



**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA“ DIN BUCUREȘTI**



Str. Dionisie Lupu 37, sector 2, București, 020021, România, www.umfd.ro, email: rectorat@umfd.ro

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
DOMENIUL MEDICINĂ**

**CORELAȚII ÎNTRE MARKERI PREDICTORI
PENTRU EVOLUȚIA SCLEROZEI MULTIPLE
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. BOGDAN OVIDIU POPESCU

Student-doctorand:

TIU VLAD-EUGEN

ANUL 2023

Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila” din București

Strada Dionisie Lupu nr. 37 București, Sector 2, 020021 România, Cod fiscal: 4192910

Cont: RO57TREZ70220F330500XXXX, Banca: TREZORERIE sect. 2

+40.21 318.0719; +40.21 318.0721; +40.21 318.0722

www.umfd.ro

Cuprins

Cuprins	1
Lista lucrărilor publicate	4
Lista cu abrevieri și simboluri.....	5
Introducere	8
Partea generală	11
1.1 Stadiul cunoașterii actuale în fiziopatologia sclerozei multiple	11
2. Factori de prognostic în scleroza multiplă.....	26
2.1 Biomarkeri prognostici în scleroza multiplă.....	26
2.2 Biomarkeri umorali.....	26
2.2.1 Amiloid A β 42	26
2.2.2 Neurofilamente.....	28
2.2.3 Benzi oligoclonale și index imunoglobulinic.....	29
2.3 Biomarkeri imagistici	30
2.3.1 Imagistica prin rezonanță magnetică.....	30
2.3.2 Tomografia computerizată în coerență optică	32
2.4 Factori de prognostic clinic în scleroza multiplă	33
2.4.1 Factori clinici de prognostic în scleroza multiplă	33
2.4.2 Scoruri prognostice	34
Partea originală.....	36
3. Ipoteză de lucru și obiectivele generale	36
4. Metodologia generală a cercetării	36
4.1 Tipul studiului	36
4.2 Lotul de pacienți.....	36
4.3 Protocol de studiu și colectarea datelor.....	37
4.4 Variabile clinice utilizate în studiu.....	39

4.5	Biomarkeri umorali utilizați în studiu	40
4.6	Biomarkeri imagistici utilizați în studiu.....	40
4.7	Definiții utilizate în cadrul studiului	42
4.8	Evaluarea comitetului de etică și obținerea consimțământului informat	43
4.9	Analiza statistică	43
4.10	Prelucrarea probelor biologice	44
5. Corelații între biomarkeri predictori și declinul cognitiv de la momentul diagnosticului de scleroză multiplă recurent remisivă		
		46
5.1.	Introducere	46
5.2.	Pacienți și metodologie	46
5.3.	Rezultate.....	47
5.3.1	Analiza preliminară a datelor	47
5.3.2	Corelații între testele cognitive și factori prognostici	59
5.3.3	Modele predictive. Analiza multivariată	73
5.4.	Discuții	77
5.5.	Concluzii	87
6. Factori predictivi pentru progresia scorului EDSS-plus la momentul diagnosticului de scleroză multiplă recurent remisivă		
		88
6.1.	Introducere	88
6.2.	Pacienți și metodologie	89
6.3.	Rezultate.....	91
6.3.1	Analiza preliminară a datelor	91
6.3.2	Corelații între factorii prognostici	93
6.3.3	Analiza corelației dintre scorul EDSS și factorii prognostici	97
6.3.4	Analiza factorilor determinanți asupra scorului EDSS-plus	105
6.3.5	Modele predictive pentru scorul EDSS-plus.....	111
6.4.	Discuții	115
6.5.	Concluzii	122

7. Concluzii și contribuții personale.....	124
Bibliografie	127
Anexa 1 Scorul BREMSO	149
Anexa 2 Scorul RoAD	150

Lista lucrărilor publicate

Tiu VE, Popescu BO, Enache II, Tiu C, Terecoasa E, Panea CA. Serum and CSF Biomarkers Predict Active Early Cognitive Decline Rather Than Established Cognitive Impairment at the Moment of RRMS Diagnosis. *Diagnostics* (Basel, Switzerland). 2022 Oct;12(11). **IF 3.992** – capitolul 5

<https://www.mdpi.com/1902140>

Tiu VE, Popescu BO, Enache II, Tiu C, Cherecheanu AP, Panea CA. Serum Neurofilaments and OCT Metrics Predict EDSS-Plus Score Progression in Early Relapse-Remitting Multiple Sclerosis. Vol. 11, *Biomedicines*. 2023. **IF 4.757** – capitolul 6

<https://www.mdpi.com/2144898>

Tiu VE, Enache I, Panea CA, Tiu C, Popescu BO. Predictive MRI Biomarkers in MS- A Critical Review. Vol. 58, *Medicina* . 2022. **IF 2.948** – capitolul 1,5,6

<https://www.mdpi.com/1527230>

Rezumatul tezei de doctorat

Introducere

Teza de doctorat de față își propune o analiză in extenso a principalilor factori de risc asociați cu un prognostic negativ pentru pacienții cu scleroză multiplă recurent remisivă.

Partea generală propune o scurtă trecere în revistă a datelor disponibile la momentul de față privind fiziopatologia bolii, discuția fiind axată pe dovezile privind raportul dintre procesele imune inflamatorii și cele neurodegenerative. Este urmată de o scurtă recapitulare a celor mai importanți factori clinici și biomarkeri umorali și imagistici în uz astăzi în centrele de scleroză multiplă din întreaga lume.

Partea specială urmărește apoi potențialul acestor biomarkeri de a prezice evoluția pacienților pe termen ultra-scurt (6 luni-un an) din punct de vedere al progresiei dizabilității și al funcției cognitive.

Miza este una importantă: identificarea pacienților cu un risc important de deteriorare clinică încă de la momentul diagnosticului de scleroză multiplă. O selecție corectă a pacienților poate influența decizia terapeutică la momentul inițierii terapiei imunomodulatoare, precum și protocolul de supraveghere clinică și imagistică, cu un răsunet important în ceea ce privește evoluția pacienților pe termen lung.

Stadiul cunoașterii actuale în fiziopatologia sclerozei multiple

Scleroza multiplă este o patologie a sistemului nervos central, afectând atât substanța albă cât și substanța cenușie, și implicând procese de neuroinflamație, demielinizare și neurodegenerare. (1,2)

Există o dispută la acest moment în lumea academică referitor la procesul fiziopatologic inițial care declanșează aceste elemente. Unii autori consideră că boala are o etiologie autoimună, în timp ce alți autori consideră că SM este o boală neurodegenerativă care generează în mod secundar un răspuns imun de intensitate variabilă.(3)

Cele două teorii, probabil cele mai importante la momentul de față privind originea sclerozei multiple, poartă denumirea de „inside-out” (teoria neurodegenerativă) și „outside-in” (teoria autoimună). Implicațiile lor sunt remarcabile, și confirmarea a oricare dintre

acestea ar ghida ar schimba felul în care ne raportăm la SM din punct de vedere al tratamentului și factorilor predictorii. (4)

Trebuie menționat că, la acest moment, nu există decât cel mult dovezi indirecte și circumstanțiale privind natura auto-imună a sclerozei multiple. (5–7)

Teoria outside-in se bazează pe dovezile legate de implicarea celulelor imune în fiziopatologia bolii, fiind descrie roluri pentru limfocitele T, B, dar și Th tip 17, Nk, etc. (8–11) Studiile care au analizat posibilele mutații genetice care predispun la SM au identificat peste 200 de variante autozomale de susceptibilitate, majoritatea implicând sistemul imun, și doar o mică proporție de celulele proprii ale sistemului nervos central.(12)(13)

Limfocitele B joacă un rol important de altfel ceea ce a fost descris drept „procesul imun compartimentalizat” din SM, o sinteză crescută a unor populații oligoclonale de imunoglobuline exclusiv la nivelul sistemului nervos central. Acest proces este obiectivat paraclinic prin benzile oligoclonale sau indexul imunoglobulinic din lichidul cefalorahidian. Decenii de studii clinice și cercetări a căror amplitudine nu trebuie subestimată nu au reușit încă să deceleze o legătură clară, directă, între un antigen de tip self de la nivelul sistemului nervos central și un autoanticorp identificat în lichidul cefalorahidian sau sângele pacienților cu scleroză multiplă.(14) Date noi sugerează că, cel puțin în cea mai mare parte, acest răspuns imun este nespecific și este îndreptat către antigene independente de sistemul nervos central, dar care prezintă o reactivitate încrucișată cu antigenele self de la acest nivel.(15,16)

