 (25%).

Role of Corticosteroid Therapy on Vision Recovery

Given the nonrandomized nature of this study, we conducted an exploratory analysis to investigate the impact of corticosteroid treatment on AON resolution (Table 2). We compared the visual acuity (low contrast, high contrast, and color vision) and quality of vision (VFQ-25) between patients treated with high doses of corticosteroids (either IV or orally) and those who did not. Our analysis revealed a significantly higher recovery of the HCVA in high-dose corticosteroid-treated patients ($p = 0.043$). However, no significant differences were observed for other visual outcomes.

Table 2 Association Between the Use and Timing of Corticosteroid Therapy With Visual Disability by Month 6

Use corticosteroids	No corticosteroids (n = 16)	High-dose corticosteroids (n = 58)	p Value
HCVA (logMar)	-0.04 (-0.07 to 0)	0 (0.055 to 0.1)	0.043
2.5% LCVA	24 (14.2 to 30.2)	19 (3 to 28)	0.167
Color vision	36 (35.5 to 36)	36 (31.2 to 36)	0.125
VFQ25 global	NA	92.7 (87.4 to 96.3)	—
VFQ25 + 10neuro	NA	75.1 (64.1 to 83.2)	—
Onset corticosteroids	≤10 d (n = 37)	>10 d (n = 21)	p Value
HCVA LogMar	0.01 (-0.06 to 0.1)	0 (-0.03, 0.09)	0.852
2.5% LCVA	19 (4.5 to 28)	12.5 (0, 26.8)	0.511
Color vision	36 (31.2 to 36)	35 (31.5, 36)	0.738
VFQ25 global	92.8 (87.6 to 97.2)	91.3 (87.4 to 95.1)	0.376
VFQ25 + 10neuro	76.4 (60.9 to 83.8)	75 (70.1 to 80.7)	0.734

Abbreviations: EDSS = Expanded Disability Status Scale; HCVA = high-contrast visual acuity using EDTRS charts; HRR = Hardy Rand and Rittler Pseudoisochromatic Plates; LCVA = low-contrast visual acuity using 2.5% contrast Sloan charts; VEP = visual evoked potential; VFQ25 = Visual function questionnaire. Data are shown as mean and interquartile range (IQR).

In addition, we explored the potential influence of treatment timing by comparing patients who received corticosteroids within 10 days of AON onset (as suggested in previous studies) with those treated later.^{24,26} No significant differences in any visual outcomes were found based on treatment initiation time.

Over 80% of patients who initially opted out of treatment had mild or moderate vision loss. This raises the concern that treatment decisions might be influenced by the perceived mild severity of vision loss. In addition, 1 patient with severe vision loss also declined treatment. Therefore, selection bias cannot be excluded in our assessment of corticosteroid efficacy in AON, and further confirmation is warranted.

Changes in Retina Thickness in AON From Onset to 6-Month Follow-Up

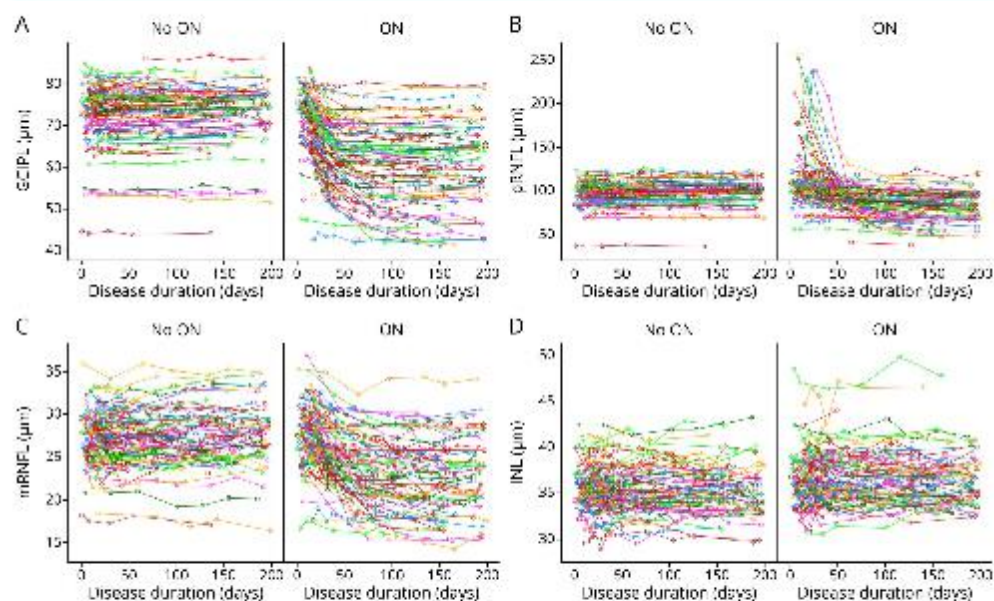
The retina of AON eyes showed an early and severe thinning of the inner layers followed by a smaller sustained thinning until the end of follow-up by month 6. The pRNFL, mRNFL, and GCIPL showed a progressive thinning, which was more severe in the first 26 days, moderate from day 26–71, mild thereafter, and showed no significant change after the first ~160 days after AON (see results from the mixed models below for statistical analysis) (Figure 1, A–C). The INL showed a transitory mild early thickening during the first 3 months (Figure 1D). Mixed-effects models predicted a rate of GCIPL thinning of 0.20 μm per day, with a clear time dependence: from day 1–26 (percentile 0–25th) $\beta = -0.32$ $\mu\text{m}/\text{d}$, 95% CI (-0.38 to -0.25), p value <0.001; from day 26–71 (percentile 25–75th) $\beta = -0.12$ $\mu\text{m}/\text{d}$, 95% CI (-0.15 to -0.1), p value < 0.001; and without changes beyond day 71 (percentile 75–110th)

$\beta = -0.001$ $\mu\text{m}/\text{d}$, 95% CI (-0.004 to 0.001), p value = 0.3 (Figure 2A). The pRNFL also showed a clear time dependence: from day 1–26 (percentile 0–25th) $\beta = -0.14$ $\mu\text{m}/\text{d}$, 95% CI (-0.45 to 0.18), p value < 0.3; from day 27–71 (percentile 25–75th) $\beta = -0.58$ $\mu\text{m}/\text{d}$, 95% CI (-0.69 to -0.48), p value < 0.001; and from day 71 (percentile 75–110th) $\beta = -0.02$ $\mu\text{m}/\text{d}$, 95% CI (-0.03 to -0.001), p value = 0.037 (Figure 2B). In summary, the inner retina showed early and moderate atrophy in the first month, followed by a smaller decline that stabilized by the end of the follow-up.

Predictors of Permanent Visual Disability Based on Retina Atrophy at Onset

To define the assessments at baseline that will predict the permanent visual disability after the AON episode, defined at the month 6 visit, we conducted multiple linear spline regression analyses. The model's dependent variable was 2.5% LCVA as the primary outcome and HCVA and color vision at month 6 as secondary outcomes. The independent variables included retina layer thicknesses, latencies and amplitudes of the mfVEP, sex, age, and use of corticosteroids at baseline. We tested 3 cutoffs for retinal thickness: the median of the layer thickness (71 μm for GCIPL and 108 μm for pRNFL) and 2 previously reported cutoffs for the pRNFL (60 μm and 75 μm).^{36,50–52} We found that the best model for predicting permanent LCVA impairment was the GCIPL thickness ($\beta = 0.49$ [CI 0.11–0.88], $p = 0.012$) (Figure 3). Moreover, we found significant models for color vision using either the GCIPL ($\beta = 0.38$ [CI 0.14–0.62], $p = 0.003$) or the pRNFL <75 μm ($\beta = 1.37$ [CI 1.66–2.08], $p = 0.0003$). Regarding HCVA, we found no significant models.

Figure 1 Change in Retina Layer Thicknesses During the 6-Month Follow-Up Period



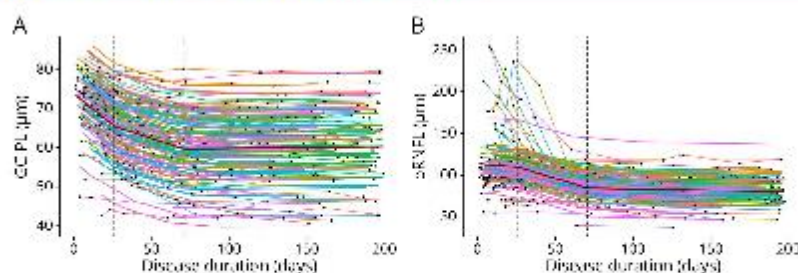
Graphs show the longitudinal changes (from baseline to month 6) in each patient on the thickness of the inner retina layers for the affected eye (ON) and the non-affected eye (No ON). The y-axis represents absolute retina thickness. The x-axis represents the time (days) from clinical onset. (A) Ganglion cells plus inner plexiform layer (GCIPL); (B) peripapillary retinal nerve fiber layer (pRNFL); (C) macular retinal nerve fiber layer (mRNFL); (D) inner nuclear layer (INL).

Changes in the Structural Visual Network in AON Predict Visual Disability

The structural visual network⁴² was reconstructed in 53 patients with hAON from the DTI sequences (Figure 4A, eTable 2, and eFigure 1). We obtained the edges' weight of the visual network (ventral-temporal, dorsoparietal, and parietal-frontal streams) at baseline and month 6. We computed the following

network metrics: betweenness centrality (average), global efficiency, node strength (average), clustering coefficient (average), and assortativity. We found that the global statistical properties of the visual network remained stable from baseline to the end of the follow-up (eTable 3). Similar results were obtained when conducting the analysis in patients with new-onset disease (idiopathic and CIS) compared with patients

Figure 2 Linear Spline Mixed-Effect Models of Retina Layer Thicknesses



Linear spline mixed-effect models with 2 knots at 26 and 71 days for the GCIPL (A) and pRNFL (B). The black points joined by a dashed line represent the individual trajectories of retinal thickness changes, the thicker curves represent the individual fit of the model, and the darkened line represents the population model.

with long-standing disease (MS) (eTables 4–6), although AON in the context of MS showed a trend for higher clustering coefficient of the structural visual network.

We used the volume of the network regions of interest to conduct correlation and regression analysis because even if voxels are assigned to a given region, they are deformed to reflect the changes in volume for a given patient. We observed a correlation between 2.5% LCVA at the end of follow-up and the volume of the bilateral ventral-temporal and posterior-occipital streams at baseline. By contrast, the HCVA correlated with the left intraparietal sulcus volume, whereas color

vision correlated with the left dorsal lateral, posterior-occipital, and right cortical dorsal lateral volume (eTable 7).

To assess whether the structural visual network from the DTI connectivity analysis predicts permanent visual disability at month 6, we conducted a multivariate regression analysis having 2.5% LCVA by month 6 as the dependent variable, and the independent variables were GCIPL and pRNFL thickness, nodal volumes and network metrics, latencies and amplitudes of the mVEP, sex, age, and use of corticosteroids at baseline. By using the visual network obtained at baseline, we found significant models predicting 2.5% LCVA at month 6 using the betweenness centrality ($\beta = -0.92$, $p = 0.023$) and clustering coefficient ($\beta = 320.55$, $p = 0.003$) (eTable 8). Indeed, we found models predicting HCVA with the betweenness centrality ($\beta = 0.01$, $p = 0.002$), clustering coefficient ($\beta = -2.05$, $p = 0.008$), and assortativity ($\beta = -0.5$, $p = 0.027$) (eTable 9).

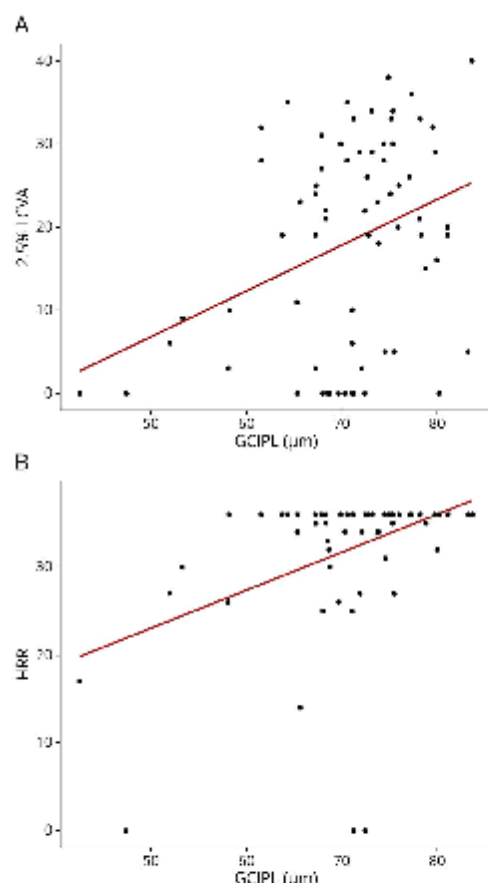
Furthermore, by using the structural visual network obtained at the same time than the vision outcomes by month 6, we found significant models for 2.5% LCVA using the network clustering coefficient ($\beta = 166.99$, $p = 0.03$) (eTable 8). Moreover, we found a significant model for HCVA using network assortativity ($\beta = 0.71$, $p = 0.036$) (eTable 9). No significant models were found for color vision at month 6 (eTable 10).

Several nodal graph metrics of the DTI structural visual network at baseline contributed to predicting the visual disability at month 6 (Figure 4B). The nodes contributing to predicting 2.5% LCVA were the left V2 and V3, left intraparietal sulcus, right visual region V3 and V4, right parahippocampal cortex, left lateral occipital cortex, and left intraparietal sulcus (eTable 11). The nodes contributing to predicting the HCVA were the bilateral parahippocampal cortex, left intraparietal sulcus 1 and 4, right lateral occipital cortex 2, and right intraparietal sulcus 4 and 5 (eTable 12). Finally, the nodes contributing to predicting color vision were bilateral V2, left intraparietal sulcus 1 and 4, right lateral occipital cortex 2, left parahippocampal cortex 1, right lateral occipital cortex 2, and right intraparietal sulcus 5 (eTable 13).

Changes in the Functional Visual Network in AON

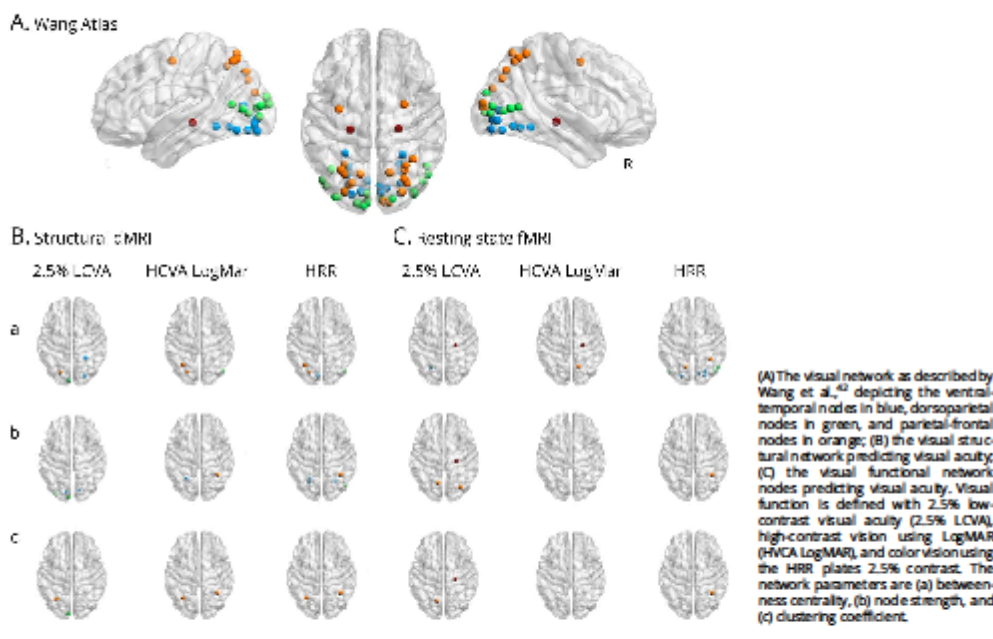
The functional visual network at baseline and month 6 was obtained from the resting-state fMRI sequences in a subgroup of 19 AON cases (eTable 14). The network metrics were calculated as described above. We found nonsignificant changes in network metrics from baseline to the end of follow-up (eTable 15) or by comparing new-onset vs chronic MS (eTables 16, 17). Then, we tested the ability of functional visual global and nodal network metrics at baseline for predicting visual disability by the end of follow-up using multivariate regression models (Figure 4C). First, we did not find models based on network metrics predicting visual disability at month 6. Second, the nodes that predicted the 2.5% LCVA

Figure 3 Predictors of Permanent Visual Impairment After Acute Optic Neuritis Based on the Severity of Retina Damage at Presentation



Graphs show the significant models from linear regression analysis for 2.5% low-contrast visual acuity (LCVA) and color vision (HRR plates) with the ganglion cell inner plexiform layer thickness as the independent variable.

Figure 4 Structural and Functional Visual Network in Patients With AON Predicting Long-Term Visual Function



were the left ventral occipital cortex 2, right lateral geniculate nucleus, bilateral superior parietal lobule 1, and right intraparietal sulcus 1 (eTable 18). Moreover, the nodes that predicted HCVA were the right lateral geniculate nucleus and right superior parietal lobule 1 (eTable 19), and the nodes that predicted color vision were right intraparietal sulcus 5, bilateral V4, V1, left lateral occipital cortex 2, right V3, right temporal, occipital cortex 1 and 2, left superior parietal lobule 1, and right intraparietal sulcus 5 (eTable 20).

Discussion

By studying a prospective cohort of patients with AON for 6 months, we confirmed that low-contrast vision and quality of vision remain impaired, jeopardizing the patient's quality of life. We identified predictors of low-contrast visual acuity 6 months after onset based on the thinning of the ganglion cell layer at baseline. The structural cortical visual network at baseline also predicted the low-contrast vision being associated with the secondary and tertiary visual cortex, intraparietal sulcus, parahippocampal cortex, and lateral occipital cortex as the main nodes involved. At the visual network level, the best predictors were always the betweenness and clustering coefficient of the network. The cortical nodes from the functional visual network that predicted residual visual disability were the ventral occipital cortex 2, lateral

geniculate nucleus, bilateral superior parietal lobule, and intraparietal sulcus.

Previous studies have identified predictors of visual dysfunction. However, most of the studies were either retrospective or cross-sectional; patients were included several weeks after disease onset (>10–14 days) or used small sample sizes (<50 subjects).^{30–35} Despite such limitations, it has been consistently reported that the GCIPL and pRNFL can predict visual acuity several months after AON onset. In an earlier analysis of this cohort, we found that the change from baseline to month 1 of follow-up for the GCIPL and pRNFL were predictors of low-contrast vision.³⁰ Regarding VEP, the Danish team elegantly proved in a prospective and well-powered cohort that the amplitudes and latencies correlated with the GCIPL thickness and the amplitudes correlated with the LCVA.³⁴ Indeed, the optic nerve damage length using double-inversion recovery sequences also predicted the visual dysfunction at follow-up.³⁵ It will be highly relevant having available biomarkers of the visual pathway damage in AON; new treatments are being tested for decreasing the visual pathway damage in this disease.^{5,3–6}

The cortical visual network has been previously analyzed in patients with AON.^{12–20} Backner et al. described a higher degree and lower density of the visual network in AON cases than controls, with reduced information transfer efficiency

and modularity in the non-NMO cases compared with controls.¹⁷ The same team reported that in patients who had suffered AON 1 to 28 months before, the functional connectivity within the visual network was higher in the AON group, even after controlling by the lesional level of the optic radiations.¹⁸ In the case of NMOSD, the visual network during the chronic phase of cases with previous AON showed an increase in functional connectivity in the primary and secondary visual networks that correlates with low and high-contrast vision and retina thickness.¹⁹ Similarly, the functional visual network was reduced in NMOSD or recurrent optic neuritis.¹⁵ In this study, we demonstrate that early structural and functional changes in the connectivity of the visual network were associated with the 6-month visual outcomes after AON, pointing out the regional specificity of network modifications and their predictive power. One message from our analysis based on the lack of changes from baseline to month 6 is that damage is already established in the first few days or weeks after disease onset, and there is not significant changes at the network level based on the technologies we used. This might suggest that recovery is mainly due to functional restoration of nerve conduction, more than structural changes that will be reflected on DTI and resting-state analysis. Alternatively, the current state of the brain network analysis may lack resolution to capture minute changes on the networks or that the noise of the analysis or lack of power may reduce the ability to capture network changes. Overall, AON alters the structure and function of the cortical visual network, reflecting the anterograde damage of the pathway and attempting to adapt and eventually compensate for such damage.

Our study points to several nodes of the visual network as predictors of vision impairment. We should keep in mind that the damage in AON is done in the anterior pathway, and both functional (e.g., nerve conduction block, desynchronization of afferent inputs to the visual cortex) and structural (e.g., anterograde and trans-synaptic degeneration) damage would spread from focal damage in the optic nerve to the rest of the visual network. Then, visual network changes would imply adaptations to the first (lateral geniculate nucleus), secondary (calcarine cortex V1 and V2), and tertiary (dorsal and ventral visual streams) networks. As expected, one of the most altered node was the lateral geniculate nucleus, confirming the spread of damage and dysfunction from the site of damage to the next neuron in the posterior visual pathway. Indeed, the bilateral primary visual cortex V1 and V2 regions were also identified as predictors of visual impairment, most likely being affected by the trans-synaptic degeneration induced by axonal transection in the optic nerve. Beyond the first and second neuron in the visual pathway, other nodes of the visual network identified included the intraparietal sulcus, parahippocampal cortex, lateral and ventral occipital cortex, and superior parietal lobule. In a recent study by Levin's team in patients with MS, they found that the damage of the visual network was similar at the functional level in patients with and without previous AON, but patients with previous AON showed degree and global efficiency of the anatomical visual network.⁵⁷ Such results support the role of trans-

synaptic degeneration damaging the visual network after AON and the ability of the functional visual network to compensate for such damage. In our study, we did not find a preference for functional changes in the dorsolateral stream of the visual network in patients with AON¹⁷ or a preferential damage of the lateral middle occipital gyrus or the inferior parietal cortex as described in patients with MS,⁵⁸ but a widespread damage of the overall network as observed in patients with MS as well. Because our study did not compare the visual network between AON and controls or other CIS relapses, we could not confirm the presence of increased functional connectivity of the visual network as was described before.¹⁸ Whether the involvement of such high-order visual regions are related with brain plasticity to compensate visual dysfunction or represent dysfunctional areas because of desynchronization of visual afferences will require further studies.

Several limitations apply to our study. The single-center design may limit the generalization of the results. As such, the ongoing ACON trial will provide multicentric prospective data regarding vision outcomes in AON.²⁶ Moreover, we could not assess the influence of ethnicity, which seems to influence the severity of retinal damage,² because our cohort was composed almost only of White patients, reflecting the population our center serves. Indeed, our study included disease-naïve cases (idiopathic and CIS) and cases with longstanding MS, which may create additional noise. For this reason, we have conducted a sensitive analysis comparing both populations observing similar trends, although sample sizes were smaller for subgroup analysis. Regarding the role of corticosteroid therapy in the recovery from AON, our analysis was exploratory because only powered, randomized clinical trials could provide class I evidence for its efficacy. Indeed, the fact that milder cases were not treated with corticosteroids may suggest the presence of selection bias. Our study did not include the analysis of the optic nerve damage by MRI using specific sequences such as double inversion recovery³⁵ because we should make a compromise between the goal of our study of studying the structural and functional networks using DWI and fMRI and the scanning time for the patient. In deed, we have not explicitly analyzed the severity of the optic radiation damage¹⁸ because most of our cases were first episodes of MS without lesions in the optic radiations. The visual network analysis was restrained to the evolution of cases after disease onset, and therefore, no comparison with the healthy network is available. The visual network from healthy controls has been used in the past,¹⁷ but this will introduce the noise using different individuals for different time points. In any case, our goal was mainly to test the ability of the visual network at baseline and end of follow-up to explain the visual disability. Only 53 patients had DWI images and 19 patients had fMRI images, because of timing for such techniques implementation in the cohort or the presence of artifacts or modifications in the sequences over the years that precluded their comparability. We have not assessed functional connectivity as in other fMRI studies of the visual network because by using the previously described visual network,⁴²

higher specificity and reproducibility were expected, as well as for decreasing the multiple testing derived noise. For this reason, we have not attempted to validate such previous results.

Vision recovery is incomplete after AON and limits the quality of life, and such incomplete recovery is predicted by damage in the anterior and posterior (cortical) visual pathways. The assessment of the visual pathway at baseline predicts permanent vision disability after AON, indicating that damage is produced early after disease onset and that it can be used for defining vision impairment severity and guiding therapy.

Data Availability Statement

PV and BSD had full access to all the data in the study and took responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis. ES conducted the statistical analysis. Anonymized data will be shared by request from any qualified investigator to replicate results provided data transfer follows the EU legislation on the general data protection regulation.

Acknowledgment

The authors thank the participants of the study.

Study Funding

This study was supported by the Instituto de Salud Carlos III, Spain, and Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER): PI15/0061, JR16/00006, FI16/00,168 and PI20/01236.

Disclosure

P. Villoslada has received consultancy fees and holds stocks in Bionure Investment, Accure Therapeutics, Attune Neurosciences, QMENTA, CLight, NeuroPrex, Spiral Therapeutics, and Adhera Health, none related to this study. P. Villoslada holds patent rights and has received royalties and consultancy fees from Oculus Holding AG for using OCS-05 (aka BN201) to treat optic neuritis (NCT04762017). S. Llufríu received compensation for consulting services and speaker honoraria from Biogen Idec, Novartis, Janssen, Merck and Bristol-Myers Squibb, and holds grants from the Instituto de Salud Carlos III. Go to [Neurology.org/NN](https://www.neurology.org/NN) for full disclosures.

Publication History

Received by *Neurology: Neuroimmunology & Neuroinflammation* February 9, 2024. Accepted in final form June 7, 2024. Submitted and externally peer reviewed. The handling editor was Associate Editor Friedemann Paul, MD.

