

UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE MEDICINA  
ESCUELA DE SALUD PÚBLICA



CARACTERIZACION DEL PATRON DE ATROFIA  
GLOBAL ENCEFALICA EN PACIENTES CON  
ESCLEROSIS MULTIPLE MEDIANTE VOLUMETRIA  
POR RESONANCIA MAGNETICA Y METODOS  
MULTINIVEL LINEALES MIXTOS

**CRISTIAN GARRIDO INOSTROZA**

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE  
MAGISTER EN BIOESTADISTICA

Director de Tesis: Gabriel Cavada Ch.

Santiago, Junio 2017





**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE MEDICINA  
ESCUELA DE SALUD PÚBLICA**



**CARACTERIZACION DEL PATRON DE ATROFIA  
GLOBAL ENCEFALICA EN PACIENTES CON  
ESCLEROSIS MULTIPLE MEDIANTE VOLUMETRIA  
POR RESONANCIA MAGNETICA Y METODOS  
MULTINIVEL LINEALES MIXTOS**

**CRISTIAN GARRIDO INOSTROZA**

**TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE  
MAGISTER EN BIOESTADISTICA**

**Director de Tesis: Gabriel Cavada Ch.**

**Santiago, Junio 2017**

**UNIVERSIDAD DE CHILE**

**FACULTAD DE MEDICINA  
ESCUELA DE SALUD PÚBLICA**

**INFORME DE APROBACION TESIS DE  
MAGISTER EN BIOESTADISTICA**

Se informa a la Comisión de Grados Académicos de la Facultad de Medicina, que la Tesis de Magíster en Bioestadística presentada por el candidato

**CRISTIAN GARRIDO INOSTROZA**

ha sido aprobada por la Comisión Informante de Tesis como requisito para optar al Grado de **MAGISTER EN BIOESTADISTICA** en Examen de Defensa de Tesis rendido el día 15 de Junio del 2017

**Director de Tesis: Sr. Gabriel Cavada Chacón**  
Escuela de Salud Pública, Facultad de Medicina, Universidad de Chile

**COMISION INFORMANTE DE TESIS**

**Dr. Dante Cáceres L.**

**Dr. Mauricio Canals L.**

**Dr. Sergio Alvarado**  
Presidente Comisión de Examen

## **Dedicatoria**

A mi familia, a Carla, Lalo y muy especialmente a Rosita, mi madre, que siempre me inculcó que el estudio era la forma adecuada y noble de salir adelante, al mismo tiempo que se aprendían cosas nuevas, sin temer a lo difícil y lo complejo de lo que se asumía...donde quiera que estés, esta tesis fue inspirada por ti vieja

## **Agradecimientos**

Agradezco a mi tutor de tesis, Profesor Gabriel Cavada, por su paciencia y por ayudarme en un tema complejo y absolutamente desconocido para mí.

Agradezco también a los profesores Dante Cáceres y Mauricio Fuentes, por la comprensión ante los inconvenientes que tuve durante la ejecución de la tesis, y muy especialmente a Mauricio, por su ayuda y buena onda hacia mí (sigue rockeando man).

Agradezco muy especialmente a mis compañeros de Magister. Juntos sufrimos y vivimos una experiencia extraordinaria. Con ellos volví a ser mechón y a disfrutar los recreos, las salidas y las celebraciones. A todos ustedes los llevo por siempre en mi corazón.

A ti Mata, por tu apoyo en silencio, pero incondicional. Por los tiempos que sacrifiqué: tus tiempos...nuestros tiempos.

## 2. Índice de contenidos

<b>2. Índice de contenidos</b> .....	VIII
<b>3. Resumen</b> .....	X
<b>Capítulo I: Introducción</b> .....	<b>1</b>
<b>Capítulo II: Marco Teórico de Referencia</b> .....	<b>3</b>
1. Situación de la Esclerosis Múltiple en Chile y el mundo .....	3
2. Factores etiológicos y etiopatogenia .....	4
3. Cuadro Clínico .....	7
4. Atrofia Global Encefálica .....	7
5. Diagnóstico y evaluación de la Esclerosis Múltiple .....	9
6. Análisis estadístico de la atrofia .....	11
6.1. Modelos mixtos multinivel .....	12
6.2. Fundamento teórico .....	13
6.3. Estimación de parámetros .....	15
7. Justificación .....	16
<b>Capítulo III: Objetivos Generales y Específicos</b> .....	<b>18</b>
1. Objetivo General .....	18
2. Objetivos Específicos .....	18
<b>Capítulo IV: Hipótesis</b> .....	<b>19</b>
<b>Capítulo V: Metodología</b> .....	<b>20</b>
1. Diseño del estudio .....	20
2. Universo y muestra .....	20
3. Variables o tópicos de estudio .....	21
4. Actividades principales del trabajo en terreno .....	23
5. Métodos o procedimientos de recolección de la información e instrumentos usados 23	
6. Técnicas de procesamiento de la información .....	23
7. Análisis e interpretación .....	23
8. Limitaciones .....	24
9. Aspectos éticos .....	24
<b>Capítulo VI: Resultados</b> .....	<b>25</b>
1. Análisis exploratorio y descriptivo .....	25



2.	Análisis de los volúmenes encefálicos.....	27
2.1.	Análisis del volumen de Sustancia Gris (SG).....	27
2.1.1.	Análisis del volumen de Sustancia Gris (SG) y sexo.....	32
2.1.2.	Análisis del volumen de Sustancia Gris (SG) y edad.....	38
2.2.	Análisis del volumen de Sustancia Blanca (SB).....	44
2.2.1.	Análisis del volumen de Sustancia Blanca (SB) y sexo.....	49
2.2.2.	Análisis del volumen de Sustancia Blanca (SB) y edad.....	54
2.3.	Análisis del volumen de Líquido Cerebroespinal (LCE).....	60
2.3.1.	Análisis del volumen de Líquido Cerebroespinal y sexo.....	65
2.3.2.	Análisis del volumen de Líquido Cerebroespinal y edad.....	71
	<b>Capítulo VII: Discusión.....</b>	<b>78</b>
1.	Muestra.....	80
2.	Atrofia Cerebral.....	81
2.1.	Atrofia y Sustancia Gris.....	83
2.2.	Atrofia y Sustancia Blanca.....	86
2.3.	Atrofia y Líquido Cerebroespinal.....	88
3.	Limitaciones.....	90
	<b>Capítulo VIII: Conclusiones.....</b>	<b>94</b>
	<b>Capítulo IX: Bibliografía.....</b>	<b>97</b>
	<b>5. Anexos.....</b>	<b>100</b>
	Anexo 1: Glosario de términos.....	100
	Anexo 2: Salidas.....	102

### 3. Resumen

Antecedentes: La Esclerosis Múltiple (EM) es una de las enfermedades desmielinizantes más prevalentes en la población adulta, con una prevalencia en aumento, y que conduce a una disminución en la calidad de vida e invalidez de quienes la padecen. Se ha evidenciado la presencia de atrofia cerebral durante el curso de la enfermedad, lo que es considerado como marcador global de la degeneración axonal y responsable de las disfunciones neurológicas asociadas a este cuadro.