Această reacție încrucișată este cel mai adesea atribuită unui trigger viral, cele mai puternice dovezi în acest sens fiind legate de virusul Epstein Barr (EBV). Riscul de SM crește cu un RR de 2.17, 95% CI 1.97-2.3 după mononucleoza infecțioasă, iar pacienții cu SM au o rată de seropozitivitate EBV crescută față de populația generală (aproape 100% față de 80-90%). (17,18)(19) Un studiu recent din 2022 a arătat de asemenea că infecția cu EBV aduce un Hazard Ratio (HR) de 32.4 de a dezvolta SM la cei cu predispoziție genetică.(20) Mecanismul incriminat de unii autori este de mimetism molecular între antigenul nuclear 1 EBV (EBNA1) și molecula de adeziune glială celulară (GlialCAM), existând un studiu care a demonstrat că celulele B clonale pot produce anticorpi care reacționează încrucișat cu EBNA1 și GlialCAM.(21,22). Un alt argument adus în favoarea teoriei imune este răspunsul bolii la terapii imunosupresoare.(23)

În ceea ce privește teoria inside-out, studiile de microscopie electronică ne arată că primele anomalii ale tecii de mielină în fazele inițiale ale bolii par să implice teacă internă de mielină a unor axoni aparent neafecțați și complet mielinizați, departe de focare de inflamație. Mai mult, această modificare uniformă a structurii tecii de mielină internă se petrece adesea în contextul unei strat extern de mielină încă perfect intact. Nu este însă clar dacă aceste modificări structurale sunt expresia unei mielinopatii sau secundare unei leziuni a oligodendrogliei.(24,25) Unii autori au propus ca prim eveniment în scleroza multiplă perturbarea barierei hemato-encefalice (BHE) printr-un mecanism încă incert, posibil o infecție virală (cu EBV), dar cu multipli alți triggeri posibili precum traumatisme, stress, inflamație sistemică, disfuncție astrocitară etc., la care indivizii cu susceptibilitate genetică vor declanșa ulterior boala printr-un răspuns astrocitar patologic.(26)

Grupuri de autori consideră de altfel, în spiritul teoriei inside-out, că scleroza multiplă primar progresivă (SMPP) și SMRR sunt doar forme fenotipice diferite ale aceleiași boli, singura diferență dintre ele fiind predispoziția genetică a pacienților cu SMRR către un răspuns imun exagerat și de lungă durată la eliberarea constantă a unor compuși puternic imunogenici precum detritusul mielinic. Mecanismele propuse pentru elementul degenerativ sunt inflamația leptomeningeală compartimentalizată în spatele unei BHE relativ intacte, stresul oxidativ ducând la afectare mitocondrială, activare microglială cronică și disfuncție oligodendrocitară cu leziuni axonale.(27)(3)

Acest concept de boală primar neurodegenerativă (inside-out) a evoluat în ultimii ani către ceea ce un grup de autori consideră a fi „smouldering MS” (scleroză multiplă mocnită). G. Giovannoni et al. argumentează că există dovezi acum că procesele neurodegenerative sunt prezente din cele mai precoce faze ale bolii și continuă să fie prezente pe tot parcursul ei, indiferent de activitatea inflamatorie, fiind cunoscut la acest moment că majoritatea dizabilității survine independent de pusee chiar și în SMRR, încă de la debut.(28)

Putem încheia prin concluzia că există argumente puternice în favoarea ambelor teorii, fără să putem însă elimina definitiv niciuna dintre ele. În oricare dintre variante, scleroza multiplă pare să aibă la bază un mecanism extrem de complex, multideterministic, cu o intricată interacțiune între factorii de mediu și susceptibilitatea genetică.

Din aceste motive, scleroza multiplă este considerată o boală cu evoluție imprevizibilă (29,30), o boală unde este nevoie de o bună înțelegere a mecanismelor fiziopatologice pentru

a putea identifica și evalua potențialul diverșilor factori prognostici propuși de-a lungul timpului.

Factori de prognostic în scleroza multiplă

Biomarkeri umorali

Dintre biomarkerii umorali cu rol prognostic în SM, am analizat în cadrul acestui studiu biomarkeri serici (neurofilamente), precum și biomarkeri din LCR (amiloid A β 42, neurofilamente, benzi oligoclonale, index imunoglobulinic).

Amiloidul beta 1-42 (A β 42), derivat din clivarea proteinelor precursorare amiloide (APP) (31) este un biomarker cunoscut mai degrabă pentru patologia bolii Alzheimer, unde scăderea fracțiunii A β 42 joacă un rol diagnostic și prognostic. (32–34) Rolul proteinelor amiloide în SM este încă incert.(35) Unii autori au demonstrat că este un potențial biomarker predictiv al funcției cognitive în SM (36–38), iar un studiu recent a demonstrat că valori scăzute în LCR prezic o evoluție nefavorabilă pe termen mediu (EDSS>3.0 la 5 ani de urmărire)(39), dar și la 3 ani în alt studiu (40), cu un rol sugerat ca biomarker predictor privind riscul de progresie a bolii la 3-5 ani.(41)

Neurofilamentele reprezintă o componentă proteică fiziologică a structurii axonale, cu rol în menținerea stabilității mitocondriale, a conținutului microtubulilor, a structurii și funcției dendritice și în reglarea neurotransmiterii în sinapsele glutamatergice și dopaminergice. Dintre subunitățile identificate, lanțul ușor este cel mai bine studiat la acest moment. (42,43) Nivelul fiziologic circulant de neurofilamente este, în mod normal, unul extrem de redus, însă în cadrul unor leziuni acute, active, concentrația lor crește.

Deși nu este un biomarker specific SM, a fost demonstrat că se corelează excelent ca putere predictivă pentru numeroși parametri clinici în SMRR, inclusiv atrofia corticală, fatigabilitatea și progresia dizabilității clinice și a disfuncției cognitive, atât pe termen scurt, mediu și lung (>10 ani de urmărire).(42,44–49) Pentru valorile sNfL se recomandă ajustarea în funcție de vârstă și indicele de masă corporală, conform calculatorului online pus la dispoziție de echipa prof. dr. J. Kuhle. (50)

Sinteza compartimentalizată de imunoglobuline de la nivelul sistemului nervos central poate fi obiectivată paraclinic prin dozarea benzilor oligoclonale și a indexului imunoglobulinic. Benzile oligoclonale sunt un important biomarker diagnostic în scleroză

multiplă, fiind prezente la aproximativ 90% dintre pacienți.(51) Sunt considerate un biomarker predictor pentru multiple aspecte ale bolii, inclusiv riscul de a dezvolta boala în urma unui sindrom clinic izolat (52), precum și un risc crescut de activitate inflamatorie, rată de atrofie accelerată și acumulare mai rapidă a dizabilității.(51) Indexul imunoglobulinic, mai rar urmărit în literatura internațională, este un biomarker predictiv pentru o activitate crescută a bolii în fazele precoce.(53)

Biomarkeri imagistici

Biomarkerii imagistici urmăriți în studiul nostru au fost cei legați de imagistica prin rezonanță magnetică (IRM), precum și cei legați de tomografia computerizată în coerență optică.