Appendix Authors

Name	Location	Contribution
Pablo Villoslada, MD	Department of Neurology, Hospital Del Mar Research Institute	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content; major role in the acquisition of data; study concept or design; analysis or interpretation of data

Appendix (continued)

Name	Location	Contribution
Elisabeth Solana, PhD	Neurology Service, Laboratory of Advanced Imaging in Neuroimmunological Diseases, Hospital Clinic of Barcelona	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content; analysis or interpretation of data
Salut Alba-Arbalat, MSc	Neurology Service, Laboratory of Advanced Imaging in Neuroimmunological Diseases, Hospital Clinic of Barcelona; Ophthalmology Service, Hospital Clinic of Barcelona	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content; major role in the acquisition of data; analysis or interpretation of data
Eloy Martínez-Heras, PhD	Neurology Service, Laboratory of Advanced Imaging in Neuroimmunological Diseases, Hospital Clinic of Barcelona	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content; analysis or interpretation of data
Francesc Vivo, MD	Neurology Service, Laboratory of Advanced Imaging in Neuroimmunological Diseases, Hospital Clinic of Barcelona	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content
Elisabet Lopez-Soley, PhD	Neurology Service, Laboratory of Advanced Imaging in Neuroimmunological Diseases, Hospital Clinic of Barcelona	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content
Alberto Calvi, MD	Neurology Service, Laboratory of Advanced Imaging in Neuroimmunological Diseases, Hospital Clinic of Barcelona	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content
Anna Camós-Carreras, MD	Ophthalmology Service, Hospital Clinic of Barcelona	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content; major role in the acquisition of data
Marina Dotti-Boada, MD	Ophthalmology Service, Hospital Clinic of Barcelona	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content; major role in the acquisition of data
Rafel Alcubierre Baillic, MD, FBO	Ophthalmology Service, Hospital Clinic of Barcelona	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content
Elena H. Martínez-Lapiedra, MD, PhD, MPH	Neurology Service, Laboratory of Advanced Imaging in Neuroimmunological Diseases, Hospital Clinic of Barcelona	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content; study concept or design
Yolanda Blanco, MD, PhD	Neurology Service, Laboratory of Advanced Imaging in Neuroimmunological Diseases, Hospital Clinic of Barcelona	Drafting/revision of the manuscript for content, including medical writing for content

Appendix (continued)

Name	Location	Contribution
Sara Ufufri, MD, PhD	Neurology Service, Laboratory of Advanced Imaging in Neuroimmunological Diseases, Hospital Clinic of Barcelona; Ophthalmology Service, Hospital Clinic of Barcelona	Drafting/revision of the manuscript for content; including medical writing for content; major role in the acquisition of data; study concept or design; analysis or interpretation of data
Bernardo F. Sanchez Dalmau, MD, PhD	Ophthalmology Service, Hospital Clinic of Barcelona	Drafting/revision of the manuscript for content; including medical writing for content; major role in the acquisition of data; study concept or design; analysis or interpretation of data

References

- Bernal-Seguin E, Costello F. Optic neuritis: current challenges in diagnosis and management. *Curr Opin Neurol* 2023;33(6):10-18. doi:10.1097/WON.0000000000001128
- Bennett JL, Costello F, Chen JJ, et al. Optic neuritis and autoimmune optic neuropathies: advances in diagnosis and treatment. *Lancet Neurol* 2023;22(1):89-100. doi:10.1016/S1473-9422(22)00107-9
- Cooper SA, Luddy SG, Skipper NT, Barnett VJM, Hunt GF. Optic neuritis with potential for poor outcome. *Pract Neurol* 2022;22(3):190-200. doi:10.1136/practneurol-2021-020328
- Kinder JA, Chen JJ. An update on optic neuritis. *J Neurol* 2023;270(10):5113-5126. doi:10.1007/s00415-023-11920-z
- Oertel RC, Zimmermann HG, Motenack S, et al. Retinal changes after acute and late optic neuritis in aquaporin-4 antibody seropositive NMOSD. *J Neuroophthalmol* 2023. doi:10.1097/WNO.0000000000001991
- Martinez-Lapiedra EH, Foga-Pumar E, Pastor X, et al. Is the incidence of optic neuritis rising? Evidence from an epidemiological study in Barcelona (Spain), 2008-2012. *J Neurol* 2014;261(4):759-767. doi:10.1007/s00415-014-2266-2
- Murphy OC, Sotocoro ES, Klatade G, et al. Trans-synaptic degeneration following acute optic neuritis in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2023;93(1):76-87. doi:10.1002/ana.26529
- Gabliando I, Martinez-Lapiedra EH, Foga-Pumar E, et al. Dynamics of retinal injury after acute optic neuritis. *Ann Neurol* 2015;77(3):517-528. doi:10.1002/ana.24351
- Kuchlin S, Bont G, Heinrich SP, et al. Disease course of clinically isolated optic neuritis. *Neural Neuroimmunol Neuroinflamm* 2024;11(3):e200223. doi:10.1121/NX1000000000000223
- Alba-Jubelt S, Andorra M, Sanchez-Dalmau R, et al. In vivo molecular changes in the retina of patients with multiple sclerosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2021;62(6):11. doi:10.1167/iov.62.6.11
- Goss AJ, McQuaid S, Hauer SL, Allen IV, Lyons R. Ocular pathology in multiple sclerosis: retinal atrophy and inflammation irrespective of disease duration. *Brain* 2010;133(Pt 6):1591-1601. doi:10.1093/brain/awq010
- Levin N, Orlov T, Dotan S, Zohary E. Normal and abnormal BOLD activation patterns in the visual cortex after recovery from optic neuritis. *Neuroimage* 2006;29(4):1161-1168. doi:10.1016/j.neuroimage.2006.07.030
- Chavarron VS, Beltrami-Strobl J, Zimmermann HG, et al. Visual system damage and network maladaptation are associated with cognitive performance in neuromyelitis optica spectrum disorders. *Mult Scler Relat Disord* 2020;45:103406. doi:10.1016/j.msdis.2020.103406
- Benoliel T, Raz N, Ben-Hur T, Levin N. Cortical functional modifications following optic neuritis. *Mult Scler* 2017;23(2):220-227. doi:10.1177/1352458516649677
- Rocca MA, Sessle F, Valenza P, et al. Cross-modal plasticity among sensory networks in neuromyelitis optica spectrum disorders. *Mult Scler* 2019;25(7):968-979. doi:10.1177/1352458518778008
- Yan J, Wang Y, Miao H, et al. Alterations in the brain structure and functional connectivity in aquaporin-4 antibody-positive neuromyelitis optica spectrum disorder. *Front Neurosci* 2019;13:1362. doi:10.3389/fnins.2019.01362
- Bachner Y, Ben-Shalom I, Kuchling J, et al. Cortical topological network changes following optic neuritis. *Neural Neuroimmunol Neuroinflamm* 2020;7(3):e67. doi:10.1121/NX100000000000067
- Bachner Y, Kuchling J, Manuwa S, et al. Anatomical wiring and functional networking changes in the visual system following optic neuritis. *JAMA Neurol* 2018;15(3):287-295. doi:10.1001/jama.2017.3880
- Finkel C, Zimmermann H, Pache F, et al. Association of visual impairment in neuromyelitis optica spectrum disorder with visual network reorganization. *JAMA Neurol* 2018;75(5):296-303. doi:10.1001/jama.2017.3890
- Sujanthan S, Suresh A, Mendola JD. Resting-state functional MRI of the visual system for characterization of optic neuropathy. *Front Hum Neurosci* 2022;16:943618. doi:10.3389/fnhum.2022.943618
- Wu GF, Brier MR, Paris CA, Ances RM, Van Steen GM. An eye on brain integrity: acute optic neuritis affects resting state functional connectivity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56(4):2541-2546. doi:10.1167/iov.14-1631.5
- Galea K, Ryan S, Mantano G, et al. Treatment outcome of first-ever episode of severe optic neuritis. *Mult Scler Relat Disord* 2022;66:104020. doi:10.1016/j.msdis.2022.104020
- Gottlieb M, Sergott RC. Biomarker defined acute optic neuritis: a review and perspective. *Curr Treat Options Neurol* 2023;25(9):307-322. doi:10.1007/s11490-023-00762-7
- Beck RW, Cleary PA, Trobe JD, et al. The effect of corticosteroids in acute optic neuritis on the subsequent development of multiple sclerosis. The Optic Neuritis Study Group. *N Engl J Med* 1993;329(24):1764-1769. doi:10.1056/NEJM199312093292403
- Rode J, Pique J, Maumail A, et al. Time to steroids impacts visual outcome of optic neuritis in MOGAD. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2023;94(4):309-313. doi:10.1136/jnnp-2022-32060
- Amey S, August N, Bennett J, et al. The acute optic neuritis network (ACON): study protocol of a non-interventional prospective multicenter study on diagnosis and treatment of acute optic neuritis. *Front Neurol* 2023;14:1102353. doi:10.3389/fneur.2023.1102353
- Villalada P, Martinez-Lapiedra EH. Time in vision: the importance of the early discovery and diagnosis of optic neuritis. *Mult Scler* 2017;23(14):1806-1807. doi:10.1177/1352458517739140
- Galea K, Villalada P, Levin N, et al. Acute optic neuritis: unmet clinical needs and model for new therapies. *Neural Neuroimmunol Neuroinflamm* 2015;2(4):e135. doi:10.1121/NX1000000000000135
- Baker LJ, Raynowska J, Nolan R, et al. Validity of flow-contrast letter acuity as a visual performance outcome measure for multiple sclerosis. *Mult Scler* 2017;23(5):794-797. doi:10.1177/1352458517690022
- Sanchez-Dalmau R, Martinez-Lapiedra EH, Tormo-Torres R, et al. Early retinal atrophy predicts long-term visual impairment after acute optic neuritis. *Mult Scler* 2018;24(9):1196-1204. doi:10.1177/1352458517718628
- Juncos A, Bernal-Seguin E, Gonzalez LA, et al. Predictors of long-term visual acuity in a modern cohort of patients with acute idiopathic and multiple sclerosis-associated optic neuritis. *J Neuroophthalmol* 2023;43(4):475-480. doi:10.1097/WNO.0000000000001870
- Nguyen MNH, Zhu C, Kober S, et al. Early prediction of visual and non-visual outcomes after acute optic neuritis. *Front Neurol* 2022;13:945094. doi:10.3389/fneur.2022.945094
- Fernandez VC, Vila AM. Acute optic neuritis: what do complementary tests add to diagnosis? *Mult Scler Relat Disord* 2022;57:103348. doi:10.1016/j.msdis.2021.103348
- Pitt-Jones G, Wainman R, Fredericks JL. Multicenter visual evoked potential evaluation for diagnosis of acute optic neuritis and for prediction of visual outcome and ganglion cell layer thinning following optic neuritis. *Mult Scler* 2021;27(11):1717-1726. doi:10.1177/1352458520975732
- Denis M, Weller J, Srinivas VM, et al. Optic nerve lesion length at the acute phase of optic neuritis is predictive of retinal neuronal loss. *Neural Neuroimmunol Neuroinflamm* 2022;9(2):e1135. doi:10.1121/NX1000000000001135
- Deschamps R, Shor N, Vignat C, et al. Prospective longitudinal study on prognostic factors of visual recovery and structural changes after a first episode of optic neuritis. *Eur J Neurol* 2022;29(9):2781-2791. doi:10.1111/ene.15430
- Martinez-Lapiedra EH, Foga-Pumar E, Gabliando I, et al. The multiple sclerosis visual pathway cohort: understanding neurodegeneration in MS. *BMC Res Notes* 2014;7:910. doi:10.1186/1756-0500-7-910
- Andorra M, Alba-Jubelt S, Carro-Carretero A, et al. Using acute optic neuritis trials to assess neuroprotective and remyelinating therapies in multiple sclerosis. *JAMA Neurol* 2020;77(2):234-244. doi:10.1001/jama.2019.32303
- Cruz-Herranz A, Balk LJ, Oberwieserbeck T, et al. The APOSTEL recommendations for reporting quantitative optical coherence tomography studies. *Neurology* 2016;86(24):2303-2309. doi:10.1212/WNL.0000000000002774
- Andorra M, Nakamura K, Lampert EJ, et al. Assessing biological and methodological aspects of brain volume loss in multiple sclerosis. *JAMA Neurol* 2018;75(10):1246-1255. doi:10.1001/jama.2018.1596
- Cana-Roma J, Martinez-Hernandez E, Sole-Ribalta A, et al. Applying multilayer analysis to morphological, structural, and functional brain networks to identify relevant dysfunction patterns. *Neuro Neurosci* 2022;6(3):916-933. doi:10.1162/netn_a_00258
- Wang L, Mowczak KE, Accardi MJ, Katsner S. Probabilistic maps of visual topography in human cortex. *Cereb Cortex* 2015;25(10):3911-3931. doi:10.1093/cercor/btu277
- Tourner JD. Diffusion MRI in the brain: theory and concepts. *Prog Natl Mag Res Spectrosc* 2011;71:113-116. doi:10.1016/j.pnmr.2011.03.001
- Lladra S, Martinez-Hernandez E, Solana E, et al. Structural networks involved in attention and executive functions in multiple sclerosis. *Neuroimage Clin* 2017;13:288-296. doi:10.1016/j.nicl.2016.11.026
- Martinez-Hernandez E, Viatoro F, Prkovic V, et al. Improved framework for tractography reconstruction of the optic radiation. *PLoS One* 2015;10(9):e0137064. doi:10.1371/journal.pone.0137064
- Witkebach.de/ad/bacan-dystracing_pipeline
- Jenkinson M, Beckmann CF, Behrens TEJ, Woolrich MW, Smith SM. FSL. *Neuroimage* 2012;62(2):782-790. doi:10.1016/j.neuroimage.2011.09.001
- Solana E, Martinez-Hernandez E, Cana-Roma J, et al. Modified connectivity of vulnerable brain nodes in multiple sclerosis, their impact on cognition and their discriminative value. *Sci Rep* 2019;9(1):20172. doi:10.1038/s41598-019-56806-z
- pytorch/pytorch
- Paludo-Valdovinos I, Andorra M, Gomez-Andorra D, et al. Retinal and brain damage during multiple sclerosis course: inflammatory activity is a key factor in the first 5 years. *Sci Rep* 2020;10(1):13333. doi:10.1038/s41598-020-70255-z

51. Gigengack NK, Oertel FG, Motamed S, et al. Structure-function correlates of vision loss in neuromyelitis optica spectrum disorders. *Sci Rep.* 2022;12(1):17545. doi: 10.1038/s41598-022-19846-4
52. Costello FJ, Coupland S, Hodge W, et al. Quantifying axonal loss after optic neuritis with optical coherence tomography. *Ann Neurol.* 2006;59(6):963-969. doi:10.1002/ana.20851
53. Motamed D, Mayili M, Shafie M, et al. Memantine administration in patients with optic neuritis: a double blind randomized clinical trial. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2022;260(12):3969-3975. doi:10.1007/s00417-022-05720-8
54. Lagana WA, Kuchlin S, Ebert G, et al. Safety and efficacy of erythropoietin for the treatment of patients with optic neuritis (TONER): a randomised, double-blind, multicentre, placebo-controlled study. *Lancet Neurol.* 2021;20(12):991-1000. doi: 10.1016/S1473-4442(21)00322-7
55. Viliolada P, Masero M, Pato S, Hutchings S, Koch A. A phase 1 randomised study on the safety and pharmacokinetics of OCS-015, a neuroprotective disease modifying treatment for acute optic neuritis and multiple sclerosis. *Sci Rep.* 2023;13:5099. doi: 10.1038/s41598-023-32278-0
56. Green AJ, Gelfand JM, Cree BA, et al. Clemastine fumarate as a remyelinating therapy for multiple sclerosis (ReBUILD): a randomised, controlled, double-blind, crossover trial. *Lancet.* 2017;390(10111):2461-2469. doi:10.1016/S0140-6736(17)32246-2
57. Balcázar V, Zamir S, Petrova P, Paul F, Kanaris D, Levin N. Anatomical and functional visual network patterns in progressive multiple sclerosis. *Hum Brain Mapp.* 2022; 43(5):1590-1597. doi:10.1002/hbm.25744
58. Gallo A, Esposito F, Sacco R, et al. Visual resting-state network in relapsing-remitting MS with and without previous optic neuritis. *Neurology.* 2012;79(14):1458-1465. doi: 10.1212/WNL.0b013e31826d5eaa

Supplementary Materials

Supplementary methods: Graph analysis

Strength.

Node strength is one of the most basic and widely used metrics to calculate the importance of any given node in a network and is defined as the sum of weights of all edges connected to the node.

According to this definition, high strength indicates a highly important node in the network. We define the strength of node i , denoted by s_i , as the following:

$$s_i = \sum_{\alpha} s_i^{\alpha} \text{ with } s_i^{\alpha} = \sum_{j,j'} M_{i,j}^{\alpha,\beta}.$$

Degree.

Node degree is one of the simplest centrality measures (often used in social network literature) to quantify the importance of a node in a network. It is defined as the number of edges connected to a specific node and can be considered a binarization of strength. We define the degree of node i as follows:

$$d_i = \sum_{\alpha,\beta,j} \Theta(M_{i,j}^{\alpha,\beta}),$$

where Θ is a function that returns 0 if the argument is equal to 0, and 1 otherwise. In other words, it returns 1 if an edge exists between node i in layer α and node j in layer β , and 0 otherwise. Note that, if required, one could also define the degree per node and layer,

, as described above for strength.

Betweenness centrality.

A different concept of node importance is captured by betweenness centrality, which measures the extent to which a node lies within paths between node pairs ([Freeman, 1977](#)). In contrast to degree and strength, this node metric is obtained by considering the full network topology and is related to the information flow between nodes (within the same layer or across different layers). The betweenness centrality of node i is set out in the following equation:

$$b_i = \frac{1}{n(n-1)} \sum_{o,d} \frac{\sigma_{o,d}(i)}{\sigma_{o,d}},$$

where $\sigma_{o,d}$ is the number of the [shortest paths](#) from o to d , and $\sigma_{o,d}(i)$ is the number of the shortest paths from o to d that crosses node i . The betweenness centrality is a value in the range $[0, 1]$, where 1 indicates the highest centrality (i.e., the node lies in all the shortest paths from all pairs of nodes) and 0 denotes a node that is not in any of the network's shortest paths.

Closeness centrality.

Closeness centrality evaluates the average distance from one node to all other accessible nodes in the network. Similar to the previous metric, this is a global network descriptor, and is related to the topological location of nodes within the network. The closeness centrality of node i is computed as the average distance between i and all other nodes in the network:

$$c_i = \left(\sum_{j \neq i} D_{ij} \right)^{-1},$$

where values close to 1 denote very high centrality and values close to 0 indicate very low centrality. It should be highlighted that under this metric definition, the more central a node is, the closer it is to all other nodes.

Global efficiency.

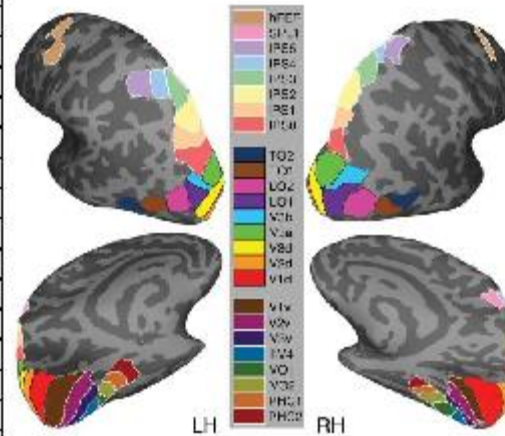
A network's efficiency is a measure of its capacity to exchange information between nodes ([Latora & Marchiori, 2001](#); [Stanley et al., 2015](#)). At a global level, efficiency is defined as the sum of the inverse of all pairwise distances between nodes and measures how well information is exchanged within the network. Formally, the efficiency of node i is computed by the following equation:

$$LE_i = \frac{1}{d_i(d_i-1)} \sum_{j,k \in G_i} \frac{1}{D_{j,k}},$$

where G_i is the set containing the immediate neighborhood of node i , but excluding the node itself, and d_i is the degree of node i as defined above. Analogous to the other measures, the efficiency of node i is in the range $[0, 1]$, where values close to 1 indicate maximum local efficiency in the network.

eTable 1: Visual Network Regions of Interest¹: Names and Coordinates

ROI	Coordinates in MNI (Left; Right hemisphere)
Ventral-Temporal	
V1v	-6, -82, -3; 9, -80, -1
V2v	-10, -78, -8; 10, -76, -7
V3v	-18, -76, -10; 18, -72, -8
hV4	-27, -77, -12; 29, -76, -11
VO1	-27, -68, -10; 27, -65, -9
VO2	-26, -60, -10; 26, -57, -8
PHC1	-25, -52, -9; 26, -50, -8
PHC2	-26, -42, -9; 27, -42, -10
Dorso-Lateral	
V1d	-8, -89, 4; 11, -87, 7
V2d	-10, -91, 12; 14, -88, 15
V3d	-17, -89, 15; 21, -86, 17
MST	-47, -66, 8; 47, -60, 7
hMT	-45, -74, 7; 48, -67, 8
LO1	-33, -83, 8; 36, -81, 9
LO2	-40, -80, 7; 42, -75, 8
V3a	-18, -85, 23; 22, -82, 27
V3b	-29, -84, 15; 34, -80, 17
Parietal and Frontal	
IPS0	-25, -75, 31; 29, -73, 32
IPS1	-22, -69, 40; 26, -67, 40
IPS2	-20, -66, 47; 24, -63, 48
IPS3	-22, -59, 53; 24, -58, 53
IPS4	-27, -54, 52; 28, -52, 54
IPS5	-32, -47, 51; 32, -46, 54
SPL1	-9, -58, 53; 11, -54, 57
FEF	-31, -2, 52; 30, -2, 52



V1 = primary visual cortex; V2 = secondary visual cortex; V3 = visual area V3; (v = ventral; d = dorsal); hV4 = human visual region V4; VO = ventral occipital cortex; PHC = parahippocampal cortex; MST = medial superior temporal area; hMT = human middle temporal region; LO = lateral occipital cortex; IPS = intraparietal sulcus; SPL = superior parietal lobule; FEF = frontal eye field; M1 = primary motor cortex; SMA = supplementary motor area; IFG = inferior frontal gyrus ; PO = pars opercularis; PT = pars triangularis. ¹Wang L, Mruczek RE, Arcaro MJ, Kastner S. *Cereb Cortex*. 2015;25(10):3911-3931.

eTable 2. Clinical characteristics of the patients included in the MRI structural visual network analysis (DWI)

	Baseline	Month 6
n	53	42
Age	36.4 (SD: 8.9)	37 (SD: 8.7)
Gender, women	44 (83 %)	33 (79 %)
EDSS score	2.0 (range: 0.0 - 5.0)	1.5 (range 0.0 - 3.0)
Steroids: None + oral IV + high dose	15 (28 %) 38 (72 %)	11 (26 %) 31 (74 %)
HCVA LogMAR	0.23 (IQR: 0.08 - 0.85)	-0.01 (IQR -0.06 - 0.04)
2.5% LCVA	0 (IQR: 0 - 0)	20.5 (IQR 3 - 29.3)
HRR	22 (0 - 31)	36 (31.5 - 36)

eTable 3. Structural visual network metrics at baseline and month 6. Results are shown as means and (standard deviations) for the structural visual network

	Baseline n= 53	Month 6 n = 42	p-value
Betweenness Centrality	62.4 (11.2)	60.6 (6.5)	0.533
Global Efficiency	0.32 (0.03)	0.32 (0.03)	0.546
Node Strength	13 (2)	13.2 (2.1)	0.629
Clustering Coefficient	0.36 (0.03)	0.36 (0.04)	0.989
Assortativity	0.15 (0.11)	0.14 (0.07)	0.177

Differences were analyzed using Mixed-effect models with subject-specific random intercepts, graph metrics were used as response variable and disease duration as predictive value adjusted for sex, age and scan type.

eTable 4. Clinical characteristics at baseline of the patients included in the MRI structural visual network analysis (DWI) comparing idiopathic/CIS to MS cases

	AON-idiopathic/CIS	AON-MS	p-value
n	34	19	-
Age	35.1 (SD: 8.4)	38.6 (SD: 9.5)	0.197 ^a
Gender, women	28 (82 %)	16 (84 %)	0.999 ^b
EDSS score	2.5 (range: 0.0 - 5.0)	1.5(range: 0.0 - 4.0)	0.454 ^c
Steroids: None + oral IV + high dose	10 (29 %) 24 (71 %)	5 (26 %) 14 (74 %)	0.999 ^b
HCVA LogMAR	0.22 (IQR: 0.1 - 0.68)	0.35 (IQR: 0.02 - 0.98)	0.823 ^c
2.5% LCVA	0 (IQR: 0 - 0)	0 (IQR: 0 - 0)	0.7 ^c
HRR	23 (IQR: 0 - 31.2)	18 (IQR: 0 - 30)	0.991 ^c

^aStudent's t-test; ^bChi-squared test; ^cWilcoxon-Mann-Whitney test.

eTable 5. Structural visual network metrics at baseline in patients with AON-idiopathic and AON-CIS vs. AON-MS. Results are shown as means and (standard deviations) for the structural visual network

	AON-idiopathic/CIS (n= 34)	AON-MS (n= 19)	p-value
Betweenness Centrality	61.4 (11.2)	64.2 (11.2)	0.384
Global Efficiency	0.32 (0.04)	0.31 (0.03)	0.709
Node Strength	13.1 (2.07)	13.0 (1.89)	0.856
Clustering Coefficient	0.35 (0.03)	0.37 (0.04)	0.06
Assortativity	0.15 (0.12)	0.14 (0.09)	0.568

Group differences done with t-test.

eTable 6. Structural visual network metrics of patients with AON-idiopathic/CIS at baseline and month 6. Results are shown as means and (standard deviations) for the structural visual network

A) structural visual network	Baseline n= 34	Month 6 n = 25	p-value
Betweenness Centrality	61.4 (11.2)	61.61 (7)	0.799
Global Efficiency	0.32 (0.03)	0.31 (0.04)	0.447
Node Strength	13.05 (2.06)	12.76 (2.27)	0.573
Clustering Coefficient	0.35 (0.03)	0.35 (0.04)	0.436
Assortativity	0.15 (0.12)	0.14 (0.06)	0.277

Differences were analyzed using Mixed-effect models with subject-specific random intercepts, graph metrics were used as response variable and disease duration as predictive value adjusted for sex, age and scan type.

eTable 7. Correlation between the volumetric analysis of the structural visual network and visual outcomes at month 6. P values were adjusted using false discovery rate (P-adj).