Objetivos: Determinar la existencia de atrofia cerebral, en pacientes con EM pertenecientes a una cohorte atendida en el Hospital Clínico de la Universidad de Chile entre los años 2005 y 2010, caracterizando el patrón asociado a la progresión de la enfermedad durante el periodo de seguimiento.

Método: Una serie de 36 pacientes diagnosticados con EM, fue sometida periódicamente a exámenes de RM, obteniéndose imágenes volumétricas potenciadas en T1. Se midieron los volúmenes cerebrales netos y parciales de sustancia gris (SG), sustancia blanca (SB) y líquido cerebroespinal (LCE), mediante la técnica Voxel Based Morphometry (VBM). Para el análisis estadístico se utilizó un modelo lineal mixto multinivel, a partir del cual se analizaron las variaciones de volumen debido a la enfermedad y a las covariables sexo y edad.

Resultados: Se encontró una disminución mensual estadísticamente significativa del volumen de SG de 0.8 ml, con una disminución de su fracción anual ( $\Delta$ FA) de un 1.41% ( $p$ -valor $<0,001$ ) por efecto de la enfermedad. Al considerar la covariable sexo, este volumen disminuye en 0.63 ml/mes ( $\Delta$ FA=1%) en los hombres y en 0.86 ml/mes ( $\Delta$ FA=1.57%) en las mujeres ( $p$ -valor $<0.001$ ). Si se considera la covariable edad, el volumen disminuye en 1.1 ml/mes ( $\Delta$ FA=1.9%) en los menores de 40 años, y en 0.5 ml/mes ( $\Delta$ FA=1%) en los mayores de 40 años ( $p$ -

valor<0,001). Para la SB se cuantificó una disminución mensual de 0.43 ml ( $\Delta FA=1.1\%$ ) (p-valor< 0,001). Si se considera la covariable sexo, este volumen disminuye en 0.49 ml/mes en los hombres ( $\Delta FA=1.2\%$ ) y en 0.4 ml/mes ( $\Delta FA=1.1\%$ ) en las mujeres (p-valor<0,001). Si se considera la covariable edad, el volumen disminuye en 0.4 ml/mes ( $\Delta FA=1.1\%$ ) en los menores de 40 años, y en 0.46 ml/mes ( $\Delta FA=1.13\%$ ) en los mayores de 40 años (p-valor<0,001). Para el LCE se cuantificó un aumento mensual de 1.35 ml ( $\Delta FA=3.6\%$ ) (p-valor< 0,001). Si se considera la covariable sexo, este volumen aumentó en 0.78 ml/mes en los hombres ( $\Delta FA=2.25\%$ ) (p-valor=0.053) y en 1.57 ml/mes ( $\Delta FA=4.1\%$ ) en las mujeres (p-valor<0,001). Si se considera la covariable edad, el volumen aumenta en 1.28 ml/mes ( $\Delta FA=3.5\%$ ) en los menores de 40 años (p-valor<0.005), y en 1.42 ml/mes ( $\Delta FA=3.8\%$ ) en los mayores de 40 años (p-valor<0,001).

Conclusión: A partir de los resultados obtenidos se evidenció una disminución lineal de los volúmenes de SG y SB, y un aumento compensatorio del LCE, por lo que se comprobó la hipótesis de investigación planteada. Los resultados se correlacionan con la literatura consultada. VBM es una herramienta útil en la evaluación y cuantificación de la atrofia producida en pacientes con EM, mientras que el modelo estadístico utilizado en el análisis fue de utilidad para el tipo de estudio y la naturaleza de los datos, y fue novedoso dentro de los modelos reportados en la literatura. Se puede concluir, que el estudio de la atrofia cerebral debe seguir desarrollándose para el conocimiento de la EM, utilizando mejores programas de segmentación, y análisis estadísticos multinivel.

#### 4. Abstract

Background: Multiple Sclerosis (MS) is one of the most prevalent demyelinating diseases in adulthood, with an increasing prevalence that leads to a decrease in life quality and disability for those affected. Brain atrophy has been evidenced since the onset of the disease, and is actually considered as a global marker of axonal degeneration, responsible for the most of the neurological dysfunctions associated with this disorder.

Aims: Determinate the existence of brain atrophy in a cohort of patients with MS, treated at the Clinical Hospital of the University of Chile between 2005 and 2010, characterizing the pattern associated with the disease progression during the follow-up period.

Methods: A longitudinal cohort of 36 patients diagnosed with MS were periodically examined through brain MRI scans, obtaining T1-weighted volumetric images. The raw and partial brain volumes of gray matter (GM), white matter (WM) and cerebrospinal fluid (CSF) data were measured using Voxel-based Morphometry (VBM) technique. The statistical analysis used, was a mixed linear multilevel model, in which volume variations by disease and sex and age co-variables were analyzed.

Results: A statistically significant monthly decrease in GM volume of 0.8 ml was found with a decrease in its annual fraction ( $\Delta$ FA) of a 1.41% (p-value<0,001) as a result of the disease. When the co-variable sex was considered, this volume was decreased by 0.63 ml/month ( $\Delta$ FA=1%) in males and 0.86 ml/month ( $\Delta$ FA=1.57%) in females (p-value<0.001). Analysis of the age co-variable showed volume reduction of 1.1 ml/month ( $\Delta$ FA=1.9%) in those younger than 40 years old and in 0.5 ml/month ( $\Delta$ FA=1%) in those over 40 years of age (p-value<0,001). For the WM was obtained a monthly decrease of 0.43 ml ( $\Delta$ FA=1.1%) (p-value<0,001). In

addition, if the co-variable sex is considered; this volume decreased by 0.49 ml/month in males ( $\Delta FA=1.2\%$ ) and 0.4 ml/month ( $\Delta FA=1.1\%$ ) in females ( $p\text{-value}<0,001$ ). We also found that if the co-variable age is considered, the volume diminished by 0.4 ml/month ( $\Delta FA=1.1\%$ ) in those patients younger than 40 years old and by 0.46 ml/month ( $\Delta FA=1.13\%$ ) in those older than 40 years old ( $p\text{-value}<0,001$ ). Finally, for CSF determination, a monthly increase of 1.35 ml ( $\Delta FA=3.6\%$ ) ( $p\text{-value}<0,001$ ) was quantified. When co-variable sex was considered this volume increased by 0.78 ml/month in males ( $\Delta FA=2.25\%$ ) ( $p\text{-value}=0.053$ ) and in 1.57 ml/month ( $\Delta FA=4.1\%$ ) in females ( $p\text{-value}<0,001$ ). On the other hand, when co-variable age was considered, the volume increased by 1.28 ml/month ( $\Delta FA=3.5\%$ ) in patients under 40 years old ( $p\text{-value}<0.005$ ), and by 1.42 ml/month ( $\Delta FA=3.8\%$ ) in those older than 40 years old ( $p\text{-value}<0,001$ ).