Rolul IRM ca biomarker diagnostic, de evaluare a răspunsului terapeutic, de evaluare a reacțiilor adverse la medicație și predictiv este incontestabil în scleroza multiplă.(54,55) Din motive obiective care țin în mare măsură de limitări tehnice ale imaginilor achiziționate în cadrul studiului, am decis să utilizăm doar parametri de prognostic negativ derivați din tehnicile clasice de imagistică. Astfel conform unui consens publicat recent de un grup de lucru ECTRIMS, au fost interpretate ca repere de prognostic negativ: ≥ 20 leziuni în hipersemnal T2/FLAIR la momentul diagnosticului, ≥ 2 de leziuni cu priză de contrast (GdE) la momentul diagnosticului, ≥ 3 leziuni noi în hipersemnal T2/FLAIR la un an de urmărire, ≥ 1 leziune cu priză de contrast (GdE) la un an de urmărire. Am decis să nu utilizăm ca biomarkeri imagistici prezența găurilor negre vizibile T1 sau leziunile infratentoriale sau spinale.(56)

Tomografia computerizată în coerență optică este o metodă imagistică non-contact utilizată pentru a obține imagini în secțiune transversă de înaltă rezoluție a retinei.(57) Dintre măsurătorile standard obținute prin această examinare, cele mai ample corelate cu mecanismele fiziopatologice ale sclerozei multiple sunt stratul de fibre nervoase retiniene (RNFL), respectiv stratul de celule maculare ganglionare împreună cu stratul plexiform intern (GCL-IPL). Reflectând probabil procesele neurodegenerative asociate SM ce implică întregul SNC, cei doi parametri se corelează (independent de afectarea directă a nervilor optici prin nevrute optice retrobulbare) cu dizabilitatea pe termen mediu și lung, RNFL având de altfel și o bună putere predictivă individuală.(58) RNFL a arătat de asemenea putere

predictivă pentru declinul cognitiv la pacienții cu SM (cei cu o grosime a RNFL mai scăzută au un risc mai mare de a prezenta un declin cognitiv pe termen mediu și lung).(59,60)

Stratul GCL-IPL a fost mai puțin evaluat ca biomarker predictiv în SM. El este considerat un bun predictor al degenerescentei axonale difuze în bolile neurodegenerative ale SNC, fiind dovedită o corelație între grosimea sa medie și evoluția bolii Alzheimer (60,61).

Factori de prognostic clinic

Conform consensului ECTRIMS privind factorii de risc pentru forme agresive de boală, am decis să considerăm în acest studiu drept elemente de prognostic negativ următoarele elemente clinice: sexul masculin, vârsta la debut >35 ani, pusee severe, pusee frecvente în primii 5 ani, intervale scurte între pusee, acumularea rapidă de dizabilitate între pusee, EDSS de 3.0 sau mai mare în primul an de evoluție a bolii. (56)

Am decis de asemenea să evaluăm rolul prognostic pentru scorul BREMSO (Bayesian Risk Estimate for MS at onset). Acest scor este gândit pentru a prezice riscul unei evoluții nefavorabile pe termen lung (scor EDSS ≥ 6.0 la zece ani și tranziția la forma SMSP). Datele necesare sunt vârsta, sexul, afectarea sfincteriană la debut, afectare motorie sau motor senzitivă la debut, numărul de sisteme funcționale afectate la debut și recuperarea incompletă după puseul inițial. (62)

Un alt scor de interes este scorul RoAD (Risk of Ambulatory Disability). Acesta calculează riscul ca pacienții să prezinte un nivel semnificativ de dizabilitate (EDSS=6.0 sau mai mult) la zece ani de urmărire sub tratament imunomodulator. Scorul se bazează pe date disponibile după 1 an de urmărire de la momentul diagnosticului de SMRR și respectiv inițierii DMT. Variabilele necesare sunt: sexul și vârsta pacientului, durata simptomelor, scorul EDSS bazal, scorul EDSS la 1 an de urmărire, numărul de pusee din primul an sub DMT și apariția de noi leziuni hiperintense T2/FLAIR pe IRM de urmărire la un an.(63)

Ipoteză

Studiul de față urmărește interacțiunea factorilor prognostici pentru o evoluție negativă în scleroza multiplă (SM) recurent remisivă (SMRR) la momentul diagnosticului.

Ipoteza principală este că există o corelație între acești factori de risc și principalele măsurători clinice la momentul diagnosticului și la un an de evoluție.

Ipotezele secundare sunt că există o corelație între principalii biomarkeri prognostici utilizați în scleroză multiplă, precum și că se pot dezvolta modele predictive pe baza lor pentru a prezice evoluția pe termen ultra-scurt (6 luni-un an) a pacienților cu SMRR de la momentul diagnosticului.

Obiective

Obiectivele au urmărit ipotezele enunțate mai sus, și au fost stabilite individual pentru fiecare dintre cele 2 studii cuprinse în teza de doctorat.

Astfel, pentru studiul inițial, care a urmărit corelația biomarkerilor predictivi cu funcția cognitivă a pacienților cu SMRR, au fost stabilite următoarele obiective:

Obiectivul principal a fost reprezentat de identificarea unor factori prognostici clinici și/sau biomarkeri imagistici și umorali care să se coreleze cu declinul cognitiv activ al pacienților cu SMRR.

Au existat de asemenea două obiective secundare: primul este legat de utilizarea acestor factori prognostici pentru crearea unui model predictor cu sensibilitate și specificitate mai bună decât puterea predictivă independentă a fiecărui biomarker în sine.

Un al doilea obiectiv secundar a fost identificarea unor factori prognostici care să se coreleze cu statusul cognitiv al pacienților la momentul diagnosticului sau la un an de urmărire.

Pentru cel de-al doilea studiu inclus în teza doctorală, care a urmărit corelația biomarkerilor predictivi cu progresia precoce a dizabilității (măsurată prin scorul EDSS-plus), au fost stabilite obiectivele următoare:

Obiectivul principal a fost identificarea factorilor prognostici pentru pacienții cu SMRR la momentul diagnosticului privind riscul de a prezenta o progresie a scorului EDSS-plus la un an.

Obiectivele secundare au fost utilizarea acestor biomarkeri predictivi pentru a crea un model multivariat privind riscul de status progresor EDSS-plus la un an, precum și explorarea corelației dintre factorii de prognostic negativ.

Metodologie de cercetare

Studiul a avut un design observațional, prospectiv, de tip cohortă, în care au fost incluși pacienți diagnosticați cu scleroză multiplă recurent remisivă în cadrul (sau redirecționați către) clinica de Neurologie a Spitalului Universitar de Urgență București în perioada ianuarie 2020-decembrie 2021.

Pacienții puteau fi incluși dacă fuseseră diagnosticați cu SMRR în ultimele 6 luni conform criteriilor McDonald 2017 de diseminare în timp și spațiu.(64) Criteriile de excludere vizau contraindicații medicale de respectare a protocolului, incapacitatea de a oferi consimțământul, sau un grad de dizabilitate prea mare la momentul evaluării.

Au fost recrutați 64 de pacienți, dintre care 2 nu au respectat protocolul de urmărire și au fost excluși din studiu, iar 10 pacienți nu au îndeplinit întreaga perioadă de urmărire la momentul redactării tezei și nu au putut fi incluși în analiza finală.

Studiul a cuprins 4 vizite: la includere, la 3 luni, la 6 luni și respectiv la 12 luni de la momentul includerii. Pacienții erau analizați clinic prin scala EDSS și EDSS-plus, cognitiv prin scalele Montreal Cognitive Assessment - MOCA(65), Brief Visual Memory Test-Revised - BVMT-R(66), SDMT (67)), precum și un test de screening pentru depresie Beck Depression Inventory 2 (BDI-2) (68). Vizita de includere impunea recoltare de probe de LCR și ser, restul vizitelor necesitând doar probe de ser. Evaluarea imagistică prin IRM și OCT s-a efectuat la includere și la vizita de un an.

Biomarkerii urmăriți din lichidul cefalorahidian (LCR) au fost: lanțul ușor al neurofilamentelor (NfL), beta-amiloid – fracțiunea Beta-42, benzile oligoclonale, indexul imunoglobulinic. Principalul biomarker seric urmărit au fost NfL.

Studiul a fost avizat de Comitetului de Etică al spitalului prin decizia numărul 6973 din data de 05.02.2019. Toți pacienții au semnat consimțământul informat privind acordul lor voluntar de a participa la studiul de față.

Analiza statistică a datelor a fost făcută utilizând programele SPSS 26.0 pentru Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) și Microsoft Excel 2019 (Microsoft Corp., Seattle, Washington, USA).

Probele biologice au fost prelucrate conform recomandărilor internaționale BioMS-eu.(69)

Corelații între biomarkeri predictori și declinul cognitiv de la momentul diagnosticului de scleroză multiplă recurent remisivă

Lotul de pacienți a inclus în final 52 de pacienți, cu date demografice similare cu cele raportate de registre mult mai mari de pacienți din literatura de specialitate. (70,71) Astfel, vârsta mediană la includere a fost de 30,5 ani, cu 37 de femei (71,2%) și respectiv 15 bărbați (28,8%), reprezentând un raport F:M de 2.46.