	ROI	Beta	p-value	P-adj	CI-Low	CI-up
HCVA	lh.IPS3	-0.0003	0.017	0.0326	-0.0005	-5.7564
2.5%LCVA	lh.V1v	-0.0157	0.0386	0.0489	-0.0305	-0.0008
	lh.TO1	0.0247	0.0175	0.0326	0.0045	0.0448
	rh.V1d	-0.0118	0.0211	0.0326	-0.0217	-0.0018
Color vision	lh.V3d	0.0065	0.0483	0.0489	4.8922	0.0130
	rh.TO1	0.0112	0.0195	0.0326	0.0019	0.0205
VFQ25	lh.V1v	-0.0369	0.0001	0.0017	-0.0531	-0.0206
	lh.V1d	-0.0290	0.0426	0.0489	-0.0570	-0.0010
	lh.IPS0	-0.0212	0.0404	0.0489	-0.0415	-0.0010
	rh.V1v	-0.0291	0.0003	0.0017	-0.0431	-0.0151
	rh.V1d	-0.0199	0.0009	0.0031	-0.0307	-0.0091
VFQ25 + 10neuro	lh.V1v	-0.0305	0.0022	0.0062	-0.0486	-0.0123
	lh.V1d	-0.0368	0.0059	0.0143	-0.0617	-0.0118
	lh.V2v	-0.0206	0.0489	0.0489	-0.0412	-0.0001
	lh.IPS0	-0.0202	0.0457	0.0489	-0.0401	-0.0004
	rh.V1v	-0.0285	0.0002	0.0017	-0.0421	-0.0149
	rh.V1d	-0.0198	0.0007	0.0029	-0.0302	-0.0094

lh.V1v = left ventral temporal, posterior-occipital
 lh.V1d = left dorsal lateral, posterior-occipital
 rh.V1v = right ventral temporal, posterior-occipital
 rh.V1d = right dorsal lateral, posterior-occipital
 lh.V2v = left ventral temporal, posterior-occipital
 lh.V3d = left dorsal lateral, posterior-occipital
 lh.TO1 = left cortical dorsal lateral
 rh.TO1 = right cortical dorsal lateral
 lh.IPS0 = left intraparietal sulcus
 lh.IPS3 = left intraparietal sulcus

eTable 8. Multivariate regression analysis between structural visual network metrics and LCVA at month 6. P values were adjusted using false discovery rate (P-adj).

	baseline			Month 6		
	B (95% CI)	P-value	P-adj	B (95% CI)	P-value	P-adj
Betweenness Centrality	-0.92 (-1.7 – -0.14)	0.023	0.070	-0.48 (-1.34 – 0.39)	0.268	0.536
Global Efficiency	-97.98 (-416.73 – 240.78)	0.586	0.703	-127.28 (-579.14 – 324.57)	0.569	0.851
Node Strength	-2.45 (-9.43 – 4.52)	0.475	0.703	0.61 (-7.33 – 8.56)	0.875	0.875
Clustering Coefficient	320.55 (121.87 – 519.22)	0.003	0.017	166.99 (-17.23 – 316.74)	0.030	0.180
Assortativity	10.82 (-51.27 – 72.87)	0.722	0.722	66.72 (-5.56 – 139.01)	0.069	0.207
Steroids	-6.32 (-16.61 – 3.97)	0.217	0.434	-1.54 (-9.91 – 6.83)	0.709	0.851

eTable 9. Multivariate regression analysis between structural visual network metrics and HCVA at month 6. P values were adjusted using false discovery rate (P-adj).

	Baseline			Month 6		
	B (95% CI)	P-value	P-adj	B (95% CI)	P-value	P-adj
Betweenness Centrality	0.01 (0.003 – 0.015)	0.002	0.012	0.004 (-0.004 – 0.01)	0.288	0.295
Global Efficiency	-0.37 (-2.48 – 2.27)	0.740	0.740	-2.25 (-6.56 – 2.05)	0.292	0.295
Node Strength	0.04 (-0.01 – 0.09)	0.101	0.152	0.04 (-0.03 – 0.11)	0.295	0.295
Clustering Coefficient	-2.05 (-3.52 – -0.50)	0.008	0.024	-1.1 (-2.48 – 0.28)	0.114	0.270
Assortativity	-0.50 (-0.91 – -0.005)	0.027	0.054	0.71 (-1.37 – -0.05)	0.036	0.216
Steroids	0.02 (-0.05 – 0.1)	0.546	0.655	0.06 (-0.02 – 0.13)	0.135	0.270

P-adjusted using false discovery rate (FDR)

eTable 10. Multivariate regression analysis between structural visual network metrics and color vision at month 6. P values were adjusted using false discovery rate (P-adj).

	Baseline			Month 6		
	B (95% CI)	P-value	P-adj	B (95% CI)	P-value	P-adj
Betweenness Centrality	-0.14 (-0.42 – 0.13)	0.294	0.590	-0.12 (-0.55 – 0.31)	0.578	0.754
Global Efficiency	-42.38 (-151.37 – 66.6)	0.429	0.590	54.86 (-169.88 – 279.61)	0.621	0.754
Node Strength	0.26 (-2.16 – 2.69)	0.824	0.824	-0.59 (-4.41 – 3.23)	0.754	0.754
Clustering Coefficient	28.63 (-38.98 – 97.24)	0.396	0.590	14.30 (-56.03 – 84.63)	0.680	0.754
Assortativity	-7.48 (-28.25 – 13.29)	0.463	0.590	10.72 (-23.66 – 45.1)	0.528	0.754
Steroids	-1.47 (-5.05 – 2.12)	0.405	0.590	-1.68 (-5.91 – 2.54)	0.421	0.754

P-adjusted using false discovery rate (FDR)

eTable 11. Nodes of the structural visual network at baseline predicting 2.5%LCVA at month 6

Betweenness centrality	B (95% CI)	P-value
LH V2d	-0.06 (-0.12 – -0.001)	0.045
LH IPS1	-0.04 (-0.07 – 0)	0.048
RH HV4	-0.34 (-0.65 – -0.2)	0.039
RH PHC2	-0.36 (-0.66 – -0.06)	0.021
Node Strength	B (95% CI)	P-value
LH V2d	1.3 (0.07 – 2.53)	0.04
LH V3v	1.52 (0.2 – 2.85)	0.026
LH LO1	1.48 (0.06 – 2.9)	0.042
RH V3v	1.72 (0.29 – 3.15)	0.02
Clustering Coefficient	B (95% CI)	P-value
LH V2d	96.34 (14.24 – 178.44)	0.023
LH IPS4	57.86 (12.32 – 103.39)	0.015

eTable 12. Nodes of the structural visual network at baseline predicting HVCA at month 6

Betweenness centrality	B (95% CI)	P-value
LH PHC1	0.008 (0 – 0.02)	0.042
LH IPS1	0.001 (0 – 0.001)	0.003
LH IPS4	0.005 (0.002 – 0.008)	0.001
RH LO2	0.006 (0.004 – 0.008)	<0.001
Node Strength	B (95% CI)	P-value
LH PHC1	0.03 (0.01 – 0.05)	0.008
RH IPS5	0.12 (0.03 – 0.21)	0.014
Clustering coefficient	B (95% CI)	P-value
LH IPS4	-0.85 (-1.57 – -0.13)	0.022
RH IPS5	0.58 (0.18 – 0.99)	0.006

eTable 13. Nodes of the structural visual network at baseline predicting color vision at month 6

Betweenness centrality	B (95% CI)	P-value
LH V2v	-0.03 (-0.05 – -0.001)	0.045
LH IPS1	-0.02 (-0.04 – -0.01)	0.005
LH IPS4	-0.15 (-0.24 – -0.01)	0.001
RH LO2	-0.17 (-0.24 – -0.11)	<0.001
Node Strength	B (95% CI)	P-value
LH VO2	-0.76 (-1.4 – -0.13)	0.02
LH PHC1	-0.95 (-1.56 – -0.34)	0.004
RH VO2	-1.04 (-1.83 – -0.25)	0.012
RH LO2	-0.72 (-1.41 – -0.03)	0.042
RH IPS5	-3.23 (-6.44 – -0.2)	0.049
Clustering coefficient	B (95% CI)	P-value
LH IPS4	31.31 (10.02 – 52.59)	0.005
RH IPS5	-17.66 (-31.66 – -3.65)	0.015

eTable 14. Clinical characteristics of the patients included in the MRI functional visual network analysis (resting-state fMRI)

	Baseline	Month 6
n	19	13
Age	35.4 (SD= 9.4)	34.61 (SD= 7.95)
Gender, women	16 (88 %)	10 (77 %)
EDSS score	3.0 (range 0.0 – 3.0)	1.0 (range 0.0 – 3.0)
Steroids: None + oral IV + high dose	3 (16 %) 16 (84 %)	2 (15 %) 11 (85 %)
HCVA LogMAR	0.46 (SD= 0.41)	-0.01 (SD= 0.11)
2.5% LCVA	2.56 (SD= 7.7)	16.67 (15)
HRR	25 (IQR= 0 – 30)	35 (30.5 – 36)

eTable 15. Functional visual network metrics at baseline and month 6. Results are shown as means and (standard deviations) for the functional visual network

	Baseline n= 19	Month 6 n = 13	p-value
Betweenness Centrality	32.6 (5.50)	34.5 (7.65)	0.349
Global Efficiency	0.513 (0.063)	0.518 (0.086)	0.873
Node Strength	53.5 (6.79)	54 (8.92)	0.899
Clustering Coefficient	0.507 (0.069)	0.513 (0.089)	0.886
Assortativity	-0.016 (0.012)	-0.016 (0.014)	0.805

Differences were analyzed using Mixed-effect models with subject-specific random intercepts, graph metrics were used as response variable and disease duration as predictive value adjusted for sex, age and scan type.

eTable 16. Functional visual network metrics at baseline in patients with AON-idiopathic and AON-CIS vs. AON-MS. Results are shown as means and (standard deviations) for the functional visual network

	AON-idiopathic/CIS (n= 13)	AON-MS (n= 6)	p-value
Betweenness Centrality	33.5 (4.73)	30.5 (6.91)	0.365
Global Efficiency	0.52 (0.07)	0.51 (0.06)	0.781
Node Strength	53.7 (7.39)	53 (5.89)	0.846
Clustering Coefficient	0.51 (0.08)	0.5 (0.06)	0.872
Assortativity	-0.02 (0.01)	-0.01 (0.01)	0.412

Group differences done with t-test.

eTable 17. Functional visual network metrics of patients with AON-idiopathic/CIS at baseline and month 6. Results are shown as means and (standard deviations) for the functional visual network

	Baseline n= 13	Month 6 n = 9	p-value
Betweenness Centrality	33.5 (4.73)	33.9 (8.69)	0.981
Global Efficiency	0.52 (0.07)	0.53 (0.09)	0.597
Node Strength	53.7 (7.39)	55.5 (9.16)	0.567
Clustering Coefficient	0.51 (0.08)	0.52 (0.09)	0.557
Assortativity	-0.02 (0.01)	-0.02 (0.02)	0.890

Differences were analyzed using Mixed-effect models with subject-specific random intercepts, graph metrics were used as response variable and disease duration as predictive value adjusted for sex, age and scan type.

eTable 18. Nodes of the functional visual network at baseline predicting 2.5%LCVA at month 6

Betweenness centrality	B (95% CI)	P-value
LH VO2	8.66 (4.03 – 13.3)	0.009
RH LGN	-0.04 (-0.07 – -0.01)	0.026
Clustering coefficient	B (95% CI)	P-value
LH SPL1	501.55 (50.88 – 952.22)	0.038
RH LGN	186.93 (8.25 – 365.6)	0.045
Node Strength	B (95% CI)	P-value
RH IPS1	-2.79 (-5.17 – -0.41)	0.034
LH SPL1	2.69 (0.31 – 5.08)	0.037
RH LGN	1.31 (0.15 – 2.47)	0.037

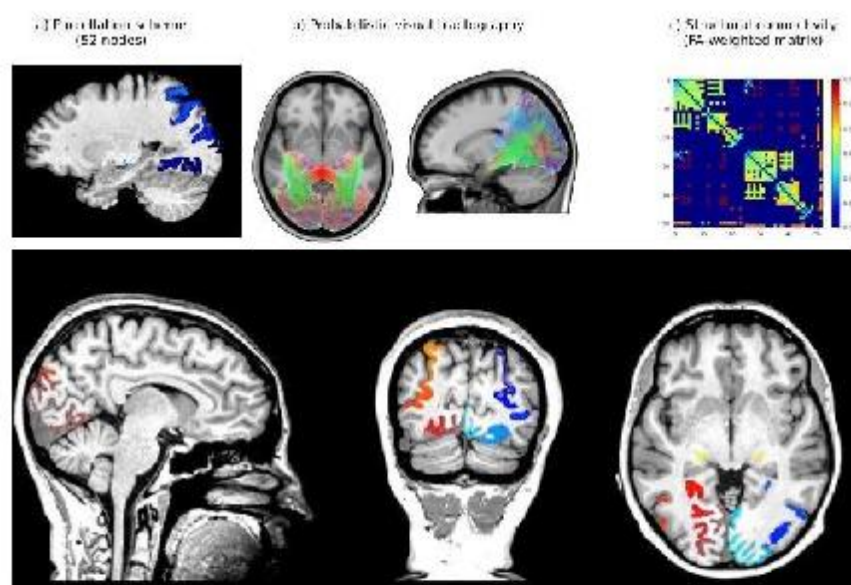
eTable 19. Nodes of the functional visual network at baseline predicting HCVA at month 6

Betweenness Centrality	B (95% CI)	P-value
RH LGN	0.0004 (0.0002 – 0.0006)	0.010
RH SPL1	-0.04 (-0.089 – -0.0007)	0.048

eTable 20. Nodes of the functional visual network at baseline predicting color vision at month 6

Betweenness centrality	B (95% CI)	P-value
RH IPS5	-0.05 (-0.09 – -0.02)	0.011
RH hV4	-0.25 (-0.42 – -0.09)	0.016
RH VO1	-0.01 (-0.02 – -0.004)	0.017
LH LO2	-0.31 (-0.51 – -0.1)	0.017
LH hV4	-0.14 (-0.23 – -0.05)	0.017
RH V3v	-0.40 (-0.66 – -0.13)	0.017
RH TO1	-0.47 (-0.85 – -0.1)	0.027
RH TO2	-0.02 (-0.04 – -0.005)	0.029
LH SPL1	-0.03 (-0.06 – -0.002)	0.042
Clustering coefficient	B (95% CI)	P-value
RH IPS5	65.06 (1.63 – 128.49)	0.047
Node Strength	B (95% CI)	P-value
RH IPS5	0.49 (0.02 – 0.95)	0.045

eFigure 1. Pipeline for diffusion-based MRI processing. The upper panel shows the parcellation scheme of the 52 visual nodes, the probabilistic tractography and the matrices of connectivity between pairs of nodes based on fractional anisotropy representing the visual network. The bottom panel shows the visual cortical nodes.



Treball 3: Predictive value of retinal atrophy for cognitive decline across disease duration in multiple sclerosis.

Autors: Salut Alba-Arbalat, Elisabeth Solana, Elisabet Lopez-Soley, Anna Camos-Carreras, Eloy Martinez-Heras, Francesc Vivó, Irene Pulido-Valdeolivas, Magi Andorra, Maria Sepulveda, Jose María Cabrera, Elianet Fonseca, Alberto Calvi , Rafel Alcubierre, Marina Dotti-Boada, Albert Saiz, Elena H Martinez-Lapiscina, Pablo Villoslada, Yolanda Blanco, Bernardo Sanchez-Dalmau i Sara Llufríu.

Article publicat a *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, el 12 d'abril de 2024.

En aquest treball vam estudiar 207 pacients amb EM i es van avaluar els gruixos de les capes de la retina a través de l'OCT en relació amb el seu estat cognitiu amb la bateria BRB-n. Vàrem analitzar la cohort de forma conjunta i també vam dur a terme una segona anàlisi dividint els pacients en funció de si la durada de la malaltia era menor o major de 5 anys.

A través dels models de regressió lineal amb efectes mixtos, vam observar una associació longitudinal entre els canvis en el gruix de la pRNFL i la GCIPL i els canvis de puntuació zBRB-n global. Aquesta associació estava present en pacients amb més de 5 anys de malaltia, però no en el grup amb una durada inferior, en el qual la manca de tractament sí que estava associada amb un empitjorament en la zBRB-N.

A més, vam avaluar com els valors llindars en el moment basal, que s'han descrit fins al moment en la literatura, podien predir l'empitjorament cognitiu a partir d'una anàlisi de supervivència. Aquesta anàlisi va concloure que les persones amb un espessor de la pRNFL $\leq 88\mu\text{m}$ tenien major risc de presentar un deteriorament cognitiu que les que tenien un gruix major. En les anàlisis per grups de pacients es va confirmar que aquest llindar permetia predir l'evolució en les persones amb més de 5 anys de malaltia. Per altra banda, els valors de GCIPL no eren útils per aquesta predicció.

Aquests resultats confirmen la relació entre el dany neuroaxonal i la discapacitat cognitiva i plantegen la mesura de pRFNL com a predictor dels pacients amb risc d'empitjorament cognitiu.

Nota sobre aquesta versió del manuscrit:

Aquesta és la versió acceptada per a publicació (postprint) de l'article següent:

Alba-Arbalat S, Solana E, Lopez-Soley E, et al. *Predictive value of retinal atrophy for cognitive decline across disease duration in multiple sclerosis. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry.* 2024;95(5):419–425.

Published 2024 Apr 12. doi: 10.1136/jnnp-2023-332332

Aquesta versió ha estat revisada per parells i acceptada per a publicació, però encara no ha passat pel procés de maquetació, correccions editorials ni format final realitzat per la revista.

La versió definitiva publicada es pot consultar al DOI indicat anteriorment.

Title: Predictive value of retinal atrophy for cognitive decline across disease duration in multiple sclerosis.

Authors: Salut Alba-Arbalat, MSc^{1,2}; Elisabeth Solana, PhD^{1,2}; Elisabet Lopez-Soley, PhD^{1,2}; Anna Camós-Carreras, MD³; Eloy Martinez-Heras, PhD^{1,2}; Francesc Vivo, BSc^{1,2}; Irene Pulido-Valdeolivas, MD, PhD¹; Magí Andorrà, PhD¹; Maria Sepulveda, MD, PhD^{1,2}; Jose Maria Cabrera-Maqueda, MD^{1,2}; Elianet Fonseca, MD^{1,4}; Alberto Calvi, MD, PhD^{1,2}; Rafel Alcubierre, MD³; Marina Dotti-Boada, MD³; Albert Saiz, MD, PhD^{1,2}; Elena H. Martinez-Lapiscina, MD, PhD¹; Pablo Villoslada, MD, PhD⁵; Yolanda Blanco, MD, PhD^{1,2}; Bernardo Sanchez-Dalmau, MD, PhD³; Sara Llufríu, MD, PhD^{1,2}

Affiliation Information for All Authors:

¹Neuroimmunology and Multiple Sclerosis Unit, Hospital Clinic Barcelona; ²Laboratory of Advanced Imaging in Neuroimmunological Diseases, Fundació de Recerca Clínica Barcelona-Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer and Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain;

³Ophthalmology Department, Hospital Clínic Barcelona, Barcelona, Spain; ⁴Department of Neurology, School of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago de Chile, Chile; ⁵Department of Neurosciences, Hospital Del Mar Research Institute

Equal Author Contributions: Salut Alba-Arbalat and Elisabeth Solana contributed equally to this work (co-first authors).

Corresponding Author: Sara Llufríu Duran: sllufríu@clinic.cat Hospital Clinic Barcelona. Villarroel 170, postcode: 08036. Barcelona.

Abstract

Background: We investigated the association between changes in retinal thickness and cognition in people with MS (PwMS), exploring the predictive value of optical coherence tomography (OCT) markers of neuroaxonal damage for global cognitive decline at different periods of disease.

Methods: We quantified the peripapillary retinal nerve fiber (pRFNL) and ganglion cell-inner plexiform (GCIPL) layers thicknesses of 207 PwMS and performed neuropsychological evaluations. The cohort was divided based on disease duration (<5 years or >5 years). We studied associations between changes in OCT and cognition over time, and assessed the risk of cognitive decline of a pRFNL $\leq$ 88 μ m or GCIPL $\leq$ 77 μ m and its predictive value.

Results: Changes in pRFNL and GCIPL thickness over 3.2 years were associated with evolution of cognitive scores, in the entire cohort and in patients with more than 5 years of disease ($p<0.01$). Changes in cognition were related to less use of disease modifying drugs, but not OCT metrics in PwMS within 5 years of onset. A pRFNL $\leq$ 88 μ m was associated with earlier cognitive disability (3.7 vs. 9.9 years) and higher risk of cognitive deterioration (HR=1.64, $p=0.022$). A GCIPL $\leq$ 77 μ m was not associated with a higher risk of cognitive decline, but a trend was observed at $\leq$ 91.5 μ m in PwMS with longer disease (HR=1.81, $p=0.061$).

Conclusion: The progressive retinal thinning is related to cognitive decline, indicating that cognitive dysfunction is a late manifestation of accumulated neuroaxonal damage. Quantifying the pRFNL aids in identifying individuals at risk of cognitive dysfunction.

key message

WHAT IS ALREADY KNOWN ON THIS TOPIC

Retinal thickness has been associated with concurrent clinical disability and cognitive performance in people with multiple sclerosis (PwMS). Previous studies have shown that for a threshold value of retinal nerve fiber layer (pRNFL) and ganglion cell inner plexiform layer (GCIPL) - pRNFL $\leq 88 \mu\text{m}$ or GCIPL $\leq 77 \mu\text{m}$ - there may be an increased risk of physical disability worsening or decreased attention and processing speed performance in the following years.

WHAT THIS STUDY ADDS

This study investigates the association between changes in retinal thickness and cognition, exploring the predictive value of optic coherence tomography markers of neuroaxonal damage for global cognitive decline at different periods of the disease. We found that the progressive retinal thinning relates to cognitive worsening, particularly in patients with longer disease duration, indicating that cognitive dysfunction is a late manifestation of accumulated neuroaxonal damage. Patients with pRNFL $\leq 88 \mu\text{m}$ were at higher risk of cognitive impairment.

HOW THIS STUDY MIGHT AFFECT RESEARCH, PRACTICE OR POLICY

The quantification of pRNFL has predictive value and allows identification of PwMS at higher risk of developing cognitive dysfunction, especially from the 5th year of the disease onwards, which could help to improve disease monitoring and to guide the selection of therapeutic strategies.

Glossary

AUC = area under curve; BRB-N = Brief Repeatable Battery of Neuropsychological tests; CI = confidence interval; DMT = disease modifying therapy; EDSS = Expanded Disability Status Scale; HR = hazard ratio; GCIPL = ganglion cell inner plexiform layer; IQR = interquartile range; OCT = Optical Coherence Tomography; ON, optic neuritis; MS = multiple sclerosis; pRNFL = peripapillary retinal nerve fiber layer; PwMS = people with MS; ROC = receiver operating characteristics; SD = standard deviation; SDMT = Symbol Digit Modalities Test.

Introduction

Multiple Sclerosis (MS) is a chronic, inflammatory and neurodegenerative disease of the central nervous system, and it is a major cause of neurological disability in young adults¹. Cognitive impairment is evident in 36-70% of people with MS (PwMS)²⁻⁴, and while the most severely affected cognitive domains are information processing speed and episodic memory, working memory, executive functions, semantic fluency, decision-making and attention can also be altered^{5,6}. Although cognitive decline can occur at any time after disease onset and in all disease subtypes, it is more common in advanced stages and in progressive forms of MS^{4,7-9}. Cognition seems to deteriorate slowly after the 5th year of disease onset⁴, which could be potentially related to the neurodegenerative component of the disease.

Optical Coherence Tomography (OCT) is a high-resolution imaging technique that provides a non-invasive, highly reproducible and well-tolerated means to quantify the thickness of the retinal layer^{10,11}. This technique allows neuroaxonal loss and neurodegenerative damage to be tracked in MS by quantifying peripapillary retinal nerve fiber layer -pRNFL- and ganglion cell-inner plexiform layer -GCIPL- thicknesses^{12,13}. Indeed, retinal thickness has been associated with brain atrophy^{14,15} and also with impairment of the posterior visual pathway, probably driven by trans-synaptic damage¹⁶. Early in the disease, and at younger ages, changes to the inner cell layers that reflect neuroaxonal injury are faster¹⁷. This is especially evident in PwMS with inflammatory activity, as indicated by relapses or through new or enhancing lesions in magnetic resonance imaging¹⁸. These data point towards early neurodegeneration processes in MS.

While retinal thickness has been linked to concurrent clinical disability and cognitive performance^{19,20}, it remains unclear whether this relationship exists during the first years of the disease, when neurodegenerative damage is less severe. Previous longitudinal studies have shown that PwMS with a pRNFL $\leq 88 \mu\text{m}$ or a GCIPL $\leq 77 \mu\text{m}$ have a greater likelihood of suffering a deterioration in their physical disability^{21,22} and in attention and processing speed²¹⁻²³. However, the predictive value of these metrics for global cognitive worsening in early and later stages of the disease is still unknown. Potentially, OCT measurements could help shed light on the complex relationship between the decline of cognitive performance and neuroaxonal damage in MS, and they could even serve as a predictive biomarker for cognitive dysfunction.

In this context, here, we set out to study the association between the evolution of retinal thickness and changes in global cognitive performance in PwMS, considering two time periods during the course of the disease, the first five years and from this point onward. Furthermore, we explored the predictive value of basal OCT measures on cognitive worsening at a mid-term follow-up regarding disease duration.

Methods**Study Population**

For this longitudinal study, patients diagnosed with MS according to the 2017 McDonald's criteria²⁴ were recruited at the MS Unit of the Hospital Clinic of Barcelona between January 2011 and December 2021^{25,26}, and they were assessed for eligibility. Patients aged between 18 and 65 years old were included if at least two paired cognitive assessments, and OCT acquisitions were available (time between examinations less than six months). Patients with any neurological disorder other than MS or an ocular pathology, including severe refractive errors (± 6 or stronger prescription) or a cataract that might significantly affect the OCT examination, were excluded from the study. In addition, any eye with a

previous history of optic neuritis (ON) or with subclinical ON based on ocular asymmetry^{21,27} were excluded, as the rate of thinning of eyes previously affected by ON may be influenced by the marked atrophy induced by the acute insult (floor effect). Finally, patients were excluded if they had experienced any relapse or received corticosteroid treatment in the 30 days prior to the study visits.

Experienced clinicians collected data on gender, age, disease duration (time from MS onset), disease type, number of relapses, use of disease-modifying therapies (DMTs) during the study period, and global disability assessed by the Expanded Disability Status Scale (EDSS)²⁸.