Conclusion: Thus, from the results obtained, a linear decrease in GM and WM volumes with a compensatory increase of the CSF were evidenced. These results verified the research hypothesis proposed. These results are in agreement with the literature consulted and lately published in the field. VBM is a useful tool in the evaluation and quantification of brain atrophy observed in patients with MS. The statistical model used in the analysis was appropriate and useful for the type of study and nature of the data evaluated, as well as a novel method among the models reported by the related literature. Furthermore, we concluded that the study of brain atrophy should continue developing for the knowledge of MS disease, using more appropriate brain segmentation softwares and this multilevel statistical approach.

## Capítulo I: Introducción

La Esclerosis Múltiple (EM) es una enfermedad inflamatoria desmielinizante que afecta a la sustancia blanca del sistema nervioso central (SNC) (1). La EM tiene un probable origen autoinmune, sin embargo, al parecer intervienen factores genéticos, geográficos, ambientales, y otros ligados a la edad y sexo de la población afectada (2). Esta enfermedad es invalidante a mediano y largo plazo y disminuye notablemente la esperanza de vida de quienes la padecen, afectando a población joven y económicamente activa; por lo que tiene algún impacto en la economía y políticas de salud de los países (1) (3). Por esta razón, en Chile está considerada dentro de las Garantías explícitas de Salud (GES) desde el año 2010 (4). La prevalencia de la EM ha ido en aumento en Chile y en el mundo, afectando más a las mujeres y agregando comorbilidades que afectan la calidad de vida de los enfermos (3).

La técnica imagenológica de resonancia magnética (RM) se ha convertido en el estándar de referencia para el diagnóstico precoz y seguimiento de la EM. La mayor disponibilidad de esta herramienta ha derivado en un mayor número de casos diagnosticados en el tiempo, lo que probablemente ha impactado en el aumento de la prevalencia (5). El seguimiento de los pacientes se ha realizado contabilizando el número de lesiones desmielinizantes, y a partir de la década de los noventa, se inició la cuantificación de las lesiones de EM, utilizando el parámetro “volumen lesional T2”, estableciendo que un aumento en la carga lesional implicaba una mayor progresión de la enfermedad. Diversos reportes pudieron evidenciar que la carga lesional no se relaciona con el grado de compromiso clínico de los pacientes afectados por EM, ya que algunos pacientes con una alta carga lesional tenían pocas manifestaciones clínicas de la enfermedad y un menor grado de discapacidad, y viceversa. A esta paradoja se le denominó “disociación clínica-imagenológica” (5) (6) (7).

Posteriormente se evidenció que el parámetro de atrofia global encefálica (global cerebral atrophy o GCA) definido como el aumento del volumen del líquido cerebroespinal (LCE) manteniendo el volumen global encefálico tenía una mejor correlación con el grado de compromiso clínico y discapacidad de los pacientes con EM (8) (9). Si bien es cierto, la EM por afectar a la sustancia blanca (SB) disminuye el volumen de esta, también ocurre una disminución del volumen de sustancia gris (SG), por lo que el aumento del volumen de LCE depende de estos dos compartimentos, sin una relación lineal entre la disminución del volumen de SB y SG y el aumento del volumen de LCE. El volumen encefálico de los enfermos por EM disminuye con una tasa de atrofia de entre un 0,6 y un 1,6% anual. La población normal tiene una tasa de atrofia anual por envejecimiento de entre un 0,1 y un 0,3% (10).

Existen diversos trabajos que abordan la GCA, dada la evidencia de su alta correlación con el grado de disfunción neurológica de los pacientes que padecen EM, y por ser considerada como un marcador global del daño en SB y SG (11). En primer lugar, se utilizan diversos métodos morfométricos y de segmentación de imágenes para la obtención de los volúmenes de LCE, SB y SG, siendo los más comunes el método Voxel Based Morphometry (VBM) y FreeSurfer (12). Con los volúmenes se propone realizar un análisis longitudinal multinivel jerárquico, utilizando un modelo mixto multinivel, para caracterizar la atrofia global encefálica en volúmenes de pacientes que padecen EM de una muestra de origen nacional. No se han publicado trabajos de este tipo en Chile.

## **Capítulo II: Marco Teórico de Referencia**

### **1. Situación de la Esclerosis Múltiple en Chile y el mundo**

La Esclerosis Múltiple (EM) es una enfermedad inflamatoria desmielinizante, de carácter progresivo, que afecta el cerebro y la médula espinal, de probable origen autoinmune, multifactorial de y curso impredecible (1). Actualmente afecta a más de un millón de personas en el mundo, constituyendo la mayor causa de discapacidad neurológica en adultos jóvenes (3).

La EM posee una prevalencia no homogénea a nivel internacional, la que se relaciona con la latitud geográfica respecto al ecuador, determinando zonas de mayor prevalencia, aunque existen excepciones en este patrón. Las zonas de alto riesgo, donde la prevalencia es mayor a 30 casos por cada 100.000 habitantes, se encuentran principalmente en el norte de Europa, EEUU y Canadá; mientras que en el hemisferio sur se encuentran Australia y Nueva Zelanda. Las zonas de riesgo intermedio, con prevalencias entre 5 a 30 casos por cada 100.000 habitantes, se ubican en el sureste de EEUU, sur de Europa y la zona meridional de Australia. Las zonas de bajo riesgo, donde la prevalencia de la enfermedad es menor a los 5 casos por cada 100.000 habitantes, incluye las regiones de Asia (exceptuando Rusia), América Latina, África y en general, las áreas geográficas cercanas al Ecuador (13).

Se han encontrado importantes diferencias en la prevalencia de esta enfermedad dentro de una misma zona geográfica y la misma latitud. Los estudios epidemiológicos sugieren que la EM es más frecuente en países de climas fríos y económicamente desarrollados, los que, en ocasiones, coincidentemente poseen una latitud mayor (14).