La momentul includerii, 22 de pacienți (44,2%) îndeplineau criteriul de tulburare neurocognitivă, scăzând la doar 9 pacienți (17,3%) la testarea cognitivă la un an de urmărire. Deși incidențele se încadrează în datele raportate în literatura de specialitate (72), un aspect particular este scăderea cu 58% a incidenței tulburării neurocognitive după un an de urmărire. Explicația este probabil multifactorială, implicând fenomenul de învățare și acomodare la testele aplicate,(73,74) precum și distanțarea de momentul puseului diagnostic, asociat adesea cu afectare tranzitorie semnificativă a capacității cognitive.(75)

Tulburarea depresivă, prezentă în formă ușoară-moderată la 7 pacienți (13,4%) nu s-a corelat cu niciunul dintre factorii analizați, și nu a fost inclusă ca potențial factor de eroare. Nivelul de educație nu a avut nici el un impact semnificativ pe performanța cognitivă în lotul analizat.

Se remarcă însă o corelație moderată negativă între aproape testele cognitive de la includere și de la un an de urmărire și vârsta pacienților, motiv pentru care vârsta a fost luată în calcul drept covariabilă/confounder în analizele multivariate ulterioare.

Din punct de vedere al corelației cu starea clinică și evoluția bolii, testele cognitive au prezentat o corelație semnificativă cu scorul EDSS la un an, însă nu și cu scorul EDSS inițial sau statutul de progresor EDSS-plus. Datele sunt în linie cu cele raportate în literatura de specialitate.(76,77)

În contextul în care majoritatea pacienților (45 de pacienți, 86,5%) au fost inițiați cu terapii moderat eficiente, nu s-a remarcat o corelație în studiul nostru între performanțele cognitive și tipul de DMT utilizat. Deși este posibil ca efectul să nu fie obiectivabil datorită lotului mic de pacienți, o meta-analiză recentă a demonstrat că efectul moderat pozitiv asupra cogniției nu este semnificativ diferit între terapiile imune înalt eficiente și moderat eficiente, precum nici între diversele tipuri de agenți farmacologici utilizați.(78–80)

Scorul SDMT la un an a prezentat corelații semnificative cu grosimea medie a straturilor RNFL și GCL-IPL, indexul imunoglobulinic și statusul de fumător.

Se observă de asemenea o puternică corelație pozitivă liniară între toate testele cognitive aplicate. Deși testele SDMT și BVMT-R au o lungă tradiție în screening-ul deteriorării cognitive la pacienții cu SM, utilizarea testului MOCA nu a fost larg adoptată în ciuda avantajelor pe care le prezintă această scală (una dintre cele mai ușor de administrat scale de screening cognitiv validate în SM). Datele din puținele studii din literatură care au analizat specificitatea și sensibilitatea acestei scale în detecția tulburărilor cognitive la populațiile de pacienți cu SM arată că MOCA este o alternativă validă.(81,82) Datele obținute în studiul nostru susțin așadar utilizarea testului MOCA pentru testarea cognitivă a pacienților cu SM, arătând o puternică corelație cu rezultatele obținute la testele SDMT și BVMT-R.

Tulburarea neurocognitivă la includere nu s-a corelat cu niciunul dintre factorii prognostici analizați, însă tulburarea neurocognitivă la un an a prezentat o corelație moderată pozitivă semnificativă statistic (0,306, $p=0,03$) cu prezența benzilor oligoclonale în LCR și o corelație moderată negativă (-0,357, $p=0,01$) cu grosimea stratului GCL-IPL.

Declinul cognitiv activ este un proces particular în scleroză multiplă. Scăderea performanțelor cognitive în SM pare să aibă un substrat multiplu, fiind probabil atribuibil fenomenelor degenerative care duc la prăbușirea rețelelor neuronale(83), dar și afectării cognitive globale ce pare să însoțească majoritatea puseelor, cu durate variabile până la

recuperarea chiar și parțială a funcției cognitive.(84) Rar, există descise pusee pur cognitive care pot avea un efect semnificativ asupra performanțelor cognitive.(85)

În lotul nostru, 11 pacienți (21,2%) au prezentat declin cognitiv activ pe durata de urmărire. Dintre factorii clinici corelați cu acest outcome cognitiv, se remarcă durata de la debutul simptomelor, pacienții cu declin cognitiv având o durată semnificativ mai scurtă de la momentul debutului simptomelor (0,63 ani vs 2,34; $p=0,004$). Mediul de viață rural a fost un alt factor incriminat, cu 45% dintre pacienții care au prezentat un declin cognitiv activ (5 pacienți) provenind din mediul rural. Acest aspect a fost raportat de numeroase studii anterior.(86–88)

Scorul Z ajustat al sNfL la includere (2,66 vs 1,63, $p=0.008$), NfL din LCR (2097 pg/ml vs 1172 pg/ml, $p=0,01$) și scorul Z ajustat al sNfL la 3 luni (2,12 vs 1,26, $p=0,02$) au fost semnificativ mai mari pentru grupul de pacienți care au prezentat un declin cognitiv activ pe durata de studiu versus cei care nu au avut o scădere semnificativă a funcției cognitive. Testul de corelație Pearson reflectă de altfel o corelație moderată pozitivă semnificativă statistic pentru fiecare dintre cele 3 probe de neurofilamente.

Un model predictiv privind riscul de tulburare neurocognitivă la un an a fost dezvoltat pe baza a 7 variabile: vârsta pacientului, statutul de fumător, scorul BREMSO, grosimea medie a stratului RNFL, GCL-IPL, precum și statusul benzilor oligoclonale și nivelul A β 42 din LCR. Modelul dezvoltat prezintă valori $\chi^2(4) = 28,354$, $p < .0001$, cu o sensibilitate de 87,5% și o specificitate de 95,1%.

S-a dezvoltat de asemenea și un model predictiv pentru riscul de declin cognitiv la un an, bazat pe 6 variabile – mediul de viață, scorul BREMSO, grosimea medie a stratului RNFL, GCL-IPL, precum și scorurile ajustate Z ale sNfL la includere și la 3 luni. Cu un $\chi^2(4) = 21,960$, $p < .001$, o sensibilitate de 92,5% și o specificitate 77,8%, modelul predictiv a avut o performanță mult peste rezultatele obținute la analiza individuală a factorilor prognostici.

Studiul a fost pozitiv, îndeplinind atât obiectivul principal, cât și obiectivele secundare. S-a demonstrat că aproape jumătate dintre pacienții cu SMRR pot îndeplini criteriile de tulburare neurocognitivă la momentul diagnosticului și că, deși o parte semnificativă vor prezenta o ameliorare marcată în primul an, un subgrup de peste 20% va prezenta un declin

cognitiv acut în această perioadă. Factorii prognostici uzuali pot fi utilizați pentru a dezvolta modele predictive privind riscul de tulburare neurocognitivă și de declin cognitiv la un an.

Factori predictivi pentru progresia scorului EDSS-plus la momentul diagnosticului de scleroză multiplă recurent remisivă

Acest studiu urmărește evoluția a 52 de pacienți consecutivi diagnosticați cu SMRR pentru o perioadă de un an. Vârsta medie la momentul diagnosticului este de 30,5 ani, raport femei:bărbați 2,6:1, 71,2% pacienți cu stil de viață activ, un procent de 80,8% din mediul urban, iar 61,5% cu studii superioare.

Lotul de pacienți pare să reflecte un nivel scăzut de activitate al bolii anterior diagnosticului pentru majoritatea pacienților, cu o durată scurtă de la debutul simptomelor și până la momentul diagnosticului (mediană 1 an), cu o mediană de 1 puseu anterior în ultimii 2 ani (până la momentul puseului diagnostic în urma căruia au fost incluși în studiu), și un scor EDSS la includere median de 2 puncte.