Cognitive Evaluation

At each visit, the participants underwent an extensive neuropsychological evaluation with the Brief Repeatable Battery of Neuropsychological tests (BRB-N)²⁹, using alternate versions as applicable. This battery evaluates different cognitive domains, and it assesses verbal and visuospatial learning and memory, attention, working memory, information processing speed, verbal fluency and cognitive flexibility. We computed the global value of the BRB-N and transformed it into a z-score, standardized according to a Spanish normative population, and taking into account age and educational level². Cognitive worsening was defined as the change of 10% from the baseline BRB-N z-score, since this magnitude of decline has been considered clinically relevant for tests like the Symbol Digit Modalities Test (SDMT)³⁰.

Retinal Imaging Acquisition and Processing

Retinal OCT scans were performed with a Spectralis® SD-OCT device (Heyex 5.30 Heidelberg Engineering, Germany) under standard conditions of ambient light (80–100 foot-candles) and using the eye-tracking modality without pupillary dilation. Correction for spherical errors was adjusted prior to each measurement. The pRNFL thickness was acquired with a ring type scan (12 circle diameter) around the optic nerve head, automatically centered and manually corrected (100 ART; 1,536 A-Scans per B scan). The macular scan protocol included a 20x20 degree horizontal raster scan centered on the fovea, with 25 Bscans (ART≥9; 512 A-Scans per B-scan). An experienced optometrist (SAA) segmented the intra-retinal layer to quantify the macular GCIPL thickness using a standard 6.0c version of the Spectralis segmentation algorithm in a semi-automated fashion, and with manual correction of obvious errors. The mean thickness of the inner four quadrants of the grid was used, corresponding to the 3 mm ring and, excluding the 1 mm center ring³¹. Baseline OCT images were selected with the tracking tool, ensuring identical positioning and scanning parameters in the follow-up examinations. All the OCT included in the analyses were acquired according to the APOSTEL and APOSTEL 2.0 recommendations^{32,33}, and they followed quality controls based on OSCAR-IB criteria³⁴. Scans with insufficient signal-to-noise ratio or failure of the retinal thickness algorithm were repeated, or the data were excluded.

Standard Protocol Approvals, Registrations, and Patient Consents

The Ethics Committee at the Hospital Clinic of Barcelona approved the study and written informed consent was obtained from all the patients before their inclusion, in accordance with the Helsinki Declaration. The study was performed following the STROBE guidelines.

Statistical Analysis

We described quantitative variables (baseline demographics, clinical and OCT measures) using median and interquartile ranges (IQRs) or by the mean and standard deviation (SD), and for qualitative variables we reported absolute numbers and proportions. We used histograms and a Shapiro-Wilks test to check for normality. We compared the said characteristics between the groups of patients using the Chi-squared test, Mann-Whitney *U* Test or Student's *t*-test, depending on the data distribution.

We employed mixed-effect linear regression models with random subject-specific intercepts to examine the longitudinal association between retinal thickness and the change in global cognitive performance over time. These models used values of pRNFL and GCIPL thickness as fixed effects, and the eye (right and left) was included as a nested variable to each individual as a random effect. Separate models were used for pRNFL and GCIPL thinning, and we fitted the same models dividing the sample in two groups based on disease duration at the first examination: (1) from disease onset to 5 years; and (2) from 5 years onwards. Additionally, we explored the association between disease duration and changes in retinal thickness, and also with cognitive performance, adding a knot at 5 years of disease duration.

The Kaplan-Meier survival estimate method was used for the survival analysis, employing a Log-rank test to estimate and compare the time to cognitive worsening between PwMS with a given OCT thickness threshold. In addition, we computed the Cox proportional hazard models to test the value of a baseline pRNFL thickness ≤88 μm^{21,22} and a baseline GCIPL thickness ≤77 μm²³ in order to predict the zBRB-N worsening during the follow-up. For these analyses, OCT measures were calculated through the mean thickness of both eyes when neither eye was excluded due to prior ON. As a sensitivity analysis, we performed a receiver operating characteristics (ROC) analysis and estimated the area under curve (AUC) to identify the best possible cut-off value, computing the sensitivity and specificity according to the Youden J statistic³⁵. Cognitive progression from a stable status was discriminated based on the GCIPL thickness

distribution, as predictive cut-offs for this layer have been less well-established than for pRNFL^{23,36}. We then repeated the Cox proportional hazard models to test the value of this new cut-off in predicting cognitive worsening. We included baseline age and gender as confounding factors in all the models to fit the OCT measures with zBRB-N to control for their effect. In a sensitivity analysis, we also included the cumulative number of relapses and the use of DMTs during the follow-up (yes/no) as fixed effects. We also estimated the 95% percentile confidence intervals (CIs) for the beta coefficients. All statistical analyses were performed using R language (version 4.1.2).

Data Availability

Anonymized data supporting the conclusions of this study are available on reasonable request from the corresponding author.

Results

Patient Characteristics

A cohort of 259 patients was included in this study, with a median age at baseline of 40.9 years (IQR 34.5–48.6) and a median disease duration of 8.3 years (IQR 2.4–14.1). Of these, 52 patients were excluded: 39 because the neuropsychological evaluation was incomplete and 13 for OCT problems. Thus, the final cohort included 207 PwMS and 329 eyes without ON.

The patients' median age at baseline was 41.3 years (IQR 35–48.6) and the median disease duration was 8.8 years (IQR 2.4–13.9). The median number of OCT and cognitive evaluations were 3 (IQR 2–4), with a median time of 0 days (IQR 0–6) between the OCT and the cognitive assessment, and the median time between the baseline and the last visit was 3.2 years (IQR 2–7). At baseline, the median pRNFL thickness was 95 μ m (IQR 85.8–100.8) and that of the GCIPL was 89.1 μ m (IQR 81.4–95.6). There was a faster decrease in pRNFL thickness in the first years of disease (disease duration <5 years, β = -0.98 (95% CI: -1.11, -0.85), p < 0.001; disease duration $\geq$ 5 years, β = -0.46 (95% CI: -0.5, -0.42), p < 0.001), while evolution of GCIPL was similar in both periods (Supplemental Figure 1A, B). In total, 66 (32%) patients had a baseline pRNFL $\leq$ 88 μ m and 31 (15%) a GCIPL $\leq$ 77 μ m.

The mean zBRB-N was -0.278 (SD 0.686) and in 100 (48%) of the patients cognitive performance had deteriorated at the end of follow-up, as defined previously. While in the first 5 years cognition seemed to improve, we found a decline afterwards (< 5 years β = 0.07 (95% CI: 0.04, 0.09), p < 0.001; $\geq$ 5 years, β = -0.03 (95% CI: -0.04, -0.02), p < 0.001) (Supplemental Figure 1C). The demographic and clinical characteristics of all the patients, and of the subgroups according to their disease duration are summarized in table 1. The excluded group did not show any significant difference in baseline age, gender, EDSS or MS phenotype (p > 0.05). Moreover, the OCT metrics in patients without ON were similar to those of the contralateral eyes of patients with ON (p > 0.05).

Longitudinal Association Between OCT Measures and Cognitive Performance

We found that changes in both the pRNFL and GCIPL thickness were associated with changes in the global zBRB-N score (β = 0.09, 95% CI 0.04–0.16, p = 0.002; and β = 0.08, 95% CI 0.02–0.14, p = 0.005, respectively: Figure 1A, B). When we divided the cohort in terms of disease duration, we found that neither changes to the pRNFL (β = -0.04, 95% CI -0.12–0.05, p = 0.407) nor to the GCIPL thickness (β = 0.02, 95% CI -0.05–0.1, p = 0.535) were associated with changes in the zBRB-N in patients with <5 years of disease evolution (n = 84). However, after this time point (n = 123), the GCIPL (β = 0.1, 95% CI 0.03–0.17, p = 0.008) and pRNFL thickness in particular (β = 0.15, 95% CI 0.07–0.22, p < 0.001) were associated with the zBRB-N modifications over time (Figure 1C, D). When we modeled the pRNFL and GCIPL thickness with relapses and the use of DMTs during the study as fixed effects in the whole cohort, we found that both these OCT metrics were associated with changes in the global zBRB-N (see table 2 for results). Interestingly, only the non use of DMTs was associated with a worsening of the zBRB-N in patients in the first five years of the disease (p < 0.05), while after this time-point the only variable associated with cognition was the change in OCT values.

Retinal Thickness and the Risk of Cognitive Deterioration

For the survival analysis, we considered the first and last examination available, with a median time between visits of 3.2 (IQR 2–7) years. In patients with a pRNFL thickness $\leq$ 88 μ m, the median time to cognitive worsening was 3.7 (95% CI 3.2–9.9) years, while for those participants with a pRNFL > 88 μ m, the time to worsening increased to 9.9 years (95% CI 6.9–10), and with a p = 0.006 between trajectories. The median survival time for PwMS with a GCIPL $\leq$ 77 μ m (9.9 years, 95% CI 3–10.4) did not differ from that of participants with a thicker GCIPL (7 years, 95% CI 5.2–10.4; p = 0.4).

Using an age and gender adjusted Cox proportional hazard model, we found that a pRNFL $\leq$ 88 μ m was associated with a 1.6-fold increase in risk of zBRB-N worsening within three years (hazard ratio -HR = 1.64, 95% CI 1.1–2.5; p = 0.022), although a GCIPL $\leq$ 77 μ m was not associated with zBRB-N progression (HR = 1.1, 95% CI 0.64–1.9; p = 0.727; Figure 2). From disease onset to the first five years, neither a pRNFL (HR = 0.47, 95% CI 0.11–2; p = 0.305) nor a GCIPL below threshold (HR = 0, p = 0.998) was associated with cognitive status at the last follow-up (Figure 3A, B).

In PwMS whose disease duration was more than five years at the first visit, we found that a pRNFL ≤ 88 μm was associated with a 1.7-fold increase in the risk of cognitive worsening (HR = 1.73, 95% CI 1.05–2.87; $p = 0.032$), while a GCIPL ≤ 77 μm was not (HR = 0.95, 95% CI 0.54–1.67; $p = 0.854$; Figure 3C, D). When clinical characteristics were included in the model, a pRNFL ≤ 88 μm was again associated with an increased risk of cognitive worsening, both for the whole cohort (HR = 1.79, 95% CI 1.14–2.821; $p = 0.011$) and for the subgroup with a longer disease duration (HR = 2.12, 95% CI 1.25–3.6; $p = 0.005$).

In addition, we explored if another GCIPL threshold might be more accurate in predicting cognitive decline in our cohort. The ROC analysis revealed a cut-off of 91.5 μm to distinguish patients with cognitive progression from a stable state (AUC = 0.621, sensitivity = 0.69 and specificity = 0.51). We found a median survival time of 6.5 years (95% CI 3.9–9.9) and 9.9 years (95% CI 6.9–10.4); $p = 0.06$ for patients with a GCIPL ≤ 91.5 μm ($n = 121$) and >91.5 μm ($n = 86$), respectively. In the group with the thinner GCIPL there was no association with zBRB-N worsening in the whole cohort (HR = 1.48; 95% CI 0.96–2.93; $p = 0.076$) or in the first years of the disease (HR = 0.95, 95% CI 0.46–2; $p = 0.9$), whereas there was a trend towards such worsening in patients after more than 5 years of disease onset (HR = 1.81, 95% CI 0.9–3.38; $p = 0.061$).

Discussion

The results of the present study demonstrate a strong relationship between the decrease in retinal thickness in PwMS and cognitive decline throughout the course of the disease, with a more pronounced effect observed after 5 years from disease onset. These findings underscore the significant link between neurodegeneration and cognitive impairment in MS, offering compelling evidence that cognitive deficits primarily manifests as a late consequence of neuroaxonal damage. Retinal thickness also has a prognostic value on global cognitive dysfunction, particularly in later disease stages, enabling the identification of PwMS at a higher risk of cognitive decline. MS is associated with atrophy of retinal ganglion cells, both of their soma and dendrites (GCIPL), and of their axons (pRNFL), essentially due to irreversible axonal damage at any point along the visual pathway as a result of retrograde trans-synaptic axonal degeneration¹⁶. In fact, a reduction in these retinal metrics has been correlated with brain atrophy¹¹, and similar trends have been described for retinal thinning and brain volume loss^{12,13,17,18} suggesting that these parameters might be indirect markers of diffuse neuronal and axonal damage in the brain. Previous cross-sectional studies found a link between OCT metrics and cognitive performance in PwMS, with a narrower pRNFL and GCIPL thickness in patients with cognitive impairment and significant associations between retinal thickness and cognitive scores^{19,20}. The results from the present study provide novel information on the association between retinal thinning rates and cognitive evolution over time assessed with a comprehensive neuropsychological evaluation assessing verbal and visual memory, attention, working memory, processing speed and fluency. We found that changes in pRNFL and GCIPL thickness were related with the slope of cognitive decline as the disease progressed. Furthermore, this correlation only existed in patients with a longer disease duration. These results highlight the strong impact of neuroaxonal damage on cognitive decline in MS and identify two periods in the disease³⁷. In the first of these, the intense loss of retinal nerve fibers appears to reflect accelerated neuroaxonal damage^{12,13,17,18} while cognition seems to remain unaffected due probably to the presence of a cognitive reserve and/or adaptive mechanisms aimed at coping with damage^{4,38}. In this period, we found that the use of a DMT offered protection against cognitive decline, supporting the recommendation to treat patients from the earliest stages in order to prevent the consequences of accumulated damage. In the later period, neuroaxonal damage surpasses the compensation processes and cognitive dysfunction flourishes⁴.

We noted that pRNFL thickness could predict cognitive worsening, such that PwMS with a pRNFL thickness ≤ 88 μm reached cognitive decline quicker (mean 3.7 years) than individuals with a thicker retinal layer (9.9 years), and they had a higher risk of a worsening of their disability in the mid-term. This predictive value became especially relevant after 5 years of disease progression, with a 1.7-fold increased risk of presenting worse disability in the following years. As a result, the pRNFL has the power to identify patients at higher risk of cognitive decline, adding to its previously reported ability to predict worse clinical disability^{21,23,36,39,40}. By contrast, the risk and time to cognitive decline does not differ between patients with a GCIPL thickness below or above 77 μm . As a sensitivity analysis, we searched for a threshold that best discriminated between patterns of cognition in our cohort, and we found that a GCIPL thickness ≤ 91.5 μm was associated with a tendency towards a higher risk of worsening, although with poor sensitivity and specificity. Previous reports indicated a predictive value of the GCIPL in tests of attention and processing speed (SDMT)²³ while a meta-analysis of studies failed to find a significant correlation between GCIPL and cognitive performance²⁰. Potentially, the faster thinning of the GCIPL^{13,18} led to a more rapid floor effect prior to the development of cognitive impairment, which could influence these findings. Further studies on larger cohorts and exploring different thresholds at different time points of the disease could provide more robust conclusions as to the predictive value of the pRNFL and GCIPL in cognition.

This study has several strengths, for example that retinal thickness measures and cognitive assessments were acquired longitudinally, in some patients for more than 7 years. In addition, cognition was not evaluated with a single test^{23,39,40} but rather, through a comprehensive neuropsychological battery, providing a more extensive assessment of clinical status. The study also has some limitations, as the rate of cognitive decline in this cohort was low, which might limit the exploration of the predictive capacity of a biomarker. Moreover, most of the subjects had a relapsing remitting course of the disease and thus, the study does not have enough power to shed light on the association between OCT measures and cognition in progressive MS, in which the rate of cognitive decline might differ.

In conclusion, retinal atrophy is related to a decline of cognition in MS, supporting the close relationship between cognitive impairment and neurodegeneration in these patients. This association becomes relevant after the first 5 years of disease onset, indicating that cognitive dysfunction is a delayed manifestation of the accumulating neuroaxonal damage, and the results suggest an early time-window for neuroprotective therapies. Quantification of the pRNFL has shown significant predictive value on global cognitive impairment, identifying patients at higher risk of developing cognitive dysfunction, an important finding that could help improve disease monitoring and the selection of therapeutic strategies. These findings underscore the key usefulness of OCT in clinical practice.

Figure 1. Model of the changes in retinal thickness and cognitive decline during the course of the disease. On the left (panels A and B), the black points joined by dashed lines depict the individual trajectories of the changes in retinal thickness for each eye, while the continuous lines reflect the individual fit of the model for each eye and the dark red line represents the population model. The graphs on the right (panels C and D) show regression lines for the associations between the baseline OCT measures and the BRB-N z-score in patients with less than 5 years from disease onset (in blue) and in patients with a longer disease duration at the first examination (in yellow). BRB-N = Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Tests; pRNFL = Peripapillary retinal nerve fiber layer; GCIPL = macular ganglion cell-inner plexiform layer.

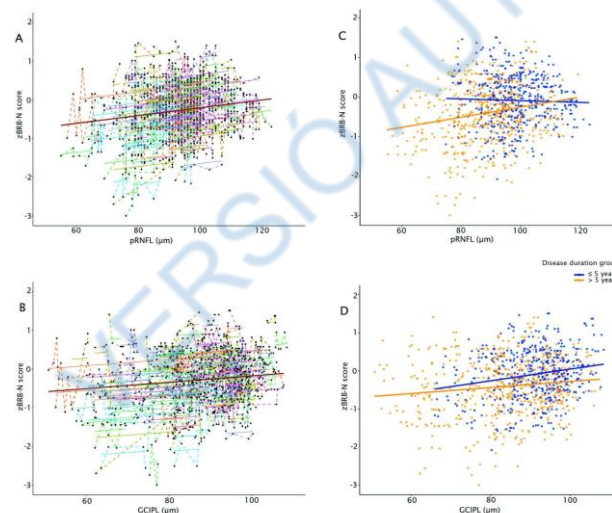


Figure 2: Kaplan-Meier survival estimate models of the risk of cognitive worsening according to baseline retinal thickness.

Panel A displays the model based on pRNFL thickness and panel B the model based on GCIPL thickness. The x-axis represents the time of disease duration in years and the y-axis the survival probability of cognitive decline based on the Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Tests z-score (worsening of at least 10% in cognitive z-score). The number at risk is the number of patients at risk of cognitive worsening for each time point. pRNFL = Peripapillary retinal nerve fiber layer; GCIPL = macular ganglion cell-inner plexiform layer.

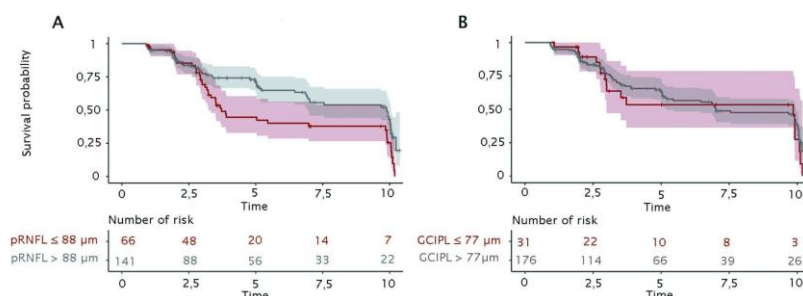
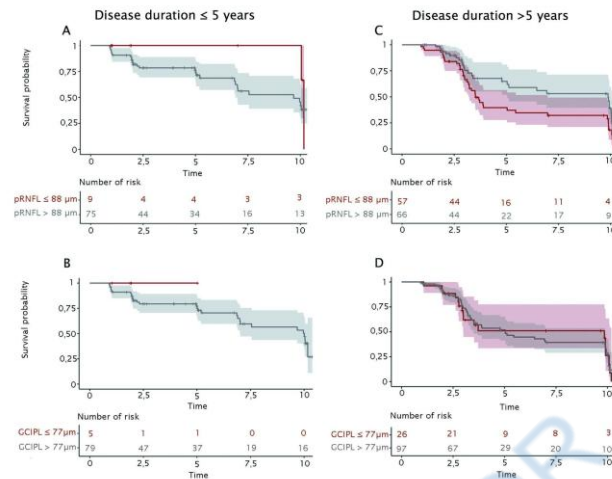


Figure 3: Kaplan-Meier survival estimate models of the risk of cognitive worsening based on baseline retinal thickness and disease duration.

The upper panels show the model for pRNFL and the lower panels that for GCIPL. The left panels (A and B) display the models with patients with less than 5 years disease duration, and the left panels (C and D) with a disease duration over 5 years. The x-axis represents the time of disease duration in years and the y-axis the survival probability of cognitive decline based on the Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Tests z-score (worsening of at least 10% in cognitive z-score). The number at risk is the number of patients at risk of cognitive worsening for each time point. pRNFL = Peripapillary retinal nerve fiber layer; GCIPL = macular ganglion cell-inner plexiform layer.

**Table 1: Demographic, clinical and OCT data of the participants.**

	Entire cohort, n= 207	Disease duration groups		p value
		≤5 years disease duration, n= 84	>5 years disease duration, n= 123	
Baseline data				
Age, years	41.3 (35-48.6)	37.7 (31-43.4)	44.8 (37.6-51.5)	<0.001 ^a
Gender, female (%)	151 (73)	63 (75)	88 (72)	0.696 ^b
Disease duration	8.8 (2.4-13.9)	1.8 (0.4-3.4)	12.9 (10.1-17.2)	<0.001 ^c
Disease phenotype, n (%)				
Clinically isolated syndrome	16 (8)	16 (19)	0	<0.001 ^b
Relapsing-remitting	174 (84)	66 (79)	108 (88)	
Secondary progressive	14 (7)	2 (2)	12 (10)	
Primary progressive	3 (1)	0	3 (2)	
EDSS	1.5 (1.0-2.5)	1.5 (1.0-2.0)	2.0 (1.5-2.5)	<0.001 ^c
Use of DMT, n (%)	116 (56)	35 (42)	81 (66)	0.001 ^b
Number of relapses	3 (2-4)	2 (1-2)	4 (3-7)	<0.001 ^c
pRNFL, μm	95 (85.8-100.8)	98.2 (93.8-105.2)	89.5 (81-97)	<0.001 ^a
GCIPL, μm	89.1 (81.4-95.6)	92.6 (87-97.2)	86 (79-94.2)	<0.001 ^c
zBRB-N, mean (SD)	-0.278 (0.686)	-0.184 (0.640)	-0.343 (0.711)	<0.001 ^a
Follow-up data				
Use of DMT, n (%)	171 (83)	73 (87)	98 (80)	0.246 ^b
Number of relapses	3 (2-6)	2 (1-3)	4 (3-8)	<0.001 ^c
Cognitive worsening, n (%)	100 (48)	30 (36)	70 (57)	0.004 ^b

The data represent the absolute numbers and proportions of the qualitative data, and the median and interquartile range for the quantitative data, unless otherwise specified.

Abbreviations: GCIPL = macular ganglion cell-inner plexiform layer; pRNFL = Peripapillary retinal nerve fiber layer; zBRB-N = Repeatable Battery of Neuropsychological Tests z-score; SD = standard deviation.^a Students' *t*-test; ^b Chi-squared test; ^c Mann-Whitney *U* Test.

Table 2: Association coefficients between the rates of change in OCT metrics and the zBRB-N scores.

	Entire cohort, n= 207		≤5 years disease duration, n= 84		>5 years disease duration, n= 123	
	β (95% CI)	p value	β (95% CI)	p value	β (95% CI)	p value
pRNFL model						
pRNFL	0.09 (0.03, 0.16)	0.002	-0.02 (-0.11, 0.06)	0.627	0.15 (0.07, 0.22)	<0.001
DMT	0.13 (0.06, 0.21)	<0.001	0.14 (0.05, 0.23)	0.002	0.09 (-0.04, 0.21)	0.169
Number of relapses	-0.06 (-0.14, 0.01)	0.093	-0.03 (-0.08, 0.02)	0.285	-0.05 (-0.17, 0.06)	0.358
GCIPL model						
GCIPL	0.07 (0.02, 0.13)	0.010	0.03 (-0.05, 0.11)	0.461	0.09 (0.02, 0.17)	0.014
DMT	0.13 (0.05, 0.2)	0.001	0.15 (0.06, 0.24)	0.001	0.08 (-0.05, 0.2)	0.241
Number of relapses	-0.07 (-0.15, 0.001)	0.056	-0.02 (-0.07, 0.03)	0.379	-0.07 (-0.18, 0.05)	0.261

The data represent the age and gender adjusted-beta coefficients (β), the 95% confidence intervals (CIs) for the annual retinal change, and the p values from a linear mixed-effects models that included the co-variables as fixed effects. DMT data refers to the use or absence of treatment during the study period, and relapses refers to the cumulative number of relapses.

Abbreviations: DMT = disease modifying therapies; GCIPL = macular ganglion cell-inner plexiform layer; pRNFL = Peripapillary retinal nerve fiber layer; z-BRB-N = z score from the Brief Repeatable Battery of Neuropsychological tests.

Acknowledgements

The authors would like to thank the study participants for their time and participation in our studies. In addition, the authors wish to thank the staff both from the hospital and Fundació Clínic-IDIBAPS for their support to our projects.

In addition, we thank the Instituto Carlos III (ISCIII) and co-funded by the European Union through the Plan Estatal de Investigación Científica y Técnica y de Innovación 2015-2024 (PI15/00587 to SL and AS; PI15/00061 to PV; PI18/01030 to SL and AS; PI21/01189 to SL and AS; and JR16/00006; MV17/00021; PI17/01228 to EHML), by the Red Española de Esclerosis Múltiple (REEM - RD16/0015/0002, RD16/0015/0003), by TEVA Spain, Bristol-Myers Squibb, the Ayudas Merck de Investigación 2017 from the Fundación Merck Salud and the Proyecto Societat Catalana Neurologia 2017. By the MS Innovation GMSI, 2016 to EHML and the Fundació La Marató de TV3 (20142030 to EHML) for sponsoring this work. The funding bodies had no role in the design and performance of the study; the collection, management, analysis and interpretation of the data; the preparation, revision or approval of the manuscript; and the decision to submit the manuscript for publication.