En Chile, la prevalencia de EM se considera intermedia, sin embargo, no existen datos epidemiológicos representativos de la situación nacional. De acuerdo a estudios realizados en la Región de Magallanes, se estima que existen 13,4 casos por cada 100.000 habitantes (con una edad de presentación promedio de 28 años; y un 67% de



mujeres). Otro estudio realizado en la Región Metropolitana reportó una prevalencia de 11,7 casos por cada 100.000 habitantes (4) (15) (16).

Varios estudios han sugerido que la incidencia de la EM está incrementándose a nivel mundial. Una conclusión significativa deriva de los resultados obtenidos en la comunidad de Olmstead (USA), un área sanitaria estudiada extensamente desde hace más de dos décadas por un grupo asociado a la Clínica Mayo, donde se ha reportado un incremento en la incidencia de esta enfermedad (13).

## **2. Factores etiológicos y etiopatogenia**

La EM si bien compromete a individuos de todas las edades, la mayor parte de los pacientes desarrollan los síntomas iniciales de la enfermedad entre los 20 y 40 años, presentándose más frecuentemente en mujeres que en hombres (proporción 2:1) (3).

No se ha determinado con precisión cuáles son los factores de riesgo asociados con la incidencia de la EM. Se han realizado estudios que revelan la existencia de cierta susceptibilidad genética a desarrollar el cuadro, pues se observó que la prevalencia de la enfermedad es diferente entre distintos grupos étnicos que residen en el mismo entorno. Los familiares de primer, segundo y tercer grado de pacientes con EM están expuestos a un riesgo mayor de desarrollar la enfermedad. Los hermanos de sujetos afectados tienen un riesgo aumentado de entre un 2 a 5%, en tanto que el riesgo para padres o hijos de individuos afectados es levemente menor. Estudios en gemelos han evidenciado índices de concordancia de 25 a 30% en el caso de los monocigotos, en comparación con un 2 a 5% en los dicigotos (semejante al riesgo en hermanos no gemelos) (14). Otros factores que se han postulado como posiblemente asociados a la EM son los siguientes: habitar en climas fríos y húmedos con gran cantidad de precipitaciones, el consumo de abundante grasa de origen animal y la infección por algunos virus como varicela zoster, herpes virus 6 y virus HLTV1 (17).

La EM se caracteriza por la presencia de lesiones inflamatorias en la sustancia blanca, desmielinización, daño axonal y gliosis. Estas lesiones, denominadas placas, suelen ser múltiples, miden desde 1 – 2mm hasta varios centímetros de diámetro y están distribuidas por todo el sistema nervioso central (SNC). Característicamente tienen distribución perivenular y se localizan más frecuentemente en la SB periventricular y subpial. Las placas de desmielinización, dependiendo de la actividad de la enfermedad, se clasifican en agudas y crónicas. En la aguda el fenómeno patológico predominante es la inflamación; y en la lesión crónica, predomina la desmielinización progresiva acompañada de degeneración axonal y gliosis (1) (4).

La etiología de la EM ha sido clásicamente atribuida a un fenómeno autoinmune. En los últimos años, se ha demostrado que la degeneración axonal es frecuente en etapas tempranas de la patología y es responsable de la irreversibilidad de los síntomas neurológicos y de la discapacidad posterior que presentan los pacientes. Diversas investigaciones han demostrado una reducción del 45 al 84% en la densidad axonal en áreas de desmielinización (18) (3).

Los mecanismos moleculares exactos que derivan en la pérdida axonal en EM no son aún del todo conocidos. Es posible que existan distintas vías por las cuales se daña el parénquima dependiendo del estado de la enfermedad. Entre los mecanismos conocidos, se pueden mencionar el daño inmunomediado, la pérdida de interacciones mielina-axón y la alteración en la redistribución de los canales iónicos (1).

Además de las placas de desmielinización y de los mecanismos de daño axonal también existen lesiones corticales asociadas a esta enfermedad que se manifiestan como atrofia cortical localizada y presencia de placas de desmielinización en SB y yuxtacorticales (3).

La EM se caracteriza por presentar 4 formas evolutivas, denominadas “fenotipos”, claramente definidas:

1. EM Remitente – Recurrente (EMRR), que corresponde al 85% de los casos iniciales de EM, y se caracteriza por la aparición de brotes clínicos discretos y clínicamente perceptibles, con evolución de días o semanas. En el lapso entre brotes sus funciones neurológicas permanecen aparentemente estables.
2. EM Primaria Progresiva (EMPP), que comprende alrededor del 15% de los casos. Estos pacientes no experimentan brotes, sino que exhiben un deterioro funcional constante desde que comienza la enfermedad. En comparación con lo que ocurre en la EMRR, posee una prevalencia similar entre ambos sexos, el cuadro comienza en una etapa más tardía de la vida (a los 40 años en promedio) y la discapacidad se presenta con mayor rapidez. No existe evidencia categórica que permita determinar si la EMPP es un fenotipo poco común de la EMRR, o son entidades diferentes.
3. EM Secundaria Progresiva (EMSP), que comienza de la forma EMRR, sin embargo, en algún punto de la evolución clínica, la forma remitente cambia de modo que se produce un deterioro continuo de las funciones neurológicas. Se produce un nivel mayor de discapacidad neurológica que la EMRR. Alrededor de la mitad de los individuos con EMRR terminarán padeciendo la forma progresiva de la enfermedad después de aproximadamente 15 años de evolución del cuadro remitente-recurrente. La EMSP al parecer representa la fase tardía de la EMRR.
4. EM Progresiva – Recurrente (EMPR) que se presenta como una forma mixta entre EMPP y EMSP y comprende alrededor del 5% de los casos globales de la enfermedad. A semejanza del paciente con EMPP, quienes padecen esta forma progresiva recurrente tienen un deterioro constante en su cuadro desde que comienza la enfermedad. Sin embargo, igual como ocurre en la forma secundaria progresiva, a veces se presentan brotes en su evolución. Las etapas iniciales de

la EMPR son idénticas a las de la forma primaria progresiva (es decir, hasta el primer brote clínico) (13).

Existe otra forma de expresión de la enfermedad, no considerada como una manifestación de la EM en sí misma, pues se presenta como un sólo brote y es llamada síndrome clínicamente aislado (CIS). Es esta una de las áreas en que la RM estructural desempeña un papel muy importante como herramienta diagnóstica, ya que ayuda a determinar la posibilidad de que de estos síndromes evolucionen a una EM (7).

### **3. Cuadro Clínico**

La característica clínica más llamativa en EM es su gran variabilidad. La localización de las lesiones determinará las disfunciones neurológicas que se presentan. Los síntomas incluyen paresia, parestesias, alteración de la visión, diplopía, nistagmo, disartria, temblor, ataxia, alteración de la sensibilidad profunda, disfunción vesical, alteraciones emocionales y deterioro cognitivo (pérdida de memoria, déficit atencional y defectos del lenguaje, entre otros), presentes en más de un 60% de los casos y responsable de gran parte de las discapacidades e incompetencias que se presentan los individuos afectados (19).