La analiza LCR, observăm că 71,2% dintre pacienți prezintă benzi oligoclonale pozitive, în timp ce doar 36,5% dintre pacienți prezintă un index imunoglobulinic pozitiv. Date uzuale raportate în literatură plasează frecvența benzilor oligoclonale în SM în jur de 80-90%, iar pentru indexul imunoglobulinic în jurul a 60-70%. Discrepanța lotului nostru poate fi legată atât de forme de boală mai puțin active până la momentul diagnosticului, dar și de tehnica de prelucrare a probei și de durata medie de 6-10 zile până la prelucrarea probelor.(89,90)

Se observă o pantă descendentă a valorilor medii pentru scorul Z ajustat al sNfL, de la o valoare inițială de 2,14 până la 0,81 la probele recoltate la un an. Acest fenomen caracterizează pacienții cu scor EDSS stabil, fără dovezi de activitate a bolii, fără noi pusee, aflați sub terapie imunomodulatoare, care după 6-9 luni de evoluție stabilă prezintă o normalizare a nivelului de sNfL.(91,92)

Grosimea medie a retinal nerve fiber layer (RNFL) a fost de 95 μ m, și a Ganglion Cell Layer; IP - Inner Plexiform Layerde (GCL-IPL) de 79 μ m, valori ușor scăzute față de normal.

În privința parametrilor IRM studiați, 71.2% dintre pacienți prezintă la includere 20 sau mai multe leziuni în hipersemnal T2/FLAIR, și un procent de 50% vor prezenta 3 leziuni

noi sau mai multe în hipersemnal T2/FLAIR la IRM repetat la un an. Doar 23.1% dintre pacienți vor prezenta leziuni GdE la includere, cu o scădere la 7,7% la controlul la un an.

Remarcăm așadar un lot de pacienți cu încărcătură lezională semnificativă la momentul includerii, iar prezența a cel puțin 3 noi leziuni T2/FLAIR la 50% din lotul de studiu la vizita de la un an este un semnal important de alarmă care arată un control terapeutic inefficient. Acest lucru este explicabil, cel mai probabil, de includerea în terapii moderat eficiente a unui procent de 86,5% dintre pacienți.(93,94)

Scorul BREMSO mediu de 0.44, cumulat cu scorul RoAD mediu de 3 puncte, încadrează majoritatea pacienților într-o grupă de risc mic-moderat pentru un prognostic sever la zece ani.

Beta-amiloidul A β 42 a demonstrat corelații semnificative în studiul nostru cu scorul Z ajustat al sNfL la 3 luni. Acest aspect nu a mai fost semnalat până acum în literatură, subliniind probabil o corelație între procesele de degradare axonală prelungite dincolo de momentul inițial al debutului și valori mai scăzute ale beta-amiloidului A β 42, sugerând poate un proces de degradare cu o dinamică mai lungă și asociată cu un prognostic mai slab.

Scorul prognostic BREMSO s-a corelat în mod notabil cu valorile neurofilamentelor serice și din LCR, precum și cu scorul RoAD. Scorul RoAD în schimb se corelează cu vârsta pacienților, precum și parametri de OCT și prezența a 20 de leziuni în hipersemnal T2/FLAIR pe IRM de la includere. Acest aspect sugerează o corelație a scorului BREMSO cu biomarkerii asociați cu pierderile axonale acute, și a scorului RoAD cu factorii prognostici asociați cu neurodegenerarea și progresia atrofiei pe termen lung din SM, în linie cu rolul demonstrat al scorului.

Probele de neurofilamente au arătat o corelație puternică sau moderată între vizitele de includere și până la un an, cu o relație lineară între probe, sugerând că procesele distructive axonală persistă pentru cel puțin 12 luni după momentul includerii, chiar dacă trendul longitudinal este în scădere. În mod notabil, pacienții de sex masculin au prezentat valori semnificativ statistic mai mari pentru scorul Z ajustat al sNfL (2.1 fata de 1.1 la 3 luni, 1.6 față de 0.75 la 6 luni, 1.34 versus 0.56 la 12 luni).

Absența benzilor oligoclonale și a indexului imunoglobulinic s-a dovedit a fi un factor de prognostic favorabil, pacienții cu benzi negative prezentând scoruri EDSS la includere

mai mici decât cei cu benzi pozitive (2.3 vs. 1.3, $p=0.001$). Pacienții cu index negativ au avut un scor EDSS mai mic la un an față de cei cu index pozitiv (1.5 vs. 2.8, $p=0.003$).

Prezența unei reacții imune compartimentalizate la nivelul SNC, obiectivate prin benzi oligoclonale sau index imunoglobulinic, pare să aibă corelație cu scorul EDSS. Astfel, benzile oligoclonale pozitive au demonstrat o corelație cu scorul EDSS la includere, pacienții cu benzi oligoclonale negative având un risc de scor EDSS crescut de aproape 5 ori mai mic decât cei cu OCB pozitive. Diferența de scor EDSS între cele două grupuri de altfel a fost de 2.3 EDSS mediu pentru grupul OCB pozitiv, în timp ce grupul OCB negativ a avut un scor de 1.4 ($p=0.001$). Similar, scorul EDSS la un an a fost mai crescut pentru cei cu index IgG pozitiv (2.8 medie) față de cei cu index <0.7 care au avut un scor mai mic (1.5 medie, $p=0.003$). Acest aspect reflectă probabil o activitate fiziopatologică imună mai activă a bolii acolo unde benzile sau indexul sunt prezente, și asociate cu un nivel de dizabilitate clinică mai mare.

De asemenea, grosimea medie a stratului GCL-IPL s-a corelat moderat negativ cu scorul EDSS atât la includere cât și la un an, în timp ce stratul RNFL a prezentat o asociere moderată negativă doar cu scorul EDSS la un an.

Un număr de 20 de pacienți (38,5%) au fost clasificați ca progresori pe scala EDSS-plus după un an de urmărire. Progresia datorată pur scorului EDSS a fost prezentă la 50% din cazuri (10 pacienți), însă 30% au prezentat progresie exclusiv pe 25FW și 5% doar prin 9HPT, restul prezentând diverse forme mixte de progresie. Reținem nu numai procentul mare de pacienți cu dovezi de progresie a dizabilității încă de la debut, dar și că 35% dintre pacienți ar fi prezentat o agravare clinică semnificativă nesesizată în lipsa efectuării 25FW și 9HPT. Nu au existat diferențe semnificative statistic în ceea ce privește numărul de pusee din primul an între grupurile de progresori EDSS-plus și cel de non-progresori.

Corelații semnificative statistic se remarcă pentru scorul Z ajustat al sNFL la 6 și la 12 luni, precum și pentru grosimea medie a stratului RNFL și GCL-IPL. Observația este deosebit de importantă, pentru că relevă un driver dublu al progresiei dizabilității, atât prin pierderi axonale semnificative cât și prin mecanism difuz neurodegenerativ. Având în vedere datele obținute anterior despre scorul RoAD, nu este o surpriză că pacienții cu progresie scorului EDSS-plus prezintă în medie scoruri RoAD mai mari (4.1 vs 2.9, $p=0.006$).

Sunt propuse 2 modele predictive. Primul, bazat 6 variabile (grosimea medie a stratului GCL-IPL, RNFL, scorurile Z ajustate ale neurofilamentelor serice la includere, la 3 luni și la 6 luni și indexul imunoglobulinic), prezintă $\chi^2(4) = 39,732$, $p < .0001$, cu o sensibilitate de 86,7% și o specificitate de 90,6%.

Al doilea model păstrează doar 4 variabile: grosimea medie a scorului GCL-IPL, scorul Z ajustat al neurofilamentelor la 3 și 6 luni, și indexul imunoglobulinic. Performanța a fost mai bună, cu un $\chi^2(4) = 44,638$, $p < .0001$, cu o sensibilitate de 92,9% și o specificitate de 96,9%.

Acest studiu este pozitiv, îndeplinind obiectivul principal și obiectivele secundare. El demonstrează că dozările de neurofilamente serice la includere, la 3 și la 6 luni au o importantă valoare prognostică, reprezentând și un marker de răspuns la tratament, prin puterea de a identifica pacienții cu risc major de progresie a dizabilității încă din primul an de boală.

Este stabilită de asemenea importanța utilizării scorului EDSS-plus încă de la momentul diagnosticului de SMRR. Progresia dizabilității pacienților în primul an de la debut poate fi prezisă cu o putere de discriminare excelentă pe baza unor biomarkeri larg utilizați în practica de zi cu zi, posibil ghidând alegerea DMT.

În mod notabil, 50% dintre pacienții cu progresie a dizabilității nu au prezentat pusee în intervalul de urmărire.

Concluzii și contribuții personale

Acest studiu doctoral propune o atentă evaluare a principalilor factori prognostici cunoscuți la momentul de față pentru pacienții cu scleroză multiplă recurent remisivă aflați la momentul diagnosticului.