Author contribution

S.A.-A had contributed to drafting/revision of the manuscript for intellectual content, including medical writing for content; Major role in the acquisition of data; Analysis or interpretation of the data; Study concept or design; And additional contributions: OCT acquisition and segmentation. E.S had contributed to drafting/revision of the manuscript for intellectual content, including medical writing for content; Major role in the acquisition of data; Analysis or interpretation of the data; Study concept or design. And additional contributions: statistical analysis of the data. E.L.-S, A.C.-C, I.P.-V, M.S, J.M.C.-M, E.F, R.A, M.D.-B, A.C, A.S, Y.B and B.S.-D had contributed to drafting/revision of the manuscript for intellectual content, including medical writing for content; Major role in the acquisition of the data. E.M.-H, F.V, M.A, had contributed to drafting/revision of the manuscript for intellectual content, including medical writing for content; Analysis or interpretation of the data. EH.M.-L, P.V, had contributed to drafting/revision of the manuscript for intellectual content, including medical writing for content; Major role in the acquisition of data; Analysis or interpretation of the data. S.L.L had contributed to drafting/revision of the manuscript for intellectual content, including medical writing for content; Major role in the acquisition of data; Study concept or design; Analysis or interpretation of the data.

Conflicts of Interest

S.A.-A., A.C.-C., E.M.-H., F.V., R.A. and M.D.-B. have nothing to disclose. E.S. received travel reimbursement from Sanofi, Merck and ECTRIMS; E.L.-S. holds a pre-doctoral grant from the University of Barcelona (APIF) and she received travel support from Sanofi, I.P.-V. received travel reimbursement from Roche and Genzyme, and she holds stock options in Aura Innovative Robotics. Currently, she is an employee at UCB Pharma, her contribution to this work is associated with her previous work at IDIBAPS; M.A. holds equity shares of Bionure, S.L. and Goodgut S.L. and stock options of Attune Neurosciences Inc. He is currently an employee of Roche, although his contribution to this work is associated with his previous work at IDIBAPS; M.S. received speaker honoraria from Genzyme, Novartis and Biogen; J.M.C.-M. received speaker honoraria from Sanofi; E.F received funding for an ECTRIMS Clinical Training Fellowship Programme; A. C is supported by the ECTRIMS post-doc fellowship (2022), previously received a UK MS Society PhD studentship (2020), a Guarantors of Brain “Entry” clinical fellowship (2019), and an ECTRIMS-MAGNIMS fellowship (2018). He received travel reimbursement from UK MS society, ECTRIMS, NAIMS. A.S. received compensation for consulting services and speaker honoraria from Bayer-Schering, Merck-Serono, Biogen-Idec, Sanofi-Aventis, TEVA, Novartis and Roche; EHML. received travel support for international and national meetings from Roche and Sanofi-Genzyme, and honoraria for consultancies from Novartis, Roche and Sanofi before 16 April 2019. She is currently employed by the European Medicines Agency (Human Medicines) since 16 April 2019. This article is related to her activity under Hospital Clinic of Barcelona/IDIBAPS affiliation and consequently, as external activity, it does not represent the views of the Agency or its Committees. She is a member of the International Multiple Sclerosis Visual System (IMSVISUAL) Consortium; P.V. is a shareholder and has received consultancy fees from Accure Therapeutics SL, Attune Neurosciences Inc, QMenta Inc, Spiral Therapeutix Inc, CLight Inc and NeuroPrex Inc, as well as having held grants from the Instituto de Salud Carlos III and the European Commissions; Y.B. received speaking honoraria from Biogen, Novartis and Genzyme; B.S.-D. received compensation for consulting services and speaker honoraria from Chiesi and Sanofi-Genzyme and holds equity shares of Accure Therapeutics S.L.; S.L. received compensation for consulting services and speaker honoraria from Biogen Idec, Novartis, TEVA, Genzyme, Sanofi, Merck and Bristol-Myers Squibb, and holds grants from the Instituto de Salud Carlos III.

References

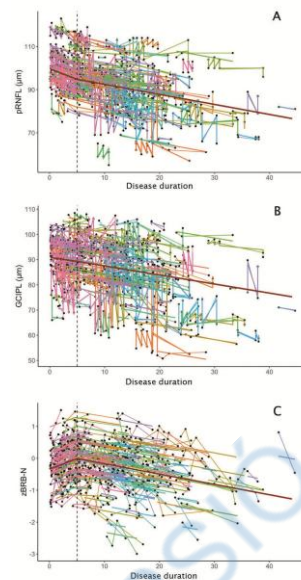
1. Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, et al. Multiple Sclerosis. *New England Journal of Medicine* 2000; 343: 938–952.
2. Sepulcre J, Vanotti S, Hernández R, et al. Cognitive impairment in patients with multiple sclerosis using the Brief Repeatable Battery-Neuropsychology test. *Mult Scler* 2006; 12: 187–195.
3. Chiaravalloti ND, DeLuca J. Cognitive impairment in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2008; 7: 1139–1151.
4. Lopez-Soley E, Martinez-Heras E, Andorra M, et al. Dynamics and Predictors of Cognitive Impairment along the Disease Course in Multiple Sclerosis. *J Pers Med*; 11. Epub ahead of print 28 October 2021. DOI: 10.3390/jpm11111107.
5. Sepúlveda M, Fernández-Diez B, Martínez-Lapiscina EH, et al. Impairment of decision-making in multiple sclerosis: A neuroeconomic approach. *Mult Scler* 2017; 23: 1762–1771.
6. Sumowski JF, Benedict R, Enzinger C, et al. Cognition in multiple sclerosis: State of the field and priorities for the future. *Neurology* 2018; 90: 278–288.
7. Achiron A, Chapman J, Magalashvili D, et al. Modeling of cognitive impairment by disease duration in multiple sclerosis: a cross-sectional study. *PLoS One* 2013; 8: e71058.
8. Eijlers AJC, van Geest Q, Dekker I, et al. Predicting cognitive decline in multiple sclerosis: a 5-year follow-up study. *Brain* 2018; 141: 2605–2618.
9. Nasios G, Bakirtzis C, Messinis L. Cognitive Impairment and Brain Reorganization in MS: Underlying Mechanisms and the Role of Neurorehabilitation. *Front Neurol* 2020; 11: 147.
10. Costello F. The afferent visual pathway: designing a structural-functional paradigm of multiple sclerosis. *ISRN Neurol* 2013; 2013: 134858.
11. Saidha S, Al-Louzi O, Ratchford JN, et al. Optical coherence tomography reflects brain atrophy in multiple sclerosis: A four-year study. *Ann Neurol* 2015; 78: 801–813.
12. Balk LJ, Cruz-Herranz A, Albrecht P, et al. Timing of retinal neuronal and axonal loss in MS: a longitudinal OCT study. *J Neurol* 2016; 263: 1323–1331.
13. Paul F, Calabresi PA, Barkhof F, et al. Optical coherence tomography in multiple sclerosis: A 3-year prospective multicenter study. *Ann Clin Transl Neurol* 2021; 8: 2235–2251.
14. Saidha S, Sotirchos ES, Oh J, et al. Relationships between retinal axonal and neuronal measures and global central nervous system pathology in multiple sclerosis. *JAMA Neurol* 2013; 70: 34–43.
15. Martínez-Lapiscina EH, Fraga-Pumar E, Gabilondo I, et al. The multiple sclerosis visual pathway cohort: understanding neurodegeneration in MS. *BMC Res Notes* 2014; 7: 910.
16. Gabilondo I, Martínez-Lapiscina EH, Martínez-Heras E, et al. Trans-synaptic axonal degeneration in the visual pathway in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2014; 75: 98–107.
17. Cordano C, Nourbakhsh B, Yiu HH, et al. Differences in Age-Related Retinal and Cortical Atrophy Rates in Multiple Sclerosis. *Neurology*. Epub ahead of print 29 August 2022. DOI: 10.1212/WNL.0000000000200977.
18. Pulido-Valdeolivas I, Andorra M, Gómez-Andrés D, et al. Retinal and brain damage during multiple sclerosis course: inflammatory activity is a key factor in the first 5 years. *Sci Rep* 2020; 10: 13333.
19. Coric D, Balk LJ, Verrijp M, et al. Cognitive impairment in patients with multiple sclerosis is associated with atrophy of the inner retinal layers. *Mult Scler* 2018; 24: 158–166.
20. Mirmosayyeb O, Zivadinov R, Weinstock-Guttman B, et al. Optical coherence tomography (OCT) measurements and cognitive performance in multiple sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *J Neurol*. Epub ahead of print 17 November 2022. DOI: 10.1007/s00415-022-11449-5.
21. Martínez-Lapiscina EH, Arnow S, Wilson JA, et al. Retinal thickness measured with optical coherence tomography and risk of disability worsening in multiple sclerosis: a cohort study. *Lancet Neurol* 2016; 15: 574–584.
22. Bsteh G, Hegen H, Teuchner B, et al. Peripapillary retinal nerve fibre layer as measured by optical coherence tomography is a prognostic biomarker not only for physical but also for cognitive disability progression in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2019; 25: 196–203.
23. Bsteh G, Berek K, Hegen H, et al. Macular ganglion cell–inner plexiform layer thinning as a biomarker of disability progression in relapsing multiple sclerosis. *Mult Scler* 2021; 27: 684–694.
24. Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol* 2018; 17: 162–173.
25. Martínez-Lapiscina EH, Sanchez-Dalmau B, Fraga-Pumar E, et al. The visual pathway as a model to understand brain damage in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2014; 20: 1678–1685.
26. Llufríu S, Martínez-Heras E, Solana E, et al. Structural networks involved in attention and executive functions in multiple sclerosis. *Neuroimage Clin* 2017; 13: 288–296.
27. Coric D, Balk LJ, Uitdehaag BMJ, et al. Diagnostic accuracy of optical coherence tomography inter-eye percentage difference for optic neuritis in multiple sclerosis. *Eur J Neurol* 2017; 24: 1479–1484.
28. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 1983; 33: 1444–1452.
29. Rao SM, Leo GJ, Bernardin L, et al. Cognitive dysfunction in multiple sclerosis. I. Frequency, patterns, and prediction. *Neurology* 1991; 41: 685–691.
30. Benedict RH, DeLuca J, Phillips G, et al. Validity of the Symbol Digit Modalities Test as a cognition performance outcome measure for multiple sclerosis. *Mult Scler* 2017; 23: 721–733.
31. Photocoagulation for diabetic macular edema. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study report number 1. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study research group. *Arch Ophthalmol* 1985; 103: 1796–1806.
32. Cruz-Herranz A, Balk LJ, Oberwahrenbrock T, et al. The APOSTEL recommendations for reporting quantitative optical coherence tomography studies. *Neurology* 2016; 86: 2303–2309.
33. Aytulun A, Cruz-Herranz A, Aktas O, et al. APOSTEL 2.0 Recommendations for Reporting Quantitative Optical Coherence Tomography Studies. *Neurology* 2021; 97: 68–79.
34. Tawarie P, Balk L, Costello F, et al. The OSCAR-IB consensus criteria for retinal OCT quality assessment. *PLoS One* 2012; 7: e34823.
35. Youden WJ. Index for rating diagnostic tests. *Cancer* 1950; 3: 32–35.
36. Lambe J, Fitzgerald KC, Murphy OC, et al. Association of Spectral-Domain OCT With Long-term Disability Worsening in Multiple Sclerosis. *Neurology* 2021; 96: e2058–e2069.

37. Villoslada P, Llufrí S. Preventing Neurodegeneration in Multiple Sclerosis Is Required From the Earliest Stages of the Disease. *Neurology* 2022; 99: 641–642.
38. Lopez-Soley E, Solana E, Martínez-Heras E, et al. Impact of Cognitive Reserve and Structural Connectivity on Cognitive Performance in Multiple Sclerosis. *Front Neurol* 2020; 11: 581700.
39. Bsteh G, Hegen H, Teuchner B, et al. Peripapillary retinal nerve fibre layer thinning rate as a biomarker discriminating stable and progressing relapsing-remitting multiple sclerosis. *Eur J Neurol* 2019; 26: 865–871.
40. Berek K, Hegen H, Hoher J, et al. Retinal layer thinning as a biomarker of long-term disability progression in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2022; 28: 1871–1880.

Supplemental material

Figure 1. Model of changes in retinal thickness and cognitive performance with respect to disease duration in MS.

Plots displaying the association between longitudinal changes in pRNFL (panel A), GCIPL (panel B) and zBRB-N (Panel C) with respect to the time of the study in years. Disease duration was divided into two periods by a knot at 5 years, which is represented by a dashed vertical black line from the x-axis. The black dots joined by a colored line represent the individual trajectories of changes in pRNFL, GCIPL and zBRB-N, and the thicker brown line represents the population model for each variable. In the panel C, the dark solid lines represent the individual model fit.



V. DISCUSSIÓ

L'EM és una malaltia heterogènia tant pel que fa al curs clínic com a la simptomatologia, i pot evolucionar cap a la discapacitat física i cognitiva, afectant negativament la qualitat de vida de les persones. A més, en el cas que la NOA, estigui o no associada a l'EM, és freqüent que es produeixi una pèrdua de l'AV que es recupera parcialment o totalment en la majoria d'ocasions, però és habitual que persisteixi una qualitat visual baixa un cop passada la fase inflamatòria. És necessari realitzar un seguiment molt acurat de les persones que pateixen aquestes malalties per tal d'adequar el tractament a les seves necessitats.

Per tal d'avançar-se a l'empitjorament clínic així com per facilitar el seguiment dels afectats i millorar el coneixement d'aquestes malalties, és necessari continuar amb la cerca de nous biomarcadors sensibles al dany desmielinitzant i neurodegeneratiu, que puguin ajudar a individualitzar les estratègies terapèutiques i de monitoratge dels pacients. En els treballs que componen aquesta tesi s'han avaluat diferents biomarcadors dins la via visual, per a poder entendre i predir la discapacitat en l'EM i la NOA. Considerem que la via visual és un model molt convenient per l'estudi de les malalties desmielinitzants perquè està ben definida i és una diana freqüent del dany. A més, pot proporcionar informació del dany focal i també de l'afectació global del SNC. Els estudis realitzats han fet possible conèixer en viu els canvis moleculars que presenta la retina durant la inflamació aguda i crònica en aquestes malalties mitjançant l'espectroscòpia Raman, millorant la comprensió de la seva fisiopatologia. L'anàlisi de la via visual anterior mitjançant l'OCT i de la via visual posterior a través de l'anàlisi de la xarxa visual cortical, tant estructural com funcional, ha estat utilitzat per predir la discapacitat visual en la NOA. A més, els gruixos de les capes de la retina quantificats amb l'OCT s'han avaluat com a predictors de la discapacitat cognitiva en l'EM. Aquests treballs han permès avançar en la predicció del risc de discapacitat en aquestes malalties amb l'objectiu de personalitzar de manera més efectiva la presa de decisions.

En aquest sentit, al treball ***In vivo molecular changes in the retina of patients with multiple sclerosis***, s'ha estudiat els canvis moleculars capturats pel prototip d'espectroscòpia Raman fent la lectura a través de la retina. Aquesta estructura forma part del SNC i ofereix la possibilitat d'accedir-hi de manera no invasiva i amb facilitat. Altres tècniques d'imatge no permeten avaluar la mateixa informació i a més poden necessitar l'ús de fluorurs com en el cas del NIR (imatge en infraroig proper), tenen poca resolució com el PET (tomografia per emissió

de positrons) o estan limitades a detectar poques molècules com en l'espectroscòpia per ressonància magnètica (MRS). El nostre estudi va partir del treball de Marro (2014), on es va seleccionar les molècules que tenen una influència en els processos implicats a la retina i a més es va dur a terme una anàlisi prèvia amb mostres de ratolins que va permetre identificar quines molècules presentaven una bona relació senyal/soroll i, per tant, podien ser detectades amb aquest prototip [25].

Per tant, l'estudi actual es va desenvolupar considerant que l'espectroscòpia Raman permet avaluar els canvis moleculars de la retina tant en el procés inflamatori com crònic o neurodegeneratiu de les malalties, relacionant aquests canvis amb els processos biològics que hi estan implicats. En aquest treball hem identificat modificacions en les molècules relacionades amb el subministrament d'energia i en la biologia dels axons o la sinapsi, i també hem trobat una relació entre els canvis de les concentracions moleculars i la disminució dels gruixos de les capes de la retina. A més, hem avaluat longitudinalment les modificacions moleculars al llarg del temps en l'EM, on s'han observat els canvis neurodegeneratius, i en la NOA, on s'ha realitzat el seguiment del procés inflamatori. Aquests canvis moleculars reflecteixen la fisiopatologia de l'afectació neural i, per tant, poden ajudar a entendre com i per què es produeix la discapacitat permanent.

Els resultats al nostre estudi indiquen que en els pacients amb un procés inflamatori crònic a causa de l'EM, es produeix una disminució de metabòlits implicats en la producció d'energia i en la degeneració dels axons a la retina, com ara el NADH i el NAA [160,164]. Aquests nivells es correlacionen amb l'escala de discapacitat (EDSS), reflectint la influència del metabolisme energètic i la integritat axonal en la discapacitat a l'EM. A l'anàlisi longitudinal es confirma la disminució dels metabòlits relacionats amb les mitocondries i el subministrament d'energia (NADH, FAD), que es veuen afectats tant pel dany inflamatori agut com crònic a la retina [208,209]. Aquests resultats són coherents amb la literatura que descriu l'afectació de la funció i el transport mitocondrial al llarg dels axons [210]. També vàrem observar una disminució de A β al llarg de la malaltia que concorda amb la reportada al cervell i al LCR [211] i que sembla estar relacionada amb el dany neuroaxonal i la pèrdua de mielina [212].

L'evolució de la inflamació aguda de la retina s'ha associat amb un augment del glutamat, la qual cosa suggereix que l'excitotoxicitat participa en l'evolució de les lesions focals d'EM, com ara la NOA [161]. Aquests nivells alterats de glutamat també s'han pogut observar al cervell

de pacients amb EM mitjançant RM [213–215], suggerint que el glutamat pot mediar l'excitotoxicitat en l'evolució de la malaltia.

Finalment, els resultats en aquest estudi indiquen que els canvis en algunes molècules, tant en la fase crònica com en la inflamació aguda, s'associen amb els canvis estructurals mesurats mitjançant l'OCT. En el cas de l'EM s'observa una variació en els nivells de fosfatidiletanolamina, principal component estructural de la mielina. Aquesta variació es correlaciona amb el gruix de les capes de les fibres GCIPL i pRNFL, les més alterades per la malaltia, probablement a causa de la degradació de la mielina associada amb la disminució d'aquest fosfolípid [162]. El gruix d'altres capes de la retina també es correlaciona amb canvis en els metabòlits associats al dany neuronal o sinàptic (ONL-A β i SNCA; fotoreceptors-SNCA), l'energia i la biologia dels axons (fotoreceptors- FAD) o els lípids de la beina de mielina (ONL-PC) [159,162,165–167]. En el cas de la NOA, el gruix de la pRNFL s'ha relacionat amb els nivells de glutamat i la GCIPL amb la FAD, molècula que participa amb l'energia i la biologia dels axons [159]. Els canvis moleculars descrits podrien explicar la vulnerabilitat de les capes de la retina al dany ocasionat per l'EM i la NOA.

Dels resultats de l'estudi podem concloure que l'espectroscòpia Raman reflecteix el dany associat a l'EM i la NOA, amb una elevada fiabilitat test-retest. A més, ha demostrat ser una prova sensible a l'evolució clínica dels pacients amb EM i NOA. Tot plegat, i juntament amb la rapidesa d'administració i la bona tolerància per part dels pacients, confirma la seva utilitat a l'estudi del funcionament biològic d'aquestes malalties a través de la via visual. No obstant això, és necessari realitzar treballs validadors per confirmar els resultats amb cohorts de pacients més grans.

Si ens centrem en la NOA, és la causa més freqüent de pèrdua de visió en joves adults. Aquesta inflamació del nervi òptic pot aparèixer com un primer símptoma de l'EM o com un brot al llarg de la malaltia. També es pot donar en el context d'altres malalties inflamatòries desmielinitzants del SNC. La distinció entre les diferents etiologies de la NOA ajudarà a conèixer el seu pronòstic i a adequar el tractament.

En aquest cas, la RM s'ha utilitzat per diferenciar les característiques típiques de les malalties subjacents (associada a l'EM, a la MOGAD o la NMOSD) [114,216], i juntament amb l'OCT ha permès descriure la gravetat inicial, fer un seguiment de la inflamació del nervi òptic

[106,217], així com predir la recuperació visual que tindrà la persona amb NOA al llarg del temps [168,173]. A més, diversos estudis indiquen que gràcies a la ràpida evolució de la NOA així com la gravetat de la inflamació, aquesta pot ser un bon escenari per a provar noves medicacions en l'EM [106,218–221]. És per aquesta raó que és tan important seguir investigant en aquesta direcció, per tal de trobar nous biomarcadors i conèixer amb la màxima concreció l'evolució de la NOA.

A l'estudi *Retinal damage and visual network reconfiguration defines visual function recovery in optic neuritis* s'ha descrit exhaustivament el procés inflamatori localitzat al nervi òptic fent un seguiment de la inflamació des del moment basal i identificant els diferents períodes de recuperació [168,173] fins als 6 mesos, quan es considera que la neuritis està resolta [222]. Cal tenir en compte que el dany en la NOA es produeix a la via visual anterior, i tant el dany funcional (per exemple, bloqueig de la conducció nerviosa, dessincronització dels inputs aferents al còrtex visual) com el dany estructural (per exemple, degeneració transinàptica anterògrada) es propaguen des del dany focal en el nervi òptic fins a la resta de la xarxa visual. És per això que en aquest treball vam avaluar la via visual anterior a partir dels resultats visuals i dels gruixos de les capes de la retina, i la via visual posterior amb els potencials evocats visuals i la xarxa visual cortical en RM. Els resultats complementen els estudis anteriors del nostre grup que indiquen que, després d'un mes de l'inici de la inflamació, quan aquesta està resolta, la remielinització pot ocórrer. No obstant això, les anormalitats patològiques i moleculars persisteixen, contribuint a la discapacitat visual permanent i s'observa un deteriorament en els resultats d'AV de baix contrast i en la qualitat de visió [106,173], la qual cosa compromet la qualitat de vida d'aquestes persones.

En general, la NOA altera l'estructura i la funció de la xarxa visual cortical, reflectint el dany anterògrad de la via i intentant adaptar la connectivitat de la xarxa per tal de compensar el dany, tal com s'ha observat en altres estudis, on s'indica que als pacients amb NOA mostren una connectivitat a la xarxa funcional amb repòs més alta durant la fase aguda i una disminució quan la malaltia recupera [204,223], especialment en les àrees visuals primàries, però no en les àrees visuals secundàries [205,206]. Aquesta reestructuració de la xarxa visual en resposta al dany pot ser adaptativa afavorint la recuperació clínica com s'observa en la majoria de pacients amb NOA [204,224]. No obstant això, la reestructuració també pot ser maladaptativa, mostrant una reducció de la connectivitat, tal com s'ha descrit en pacients amb SCA i NMOSD en comparació amb els controls sans en alguns treballs [205]. L'estudi de la connectivitat de la

xarxa visual ens pot ajudar a entendre amb més detall com es reestructura la xarxa a causa de la inflamació del nervi òptic i conèixer la relació entre aquests canvis i la discapacitat visual residual. Al nostre estudi, però, no s'ha observat canvis significatius a la xarxa visual cortical estructural o funcional durant el període de seguiment. Això pot ser degut al fet que no hem sigut capaços de detectar el dany posterior a causa de la NOA per les característiques dels pacients i de la metodologia emprada, ja que el dany s'estableix durant els primers dies o setmanes des de l'aparició de la malaltia i els canvis posteriors podrien ser de menor magnitud.

De manera important, hem demostrat que els canvis estructurals i funcionals en alguns nodes de la xarxa visual poden predir la discapacitat visual al cap de 6 mesos, expandint els resultats d'altres estudis [225]. Hem trobat que el volum del còrtex visual primari (V1) es correlaciona més amb la qualitat de la visió que amb l'AV de baix contrast, la qual cosa suggereix que l'anàlisi de xarxes cerebrals pot no tenir prou resolució per captar petits canvis i detectar completament el deteriorament percebut pels pacients. Els canvis en la xarxa visual que poden predir l'AV de baix contrast impliquen adaptacions a la xarxa primària (cos geniculat lateral), secundària (còrtex calcarí V1 i V2) i terciària (el flux visual dorsal i ventral). Com es preveia, un dels nodes més associats a la discapacitat visual al cap de 6 mesos de la inflamació ha estat el cos geniculat lateral, confirmant la propagació del dany i la disfunció des del nervi òptic fins a la següent neurona en la via visual posterior. De fet, les regions bilaterals del còrtex visual primari V1 i V2 també s'han identificat com a predictors de la discapacitat visual, molt probablement afectades per la degeneració transinàptica anterògrada, induïda per la secció axonal en el nervi òptic. Més enllà de la primera i segona neurona en la via visual, també s'han identificat altres regions importants de la xarxa visual (el solc intraparietal, el còrtex parahipocampal, el còrtex occipital lateral i ventral i el lòbul parietal superior). La via xarxa visual cortical ha estat estudiada amb anterioritat amb pacients amb NOA indicant una major connectivitat funcional en el cas de NOA [223], i en el cas de la NMOSD s'ha relacionat un augment de la connectivitat funcional a la primera i la segona neurona amb una menor AV, AV de baix contrast i gruixos de les capes de la retina [207], la qual cosa permet observar com l'afectació visual i de la retina després de la inflamació del nervi òptic s'associa amb una reestructuració selectiva de la xarxa visual. Aquests resultats donen suport al paper de la degeneració transinàptica alterant la xarxa visual després de la NOA, i a la capacitat de la xarxa visual funcional per compensar aquest dany. En el nostre estudi, vam trobar una associació de les característiques no només de la xarxa funcional sinó també estructural amb la discapacitat

visual en aquests pacients. Com que el nostre estudi no compara la xarxa visual entre NOA i controls o altres brots de SCA, no vam poder confirmar la presència d'una major connectivitat funcional de la xarxa visual com ha estat descrit en algun treball [223]. A més, l'estat actual de l'anàlisi de la xarxa cerebral pot no tenir la resolució necessària per captar petites modificacions o que el soroll de l'anàlisi o la manca de potència estadística poden reduir la capacitat de captar canvis en la xarxa. Tot i els resultats rellevants del nostre treball, serà necessari realitzar futurs estudis longitudinals amb cohorts més grans per entendre si la implicació d'aquestes regions visuals d'ordre superior està relacionada amb la plasticitat cerebral per compensar la disfunció visual o representa àrees disfuncionals a causa de la dessincronització dels aferents visuals.