### **4. Atrofia Global Encefálica**

A pesar de las variaciones que presenta el cuadro clínico, diversos estudios han evidenciado que el fenómeno responsable de todas las disfunciones neurológicas que se presentan, es la pérdida irreversible de volumen cerebral, o atrofia global encefálica (GCA), siendo ésta considerada como un marcador global de la degeneración axonal y del daño presente tanto en la SG como en la SB (20). En pacientes con EM la atrofia se

presenta siempre, y se incrementa progresivamente en el tiempo, estableciendo una clara correlación con la progresión de la discapacidad (5).

Estudios recientes han demostrado que la pérdida de volumen encefálico ocurre significativamente más rápida en pacientes con EM, en comparación con la población normal, estimándose que la tasa de atrofia para personas sanas es de 0,1 – 0,3% por año versus 0,6 – 1,6% (0,95% en promedio por año) en pacientes que padecen la enfermedad, siendo además un proceso que ocurre en todos los fenotipos de la patología (EMPP, EMSP, EMRR y EMPR) (21) (22). Este fenómeno se manifiesta de forma temprana dentro del curso de la enfermedad, afectando no sólo a la SB, sino también a la SG, lo cual se compensaría con un aumento del tamaño ventricular para mantener constante el volumen encefálico total. En estadios más avanzados, la GCA puede llegar a ser hasta 5 veces mayor que en pacientes normales. Lo expuesto anteriormente se puede afirmar basándose en publicaciones que reportan que el deterioro cognitivo en una fase precoz de la enfermedad se correlaciona más con los cambios en el volumen de parénquima encefálico que con la carga lesional cerebral (23). De esta forma, para evaluar si una estrategia terapéutica tiene algún impacto contra la progresión de la enfermedad, se han hecho estudios en los cuales a distintas cohortes de pacientes con EM se le ha administrado Interferón- $\beta$  (IFN- $\beta$ ) o corticoides, observándose una disminución significativa en la tasa de progresión de la atrofia en comparación con los pacientes controlados con placebo, independiente del fenotipo de EM asociado. (23).

El origen de la GCA no está claro. Varios estudios longitudinales han establecido que la disminución del volumen del parénquima encefálico depende principalmente de los fenómenos inflamatorios presentes en la enfermedad, y de la combinación de los fenómenos de desmielinización, pérdida y reducción del diámetro axonal (24).

El daño o disfunción neurológica se encuentra fuertemente correlacionado con el grado de atrofia existente en la masa encefálica de los pacientes afectados (25) (24).

También se ha reportado que la pérdida global de volumen encefálico refleja de mejor forma la evolución del cuadro clínico asociado a EM, en comparación a la presencia de pérdidas focales de tejido en zonas específicas del cerebro (5).

## **5. Diagnóstico y evaluación de la Esclerosis Múltiple**

La disfunción neurológica asociada a EM puede ser evaluada clínicamente mediante dos tipos de escalas: la *Expanded Disability Status Scale de Kurtzke* (EDSS) que establece una puntuación de la disfunción de 0 (normal) a 10 (fallecido), con intervalos de 0,50 puntos y la *Escala Funcional Compuesta de Esclerosis Múltiple* (MSFC) (9).

La RM como herramienta diagnóstica siempre ha desempeñado un papel importante en la evaluación de la enfermedad y sus características imagenológicas, entre ellas la atrofia. Las primeras imágenes cerebrales de RM de pacientes con EM mostraron una alta sensibilidad para la detección de lesiones, en la evaluación de la actividad de éstas y del daño acumulado, en comparación con todas las otras modalidades imagenológicas. La RM permitió la generación de criterios imagenológicos, los que, sumados a los criterios clínicos, han impuesto a este método como parte de la evaluación de rutina tanto para el diagnóstico de la enfermedad como para el seguimiento en el curso natural de ésta (24) (7). En Chile, la RM es considerada un examen de primera línea para la confirmación de la enfermedad a partir de la presentación clínica de la misma (4).

En las imágenes obtenidas mediante RM encefálica estructural, las lesiones de EM se caracterizan por presentar signos de inflamación, desmielinización, y gliosis en la SB. Dependiendo de las secuencias utilizadas, las lesiones se visualizarán hiperintensas (brillantes) o hipointensas (oscuras) (2). La EM al ser una enfermedad inflamatoria, se acompaña de edema que puede ser visualizado hiperintenso mediante la secuencia T2 FLAIR. Para mejorar la caracterización de la EM mediante RM se pueden utilizar otras técnicas complementarias, tales como la espectroscopía por RM, la imagen de transferencia de magnetización (MTC), las imágenes potenciadas en difusión (DWI) y

fracción de anisotropía (FA); y más recientemente la técnica Voxel Based Morphometry (VBM) (20) (12).

La técnica VBM se ha convertido en un valioso instrumento en el campo de la morfometría y es la herramienta más adecuada para la detección de diferencias en el volumen de SG de estructuras que forman parte de las redes neuronales. En el caso de la EM, VBM permite una cuantificación del volumen cerebral que a su vez permite evaluar el grado de atrofia cerebral, y, por lo tanto, el daño tisular irreversible. Esta técnica utiliza modelos estadísticos que evalúan las diferencias significativas del volumen encefálico global y focal, mediante un análisis vóxel a vóxel en todo el encéfalo. Este método posee la fortaleza de minimizar la introducción de variabilidad debida al operador, por ser automatizado, y no basado en la generación de regiones de interés (ROIs), las que disminuyen la reproducibilidad del método (20) (12).

La VBM se fundamenta en métodos probabilísticos para comparar grupos de individuos entre sí, mediante la elaboración de un mapa estadístico paramétrico SPM (Statistical Parametric Mapping). Los SPMs son imágenes procesadas con valores de vóxeles que, bajo hipótesis nula, están distribuidos de acuerdo a una función de densidad de probabilidad conocida (26).

La técnica VBM utiliza imágenes volumétricas potenciadas en T1, siendo la más útil la secuencia T13D-SPGR (SPoiled Gradient Recalled) (22) (23). Mediante esta técnica se pueden extraer los volúmenes de líquido cerebroespinal (LCE), sustancia blanca y sustancia gris. Estos volúmenes se denominan “raw volumes”. El volumen encefálico total es la suma de los volúmenes de los tres compartimentos ya descritos (21) (12).