Cele două studii derivate din ipoteza inițială analizează în extenso două aspecte clinice importante: riscul de deteriorare cognitivă în primul an de la debutul bolii, respectiv riscul de progresie a dizabilității de la momentul diagnosticului. Ambele studii prezentate sunt pozitive, îndeplinind atât obiectivele principale, cât și cele secundare.

Astfel, se demonstrează că biomarkeri uzuali pot prezice cu acuratețe aceste endpoint-uri clinice extrem de importante, cu implicații majore asupra protocolului pe care ar trebui

să îl aplicăm pentru toți pacienții nou diagnosticați cu SMRR. Un rol important îl are și analiza interacțiunii în dinamică între biomarkerii umorali, imagistici și factorii de risc clinic.

Acest studiu prezintă câteva limitări importante:

-numărul de pacienți înrolați este mic pentru ținta de cercetare propusă, ducând la artefacte statistice acolo unde numărul de outcome-uri a fost insuficient

-perioada de urmărire este una scurtă (un an).

-doi pacienți nu au respectat protocolul de studiu și au trebuit excluși din analiză, în timp ce zece pacienți nu au finalizat perioada de urmărire la momentul redactării acestor rezultate.

-un număr mare de pacienți au fost incluși în terapii imunomodulatoare cu agenți farmacologici de eficiență moderată.

Contribuții personale

-explorarea amplă a corelației dintre biomarkerii predictori și testele de evaluare cognitivă utilizate în SM, precum și demonstrarea unei bune corelații între testele SDMT și BVMT-R cu testul MOCA, susținând astfel utilizarea sa ca metodă de screening pentru pacienții cu SM (capitolul 5.3.2)

-demonstrarea declinului cognitiv activ la pacienții cu SMRR nou diagnosticați, și identificarea unor biomarkeri predictivi pentru acest fenomen cu 9 luni în avans (capitol 5.3.3)

-explorarea printr-un studiu prospectiv pentru prima oară în literatură a corelației dintre biomarkerii imagistici, umorali și scorurile de prognostic clinic RoAD și BREMSO (capitol 6.3.2)

-demonstrarea potențialului rol pe care îl are implementarea scorului EDSS-plus încă de la momentul diagnosticului de SMRR (capitol 6.3.4)

-crearea unor modele predictive cu putere de discriminare excelentă pentru riscul de progresie a dizabilității la un an de la diagnosticul de SMRR pe baza unor biomarkeri larg utilizați în practica de zi cu zi (capitol 6.3.5)

Bibliografie

1. Zalc B. One hundred and fifty years ago Charcot reported multiple sclerosis as a new neurological disease. *Brain*. 2018 Dec;141(12):3482–8.
2. Dutta R, Trapp BD. [Pathology and definition of multiple sclerosis]. *Rev Prat*. 2006 Jun;56(12):1293–8.
3. Stys PK, Zamponi GW, van Minnen J, Geurts JJG. Will the real multiple sclerosis please stand up? *Nat Rev Neurosci*. 2012 Jun;13(7):507–14.
4. Luchicchi A, Preziosa P, 't Hart B. Editorial: “Inside-Out” vs “Outside-In” Paradigms in Multiple Sclerosis Etiopathogenesis [Internet]. Vol. 15, *Frontiers in Cellular Neuroscience* . 2021. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fncel.2021.666529>
5. Marmont AM. Defining criteria for autoimmune diseases. *Immunol Today* [Internet]. 1994;15(8):388. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0167569994901783>
6. Davidson A, Diamond B. Autoimmune diseases. *N Engl J Med*. 2001 Aug;345(5):340–50.
7. Rose NR, Bona C. Defining criteria for autoimmune diseases (Witebsky’s postulates revisited). *Immunol Today*. 1993 Sep;14(9):426–30.
8. Bar-Or A, Li R. Cellular immunology of relapsing multiple sclerosis: interactions, checks, and balances. *Lancet Neurol*. 2021 Jun;20(6):470–83.
9. Comi G, Bar-Or A, Lassmann H, Uccelli A, Hartung H-P, Montalban X, et al. Role of B Cells in Multiple Sclerosis and Related Disorders. *Ann Neurol*. 2021 Jan;89(1):13–23.
10. Gharibi T, Babaloo Z, Hosseini A, Marofi F, Ebrahimi-Kalan A, Jahandideh S, et al. The role of B cells in the immunopathogenesis of multiple sclerosis. *Immunology*. 2020 Aug;160(4):325–35.
11. Arneth B. Contributions of T cells in multiple sclerosis: what do we currently know? *J Neurol*. 2021 Dec;268(12):4587–93.

12. Multiple sclerosis genomic map implicates peripheral immune cells and microglia in susceptibility. *Science*. 2019 Sep;365(6460).
13. Gerdes LA, Janoschka C, Eveslage M, Mannig B, Wirth T, Schulte-Mecklenbeck A, et al. Immune signatures of prodromal multiple sclerosis in monozygotic twins. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020 Sep;117(35):21546–56.
14. Arneth BM. Impact of B cells to the pathophysiology of multiple sclerosis. *J Neuroinflammation* [Internet]. 2019;16(1):128. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1517-1>
15. Reiber H, Ungefehr S, Jacobi C. The intrathecal, polyspecific and oligoclonal immune response in multiple sclerosis. *Mult Scler*. 1998 Jun;4(3):111–7.
16. Brettschneider J, Tumani H, Kiechle U, Mücke R, Richards G, Lehmsiek V, et al. IgG antibodies against measles, rubella, and varicella zoster virus predict conversion to multiple sclerosis in clinically isolated syndrome. *PLoS One*. 2009 Nov;4(11):e7638.
17. Handel AE, Williamson AJ, Disanto G, Handunnetthi L, Giovannoni G, Ramagopalan S V. An updated meta-analysis of risk of multiple sclerosis following infectious mononucleosis. *PLoS One*. 2010 Sep;5(9).
18. Thacker EL, Mirzaei F, Ascherio A. Infectious mononucleosis and risk for multiple sclerosis: a meta-analysis. *Ann Neurol*. 2006 Mar;59(3):499–503.
19. Robinson WH, Steinman L. Epstein-Barr virus and multiple sclerosis. *Science*. 2022 Jan;375(6578):264–5.
20. Bjornevik K, Cortese M, Healy BC, Kuhle J, Mina MJ, Leng Y, et al. Longitudinal analysis reveals high prevalence of Epstein-Barr virus associated with multiple sclerosis. *Science*. 2022 Jan;375(6578):296–301.
21. Bjornevik K, Münz C, Cohen JI, Ascherio A. Epstein-Barr virus as a leading cause of multiple sclerosis: mechanisms and implications. *Nat Rev Neurol*. 2023 Mar;19(3):160–71.
22. Welberg L. Strong evidence that Epstein-Barr virus infection triggers multiple

- sclerosis. *Nat Neurosci.* 2022 Feb;25(2):131.
23. Nicol B, Salou M, Laplaud D-A, Wekerle H. The autoimmune concept of multiple sclerosis. *Presse Med [Internet]*. 2015;44(4, Part 2):e103–12. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0755498215001189>
 24. Aboul-Enein F, Rauschka H, Kornek B, Stadelmann C, Stefferl A, Brück W, et al. Preferential loss of myelin-associated glycoprotein reflects hypoxia-like white matter damage in stroke and inflammatory brain diseases. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2003 Jan;62(1):25–33.
 25. Rodriguez M, Scheithauer B. Ultrastructure of multiple sclerosis. *Ultrastruct Pathol.* 1994;18(1–2):3–13.
 26. Chaudhuri A. Multiple sclerosis is primarily a neurodegenerative disease. *J Neural Transm [Internet]*. 2013;120(10):1463–6. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00702-013-1080-3>
 27. Herranz E, Giannì C, Louapre C, Treaba CA, Govindarajan ST, Ouellette R, et al. Neuroinflammatory component of gray matter pathology in multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 2016 Nov;80(5):776–90.
 28. Giovannoni G, Popescu V, Wuerfel J, Hellwig K, Iacobaeus E, Jensen MB, et al. Smouldering multiple sclerosis: the “real MS”. *Ther Adv Neurol Disord.* 2022;15:17562864211066752.
 29. Bergamaschi R. Can we predict the evolution of an unpredictable disease like multiple sclerosis? Vol. 20, *European journal of neurology*. England; 2013. p. 995–6.
 30. Salamonsen A, Launsø L, Kruse TE, Eriksen SH. Understanding unexpected courses of multiple sclerosis among patients using complementary and alternative medicine: A travel from recipient to explorer. *Int J Qual Stud Health Well-being.* 2010 Jul;5(2).
 31. Haass C, Schlossmacher MG, Hung AY, Vigo-Pelfrey C, Mellon A, Ostaszewski BL, et al. Amyloid beta-peptide is produced by cultured cells during normal metabolism. *Nature.* 1992 Sep;359(6393):322–5.
 32. Pitschke M, Prior R, Haupt M, Riesner D. Detection of single amyloid β -protein