Al nostre estudi es confirma que a la via visual anterior, les capes de la retina interna mostren una atrofia primerenca i moderada en el primer mes després d'inflamació del nervi òptic, seguida d'un declivi menor que s'estabilitza fins al final del seguiment, tal com han descrit altres estudis [106]. Els canvis en les capes de la retina (GCIPL i pRNFL) des de l'inici de la NOA fins al primer mes s'han considerat uns bons predictors de l'AV de baix contrast [173] mesura relacionada amb la qualitat de visió i, per tant, amb la qualitat de vida de les persones. Al nostre treball, s'ha apuntat que l'aprimament del gruix de la capa de cèl·lules ganglionars en el moment inicial pot ser un predictor de l'AV de baix contrast 6 mesos després de l'inici de la inflamació, considerant que el llindar de $GCIPL \leq 75\mu m$ ajudarà a predir aquesta pèrdua. Altres estudis observen que un valor de $pRNFL \leq 75\mu m$ pot estar associat a una alteració en el CV, l'AV de baix contrast i el test de qualitat de vida dels pacients amb NOA associada a l'EM [139,178]. Els llindars de GCIPL i la $pRNFL \leq 60\mu m$ poden predir un major risc de discapacitat visual en NOA associada a NMOSD i a MOGAD [226], confirmant una major gravetat d'aquestes malalties [227]. A més, la INL mostra un lleuger engruiximent durant els primers 3 mesos després de la inflamació tal com s'ha descrit amb anterioritat [222] que podria ser indicatiu de la inflamació que comporta la NOA [228].

En pacients amb EM, l'atrofia de les capes de la retina que es produeix en ulls que no han presentat una NOA sembla reflectir el dany neuroaxonal irreversible que es produeix a partir de la degeneració axonal transinàptica retrograda durant la malaltia [179]. D'aquesta manera, la reducció en el gruix de les capes de la retina està associada amb l'atrofia cerebral [68,180] i hi ha una evolució similar al llarg del temps de les dues mètriques. Així, les mètriques obtingudes mitjançant l'OCT poden ser útils com a marcadors indirectes del dany neuronal i axonal difús del cervell per les tendències similars entre l'aprimament retinal i la pèrdua de

volum cerebral [32,229–231]. A més, el gruix de la retina sembla ser un bon biomarcador predictiu que pot ajudar a identificar aquells pacients amb major risc de discapacitat física [148,190] i cognitiva [191,192] permetent oferir una millor atenció a aquestes persones.

Els resultats obtinguts al treball, *Predictive value of retinal atrophy for cognitive decline across disease duration in multiple sclerosis*, relacionen els índexs d'aprimament retinal i l'evolució cognitiva al llarg de la malaltia.

Aquest estudi identifica una associació significativa entre els canvis en els gruixos de la pRNFL i la GCIPL i el pendent de deteriorament cognitiu a mesura que la malaltia progressa, especialment quan la durada de la malaltia és major. Els resultats destaquen el fort impacte del dany neuroaxonal en el deteriorament cognitiu en l'EM i identifiquen dos períodes en la malaltia [232]. En el primer d'aquests, la intensa pèrdua de fibres nervioses retinals sembla reflectir un dany neuroaxonal accelerat [32,229–231] mentre que la cognició sembla no veure's afectada tant a l'inici de la malaltia probablement per la presència d'una reserva cognitiva i/o mecanismes adaptatius capaços de compensar el dany [51,53]. En aquest període, l'ús del tractament sembla que pot oferir una certa protecció contra el deteriorament cognitiu, donant suport a la recomanació de tractar els pacients des de les etapes més primerenques per tal de prevenir les conseqüències del dany acumulat o neurodegeneratiu [32,37], la qual cosa es confirma amb els nostres resultats indicant que la no utilització de tractament a l'inici de la malaltia s'associa amb un empitjorament en les puntuacions cognitives. En el període posterior, els resultats indiquen que el dany neuroaxonal supera els processos de compensació observant-se una estreta relació entre l'evolució de l'aprimament de la retina i l'empitjorament cognitiu [51].

A més, al nostre treball s'apunta que el gruix de la pRNFL pot predir l'empitjorament cognitiu, de manera que les persones amb EM i amb un gruix de la pRNFL $\leq 88\mu\text{m}$ poden assolir el deteriorament cognitiu més ràpidament que els individus amb una capa retinal més gruixuda, i poden presentar un major risc d'empitjorament de la seva discapacitat a mitjà termini. Aquest valor predictiu es fa especialment rellevant a partir dels 5 anys de progressió de la malaltia, amb un risc 1,7 vegades més gran de presentar un empitjorament de la discapacitat en els anys següents. En conseqüència, la pRNFL té la capacitat d'identificar els pacients amb més risc de deteriorament cognitiu, la qual cosa se suma a la seva capacitat prèviament descrita de predir una pitjor discapacitat clínica [148,191,193,194,233].

En el cas del gruix de la GCIPL no es va trobar cap valor llindar que indiqués un major risc de deteriorament cognitiu. En avaluar el risc i el temps transcorregut fins al deteriorament cognitiu amb un gruix inferior o superior a $77\mu\text{m}$, que és el llindar suggerit en estudis previs, els resultats no diferien entre els pacients analitzats. Altres estudis indiquen un valor predictiu de la GCIPL per sota de $70\text{-}77\mu\text{m}$ [191,194] en les proves d'atenció i velocitat de processament de la informació (SDMT) [191], mentre que una metaanàlisi d'estudis no aconsegueix identificar cap valor que correlacioni la GCIPL amb el rendiment cognitiu [234]. Es va dur a terme una anàlisi de sensibilitat per tal de discriminar els patrons de cognició que va identificar una tendència a una pitjor evolució en pacients amb gruixos $\leq 91,5\mu\text{m}$ i més de 5 anys de malaltia, però els resultats no eren prou específics ni sensibles. Potencialment, l'aprimament més ràpid del GCIPL [32,230] condueix a un efecte sòl més ràpid abans del desenvolupament del deteriorament cognitiu, cosa que podria influir en aquests resultats. És necessari ampliar el coneixement del valor llindar de la GCIPL a partir de nous estudis amb cohorts més àmplies, ja que es tracta d'un valor indicatiu de la degeneració neuroaxonal en la qual hi ha hagut força controvèrsia [191,193,194,235] i podria aportar nova informació sobre el risc de discapacitat de les persones amb EM. Un dels aspectes rellevants per tal de definir aquest llindar és estandarditzar les mesures de la zona macular de retina [236], ja que alguns instruments com l'Spectralis® de Heidelberg permeten quantificar els gruixos de les capes de la màcula amb diferents diàmetres i no tots els estudis utilitzen la mateixa mesura.

D'altra banda, hi ha estudis que han valorat la pèrdua interanual en el gruix de les capes de la retina (pRNFL i GCIPL) en relació amb l'empitjorament cognitiu avaluat a partir de la velocitat de processament de la informació i l'atenció complexa o amb l'empitjorament físic, obtenint un increment de risc de discapacitat per una pèrdua anual de GCIPL i pRNFL superior a $1,0$ i $1,5\mu\text{m}$ respectivament [191,193,233]. Malgrat aquests resultats, es considera que aquestes proves longitudinals no poden proporcionar una predicció individual sinó que ajuden a identificar les tendències grupals a causa de l'elevada variabilitat interindividual superior a les taxes de canvi [236], i que a més, en general, són diferències similars a l'error del mateix aparell. Aquestes dades poden aportar una informació addicional del risc de deteriorament de la persona, sempre tenint en compte que s'han de complementar amb altres exàmens i que serveixen com a indicadors d'una possible tendència a l'empitjorament de la malaltia.

Un aspecte rellevant a tenir en compte, és que els llandars en les capes de la retina associats amb la discapacitat i les taxes d'atròfia cerebral són considerats sense tenir en compte

l'existència de NOA, donada la gran pèrdua en els gruixos de la pRNFL i GCIPL pròpia del dany del nervi òptic [106]. En canvi, quan s'estudia la taxa de pèrdua interanual d'aquestes capes hi ha certa controvèrsia, i mentre que alguns estudis contempen que la reducció dels gruixos de les capes de la retina és similar quan l'ull ha patit NOA amb el que no l'ha tingut [230], altres consideren que existeix un efecte sol a partir del qual el gruix de les capes de la retina ja no pot disminuir més [229] i, per tant, la mesura de neurodegeneració crònica podria quedar emmascarada [236]. Aquest és un altre aspecte en què cal continuar treballant, atès que encara manca un consens clar.

Un punt important en el nostre article és que aporta informació sobre la relació entre els índexs d'aprimament retinal i l'evolució cognitiva al llarg del temps, avaluada mitjançant una bateria de proves neuropsicològiques que valoren la memòria verbal i visual, l'atenció, la memòria de treball, la velocitat de processament de la informació i la fluïdesa verbal. Fins al moment s'havia estudiat majoritàriament en relació amb la velocitat de processament de la informació i l'atenció complexa a partir del SDMT a escala transversal [191–193]. A causa de la gran heterogeneïtat que mostren les dificultats cognitives en els pacients amb EM, es tracta doncs d'una aportació més exhaustiva sobre l'associació de les mides de les capes de la retina i el rendiment cognitiu al llarg del temps. Els resultats del nostre estudi validen l'ús de les mides de les capes de la retina com a biomarcador del dany cerebral. A més, la utilització de lindars facilita l'aplicabilitat d'aquestes mesures en la pràctica clínica i, per tant, en l'algoritme de maneig dels pacients.

L'estudi de la via visual en relació amb les malalties desmielinitzants del SNC també s'ha estudiat a partir d'altres avaluacions. En el cas de l'OCT hi ha estudis que han valorat el gruix de la INL (capa nuclear interna de la retina) com a marcador de l'activitat inflamatòria en l'EM [237], on el seu engruiximent s'associa al nombre de brots i a la presència de noves lesions en la RM [228,238,239] i la seva disminució a l'ús del tractament [240]. Tot i que els canvis de gruix en INL són subtils [236] i pot ser complicat d'observar-los, es planteja com un nou biomarcador de la inflamació que haurem de tenir en compte en el futur. També volem contemplar l'ús de l'AV de baix com a biomarcador, ja que, mentre que en el cas de la NOA es considera un resultat de discapacitat visual, en l'EM es pot veure com un biomarcador sensible que permet avaluar la discapacitat que encara no ha estat capturada a través de l'EDSS i el MSFC [137,182,189]. De fet, en les últimes dècades, s'ha proposat com a una quarta dimensió molt necessària en el MSFC en alguns assajos clínics, en els quals s'ha demostrat que

l'AV de baix contrast contribueix a la puntuació global de manera comparable amb la resta de les avaluacions, donant una informació addicional no captada sense aquest examen i que pot ajudar a detectar els efectes del tractament [137]. Així, donada la seva sensibilitat per detectar la simptomatologia clínica relacionada amb una mala qualitat de visió i la facilitat i rapidesa amb la qual pot ser administrada, pot ser interessant plantejar la seva incorporació en la pràctica clínica hospitalària.

D'altra banda, per tal d'avaluar de manera més completa als pacients, l'examen cognitiu també ajudarà a comprendre la situació individual de la persona. De fet, alguns estudis qüestionen l'escala utilitzada per a la valoració de discapacitat a l'EM (EDSS) i consideren que s'hauria d'incloure avaluacions tan importants com l'afectació cognitiva o la presència de NOA (i en aquesta última tenir en compte també l'AV de baix contrast) [96,241], ja que poden afectar una gran quantitat de persones [100,242].

Els treballs que formen part de la tesi doctoral posen de manifest la importància en l'ús d'eines com l'OCT o l'espectroscòpia Raman que permeten quantificar i descriure el dany de la via visual anterior, així com l'ús d'eines de RM avançada, com les mesures de connectivitat estructural i funcional que mesuren el dany de la via visual posterior en pacients amb EM i NOA. Demostra l'associació i el poder predictiu d'aquestes eines amb l'estat clínic visual i cognitiu dels pacients. Tot plegat, confirma la seva utilitat com a biomarcadors de progressió de la discapacitat.

Malgrat això, els treballs que componen la tesis també presenten limitacions. Es tracta d'investigacions amb una mostra poblacional petita i predominantment de raça caucàsica, la població majoritària a l'Hospital Clínic de Barcelona, d'on provenen els pacients. En els estudis on s'han estudiat casos amb EM tots els pacients s'han estudiat conjuntament, sense poder conèixer les diferències segons els fenotips perquè les cohorts han estat principalment formades per pacients amb formes remittents recurrents, les més freqüents en la pràctica clínica. D'altra banda, no s'ha analitzat directament l'impacte de les diferents teràpies en les troballes descrites. En el cas de la NOA, s'ha realitzat un estudi complementari per explicar la importància del moment d'administració del tractament amb relació a la inflamació i a la recuperació de la discapacitat, però en ser una mostra petita l'estudi no té suficient potència estadística. En el cas de l'EM, s'ha tingut en compte la influència del tractament globalment observant com el fet de no tractar als pacients en les etapes primerenques de la malaltia pot estar associat amb un pitjor

rendiment cognitiu posterior. A més, ha faltat profunditzar en l'estudi de l'evolució de la cognició de les persones amb EM que han patit NOA, ja que els resultats en treballs previs són poc concloents [229,230,236].

Respecte a les línies de futur és necessari seguir treballant en la descripció i aplicació individualitzada dels biomarcadors visuals tals com l'OCT, l'espectroscòpia Raman i la resta de proves de la funció visual, en aquestes malalties. El fàcil accés i reproductibilitat de les tècniques pot permetre portar-les a la pràctica clínica com a part de les mesures que s'utilitzen en el monitoratge del pacient i incorporar-les a les guies clíniques amb la finalitat de millorar la presa de decisions i realitzar una medicina personalitzada.

Per últim, considero que la capacitat de valorar aquest tipus de malalties des de la via visual anterior, tant a través de l'OCT com de les proves funcionals de la visió, obre noves oportunitats a l'optometria, permetent a aquesta professió col·laborar en equips multidisciplinaris que anteriorment no estaven al seu abast.

VI. CONCLUSIONS

1. Hem identificat canvis metabòlics rellevants a la retina en l'esclerosi múltiple i les neuritis òptiques agudes mitjançant l'estudi en viu amb el prototip d'espectroscòpia Raman que reflecteixen alteracions en el metabolisme energètic i l'excitotoxicitat, així com amb el manteniment neuronal i sinàptic. A més, existeixen canvis en les funcions mitocondrials i el metabolisme energètic tant en la fase aguda com inflamatòria crònica. Aquestes alteracions en les molècules que es relacionen amb la degeneració axonal presenten canvis al llarg del temps, suggerint la presència de neurodegeneració progressiva.
2. Després d'una neuritis òptica aguda es produeix un aprimament precoç i sever de les capes internes de la retina i la recuperació de la qualitat de visió és incompleta. Els gruixos de la capa de la retina i les característiques de la xarxa visual funcional i estructural a l'inici de l'esdeveniment són predictors dels resultats visuals. Aquestes troballes indiquen que el dany de la via visual es produeix a l'inici de la neuritis òptica aguda i que la seva avaluació pot ser útil per definir la severitat de la malaltia i establir l'aproximació terapèutica.
3. L'evolució de l'atròfia de la retina està relacionada amb el deteriorament cognitiu a l'esclerosi múltiple, la qual cosa dona suport a l'estreta relació entre l'empitjorament cognitiu i la neurodegeneració a la malaltia. Aquesta associació adquireix una rellevància destacable després dels primers cinc anys des de l'inici de l'esclerosi múltiple indicant que la disfunció cognitiva és una manifestació tardana del dany neuroaxonal acumulat, i els resultats suggereixen una finestra temporal primerenca per a les teràpies neuroprotectores destinades a evitar les alteracions cognitives. La quantificació de la capa de fibres nervioses de la retina avaluada a la papil·la ha mostrat una capacitat predictiva significativa sobre el deteriorament cognitiu global en persones amb esclerosi múltiple, i pot ajudar a identificar als pacients amb major risc de desenvolupar una alteració cognitiva.

VII. BIBLIOGRAFIA

- [1] Filippi M, Bar-Or A, Piehl F, Preziosa P, Solari A, Vukusic S, et al. Multiple sclerosis. *Nat Rev Dis Primers* 2018;4:43. doi.org/10.1038/s41572-018-0041-4.
- [2] Duffy SS, Lees JG, Moalem-Taylor G. The contribution of immune and glial cell types in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis. *Mult Scler Int* 2014;2014:285245. doi.org/10.1155/2014/285245.
- [3] Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG. Multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2000;343:938–52. doi.org/10.1056/nejm200009283431307.
- [4] Tomassini V, Pozzilli C. Sex hormones, brain damage and clinical course of multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2009;286:35–9. doi.org/10.1016/j.jns.2009.04.014.
- [5] MS International Federation. Number of people with MS. [Internet]. Atlas of MS; 2023 [consultat el 28 de desembre de 2023]. Disponible a: <https://www.atlasofms.org/map/global/epidemiology/number-of-people-with-ms>
- [6] Walton C, King R, Rechtman L, Kaye W, Leray E, Marrie RA, et al. Rising prevalence of multiple sclerosis worldwide: insights from the atlas of MS, third edition. *Mult Scler* 2020;26:1816–21. doi.org/10.1177/1352458520970841.
- [7] Servei Català de la Salut. Persones amb esclerosi múltiple a Catalunya, 2013-2017 [Internet]. Canal Salut. 2019 [citat el 28 de desembre de 2023]. Disponible a: <https://catsalut.gencat.cat/ca/detalls/noticies/2019-05-28-persones-esclerosi-multiple-catalunya-2013-2017>
- [8] Sarkar SK, Willson AML, Jordan MA. The plasticity of immune cell response complicates dissecting the underlying pathology of multiple sclerosis. *J Immunol Res* 2024;2024:5383099. doi.org/10.1155/2024/5383099.
- [9] Cusick MF, Libbey JE, Fujinami RS. Molecular mimicry as a mechanism of autoimmune disease. *Clin Rev Allergy Immunol* 2012;42:102–11. doi.org/10.1007/s12016-011-8294-7.
- [10] Libbey JE, McCoy LL, Fujinami RS. Molecular mimicry in multiple sclerosis. *Int Rev Neurobiol* 2007;79:127–47. doi.org/10.1016/S0074-7742(07)79006-2.

- [11] Kurtzke JF. Epidemiology and etiology of multiple sclerosis. *Phys Med Rehabil Clin N Am* 2005;16:327–49. doi.org/10.1016/j.pmr.2005.01.013.
- [12] Gruchot J, Weyers V, Göttle P, Förster M, Hartung HP, Küry P, et al. The molecular basis for remyelination failure in multiple sclerosis. *Cells*. 2019 Aug 3;8(8):825. doi: 10.3390/cells8080825.
- [13] Bruce KD, Fonteh AN, Yassine HN. Lipid metabolism and transport in CNS health and disease. *Front. Physiol*; 2021;12. doi.org/10.3389/fphys.2021.768417
- [14] Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet* 2008;372:1502–17. doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61620-7.
- [15] Loma I, Heyman R. Multiple sclerosis: pathogenesis and treatment. *Curr Neuroparmacol* 2011;9:409–16. doi.org/10.2174/157015911796557911.
- [16] Ghasemi N, Razavi S, Nikzad E. Multiple sclerosis: pathogenesis, symptoms, diagnoses and cell-based therapy. *Cell J* 2017;19:1–10. doi.org/10.22074/cellj.2016.4867.
- [17] Stadelmann C, Timmler S, Barrantes-Freer A, Simons M. Myelin in the central nervous system: structure, function, and pathology. *Physiol Rev* 2019;99:1381–431. doi.org/10.1152/physrev.00031.2018.
- [18] Furtado GC, Marcondes MCG, Latkowski J-A, Tsai J, Wensky A, Lafaille JJ. Swift entry of myelin-specific T lymphocytes into the central nervous system in spontaneous autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* 2008;181:4648–55. doi.org/10.4049/jimmunol.181.7.4648.
- [19] Jelcic I, Al Nimer F, Wang J, Lentsch V, Planas R, Jelcic I, et al. Memory B cells activate brain-homing, autoreactive CD4⁺ T cells in multiple sclerosis. *Cell* 2018;175:85–100.e23. doi.org/10.1016/j.cell.2018.08.011.
- [20] Lassmann H. Pathology and disease mechanisms in different stages of multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2013;333:1–4. doi.org/10.1016/j.jns.2013.05.010.
- [21] Chari DM. Remyelination in multiple sclerosis. *Int Rev Neurobiol* 2007;79:589–620. doi.org/10.1016/S0074-7742(07)79026-8.

- [22] Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Hypersensitivity disorders. Cellular and molecular immunology. 6th Edition Saunders 2009:321–48.
- [23] Barnett MH, Prineas JW. Relapsing and remitting multiple sclerosis: pathology of the newly forming lesion. *Ann Neurol* 2004;55:458–68. doi.org/10.1002/ana.20016.
- [24] Campbell G, Mahad D. Neurodegeneration in progressive multiple sclerosis. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2018;8. doi.org/10.1101/cshperspect.a028985.
- [25] Marro M, Taubes A, Abernathy A, Balint S, Moreno B, Sanchez-Dalmau B, et al. Dynamic molecular monitoring of retina inflammation by in vivo Raman spectroscopy coupled with multivariate analysis. *J Biophotonics* 2014;7:724–34. doi.org/10.1002/jbio.201300101.
- [26] Okuda DT, Lebrun-Frénay C. Radiologically isolated syndrome in the spectrum of multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2024;30:630-6. doi.org/10.1177/13524585241245306.
- [27] Lomer NB, Asalemi KA, Saberi A, Sarlak K. Predictors of multiple sclerosis progression: A systematic review of conventional magnetic resonance imaging studies. *PLoS One* 2024;19:e0300415. doi.org/10.1371/journal.pone.0300415.
- [28] Kappos L, Wolinsky JS, Giovannoni G, Arnold DL, Wang Q, Bernasconi C, et al. Contribution of relapse-independent progression vs relapse-associated worsening to overall confirmed disability accumulation in typical relapsing multiple sclerosis in a pooled analysis of 2 randomized clinical trials. *JAMA Neurol.* 2020 Sep 1;77(9):1132-40. doi: 10.1001/jamaneurol.2020.1568. doi: 10.1001/jamaneurol.2020.1568
- [29] Kuhlmann T, Moccia M, Coetzee T, Cohen JA, Correale J, Graves J, et al. Multiple sclerosis progression: time for a new mechanism-driven framework. *Lancet Neurol* 2023;22:78–88. doi.org/10.1016/S1474-4422(22)00289-7.
- [30] Vollmer TL, Nair KV, Williams IM, Alvarez E. Multiple sclerosis phenotypes as a continuum: the role of neurologic reserve. *Neurol Clin Pract* 2021;11:342–51. doi.org/10.1212/CPJ.0000000000001045.
- [31] Andorra M, Nakamura K, Lampert EJ, Pulido-Valdeolivas I, Zubizarreta I, Llufríu S, et al. Assessing biological and methodological aspects of brain volume loss in multiple sclerosis. *JAMA Neurol* 2018;75:1246–55. doi.org/10.1001/jamaneurol.2018.1596.

- [32] Pulido-Valdeolivas I, Andorrà M, Gómez-Andrés D, Nakamura K, Alba-Arbalat S, Lampert EJ, et al. Retinal and brain damage during multiple sclerosis course: inflammatory activity is a key factor in the first 5 years. *Sci Rep* 2020;10:13333. doi.org/10.1038/s41598-020-70255-z.
- [33] Lublin FD, Häring DA, Ganjgahi H, Ocampo A, Hatami F, Čuklina J, et al. How patients with multiple sclerosis acquire disability. *Brain* 2022;145:3147–61. doi.org/10.1093/brain/awac016.
- [34] Mowry EM, Pesic M, Grimes B, Deen S, Bacchetti P, Waubant E. Demyelinating events in early multiple sclerosis have inherent severity and recovery. *Neurology* 2009;72:602–8. doi.org/10.1212/01.wnl.0000342458.39625.91.
- [35] Sotiropoulos MG, Lokhande H, Healy BC, Polgar-Turcsanyi M, Glanz BI, Bakshi R, et al. Relapse recovery in multiple sclerosis: Effect of treatment and contribution to long-term disability. *Mult Scler J Exp Transl Clin* 2021;7:20552173211015503. doi.org/10.1177/20552173211015503.
- [36] Hoffmann O, Gold R, Meuth SG, Linker RA, Skripuletz T, Wiendl H, et al. Prognostic relevance of MRI in early relapsing multiple sclerosis: ready to guide treatment decision making? *Ther Adv Neurol Disord* 2024;17:17562864241229325. doi.org/10.1177/17562864241229325.
- [37] Harding K, Williams O, Willis M, Hrastelj J, Rimmer A, Joseph F, et al. Clinical outcomes of escalation vs early intensive disease-modifying therapy in patients with multiple sclerosis. *JAMA Neurol* 2019;76:536–41. doi.org/10.1001/jamaneurol.2018.4905.
- [38] Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 1983;33:1444–52. doi.org/10.1212/wnl.33.11.1444.
- [39] Meyer-Moock S, Feng Y-S, Maeurer M, Dippel F-W, Kohlmann T. Systematic literature review and validity evaluation of the Expanded Disability Status Scale (EDSS) and the Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC) in patients with multiple sclerosis. *BMC Neurol* 2014;14:58. doi.org/10.1186/1471-2377-14-58.

- [40] Kurtzke JF. On the origin of EDSS. *Mult Scler Relat Disord* 2015;4:95–103. doi.org/10.1016/j.msard.2015.02.003.
- [41] Narayan RN, Stüve O, Shah A. Multiple sclerosis. *PM-Physical Medicine and Rehab*. Elsevier. 2020. p. 983-1005.e5. doi: 10.1016/B978-0-323-62539-5.00046-1
- [42] Cutter GR, Baier ML, Rudick RA, Cookfair DL, Fischer JS, Petkau J, et al. Development of a multiple sclerosis functional composite as a clinical trial outcome measure. *Brain* 1999;122:871–82. doi.org/10.1093/brain/122.5.871.
- [43] Chiaravalloti ND, DeLuca J. Cognitive impairment in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2008;7:1139–51. doi.org/10.1016/S1474-4422(08)70259-X.
- [44] Højsgaard Chow H, Schreiber K, Magyari M, Ammitzbøll C, Börnsen L, Romme Christensen J, et al. Progressive multiple sclerosis, cognitive function, and quality of life. *Brain Behav* 2018;8:e00875. doi.org/10.1002/brb3.875.
- [45] American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-5-TR*. American Psychiatric Association Publishing; 2022.
- [46] Sumowski JF. “Brain reserve” and “cognitive reserve” should always be taken into account when studying neurodegeneration – YES. *Mult Scler* 2018;24:574–5. doi.org/10.1177/1352458517751646.
- [47] Sepúlveda M, Fernández-Diez B, Martínez-Lapiscina EH, Llufríu S, Sola-Valls N, Zubizarreta I, et al. Impairment of decision-making in multiple sclerosis: A neuroeconomic approach. *Mult Scler* 2017;23:1762–71. doi.org/10.1177/1352458516682103.
- [48] Sepulcre J, Vanotti S, Hernández R, Sandoval G, Cáceres F, Garcea O, et al. Cognitive impairment in patients with multiple sclerosis using the Brief Repeatable Battery-Neuropsychology test. *Mult Scler* 2006;12:187–95. doi.org/10.1191/1352458506ms1258oa.
- [49] Achiron A, Chapman J, Magalashvili D, Dolev M, Lavie M, Bercovich E, et al. Modeling of cognitive impairment by disease duration in multiple sclerosis: a cross-sectional study. *PLoS One* 2013;8:e71058. doi.org/10.1371/journal.pone.0071058.