## 6. Análisis estadístico de la atrofia

Diversas publicaciones se han encargado de describir la GCA asociada a EM. La mayoría de estas han establecido que esta enfermedad produce una disminución del volumen de la SB y la SG, lo que produce un aumento compensatorio del volumen del LCE para mantener constante el volumen encefálico total. La metodología utilizada se basa en todos los casos en el modelo general lineal (GLM) para medidas repetidas, y las estimaciones y correlación de los datos utilizan principalmente las ecuaciones de estimación generalizada (GEE) para caracterizar la interacción de variables y covariables de interés. Las variables más importantes utilizadas son edad, sexo y fenotipo de la enfermedad. Esta metodología es robusta y consistente para obtener evidencia significativa en el establecimiento de la dependencia de los volúmenes de los compartimentos entre ellos, y la influencia de las variables y covariables estudiadas en los diversos estudios de tipo longitudinal realizados. Sin embargo, dada la dificultad en el enrolamiento y en el seguimiento de los pacientes que padecen EM y la dificultad en el manejo de métodos volumétricos, ha impactado en el reducido tamaño de las muestras que manejan (5) (8) (24).

En la literatura consultada, y en lo que respecta a la metodología, no se encontró un abordaje de la GCA que utilice los modelos longitudinales multinivel de curva de crecimiento, también denominados modelos de trayectoria latente. Dado que la GCA se manifiesta como un aumento en el tiempo, del volumen de LCE, sobre el que influyen las variables volumen de SB, de SG y también existe la influencia de las variables edad y sexo; este problema podría tener este abordaje, que es atractivo porque modela explícitamente las trayectorias de los individuos en el tiempo, y como estas trayectorias varían bajo la influencia de covariables a distintos niveles aleatoriamente. A este abordaje se le ha definido como el “modelamiento de las diferencias interindividuales debidas a los cambios intraindividuo”. Esta metodología ofrece al menos tres formas de abordaje, dado que la progresión de la GCA no es lineal: Modelos lineales jerárquicos (o modelos



mixtos), modelos lineales piecewise y el modelo de formulación en dos etapas. Se suma a estos abordajes el uso de modelamiento mediante ecuaciones estructurales (27) (28) (29) (30).

En este trabajo longitudinal con medidas repetidas, las observaciones a lo largo del tiempo se encuentran anidadas dentro de cada sujeto, y debido a que todos poseen la misma enfermedad, y con un patrón de atrofia global encefálica probablemente similar, podría esperarse que estas mediciones se encuentren altamente correlacionadas. Para evaluar la interdependencia de estas medidas se utilizará un modelo multinivel de tipo mixto.

### **6.1. Modelos mixtos multinivel**

Los modelos mixtos son conocidos también como “modelos multinivel” o como “modelos lineales jerárquicos”. Fueron desarrollados para el análisis de estructuras jerárquicas en la que el nivel macro, o contextual, está representado por cada sujeto; y las mediciones que se realicen sobre él constituyen el nivel micro, o individual. Los modelos mixtos se caracterizan por contener efectos fijos y efectos aleatorios. Los efectos fijos son análogos a los coeficientes de regresión y son estimados en forma directa, mientras que los efectos aleatorios no son estimados directamente, sino que son caracterizados de acuerdo con sus varianzas y covarianzas estimadas. Los modelos mixtos permiten la integración estadística de cada modelo específico en cada nivel, y la integración estará dada por un coeficiente aleatorio, donde el coeficiente de regresión del nivel individual es considerado aleatorio en el nivel más alto o contextual. Los parámetros a estimar más importantes son la esperanza y la varianza.

En este trabajo se utilizará un modelo mixto, lo que constituye una forma novedosa de abordaje de esta problemática, lo que se suma al hecho de que no se han reportado trabajos que caractericen la GCA asociada a EM en Chile.

## 6.2. Fundamento teórico

Si se considera el caso de una variable de respuesta continua y un modelo en dos niveles, se puede formalizar la siguiente ecuación

$$y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 \times x_{ij} + u_{0j} + u_{1j} \times x_{ij} + e_{0ij}$$

$$\text{Var}(e_{0ij}) = \sigma^2_{e0}$$

Donde:

- $y_{ij}$ : Variable respuesta medida en la  $i$ -ésima unidad del nivel individual, anidada en la  $j$ -ésima unidad del nivel contextual.
- $\beta_0$ : Parámetro fijo que corresponde al intercepto del nivel contextual
- $\beta_1$ : Parámetro fijo que corresponde al coeficiente de regresión del regresor  $x$  en el nivel individual
- $u_{0j}$ : Variable aleatoria con parámetros  $E(u_{0j}) = 0$  y  $\text{Var}(u_{0j}) = \sigma^2_{u0}$
- $u_{1j}$ : Variable aleatoria con parámetros  $E(u_{1j}) = 0$  y  $\text{Var}(u_{1j}) = \sigma^2_{u1}$  considerando además  $\text{Cov}(u_{0j}, u_{1j}) = \sigma^2_{u01}$

Por lo anterior, la variable respuesta  $y_{ij}$  se expresa como la suma de una parte aleatoria y una fija, y las variables aleatorias  $u_{0j}$  y  $u_{1j}$  hacen referencia al término residual. Lo que se necesita estimar son los coeficientes  $\beta$  y los otros cuatro parámetros  $\sigma^2_{u0}$ ,  $\sigma^2_{u1}$ ,  $\sigma^2_{u01}$  y  $\sigma^2_{e0}$ , los que corresponden a las varianzas y covarianzas, y que constituyen los parámetros aleatorios.

Si consideramos un modelo simple de dos niveles, en el que se considera sólo el intercepto como aleatorio, manteniendo la pendiente fija, el modelo queda determinado por:

$$y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 \times x_{ij} + u_{0j} + e_{0ij}$$

En el que los supuestos son:

$$e_{0ij} \sim N(0, \sigma^2_{e0})$$

$$u_{0j} \sim N(0, \sigma^2_{u0})$$

Y donde  $e_{0ij}$  y  $u_{0j}$  son independientes.