- aggregates in the cerebrospinal fluid of Alzheimer's patients by fluorescence correlation spectroscopy. *Nat Med* [Internet]. 1998;4(7):832–4. Available from: <https://doi.org/10.1038/nm0798-832>
33. Andreasen N, Blennow K. Beta-amyloid (A β) protein in cerebrospinal fluid as a biomarker for Alzheimer's disease. *Peptides*. 2002 Jul;23(7):1205–14.
 34. Albani D, Marizzoni M, Ferrari C, Fusco F, Boeri L, Raimondi I, et al. Plasma A β 42 as a Biomarker of Prodromal Alzheimer's Disease Progression in Patients with Amnesic Mild Cognitive Impairment: Evidence from the PharmaCog/E-ADNI Study. *J Alzheimers Dis*. 2019;69(1):37–48.
 35. Smith MA, Casadesus G, Joseph JA, Perry G. Amyloid-beta and tau serve antioxidant functions in the aging and Alzheimer brain. *Free Radic Biol Med*. 2002 Nov;33(9):1194–9.
 36. Beatty WW, Goodkin DE, Monson N, Beatty PA. Implicit learning in patients with chronic progressive multiple sclerosis. Vol. 12, *International Journal of Clinical Neuropsychology*. US: MelNic Press, Inc.; 1990. p. 166–72.
 37. Beatty WW, Goretti B, Siracusa G, Zipoli V, Portaccio E, Amato MP. Changes in neuropsychological test performance over the workday in multiple sclerosis. *Clin Neuropsychol*. 2003 Nov;17(4):551–60.
 38. Mori F, Rossi S, Sancesario G, Codecà C, Mataluni G, Monteleone F, et al. Cognitive and cortical plasticity deficits correlate with altered amyloid- β CSF levels in multiple sclerosis. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol*. 2011 Feb;36(3):559–68.
 39. Pietroboni AM, Caprioli M, Carandini T, Scarioni M, Ghezzi L, Arighi A, et al. CSF β -amyloid predicts prognosis in patients with multiple sclerosis. *Mult Scler J* [Internet]. 2018 Aug 7;25(9):1223–31. Available from: <https://doi.org/10.1177/1352458518791709>
 40. Pietroboni AM, Schiano di Cola F, Scarioni M, Fenoglio C, Spanò B, Arighi A, et al. CSF β -amyloid as a putative biomarker of disease progression in multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2017 Jul;23(8):1085–91.

41. Pietroboni AM, Caprioli M, Carandini T, Scarioni M, Ghezzi L, Arighi A, et al. CSF β -amyloid predicts prognosis in patients with multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2019 Aug;25(9):1223–31.
42. Gafson AR, Barthélemy NR, Bomont P, Carare RO, Durham HD, Julien J-P, et al. Neurofilaments: neurobiological foundations for biomarker applications. *Brain*. 2020 Jul;143(7):1975–98.
43. Mak G, Menon S, Lu J-Q. Neurofilaments in neurologic disorders and beyond. *J Neurol Sci*. 2022 Oct;441:120380.
44. Ferreira-Atuesta C, Reyes S, Giovanonni G, Gnanapavan S. The Evolution of Neurofilament Light Chain in Multiple Sclerosis [Internet]. Vol. 15, *Frontiers in Neuroscience*. 2021. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2021.642384>
45. Lie IA, Kaçar S, Wesnes K, Brouwer I, Kvistad SS, Wergeland S, et al. Serum neurofilament as a predictor of 10-year grey matter atrophy and clinical disability in multiple sclerosis: a longitudinal study. *J Neurol Neurosurg & Psychiatry* [Internet]. 2022 Aug 1;93(8):849 LP – 857. Available from: <http://jnnp.bmj.com/content/93/8/849.abstract>
46. Bittner S, Oh J, Havrdová EK, Tintoré M, Zipp F. The potential of serum neurofilament as biomarker for multiple sclerosis. *Brain* [Internet]. 2021 Oct 1;144(10):2954–63. Available from: <https://doi.org/10.1093/brain/awab241>
47. Varhaug KN, Torkildsen Ø, Myhr K-M, Vedeler CA. Neurofilament Light Chain as a Biomarker in Multiple Sclerosis. *Front Neurol*. 2019;10:338.
48. Kalatha T, Arnaoutoglou M, Koukoulidis T, Hatzifilippou E, Bouras E, Baloyannis S, et al. Does cognitive dysfunction correlate with neurofilament light polypeptide levels in the CSF of patients with multiple sclerosis? *J Int Med Res*. 2019 May;47(5):2187–98.
49. Ning L, Wang B. Neurofilament light chain in blood as a diagnostic and predictive biomarker for multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One* [Internet]. 2022 Sep 14;17(9):e0274565. Available from:

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0274565>

50. Benkert P, Meier S, Schaedelin S, Manouchehrinia A, Yaldizli Ö, Maceski A, et al. Serum neurofilament light chain for individual prognostication of disease activity in people with multiple sclerosis: a retrospective modelling and validation study. *Lancet Neurol*. 2022 Mar;21(3):246–57.
51. Mathur D, Mishra BK, Rout S, Lopez-Iranzo FJ, Lopez-Rodas G, Vallamkondu J, et al. Potential Biomarkers Associated with Multiple Sclerosis Pathology. *Int J Mol Sci*. 2021 Sep;22(19).
52. Skov AG, Skov T, Frederiksen JL. Oligoclonal bands predict multiple sclerosis after optic neuritis: a literature survey. *Mult Scler*. 2011 Apr;17(4):404–10.
53. Zheng Y, Cai M-T, Yang F, Zhou J-P, Fang W, Shen C-H, et al. IgG Index Revisited: Diagnostic Utility and Prognostic Value in Multiple Sclerosis [Internet]. Vol. 11, *Frontiers in Immunology*. 2020. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2020.01799>
54. Hemond CC, Bakshi R. Magnetic Resonance Imaging in Multiple Sclerosis. *Cold Spring Harb Perspect Med* [Internet]. 2018 May 1;8(5):a028969. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29358319>
55. Filippi M, Agosta F. Imaging biomarkers in multiple sclerosis. *J Magn Reson Imaging*. 2010 Apr;31(4):770–88.
56. Iacobaeus E, Arrambide G, Amato MP, Derfuss T, Vukusic S, Hemmer B, et al. Aggressive multiple sclerosis (1): Towards a definition of the phenotype. *Mult Scler*. 2020 Jun;26(9):1352458520925369.
57. Aumann S, Donner S, Fischer J, Müller F. Optical Coherence Tomography (OCT): Principle and Technical Realization. In: Bille JF, editor. Cham (CH); 2019. p. 59–85.
58. Cordano C, Nourbakhsh B, Devereux M, Damotte V, Bennett D, Hauser SL, et al. pRNFL as a marker of disability worsening in the medium/long term in patients with MS. *Neurol Neuroimmunol neuroinflammation*. 2019 Mar;6(2):e533.
59. Siger M, Dziegielewska K, Jasek L, Bieniek M, Nicpan A, Nawrocki J, et al. Optical