- [50] Eijlers AJC, van Geest Q, Dekker I, Steenwijk MD, Meijer KA, Hulst HE, et al. Predicting cognitive decline in multiple sclerosis: a 5-year follow-up study. *Brain* 2018;141:2605–18. doi.org/10.1093/brain/awy202.
- [51] Lopez-Soley E, Martinez-Heras E, Andorra M, Solanes A, Radua J, Montejo C, et al. Dynamics and predictors of cognitive impairment along the disease course in multiple sclerosis. *J Pers Med* 2021;11. doi.org/10.3390/jpm11111107.
- [52] Wojcik C, Fuchs TA, Tran H, Dwyer MG, Jakimovski D, Unverdi M, et al. Staging and stratifying cognitive dysfunction in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2022;28:463–71. doi.org/10.1177/13524585211011390.
- [53] Lopez-Soley E, Solana E, Martínez-Heras E, Andorra M, Radua J, Prats-Urbe A, et al. Impact of cognitive reserve and structural connectivity on cognitive performance in multiple sclerosis. *Front Neurol* 2020;11:581700. doi.org/10.3389/fneur.2020.581700.
- [54] Anderson JR, Fitzgerald KC, Murrough JW, Katz Sand IB, Sorets TR, Krieger SC, et al. Depression symptoms and cognition in multiple sclerosis: Longitudinal evidence of a specific link to executive control. *Mult Scler* 2023;29:1632–45. doi.org/10.1177/13524585231198746.
- [55] Kalb R, Beier M, Benedict RH, Charvet L, Costello K, Feinstein A, et al. Recommendations for cognitive screening and management in multiple sclerosis care. *Mult Scler* 2018;24:1665–80. doi.org/10.1177/1352458518803785.
- [56] Rao SM, Leo GJ, Bernardin L, Unverzagt F. Cognitive dysfunction in multiple sclerosis. I. Frequency, patterns, and prediction. *Neurology*. 1991 May;41(5):685-91. doi: 10.1212/wnl.41.5.685. PMID: 2027484.
- [57] Gronwall DM. Paced auditory serial-addition task: a measure of recovery from concussion. *Percept Mot Skills* 1977;44:367–73. doi.org/10.2466/pms.1977.44.2.367.
- [58] Smith A. Symbol Digit Modalities Test (SDMT). APA PsycTests. 1973. doi.org/10.1037/T27513-000.
- [59] Brown R, McNeill D. The “tip of the tongue” phenomenon. *J Verbal Learning Verbal Behav* 1966;5:325–37. doi.org/10.1016/S0022-5371(66)80040-3.

- [60] Clark RE, Broadbent NJ, Squire LR. The hippocampus and spatial memory: findings with a novel modification of the water maze. *J Neurosci* 2007;27:6647–54. doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0913-07.2007.
- [61] Buschke H. Selective reminding for analysis of memory and learning. *J Verbal Learning Verbal Behav* 1973;12:543–50. doi.org/10.1016/S0022-5371(73)80034-9.
- [62] Lugosi K, Engh MA, Huszár Z, Hegyi P, Mátrai P, Csukly G, et al. Domain-specific cognitive impairment in multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis. *Ann Clin Transl Neurol*. 2024;11:564-76. doi.org/10.1002/acn3.51976.
- [63] Meca-Lallana JE, Martínez Yélamos S, Eichau S, Llaneza MA, Martín Martínez J, Peña Martínez J, et al. Documento de consenso de la Sociedad Española de Neurología sobre el tratamiento de la esclerosis múltiple y manejo holístico del paciente 2023. *Neurología*. 2024;39:196-208. doi.org/10.1016/j.nrl.2023.06.001.
- [64] Montalban X, Gold R, Thompson AJ, Otero-Romero S, Amato MP, Chandraratna D, et al.ECTRIMS/EAN Guideline on the pharmacological treatment of people with multiple sclerosis. *Mult Scler* 2018;24:96–120. doi.org/10.1177/1352458517751049.
- [65] Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, Carroll WM, Coetzee T, Comi G, et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol* 2018;17:162–73. doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30470-2.
- [66] Caranova M, Soares JF, Batista S, Castelo-Branco M, Duarte JV. A systematic review of microstructural abnormalities in multiple sclerosis detected with NODDI and DTI models of diffusion-weighted magnetic resonance imaging. *Magn Reson Imaging* 2023;104:61–71. doi.org/10.1016/j.mri.2023.09.010.
- [67] Filippi M, Brück W, Chard D, Fazekas F, Geurts JJG, Enzinger C, et al. Association between pathological and MRI findings in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2019;18:198–210. doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30451-4.
- [68] 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;78:801–13. doi.org/10.1002/ana.24487.

- [69] Tsivgoulis G, Katsanos AH, Grigoriadis N, Hadjigeorgiou GM, Heliopoulos I, Kilidireas C, et al. The effect of disease modifying therapies on brain atrophy in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2015;10:e0116511. doi.org/10.1371/journal.pone.0116511.
- [70] Sormani MP, Arnold DL, De Stefano N. Treatment effect on brain atrophy correlates with treatment effect on disability in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2014;75:43–9. doi.org/10.1002/ana.24018.
- [71] Inglese M, Bester M. Diffusion imaging in multiple sclerosis: research and clinical implications. *NMR Biomed* 2010;23:865–72. doi.org/10.1002/nbm.1515.
- [72] Martínez-Heras E, Solana E, Prados F, Andorrà M, Solanes A, López-Soley E, et al. Characterization of multiple sclerosis lesions with distinct clinical correlates through quantitative diffusion MRI. *Neuroimage Clin* 2020;28:102411. doi.org/10.1016/j.nicl.2020.102411.
- [73] Beaulieu C. The basis of anisotropic water diffusion in the nervous system - a technical review. *NMR Biomed* 2002;15:435–55. doi.org/10.1002/nbm.782.
- [74] Martinez-Heras E, Grussu F, Prados F, Solana E, Llufríu S. Diffusion-weighted imaging: recent advances and applications. *Semin Ultrasound CT MR* 2021;42:490–506. doi.org/10.1053/j.sult.2021.07.006.
- [75] Rubinov M, Sporns O. Complex network measures of brain connectivity: uses and interpretations. *Neuroimage* 2010;52:1059–69. doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.10.003.
- [76] Ogawa S, Lee TM, Kay AR, Tank DW. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990;87:9868–72. doi.org/10.1073/pnas.87.24.9868.
- [77] Zhang J, Cortese R, De Stefano N, Giorgio A. Structural and functional connectivity substrates of cognitive impairment in multiple sclerosis. *Front Neurol* 2021;12:671894. doi.org/10.3389/fneur.2021.671894.

- [78] Yeh C-H, Jones DK, Liang X, Descoteaux M, Connelly A. Mapping structural connectivity using diffusion MRI: Challenges and opportunities. *J Magn Reson Imaging* 2021;53:1666–82. doi.org/10.1002/jmri.27188.
- [79] Llufríu S, Martínez-Heras E, Solana E, Sola-Valls N, Sepulveda M, Blanco Y, et al. Structural networks involved in attention and executive functions in multiple sclerosis. *NeuroImage Clin* 2017;13:288–96. doi.org/10.1016/j.nicl.2016.11.026.
- [80] Granziera C, Wuerfel J, Barkhof F, Calabrese M, De Stefano N, Enzinger C, et al. Quantitative magnetic resonance imaging towards clinical application in multiple sclerosis. *Brain* 2021;144:1296–311. doi.org/10.1093/brain/awab029.
- [81] Llufríu S, Martínez-Heras E, Fortea J, Blanco Y, Berenguer J, Gabilondo I, et al. Cognitive functions in multiple sclerosis: impact of gray matter integrity. *Mult Scler* 2014;20:424–32. doi.org/10.1177/1352458513503722.
- [82] Cordani C, Hidalgo de la Cruz M, Meani A, Valsasina P, Esposito F, Pagani E, et al. MRI correlates of clinical disability and hand-motor performance in multiple sclerosis phenotypes. *Mult Scler* 2021;27:1205–21. doi.org/10.1177/1352458520958356.
- [83] Peterson DS, Fling BW. How changes in brain activity and connectivity are associated with motor performance in people with MS. *Neuroimage Clin* 2018;17:153–62. doi.org/10.1016/j.nicl.2017.09.019.
- [84] Hulst HE, Steenwijk MD, Versteeg A, Pouwels PJW, Vrenken H, Uitdehaag BMJ, et al. Cognitive impairment in MS: impact of white matter integrity, gray matter volume, and lesions. *Neurology* 2013;80:1025–32. doi.org/10.1212/WNL.0b013e31828726cc.
- [85] Solana E, Martínez-Heras E, Montal V, Vilaplana E, Lopez-Soley E, Radua J, et al. Regional grey matter microstructural changes and volume loss according to disease duration in multiple sclerosis patients. *Sci Rep* 2021;11:16805. doi.org/10.1038/s41598-021-96132-x.
- [86] Stock B, Shrestha M, Seiler A, Foerch C, Hattingen E, Steinmetz H, et al. Distribution of cortical diffusion tensor imaging changes in multiple sclerosis. *Front Physiol* 2020;11:116. doi.org/10.3389/fphys.2020.00116.

- [87] Lopez-Soley E, Martinez-Heras E, Solana E, Solanes A, Radua J, Vivo F, et al. Diffusion tensor imaging metrics associated with future disability in multiple sclerosis. *Sci Rep* 2023;13:1–10. doi.org/10.1038/s41598-023-30502-5.
- [88] Charalambous T, Clayden JD, Powell E, Prados F, Tur C, Kanber B, et al. Disrupted principal network organisation in multiple sclerosis relates to disability. *Sci Rep* 2020;10:3620. doi.org/10.1038/s41598-020-60611-4.
- [89] Faivre A, Robinet E, Guye M, Rousseau C, Maarouf A, Le Troter A, et al. Depletion of brain functional connectivity enhancement leads to disability progression in multiple sclerosis: A longitudinal resting-state fMRI study. *Mult Scler* 2016;22:1695–708. doi.org/10.1177/1352458516628657.
- [90] Martinez-Heras E, Solana E, Vivó F, Lopez-Soley E, Calvi A, Alba-Arbalat S, et al. Diffusion-based structural connectivity patterns of multiple sclerosis phenotypes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2023;94:916–23. doi.org/10.1136/jnnp-2023-331531.
- [91] Rocca MA, Valsasina P, Leavitt VM, Rodegher M, Radaelli M, Riccitelli GC, et al. Functional network connectivity abnormalities in multiple sclerosis: Correlations with disability and cognitive impairment. *Mult Scler* 2018;24:459–71. doi.org/10.1177/1352458517699875.
- [92] Hejazi S, Karwowski W, Farahani FV, Marek T, Hancock PA. Graph-based analysis of brain connectivity in multiple sclerosis using functional MRI: A systematic review. *Brain Sci* 2023;13. doi.org/10.3390/brainsci13020246.
- [93] Petzold A, Fraser CL, Abegg M, Alroughani R, Alshowaier D, Alvarenga R, et al. Diagnosis and classification of optic neuritis. *Lancet Neurol* 2022;21:1120–34. doi.org/10.1016/S1474-4422(22)00200-9.
- [94] Pau D, Al Zubidi N, Yalamanchili S, Plant GT, Lee AG. Optic neuritis. *Eye* 2011;25:833–42. doi.org/10.1038/eye.2011.81.
- [95] Jenkins TM, Toosy AT. Optic neuritis: the eye as a window to the brain. *Curr Opin Neurol* 2017;30:61–6. doi.org/10.1097/WCO.0000000000000414.
- [96] Kraker JA, Chen JJ. An update on optic neuritis. *J Neurol* 2023;270:5113–26. doi.org/10.1007/s00415-023-11920-x.

- [97] Asseyer S, Asgari N, Bennett J, Bialer O, Blanco Y, Bosello F, et al. The Acute Optic Neuritis Network (ACON): Study protocol of a non-interventional prospective multicenter study on diagnosis and treatment of acute optic neuritis. *Front Neurol* 2023;14:1102353. doi.org/10.3389/fneur.2023.1102353.
- [98] Bennett JL, Costello F, Chen JJ, Petzold A, Biousse V, Newman NJ, et al. Optic neuritis and autoimmune optic neuropathies: advances in diagnosis and treatment. *Lancet Neurol* 2023;22:89–100. doi.org/10.1016/S1474-4422(22)00187-9.
- [99] Jarius S, Paul F, Weinshenker BG, Levy M, Kim HJ, Wildemann B. Neuromyelitis optica. *Nat Rev Dis Primers* 2020;6:85. doi.org/10.1038/s41572-020-0214-9.
- [100] Wu GF, Parker Harp CR, Shindler KS. Optic Neuritis: A model for the immunopathogenesis of central nervous system inflammatory demyelinating diseases. *Curr Immunol Rev* 2015;11:85–92. doi.org/10.2174/1573395511666150707181644.
- [101] Optic Neuritis Study Group. Multiple sclerosis risk after optic neuritis: final optic neuritis treatment trial follow-up. *Arch Neurol* 2008;65:727–32. doi.org/10.1001/archneur.65.6.727.
- [102] Toosy AT, Mason DF, Miller DH. Optic neuritis. *Lancet Neurol* 2014;13:83–99. doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70259-X.
- [103] Petzold A, Wattjes MP, Costello F, Flores-Rivera J, Fraser CL, Fujihara K, et al. The investigation of acute optic neuritis: a review and proposed protocol. *Nat Rev Neurol* 2014;10:447–58. doi.org/10.1038/nrneurol.2014.108.
- [104] Galetta SL, Villoslada P, Levin N, Shindler K, Ishikawa H, Parr E, et al. Acute optic neuritis: Unmet clinical needs and model for new therapies. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2015;2:e135. doi.org/10.1212/NXI.0000000000000135.
- [105] Petzold A. Neuroprotection and visual function after optic neuritis. *Curr Opin Neurol* 2017;30:67–73. doi.org/10.1097/WCO.0000000000000418.
- [106] Andorrà M, Alba-Arbalat S, Camos-Carreras A, Gabilondo I, Fraga-Pumar E, Torres-Torres R, et al. Using acute optic neuritis trials to assess neuroprotective and remyelinating therapies in multiple sclerosis. *JAMA Neurol* 2020;77:234–44. doi.org/10.1001/jamaneurol.2019.3283.

- [107] Waters PJ, McKeon A, Leite MI, Rajasekharan S, Lennon VA, Villalobos A, et al. Serologic diagnosis of NMO: a multicenter comparison of aquaporin-4-IgG assays. *Neurology* 2012;78:665–71. doi.org/10.1212/WNL.0b013e318248dec1.
- [108] Hor JY, Asgari N, Nakashima I, Broadley SA, Leite MI, Kissani N, et al. Epidemiology of neuromyelitis optica spectrum disorder and its prevalence and incidence worldwide. *Front Neurol* 2020;11:501. doi.org/10.3389/fneur.2020.00501.
- [109] Sepúlveda M, Aldea M, Escudero D, Llufríu S, Arrambide G, Otero-Romero S, et al. Epidemiology of NMOSD in Catalonia: Influence of the new 2015 criteria in incidence and prevalence estimates. *Mult Scler* 2018;24:1843–51. doi.org/10.1177/1352458517735191.
- [110] Meza Poblete C, Canales Fernández P. Bases fisiopatológicas del espectro de neuromielitis óptica: ¿qué sabemos? *Rev Chil Neuro-Psiquiatr* 2020;58:161–70. doi.org/10.4067/S0717-92272020000200161.
- [111] Bukhari W, Barnett MH, Prain K, Broadley SA. Molecular pathogenesis of neuromyelitis optica. *Int J Mol Sci* 2012;13:12970–93. doi.org/10.3390/ijms131012970.
- [112] Weinshenker BG, Wingerchuk DM. Neuromyelitis spectrum disorders. *Mayo Clin Proc* 2017;92:663–79. https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2016.12.014.
- [113] Hor JY, Fujihara K. Epidemiology of myelin oligodendrocyte glycoprotein antibody-associated disease: a review of prevalence and incidence worldwide. *Front Neurol* 2023;14:1260358. doi.org/10.3389/fneur.2023.1260358.
- [114] Banwell B, Bennett JL, Marignier R, Kim HJ, Brilot F, Flanagan EP, et al. Diagnosis of myelin oligodendrocyte glycoprotein antibody-associated disease: International MOGAD Panel proposed criteria. *Lancet Neurol* 2023;22:268–82. doi.org/10.1016/S1474-4422(22)00431-8.
- [115] Corbali O, Chitnis T. Pathophysiology of myelin oligodendrocyte glycoprotein antibody disease. *Front Neurol* 2023;14:1137998. doi.org/10.3389/fneur.2023.1137998.
- [116] Liu H, Zhou H, Wang J, Sun M, Teng D, Song H, et al. The prevalence and prognostic value of myelin oligodendrocyte glycoprotein antibody in adult optic neuritis. *J Neurol Sci* 2019;396:225–31. doi.org/10.1016/j.jns.2018.11.029.

- [117] Chen JJ, Flanagan EP, Jitprapaikulsan J, López-Chiriboga ASS, Fryer JP, Leavitt JA, et al. Myelin oligodendrocyte glycoprotein antibody-positive optic neuritis: clinical characteristics, radiologic clues, and outcome. *Am J Ophthalmol* 2018;195:8–15. doi.org/10.1016/j.ajo.2018.07.020.
- [118] Tajfirouz D, Padungkiatsagul T, Beres S, Moss HE, Pittock S, Flanagan E, et al. Optic chiasm involvement in AQP-4 antibody–positive NMO and MOG antibody–associated disorder. *Mult Scler* 2022;28:149–53. doi.org/10.1177/13524585211011450.
- [119] Wakakura M. Baseline features of idiopathic optic neuritis as determined by a multicenter treatment trial in japan. *Jpn J Ophthalmol* 1999;43:127–32. doi.org/10.1016/s0021-5155(98)00072-0.
- [120] Siuko M, Kivelä TT, Setälä K, Tienari PJ. Incidence and mimickers of acute idiopathic optic neuritis: Analysis of 291 consecutive patients from Southern Finland. *Ophthalmic Epidemiol* 2018;25:386–91. doi.org/10.1080/09286586.2018.1500614.
- [121] Jarocki A, Benard-Seguin E, Gonzalez LA, Costello F, Andrews CA, Kerber K, et al. Predictors of long-term visual acuity in a modern cohort of patients with acute idiopathic and multiple sclerosis-associated optic neuritis. *J Neuroophthalmol* 2023;43:475–80. doi.org/10.1097/WNO.0000000000001870.
- [122] Deschamps R, Gueguen A, Lecler A, Lecouturier K, Lamirel C, Bensa C, et al. Acute idiopathic optic neuritis: not always benign. *Eur J Neurol* 2018;25:1378–83. doi.org/10.1111/ene.13753.
- [123] Jenkins TM, Toosy AT, Ciccarelli O, Miszkiel KA, Wheeler-Kingshott CA, Henderson AP, et al. Neuroplasticity predicts outcome of optic neuritis independent of tissue damage. *Ann Neurol* 2010;67:99–113. doi.org/10.1002/ana.21823.
- [124] Ransohoff RM, Engelhardt B. The anatomical and cellular basis of immune surveillance in the central nervous system. *Nat Rev Immunol* 2012;12:623–35. doi.org/10.1038/nri3265.
- [125] Cameron JR, Tatham AJ. A window to beyond the orbit: the value of optical coherence tomography in non-ocular disease. *Acta Ophthalmol* 2016;94:533–9. doi.org/10.1111/aos.12978.

- [126] Martínez-Lapiscina EH, Fraga-Pumar E, Gabilondo I, Martínez-Heras E, Torres-Torres R, Ortiz-Pérez S, et al. The multiple sclerosis visual pathway cohort: understanding neurodegeneration in MS. *BMC Res Notes* 2014;7:910. doi.org/10.1186/1756-0500-7-910.
- [127] Mey GM, DeSilva TM. Utility of the visual system to monitor neurodegeneration in multiple sclerosis. *Front Mol Neurosci* 2023;16:1125115. doi.org/10.3389/fnmol.2023.1125115.
- [128] Costello F. The afferent visual pathway: designing a structural-functional paradigm of multiple sclerosis. *ISRN Neurol* 2013;2013:134858. doi.org/10.1155/2013/134858.
- [129] Kniestedt C, Stamper RL. Visual acuity and its measurement. *Ophthalmol Clin North Am* 2003;16:155–70. doi.org/10.1016/s0896-1549(03)00013-0.
- [130] Azzam D, Ronquillo Y. Snellen Chart. StatPearls, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023.
- [131] Jackson AJ, Bailey IL. Visual acuity. *Optom Pract.* 2004;5:53-70.
- [132] Ferris FL 3rd, Kassoff A, Bresnick GH, Bailey I. New visual acuity charts for clinical research. *Am J Ophthalmol* 1982;94:91–6.
- [133] Early Treatment Diabetic Retinopathy Study design and baseline patient characteristics. ETDRS report number 7. *Ophthalmology* 1991;98:741–56. doi.org/10.1016/s0161-6420(13)38009-9.
- [134] Bailey IL, Lovie-Kitchin JE. Visual acuity testing. From the laboratory to the clinic. *Vision Res* 2013;90:2–9. doi.org/10.1016/j.visres.2013.05.004.
- [135] Borish IM. Borish’s Clinical refraction. W.B. Saunders; 1998. 203-210p
- [136] Xiong Y-Z, Kwon M, Bittner AK, Virgili G, Giacomelli G, Legge GE. Relationship between acuity and contrast sensitivity: differences due to eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2020;61:40. doi.org/10.1167/iovs.61.6.40.
- [137] Balcer LJ, Raynowska J, Nolan R, Galetta SL, Kapoor R, Benedict R, et al. Validity of low-contrast letter acuity as a visual performance outcome measure for multiple sclerosis. *Mult Scler* 2017;23:734–47. doi.org/10.1177/1352458517690822.

- [138] Neelam K, Nolan J, Chakravarthy U, Beatty S. Psychophysical function in age-related maculopathy. *Surv Ophthalmol* 2009;54:167–210.
doi.org/10.1016/j.survophthal.2008.12.003.
- [139] Longbrake EE, Lancia S, Tutlam N, Trinkaus K, Naismith RT. Quantitative visual tests after poorly recovered optic neuritis due to multiple sclerosis. *Mult Scler Relat Disord* 2016;10:198–203. doi.org/10.1016/j.msard.2016.10.009.
- [140] Fanlo Zarazaga A, Gutiérrez Vázquez J, Pueyo Royo V. Revisión de los principales test clínicos para evaluar la visión del color. *Archivos de La Sociedad Española de Oftalmología* 2019;94:25–32. doi.org/10.1016/j.oftal.2018.08.006.
- [141] Cole BL, Lian K-Y, Lakkis C. The new Richmond HRR pseudoisochromatic test for colour vision is better than the Ishihara test. *Clin Exp Optom* 2006;89:73–80.
doi.org/10.1111/j.1444-0938.2006.00015.x.
- [142] Turano KA, Broman AT, Bandeen-Roche K, Munoz B, Rubin GS, West S, et al. Association of visual field loss and mobility performance in older adults: Salisbury Eye Evaluation Study. *Optom Vis Sci* 2004;81:298–307.
doi.org/10.1097/01.opx.0000134903.13651.8e.
- [143] Fujimoto JG, Brezinski ME, Tearney GJ, Boppart SA, Bouma B, Hee MR, et al. Optical biopsy and imaging using optical coherence tomography. *Nat Med* 1995;1:970–2. doi.org/10.1038/nm0995-970.
- [144] Arevalo JF, Lasave AF, Arias JD, Serrano MA, Arevalo FA. Clinical applications of optical coherence tomography in the posterior pole: the 2011 José Manuel Espino Lecture - Part I. *Clin Ophthalmol* 2013;7:2165–79. doi.org/10.2147/OPTH.S51098.
- [145] Aytulun A, Cruz-Herranz A, Aktas O, Balcer LJ, Balk L, Barboni P, et al. APOSTEL 2.0 Recommendations for reporting quantitative optical coherence tomography studies. *Neurology* 2021;97:68–79. doi.org/10.1212/WNL.0000000000012125.
- [146] Tewarie P, Balk L, Costello F, Green A, Martin R, Schippling S, et al. The OSCAR-IB consensus criteria for retinal OCT quality assessment. *PLoS One* 2012;7:e34823. doi.org/10.1371/journal.pone.0034823.