Bajo estos supuestos se concluye:

$$Var(y_{ij} | \beta_0, \beta_1, x_{ij}) = Var(u_0 + e_{0ij}) = \sigma^2_{u0} + \sigma^2_{e0}$$

Donde la expresión representa la suma de las varianzas del nivel contextual e individual. La covarianza entre dos medidas en el mismo sujeto está determinada por:

$$cov(u_{0j} + e_{0i_1j}, u_{0j} + e_{0i_2j}) = cov(u_{0j} + u_{0j}) = \sigma^2_{u0}$$

Por lo tanto, la correlación existente entre dos medidas tomadas en el mismo sujeto estará determinada por:

$$\rho = \frac{\sigma^2_{u0}}{(\sigma^2_{u0} + \sigma^2_{e0})}$$

Lo que constituye la correlación dentro del nivel contextual o intrasujeto, conocida también como *coeficiente de correlación intraclase (ICC)*. Este coeficiente evalúa el tamaño de los componentes de la varianza entre los grupos y dentro de estos, por lo que describe la proporción de la variación total explicada por las diferencias entre los observadores y los instrumentos de medición, y los residuos, que representan la variación no explicada. Un ICC en un rango entre 0.81 y 1.00 representa un acuerdo casi perfecto. En conclusión, el ICC se constituye como el indicador de la bondad del ajuste del modelo, análogo al  $R^2$  ajustado en un modelo de regresión simple

### 6.3. Estimación de parámetros

Si los valores de la varianza son conocidos se puede construir la matriz diagonal de varianzas y covarianzas “V” y aplicar el procedimiento de estimación de *Mínimos Cuadrados Generalizados* para estimar los coeficientes fijos:

$$\hat{\beta} = (X^T V^{-1} X)^{-1} X^T V^{-1} Y$$

$$var(\hat{\beta}) = (X^T V^{-1} X)^{-1}$$

En el caso de que las varianzas no sean homogéneas en el nivel contextual, se puede utilizar la siguiente expresión alternativa:

$$var(\hat{\beta}) = (X^T V^{-1} X)^{-1} X^T V^{-1} (Y - X\hat{\beta})$$

En la que “V” es la matriz de varianzas y covarianzas, cuando los errores se distribuyen normalmente. Los estimadores de  $\beta$  son obtenidos mediante el método de *Máxima Verosimilitud*, sin embargo, este método entrega estimadores sesgados de los parámetros aleatorios ya que no considera la variación muestral de los parámetros fijos. Esta situación puede ser de importancia al contar con una muestra pequeña, por lo que para poder obtener estimadores insesgados se puede utilizar una modificación denominada como método de *Máxima Verosimilitud Restringida*.

Para ejecutar estos métodos de estimación se debe utilizar una metodología iterativa, la que comenzará estimando los parámetros fijos utilizando el método de *Mínimos Cuadrados*, el que asume  $\sigma^2_{u0}=0$  para obtener los residuos de la componente fija. Posteriormente se estiman los coeficientes  $\sigma^2_{u0}, \sigma^2_{e0}$  a través del método iterativo de *Mínimos Cuadrados Generalizados* utilizando la matriz de covarianzas estimada, en la que el supuesto de normalidad permite expresarla como una función de los parámetros aleatorios. No obstante, si el supuesto de normalidad no se cumple, los estimadores aún

son consistentes a pesar de no ser totalmente eficientes; sin embargo, si a pesar de esto se estiman los errores estándar, los intervalos de confianza no serán consistentes.

## **7. Justificación**

La EM es una de las primeras patologías de un total de 24 que ingresó al Plan AUGES en julio del 2010, convirtiéndose Chile en el primer país del mundo en garantizar por ley el acceso a tratamiento. Esto nos da a entender la importancia para el país en el conocimiento acabado de una enfermedad, que según se indica, para Chile posee una incidencia y prevalencia intermedia (4). En Chile la EM representa un 3.4% de los pacientes hospitalizados en Santiago (18) (16).

A pesar que ya se ha demostrado la existencia de GCA en pacientes con EM mediante RM aplicando VBM en series extranjeras, se hace necesario conocer la realidad nacional respecto al comportamiento y progresión de este aspecto de la enfermedad. Un objetivo que se pretende alcanzar con este trabajo, es la caracterización de la progresión del grado de atrofia encefálica cerebral mediante el análisis de un examen basal y tres controles consecutivos, debido a que no se encontraron estudios que caracterizaran la atrofia mediante el cambio en el volumen encefálico total (raw volumes) o volúmenes parciales (SB, SG y LCE).

Varios estudios han reportado que la atrofia cerebral es un buen estimador de discapacidad, en comparación con la estimación hecha a través del conteo de las lesiones activas y residuales (9). Por esta razón, se hace muy importante determinar la atrofia precozmente para caracterizar la progresión de la enfermedad. Estudios en los países bajos, muestran que la atrofia es apreciable a partir de los estadios precoces (10) incluso antes de la existencia de sintomatología asociada. La evidencia indica además

que la atrofia sigue progresando a pesar de que los pacientes refieren estar aparentemente en buenas condiciones físicas y a pesar de estar en tratamiento (9).

En la actualidad existen terapias inmunomoduladoras que inhiben los eventos inflamatorios que reducirían la tasa de GCA progresiva (11) (3).

Apoyando la evidencia expuesta, un sub-estudio realizado por Early Treatment of Multiple Sclerosis (ETOMS), publicado el año 2004, donde se evaluó el impacto del tratamiento con interferón en el desarrollo de la atrofia cerebral a dos años, se encontró que el porcentaje de pérdida de volumen cerebral fue 30% menor en el grupo tratado respecto al control (9).

El conocimiento de la GCA permite una correlación más apropiada entre los hallazgos imagenológicos y la clínica, así como la evaluación de la eficacia del tratamiento administrado a los pacientes que padecen EM.

## **Capítulo III: Objetivos Generales y Específicos**

### **1. Objetivo General**

Determinar la existencia y el patrón de atrofia cerebral, en pacientes con EM atendidos en el Hospital Clínico de la Universidad de Chile (HCUCH), los cuales poseen un estudio basal y un mínimo de 3 controles sucesivos

### **2. Objetivos Específicos**

- Obtener los volúmenes netos (raw volumes) de LCE, SB y SG en los pacientes portadores de EM atendidos en el HCUCH.
- Verificar si existe un aumento del volumen de LCE a expensas de la disminución del volumen de SB y SG, lo que se denomina Atrofia Global Encefálica.
- Caracterizar el patrón de la Atrofia Global Encefálica en el periodo de seguimiento
- Determinar cuál compartimento encefálico presenta una atrofia mayor, entre los pacientes portadores de EM
- Establecer la influencia sobre la Atrofia Global Encefálica de algunas variables demográficas.

#### **Capítulo IV: Hipótesis de Investigación**

” Durante el periodo de estudio, los pacientes con EM disminuyen su volumen de SG y SB en el tiempo, por ende, el volumen de LCE aumenta compensatoriamente en función del tiempo, por lo que sufren de atrofia producto de la enfermedad”.