- coherence tomography in multiple sclerosis: thickness of the retinal nerve fiber layer as a potential measure of axonal loss and brain atrophy. *J Neurol*. 2008 Oct;255(10):1555–60.
60. Frau J, Fenu G, Signori A, Coghe G, Loreface L, Barracciu MA, et al. A cross-sectional and longitudinal study evaluating brain volumes, RNFL, and cognitive functions in MS patients and healthy controls. *BMC Neurol*. 2018 May;18(1):67.
 61. López-de-Eguileta A, López-García S, Lage C, Pozueta A, García-Martínez M, Kazimierczak M, et al. The retinal ganglion cell layer reflects neurodegenerative changes in cognitively unimpaired individuals. *Alzheimers Res Ther*. 2022 Apr;14(1):57.
 62. Bergamaschi R, Montomoli C, Mallucci G, Lugaresi A, Izquierdo G, Grand'Maison F, et al. BREMSO: a simple score to predict early the natural course of multiple sclerosis. *Eur J Neurol*. 2015 Jun;22(6):981–9.
 63. Gasperini C, Prosperini L, Rovira À, Tintoré M, Sastre-Garriga J, Tortorella C, et al. Scoring the 10-year risk of ambulatory disability in multiple sclerosis: the RoAD score. *Eur J Neurol*. 2021 Mar;
 64. 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 Feb;17(2):162–73.
 65. Nasreddine ZS, Phillips NA, Bédirian V, Charbonneau S, Whitehead V, Collin I, et al. The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment. *J Am Geriatr Soc*. 2005 Apr;53(4):695–9.
 66. Benedict RHB, Groninger L, Schretlen D, Dobraski M, Shpritz B. Revision of the brief visuospatial memory test: Studies of normal performance, reliability, and validity. *Psychol Assess* [Internet]. 1996;8(2):145–53. Available from: <https://jhu.pure.elsevier.com/en/publications/revision-of-the-brief-visuospatial-memory-test-studies-of-normal--4>
 67. Rao SM, Leo GJ, Haughton VM, St Aubin-Faubert P, Bernardin L. Correlation of magnetic resonance imaging with neuropsychological testing in multiple sclerosis.

- Neurology. 1989 Feb;39(2 Pt 1):161–6.
68. Beck AT, Steer RA, Ball R, Ranieri W. Comparison of Beck Depression Inventories - IA and -II in psychiatric outpatients. *J Pers Assess.* 1996 Dec;67(3):588–97.
 69. Teunissen CE, Tumani H, Bennett JL, Berven FS, Brundin L, Comabella M, et al. Consensus Guidelines for CSF and Blood Biobanking for CNS Biomarker Studies. *Mult Scler Int.* 2011;2011:246412.
 70. Boström I, Stawiarz L, Landtblom A-M. Sex ratio of multiple sclerosis in the National Swedish MS Register (SMSreg). *Mult Scler.* 2013 Jan;19(1):46–52.
 71. Romero-Pinel L, Bau L, Matas E, León I, Muñoz-Vendrell A, Arroyo P, et al. The age at onset of relapsing-remitting multiple sclerosis has increased over the last five decades. *Mult Scler Relat Disord.* 2022 Dec;68:104103.
 72. Macías Islas MÁ, Ciampi E. Assessment and Impact of Cognitive Impairment in Multiple Sclerosis: An Overview. *Biomedicines.* 2019 Mar;7(1).
 73. Cooley SA, Heaps JM, Bolzenius JD, Salminen LE, Baker LM, Scott SE, et al. Longitudinal Change in Performance on the Montreal Cognitive Assessment in Older Adults. *Clin Neuropsychol.* 2015;29(6):824–35.
 74. Roar M, Illes Z, Sejbaek T. Practice effect in Symbol Digit Modalities Test in multiple sclerosis patients treated with natalizumab. *Mult Scler Relat Disord.* 2016 Nov;10:116–22.
 75. McKay KA, Bedri SK, Manouchehrinia A, Stawiarz L, Olsson T, Hillert J, et al. Reduction in Cognitive Processing Speed Surrounding Multiple Sclerosis Relapse. *Ann Neurol.* 2022 Mar;91(3):417–23.
 76. Sadigh-Eteghad S, Abbasi Garravnd N, Feizollahi M, Talebi M. The Expanded Disability Status Scale Score and Demographic Indexes Are Correlated with the Severity of Cognitive Impairment in Multiple Sclerosis Patients. *J Clin Neurol.* 2021 Jan;17(1):113–20.
 77. Caneda MAG de, Vecino MCA de. The correlation between EDSS and cognitive impairment in MS patients. Assessment of a Brazilian population using a BICAMS

- version. *Arq Neuropsiquiatr.* 2016 Dec;74(12):974–81.
78. Bellinvia A, Portaccio E, Amato MP. Current advances in the pharmacological prevention and management of cognitive dysfunction in multiple sclerosis. *Expert Opin Pharmacother.* 2023 Mar;24(4):435–51.
 79. Landmeyer NC, Bürkner P-C, Wiendl H, Ruck T, Hartung H-P, Holling H, et al. Disease-modifying treatments and cognition in relapsing-remitting multiple sclerosis: A meta-analysis. *Neurology.* 2020 Jun;94(22):e2373–83.
 80. Lovera J, Kovner B. Cognitive impairment in multiple sclerosis. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2012 Oct;12(5):618–27.
 81. Dagenais E, Rouleau I, Demers M, Jobin C, Roger E, Chamelian L, et al. Value of the MoCA test as a screening instrument in multiple sclerosis. *Can J Neurol Sci Le J Can des Sci Neurol.* 2013 May;40(3):410–5.
 82. Rosca EC, Simu M. Montreal cognitive assessment for evaluating cognitive impairment in multiple sclerosis: a systematic review. *Acta Neurol Belg.* 2020 Dec;120(6):1307–21.
 83. Schoonheim MM, Broeders TAA, Geurts JJG. The network collapse in multiple sclerosis: An overview of novel concepts to address disease dynamics. *NeuroImage Clin.* 2022;35:103108.
 84. Benedict RH, Pol J, Yasin F, Hojnacki D, Kolb C, Eckert S, et al. Recovery of cognitive function after relapse in multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2021 Jan;27(1):71–8.
 85. Pozzilli V, Cruciani A, Capone F, Motolese F, Rossi M, Pilato F, et al. A true isolated cognitive relapse in multiple sclerosis. *Neurol Sci Off J Ital Neurol Soc Ital Soc Clin Neurophysiol.* 2023 Jan;44(1):339–42.
 86. Ozakbas S, Turkoglu R, Tamam Y, Terzi M, Taskapilioglu O, Yucesan C, et al. Prevalence of and risk factors for cognitive impairment in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: Multi-center, controlled trial. *Mult Scler Relat Disord* [Internet]. 2018;22:70–6. Available from:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211034818300968>

87. Ron MA. Cognition in multiple sclerosis [Internet]. Husain M, Schott JM, editors. Oxford Textbook of Cognitive Neurology and Dementia. Oxford University Press; 2016. p. 0. Available from: <https://doi.org/10.1093/med/9780199655946.003.0027>
88. Peritogiannis V, Roganaki A, Siarava E, Samakouri M. Mild Cognitive Impairment in Rural Areas: Research Advances and Implications for Clinical Practice and Healthcare Policy. *Healthc (Basel, Switzerland)*. 2022 Jul;10(7).
89. Giles PD, Heath JP, Wroe SJ. Oligoclonal bands and the IgG index in multiple sclerosis: uses and limitations. *Ann Clin Biochem*. 1989 Jul;26 (Pt 4):1317–23.
90. Simonsen CS, Flemmen HØ, Lauritzen T, Berg-Hansen P, Moen SM, Celius EG. The diagnostic value of IgG index versus oligoclonal bands in cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis. *Mult Scler J - Exp Transl Clin*. 2020;6(1):2055217319901291.
91. Hyun J-W, Kim Y, Kim G, Kim S-H, Kim HJ. Longitudinal analysis of serum neurofilament light chain: A potential therapeutic monitoring biomarker for multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2020 May;26(6):659–67.
92. Huss A, Senel M, Abdelhak A, Mayer B, Kassubek J, Ludolph AC, et al. Longitudinal Serum Neurofilament Levels of Multiple Sclerosis Patients Before and After Treatment with First-Line Immunomodulatory Therapies. *Biomedicines*. 2020 Aug;8(9).
93. Gajofatto A, Benedetti MD. Treatment strategies for multiple sclerosis: When to start, when to change, when to stop? *World J Clin cases*. 2015 Jul;3(7):545–55.
94. Robertson D, Moreo N. Disease-Modifying Therapies in Multiple Sclerosis: Overview and Treatment Considerations. *Fed Pract*. 2016 Jun;33(6):28–34.