- [147] Donica VC, Alexa AI, Pavel IA, Danieleescu C, Ciapă MA, Donica AL, et al. The Evolvement of OCT and OCT-A in Identifying multiple sclerosis biomarkers. *Biomedicines* 2023;11. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11113031>.
- [148] Martinez-Lapiscina EH, Arnow S, Wilson JA, Saidha S, Preiningerova JL, Oberwahrenbrock T, et al. Retinal thickness measured with optical coherence tomography and risk of disability worsening in multiple sclerosis: a cohort study. *Lancet Neurol* 2016;15:574–84. [doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)00068-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)00068-5).
- [149] Banijamali SMA, Versek C, Babinski K, Kamarthi S, Green-LaRoche D, Sridhar S. Portable multi-focal visual evoked potential diagnostics for multiple sclerosis/optic neuritis patients. *medRxiv* 2023. doi.org/10.1101/2023.12.26.23300405.
- [150] Klistorner A, Graham S, Fraser C, Garrick R, Nguyen T, Paine M, et al. Electrophysiological evidence for heterogeneity of lesions in optic neuritis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:4549–56. doi.org/10.1167/iovs.07-0381.
- [151] Klistorner A, Arvind H, Nguyen T, Garrick R, Paine M, Graham S, et al. Multifocal VEP and OCT in optic neuritis: a topographical study of the structure-function relationship. *Doc Ophthalmol* 2009;118:129–37. doi.org/10.1007/s10633-008-9147-4.
- [152] Jones SJ, Brusa A. Neurophysiological evidence for long-term repair of MS lesions: implications for axon protection. *J Neurol Sci* 2003;206:193–8. [doi.org/10.1016/s0022-510x\(02\)00428-8](https://doi.org/10.1016/s0022-510x(02)00428-8).
- [153] Klistorner A, Triplett JD, Barnett MH, Yiannikas C, Barton J, Parratt J, et al. Latency of multifocal visual evoked potential in multiple sclerosis: a visual pathway biomarker for clinical trials of remyelinating therapies. *J Clin Neurophysiol* 2021;38:186–91. doi.org/10.1097/WNP.0000000000000757.
- [154] Mangione CM, Lee PP, Gutierrez PR, Spritzer K, Berry S, Hays RD, et al. Development of the 25-item national eye institute visual function questionnaire. *Arch Ophthalmol* 2001;119:1050–8. doi.org/10.1001/archopht.119.7.1050.
- [155] Raphael BA, Galetta KM, Jacobs DA, Markowitz CE, Liu GT, Nano-Schiavi ML, et al. Validation and test characteristics of a 10-item neuro-ophthalmic supplement to the NEI-VFQ-25. *Am J Ophthalmol* 2006;142:1026–35. doi.org/10.1016/j.ajo.2006.06.060.

- [156] de Boer MR, Moll AC, de Vet HCW, Terwee CB, Völker-Dieben HJM, van Rens GHMB. Psychometric properties of vision-related quality of life questionnaires: a systematic review. *Ophthalmic Physiol Opt* 2004;24:257–73. doi.org/10.1111/j.1475-1313.2004.00187.x.
- [157] Taylor SE, Cheung KT, Patel II, Trevisan J, Stringfellow HF, Ashton KM, et al. Infrared spectroscopy with multivariate analysis to interrogate endometrial tissue: a novel and objective diagnostic approach. *Br J Cancer* 2011;104:790–7. doi.org/10.1038/sj.bjc.6606094.
- [158] Iñarrea P, Alarcia R, Alava MA, Capablo JL, Casanova A, Iñiguez C, et al. Mitochondrial complex enzyme activities and cytochrome C expression changes in multiple sclerosis. *Mol Neurobiol* 2014;49:1–9. doi.org/10.1007/s12035-013-8481-z.
- [159] Saedisomeolia A, Ashoori M. Riboflavin in human health: A review of current evidences. *Adv Food Nutr Res* 2018; 83, 57–81. doi.org/10.1016/bs.afnr.2017.11.002.
- [160] Braidy N, Lim CK, Grant R, Brew BJ, Guillemin GJ. Serum nicotinamide adenine dinucleotide levels through disease course in multiple sclerosis. *Brain Res* 2013;1537:267–72. doi.org/10.1016/j.brainres.2013.08.025.
- [161] Kostic M, Zivkovic N, Stojanovic I. Multiple sclerosis and glutamate excitotoxicity. *Rev Neurosci* 2013;24:71–88. doi.org/10.1515/revneuro-2012-0062.
- [162] Virupakshaiah A, Ladakis DC, Nourbakhsh B, Bhargava P, Dilwali S, Schoeps V, et al. Several serum lipid metabolites are associated with relapse risk in pediatric-onset multiple sclerosis. *Mult Scler* 2023;29:936–44. doi.org/10.1177/13524585231171517.
- [163] Tortorella C, Ruggieri M, Di Monte E, Ceci E, Iaffaldano P, Drenzo V, et al. Serum and CSF N-acetyl aspartate levels differ in multiple sclerosis and neuromyelitis optica. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2011;82:1355–9. doi.org/10.1136/jnnp.2011.241836.
- [164] Dominicis A, Del Giovane A, Torreggiani M, Recchia AD, Ciccarone F, Ciriolo MR, et al. N-Acetylaspartate drives oligodendroglial differentiation via histone deacetylase activation. *Cells* 2023;12. doi.org/10.3390/cells12141861.

- [165] Rezaee D, Saadatpour F, Akbari N, Zoghi A, Najafi S, Beyranvand P, et al. The role of microRNAs in the pathophysiology of human central nervous system: A focus on neurodegenerative diseases. *Ageing Res Rev* 2023;92:102090. doi.org/10.1016/j.arr.2023.102090.
- [166] Chandra A. Role of amyloid from a multiple sclerosis perspective: a literature review. *Neuroimmunomodulation* 2015;22:343–6. doi.org/10.1159/000375309.
- [167] Razia R, Majeed F, Amin R, Mukhtar S, Mahmood K, Abualait T, et al. Predictive value of α -synuclein expression in peripheral blood of multiple sclerosis patients: A two-dimensional assessment of a selected biomarker. *PLoS One* 2023;18:e0285022. doi.org/10.1371/journal.pone.0285022.
- [168] Gabilondo I, Martínez-Lapiscina EH, Fraga-Pumar E, Ortiz-Perez S, Torres-Torres R, Andorra M, et al. Dynamics of retinal injury after acute optic neuritis. *Ann Neurol* 2015;77:517–28. doi.org/10.1002/ana.24351.
- [169] Britze J, Pihl-Jensen G, Frederiksen JL. Retinal ganglion cell analysis in multiple sclerosis and optic neuritis: a systematic review and meta-analysis. *J Neurol* 2017;264:1837–53. doi.org/10.1007/s00415-017-8531-y.
- [170] Coric D, Balk LJ, Uitdehaag BMJ, Petzold A. Diagnostic accuracy of optical coherence tomography inter-eye percentage difference for optic neuritis in multiple sclerosis. *Eur J Neurol* 2017;24:1479–84. doi.org/10.1111/ene.13443.
- [171] Nolan-Kenney RC, Liu M, Akhand O, Calabresi PA, Paul F, Petzold A, et al. Optimal intereye difference thresholds by optical coherence tomography in multiple sclerosis: An international study. *Ann Neurol* 2019;85:618–29. doi.org/10.1002/ana.25462.
- [172] Optic Neuritis Study Group. Visual function 15 years after optic neuritis: a final follow-up report from the Optic Neuritis Treatment Trial. *Ophthalmology* 2008;115:1079–82.e5. doi.org/10.1016/j.ophtha.2007.08.004.
- [173] Sanchez-Dalmau B, Martinez-Lapiscina EH, Torres-Torres R, Ortiz-Perez S, Zubizarreta I, Pulido-Valdeolivas IV, et al. Early retinal atrophy predicts long-term visual impairment after acute optic neuritis. *Mult Scler* 2018;24:1196–204. doi.org/10.1177/1352458517718628.

- [174] Weinstock-Guttman B, Baier M, Stockton R, Weinstock A, Justinger T, Munschauer F, et al. Pattern reversal visual evoked potentials as a measure of visual pathway pathology in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2003;9:529–34. doi.org/10.1191/1352458503ms935rr.
- [175] Pihl-Jensen G, Wanscher B, Frederiksen JL. Multifocal visual evoked potential evaluation for diagnosis of acute optic neuritis and for prediction of visual outcome and ganglion cell layer thinning following optic neuritis. *Mult Scler* 2021;27:1717–26. doi.org/10.1177/1352458520975732.
- [176] Nakajima H, Hosokawa T, Sugino M, Kimura F, Sugasawa J, Hanafusa T, et al. Visual field defects of optic neuritis in neuromyelitis optica compared with multiple sclerosis. *BMC Neurol* 2010;10:45. doi.org/10.1186/1471-2377-10-45.
- [177] Keltner JL, Johnson CA, Spurr JO, Beck RW. Baseline visual field profile of optic neuritis. The experience of the optic neuritis treatment trial. Optic Neuritis Study Group. *Arch Ophthalmol* 1993;111:231–4. doi.org/10.1001/archopht.1993.01090020085029.
- [178] Costello F, Coupland S, Hodge W, Lorello GR, Koroluk J, Pan YI, et al. Quantifying axonal loss after optic neuritis with optical coherence tomography. *Ann Neurol* 2006;59:963–9. doi.org/10.1002/ana.20851.
- [179] Gabilondo I, Martínez-Lapiscina EH, Martínez-Heras E, Fraga-Pumar E, Llufríu S, Ortiz S, et al. Trans-synaptic axonal degeneration in the visual pathway in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2014;75:98–107. doi.org/10.1002/ana.24030.
- [180] Ashtari F, Emami P, Akbari M. Association between retinal nerve fiber layer thickness and magnetic resonance imaging findings and intelligence in patients with multiple sclerosis. *Adv Biomed Res* 2015;4:223. doi.org/10.4103/2277-9175.166646.
- [181] González Gómez A, García-Ben A, Soler García A, García-Basterra I, Padilla Parrado F, García-Campos JM. Longitudinal study of visual function in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis with and without a history of optic neuritis. *Neurologia* 2019;34:241–7. doi.org/10.1016/j.nrl.2017.01.003.

- [182] Baier ML, Cutter GR, Rudick RA, Miller D, Cohen JA, Weinstock-Guttman B, et al. Low-contrast letter acuity testing captures visual dysfunction in patients with multiple sclerosis. *Neurology* 2005;64:992–5. doi.org/10.1212/01.WNL.0000154521.40686.63.
- [183] Chahin S, Balcer LJ, Miller DM, Zhang A, Galetta SL. Vision in a phase 3 trial of natalizumab for multiple sclerosis: relation to disability and quality of life. *J Neuroophthalmol* 2015;35:6–11. doi.org/10.1097/WNO.0000000000000173.
- [184] Frohman EM, Dwyer MG, Frohman T, Cox JL, Salter A, Greenberg BM, et al. Relationship of optic nerve and brain conventional and non-conventional MRI measures and retinal nerve fiber layer thickness, as assessed by OCT and GDx: A pilot study. *J Neurol Sci* 2009;282:96–105. doi.org/10.1016/j.jns.2009.04.010.
- [185] 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;113:324–32. doi.org/10.1016/j.optha.2005.10.040.
- [186] Talman LS, Bisker ER, Sackel DJ, Long DA Jr, Galetta KM, Ratchford JN, et al. Longitudinal study of vision and retinal nerve fiber layer thickness in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2010;67:749–60. doi.org/10.1002/ana.22005.
- [187] Kolappan M, Henderson APD, Jenkins TM, Wheeler-Kingshott CAM, Plant GT, Thompson AJ, et al. Assessing structure and function of the afferent visual pathway in multiple sclerosis and associated optic neuritis. *J Neurol* 2009;256:305–19. doi.org/10.1007/s00415-009-0123-z.
- [188] Nguyen J, Rothman A, Fitzgerald K, Whetstone A, Syc-Mazurek S, Aquino J, et al. Visual pathway measures are associated with neuropsychological function in multiple sclerosis. *Curr Eye Res* 2018;43:941–8. doi.org/10.1080/02713683.2018.1459730.
- [189] Balcer LJ, Baier ML, Cohen JA, Kooijmans MF, Sandrock AW, Nano-Schiavi ML, et al. Contrast letter acuity as a visual component for the Multiple Sclerosis Functional Composite. *Neurology* 2003;61:1367–73. doi.org/10.1212/01.wnl.0000094315.19931.90.

- [190] Toledo J, Sepulcre J, Salinas-Alaman A, García-Layana A, Murie-Fernandez M, Bejarano B, et al. Retinal nerve fiber layer atrophy is associated with physical and cognitive disability in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2008;14:906–12. doi.org/10.1177/1352458508090221.
- [191] Bsteh G, Berek K, Hegen H, Altmann P, Wurth S, Auer M, et al. Macular ganglion cell–inner plexiform layer thinning as a biomarker of disability progression in relapsing multiple sclerosis. *Mult Scler* 2021;27:684–94. doi.org/10.1177/1352458520935724.
- [192] Bsteh G, Hegen H, Teuchner B, Amprosi M, Berek K, Ladstätter F, et al. Peripapillary retinal nerve fibre layer as measured by optical coherence tomography is a prognostic biomarker not only for physical but also for cognitive disability progression in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2019;25:196–203. doi.org/10.1177/1352458517740216.
- [193] Berek K, Hegen H, Hoher J, Auer M, Di Pauli F, Krajnc N, et al. Retinal layer thinning as a biomarker of long-term disability progression in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2022;28:1871–80. doi.org/10.1177/13524585221097566.
- [194] Lambe J, Fitzgerald KC, Murphy OC, Filippatou AG, Sotirchos ES, Kalaitzidis G, et al. Association of spectral-domain OCT with long-term disability worsening in multiple sclerosis. *Neurology* 2021;96:e2058–69. doi.org/10.1212/WNL.00000000000011788.
- [195] Martinez-Lapiscina EH, Sepulveda M, Torres-Torres R, Alba-Arbalat S, Llufríu S, Blanco Y, et al. Usefulness of optical coherence tomography to distinguish optic neuritis associated with AQP4 or MOG in neuromyelitis optica spectrum disorders. *Ther Adv Neurol Disord* 2016;9:436–40. doi.org/10.1177/1756285616655264.
- [196] Pakeerathan T, Havla J, Schwake C, Salmen A, Bigi S, Abegg M, et al. Characteristic retinal atrophy pattern allows differentiation between pediatric MOGAD and MS after a single optic neuritis episode. *J Neurol* 2022;269:6366–76. doi.org/10.1007/s00415-022-11256-y.
- [197] Cortese R, Prados Carrasco F, Tur C, Bianchi A, Brownlee W, De Angelis F, et al. Differentiating multiple sclerosis from AQP4-Neuromyelitis optica spectrum disorder and MOG-Antibody disease with imaging. *Neurology* 2023;100:e308–23. doi.org/10.1212/WNL.000000000000201465.

- [198] Gao C, Zhuo Z, Duan Y, Yao Y, Su L, Zhang X, et al. Structural and functional alterations in visual pathway after optic neuritis in MOG antibody disease: A comparative study with AQP4 seropositive NMOSD. *Front Neurol* 2021;12:673472. doi.org/10.3389/fneur.2021.673472.
- [199] Jarius S, Ruprecht K, Kleiter I, Borisow N, Asgari N, Pitarokoili K, et al. MOG-IgG in NMO and related disorders: a multicenter study of 50 patients. Part 2: Epidemiology, clinical presentation, radiological and laboratory features, treatment responses, and long-term outcome. *J Neuroinflammation* 2016;13:280. doi.org/10.1186/s12974-016-0718-0.
- [200] Chen JJ, Sotirchos ES, Henderson AD, Vasileiou ES, Flanagan EP, Bhatti MT, et al. OCT retinal nerve fiber layer thickness differentiates acute optic neuritis from MOG antibody-associated disease and Multiple Sclerosis: RNFL thickening in acute optic neuritis from MOGAD vs MS. *Mult Scler Relat Disord* 2022;58:103525. doi.org/10.1016/j.msard.2022.103525.
- [201] Liang J, Zhang Y, Liu K, Xu X, Zhao X, Qiu W, et al. Comparing evolvement of visual field defect in neuromyelitis optica spectrum disorder-optic neuritis and idiopathic optic neuritis: a prospective study. *BMC Ophthalmol* 2022;22:338. doi.org/10.1186/s12886-022-02510-y.
- [202] Moheb N, Chen JJ. The neuro-ophthalmological manifestations of NMOSD and MOGAD—a comprehensive review. *Eye* 2023;37:2391–8. doi.org/10.1038/s41433-023-02477-0.
- [203] Hernandez Fustes OJ, Kay CSK, Lorenzoni PJ, Ducci RD-P, Werneck LC, Scola RH. Visual evoked potentials in neuromyelitis optica spectrum disorders. *J Cent Nerv Syst Dis* 2021;13:11795735211057315. doi.org/10.1177/11795735211057315.
- [204] Sujanthan S, Shmuel A, Mendola JD. Resting-state functional MRI of the visual system for characterization of optic neuropathy. *Front Hum Neurosci* 2022;16:943618. doi.org/10.3389/fnhum.2022.943618.
- [205] Backner Y, Ben-Shalom I, Kuchling J, Siebert N, Scheel M, Ruprecht K, et al. Cortical topological network changes following optic neuritis. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2020;7. doi.org/10.1212/NXI.0000000000000687.

- [206] Benoliel T, Raz N, Ben-Hur T, Levin N. Cortical functional modifications following optic neuritis. *Mult Scler* 2017;23:220–7. doi.org/10.1177/1352458516649677.
- [207] Finke C, Zimmermann H, Pache F, Oertel FC, Chavarro VS, Kramarenko Y, et al. Association of visual impairment in neuromyelitis optica spectrum disorder with visual network reorganization. *JAMA Neurol* 2018;75:296–303. doi.org/10.1001/jamaneurol.2017.3890.
- [208] Kleerekoper I, Petzold A, Trip SA. Anterior visual system imaging to investigate energy failure in multiple sclerosis. *Brain* 2020;143:1999–2008. doi.org/10.1093/brain/awaa049.
- [209] Campbell G, Mahad DJ. Mitochondrial dysfunction and axon degeneration in progressive multiple sclerosis. *FEBS Lett* 2018;592:1113–21. doi.org/10.1002/1873-3468.13013.
- [210] Errea O, Moreno B, Gonzalez-Franquesa A, Garcia-Roves PM, Villoslada P. The disruption of mitochondrial axonal transport is an early event in neuroinflammation. *J Neuroinflammation* 2015;12:152. doi.org/10.1186/s12974-015-0375-8.
- [211] David MA, Tayebi M. Detection of protein aggregates in brain and cerebrospinal fluid derived from multiple sclerosis patients. *Front Neurol* 2014;5:251. doi.org/10.3389/fneur.2014.00251.
- [212] Zeydan B, Lowe VJ, Reichard RR, Przybelski SA, Lesnick TG, Schwarz CG, et al. Imaging biomarkers of alzheimer disease in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2020;87:556–67. doi.org/10.1002/ana.25684.
- [213] Srinivasan R, Sailasuta N, Hurd R, Nelson S, Pelletier D. Evidence of elevated glutamate in multiple sclerosis using magnetic resonance spectroscopy at 3 T. *Brain* 2005;128:1016–25. doi.org/10.1093/brain/awh467.
- [214] Nantes JC, Proulx S, Zhong J, Holmes SA, Narayanan S, Brown RA, et al. GABA and glutamate levels correlate with MTR and clinical disability: Insights from multiple sclerosis. *Neuroimage* 2017;157:705–15. doi.org/10.1016/j.neuroimage.2017.01.033.

- [215] Azevedo CJ, Kornak J, Chu P, Sampat M, Okuda DT, Cree BA, et al. In vivo evidence of glutamate toxicity in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2014;76:269–78. doi.org/10.1002/ana.24202.
- [216] Lu S, Wang D, Zhang F, Liu M. Magnetic Resonance image in monitor and diagnosis of patients with neuromyelitis Optica. *Contrast Media Mol Imaging* 2022; 1430380. doi.org/10.1155/2022/1430380.
- [217] Graves JS, Oertel FC, Van der Walt A, Collorone S, Sotirchos ES, Pihl-Jensen G, et al. Leveraging visual outcome measures to advance therapy development in neuroimmunologic disorders. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2022;9. doi.org/10.1212/NXI.0000000000001126.
- [218] Motamedi D, Mayeli M, Shafie M, Sattarpour R, Jazani MR, Tafakhori A, et al. Memantine administration in patients with optic neuritis: a double blind randomized clinical trial. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2022;260:3969–75. doi.org/10.1007/s00417-022-05720-8.
- [219] Lagrèze WA, Küchlin S, Ihorst G, Grotejohann B, Beisse F, Volkmann M, et al. Safety and efficacy of erythropoietin for the treatment of patients with optic neuritis (TONE): a randomised, double-blind, multicentre, placebo-controlled study. *Lancet Neurol* 2021;20:991–1000. doi.org/10.1016/S1474-4422(21)00322-7.
- [220] Villoslada P, Masso M, Paris S, Hutchings S, Koch A. A Phase 1 randomized study on the safety and pharmacokinetics of OCS-05, a neuroprotective disease modifying treatment for acute optic neuritis and multiple sclerosis. *Sci Rep* 2023;13:5099. doi.org/10.1038/s41598-023-32278-0.
- [221] Green AJ, Gelfand JM, Cree BA, Bevan C, Boscardin WJ, Mei F, et al. Clemastine fumarate as a remyelinating therapy for multiple sclerosis (ReBUILD): a randomised, controlled, double-blind, crossover trial. *Lancet* 2017;390:2481–9. doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32346-2.
- [222] Andorrà M, Alba-Arbalat S, Camos-Carreras A, Gabilondo I, Fraga-Pumar E, Torres-Torres R, et al. Using acute optic neuritis trials to assess neuroprotective and remyelinating therapies in multiple sclerosis. *JAMA Neurol* 2020;77:234–44. doi.org/10.1001/jamaneurol.2019.3283.

- [223] Backner Y, Kuchling J, Massarwa S, Oberwahrenbrock T, Finke C, Bellmann-Strobl J, et al. Anatomical wiring and functional networking changes in the visual system following optic neuritis. *JAMA Neurol* 2018;75:287–95. doi.org/10.1001/jamaneurol.2017.3880.
- [224] Levin N, Orlov T, Dotan S, Zohary E. Normal and abnormal fMRI activation patterns in the visual cortex after recovery from optic neuritis. *Neuroimage* 2006;33:1161–8. doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.07.030.
- [225] Wu GF, Brier MR, Parks CA-L, Ances BM, Van Stavern GP. An eye on brain integrity: acute optic neuritis affects resting state functional connectivity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56:2541–6. doi.org/10.1167/iovs.14-16315.
- [226] Gigengack NK, Oertel FC, Motamedi S, Bereuter C, Duchow A, Rust R, et al. Structure-function correlates of vision loss in neuromyelitis optica spectrum disorders. *Sci Rep* 2022;12:17545. doi.org/10.1038/s41598-022-19848-4.
- [227] Deschamps R, Shor N, Vignal C, Guillaume J, Boudot de la Motte M, Salviat F, et al. Prospective longitudinal study on prognostic factors of visual recovery and structural change after a first episode of optic neuritis. *Eur J Neurol* 2022;29:2781–91. doi.org/10.1111/ene.15420.
- [228] Balk LJ, Coric D, Knier B, Zimmermann HG, Behbehani R, Alroughani R, et al. Retinal inner nuclear layer volume reflects inflammatory disease activity in multiple sclerosis; a longitudinal OCT study. *Mult Scler J Exp Transl Clin* 2019;5:2055217319871582. doi.org/10.1177/2055217319871582.
- [229] 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;263:1323–31. doi.org/10.1007/s00415-016-8127-y.
- [230] Paul F, Calabresi PA, Barkhof F, Green AJ, Kardon R, Sastre-Garriga J, et al. Optical coherence tomography in multiple sclerosis: A 3-year prospective multicenter study. *Ann Clin Transl Neurol* 2021;8:2235–51. doi.org/10.1002/acn3.51473.

- [231] Cordano C, Nourbakhsh B, Yiu HH, Papinutto N, Caverzasi E, Abdelhak AC, et al. Differences in age-related retinal and cortical atrophy rates in multiple sclerosis. *Neurology* 2022. doi.org/10.1212/WNL.0000000000200977.
- [232] Villoslada P, Llufriu S. Preventing Neurodegeneration in multiple sclerosis is required from the earliest stages of the disease. *Neurology* 2022;99:641–2. doi.org/10.1212/WNL.0000000000201223.
- [233] Bsteh G, Hegen H, Teuchner B, Berek K, Wurth S, Auer M, et al. Peripapillary retinal nerve fibre layer thinning rate as a biomarker discriminating stable and progressing relapsing-remitting multiple sclerosis. *Eur J Neurol* 2019;26:865–71. doi.org/10.1111/ene.13897.
- [234] Mirmosayyeb O, Zivadinov R, Weinstock-Guttman B, Benedict RHB, Jakimovski D. Optical coherence tomography (OCT) measurements and cognitive performance in multiple sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *J Neurol* 2023;270:1266–85. doi.org/10.1007/s00415-022-11449-5.
- [235] Coric D, Balk LJ, Verrijp M, Eijlers A, Schoonheim MM, Killestein J, et al. Cognitive impairment in patients with multiple sclerosis is associated with atrophy of the inner retinal layers. *Mult Scler* 2018;24:158–66. doi.org/10.1177/1352458517694090.
- [236] Krämer J, Balloff C, Weise M, Koska V, Uthmeier Y, Esderts I, et al. Evolution of retinal degeneration and prediction of disease activity in relapsing and progressive multiple sclerosis. *Nat Commun* 2024;15:5243. doi.org/10.1038/s41467-024-49309-7.
- [237] Schurz N, Sariaslani L, Altmann P, Leutmezer F, Mitsch C, Pemp B, et al. Evaluation of retinal layer thickness parameters as biomarkers in a real-world multiple sclerosis cohort. *Eye Brain* 2021;13:59–69. doi.org/10.2147/EB.S295610.
- [238] Saidha S, Sotirchos ES, Ibrahim MA, Crainiceanu CM, Gelfand JM, Sepah YJ, et al. Microcystic macular oedema, thickness of the inner nuclear layer of the retina, and disease characteristics in multiple sclerosis: a retrospective study. *Lancet Neurol* 2012;11:963–72. doi.org/10.1016/S1474-4422(12)70213-2.

- [239] Murphy OC, Sotirchos ES, Kalaitzidis G, Vasileiou E, Ehrhardt H, Lambe J, et al. Trans-synaptic degeneration following acute optic neuritis in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2023;93:76–87. doi.org/10.1002/ana.26529.
- [240] Knier B, Schmidt P, Aly L, Buck D, Berthele A, Mühlau M, et al. Retinal inner nuclear layer volume reflects response to immunotherapy in multiple sclerosis. *Brain* 2016;139:2855–63. doi.org/10.1093/brain/aww219.
- [241] Amezcua L, Robers MV, Soneji D, Manouvakhova O, Martinez A, Islam T. Inclusion of optic neuritis in dissemination in space improves the performance of McDonald 2017 criteria in Hispanic people with suspected multiple sclerosis. *Mult Scler* 2023;29:1748–54. doi.org/10.1177/13524585231209016.
- [242] Sepulcre J, Vanotti S, Hernández R, Sandoval G, Cáceres F, Garcea O, et al. Cognitive impairment in patients with multiple sclerosis using the Brief Repeatable Battery-Neuropsychology test. *Mult Scler* 2006;12:187–95. <https://doi.org/10.1191/1352458506ms1258oa>.