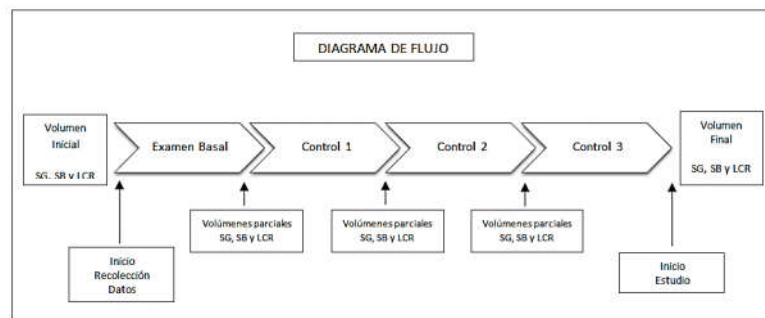


## Capítulo V: Metodología

### 1. Diseño del estudio

El presente estudio es de tipo longitudinal de cohorte histórica. Es longitudinal, pues para cada paciente existe una serie de medidas repetidas en el tiempo, por lo que existe un seguimiento de individuos a través del período en el que se recolectaron las mediciones. Las mediciones datan de fechas anteriores al comienzo de este estudio, y se obtuvieron desde un grupo de pacientes que padecen la enfermedad en estudio entre los años 2005 y 2010.

El flujo del estudio fue el siguiente:



### 2. Universo y muestra

El universo es de 59 individuos previamente diagnosticados con EM que se realizaron un seguimiento mediante exámenes de RM, efectuados bajo los criterios del protocolo de RM por enfermedad desmielinizante en el HCUCH. La muestra está constituida por una cohorte de 36 pacientes del HCUCH portadores de EM, a los que se les sometió periódicamente a exámenes de RM utilizando el protocolo de RM cerebral por enfermedad desmielinizante en la que se incluyó la adquisición de una secuencia volumétrica T1 3D-SPGR adicional optimizada para aumentar el contraste de imagen

entre sustancia blanca, sustancia gris y líquido cerebroespinal. Estos pacientes poseen un examen basal y al menos 3 controles sucesivos con RM (total de 4 exámenes).

Los individuos que componen la muestra formaron parte de un estudio doble ciego, que incluía información relacionada con la presencia o ausencia de tratamiento, el fenotipo de Esclerosis Múltiple, la etapa de la enfermedad en la cual se encontraban los distintos pacientes y el modo por el cual fueron diagnosticados. Esta información no es conocida en este trabajo.

### 3. Variables o tópicos de estudio

- **Paciente:** Identificado con un numeral único para cada uno.
- **Fecha de nacimiento:** Fecha de nacimiento de cada paciente en día/mes/año.
- **Sexo:** Masculino y femenino.
- **Control:** Numeral que indica el número del control de cada paciente.
- **Edad:** En años calculados a la fecha de cada control.
- **Fecha del examen:** Fecha de realización de cada control para cada paciente en día/mes/año.
- **Meses:** Meses transcurridos desde el examen basal hasta un control determinado
- **Volumen de sustancia blanca (SB):** Volumen total de axones mielinizados existentes en el encéfalo medido en mililitros.
- **Volumen de sustancia gris (SG):** Volumen total de somas neuronales y dendritas existentes en el encéfalo medido en mililitros.

- **Volumen de líquido cefalorraquídeo (LCR):** Volumen total de líquido cerebroespinal (LCE) presente el sistema ventricular, surcos corticales y espacio subaracnoideo medido en mililitros.

Tabla con la descripción y operacionalización de las variables

Variables	Descripción	Escala	Niveles
Paciente	Numeral único por paciente	Ordinal discreta	Valor entre 1 y 36
Sexo	Expresión gonadal	Binaria	0 = Hombre 1 = Mujer
Fecha de nacimiento	Día/mes/año de nacimiento de cada paciente	Numérica discreta	Sin nivel
Edad	Años cumplidos a la fecha del control	Cuantitativa continua (discretizada mediante recodificación)	1 = menos de 20 2 = 20 a 30 3 = 30 a 40 4 = 40 a 50 5 = 50 y más
Control	Numeral que indica el número del control	Ordinal discreta	0 = Basal 1 = 1 <sup>er</sup> Control 2 = 2 <sup>o</sup> Control 3 = 3 <sup>er</sup> Control
Fecha del examen	Día/mes/año del control de cada paciente	Numérica discreta	Sin nivel
Meses	Periodo transcurrido del basal a un determinado control	Cuantitativa discreta	Valor entre 0 y 47
Volumen de SB	Volumen encefálico total de axones mielinizados	Cuantitativa continua	Medido en mililitros
Volumen de SG	Volumen encefálico total de somas neuronales y dendritas	Cuantitativa continua	Medido en mililitros
Volumen de LCR	Volumen encefálico total de LCE presente en los espacios ventriculares, surcos y subaracnoideo	Cuantitativa continua	Medido en mililitros

#### **4. Actividades principales del trabajo en terreno**

No se realizaron actividades en terreno, ya que los datos de volúmenes de compartimentos encefálicos ya habían sido obtenidos desde la muestra

#### **5. Métodos o procedimientos de recolección de la información e instrumentos usados**

Los datos volumétricos ya fueron extraídos utilizando la técnica Voxel Based Morphometry (VBM), herramienta incorporada como “suite” en el programa SPM8 que corre sobre el software Matlab© 7.4.0. Esta técnica fue aplicada sobre las imágenes obtenidas a través de la secuencia volumétrica T1 3D-SPGR optimizada. El proceso de obtención automática de volúmenes de SB, SG y LCE se realizó aplicando una serie de scripts programados para tal efecto. Posteriormente los datos fueron tabulados en una planilla Excel y transformados a una base de datos en formato dta para ser analizados utilizando el paquete estadístico STATA13

#### **6. Técnicas de procesamiento de la información**

El procesamiento de la información se realizó utilizando estadística descriptiva, modelamiento multinivel jerárquico de tipo mixto, y métodos inferenciales, utilizando el paquete STATA13

#### **7. Análisis e interpretación**

El análisis de los datos se realizó después de verificar la integridad de la base de datos en relación a la cantidad de observaciones por paciente y la presencia de las variables iniciales, en formato. dta, mediante el paquete estadístico STATA13. Posteriormente se cambiaron los formatos de la fecha del examen, se hizo destring de las variables en formato string y se generó la variable Meses a partir de la fecha de examen (o fecha de cada control). Posteriormente las variables fueron etiquetadas y se generaron

las codificaciones para sexo (masculino y femenino), para los rangos de edad con una amplitud de 10 años, y para la edad en dos rangos (mayores y menores de 40 años de edad). A continuación, se comenzó con el análisis exploratorio de los datos para la muestra, y su relación con las variables de volumen de SG, SB y LCE del estudio, mediante el uso de gráficos y tablas. El análisis de la variación de los volúmenes en forma general, y en función del sexo y la edad, se realizó mediante el comando xtmixed. Para todos los modelos, se probaron opciones de polinomios de segundo y tercer grado, y estructuras de covarianza complejas. Finalmente, los mejores modelos, cuyos coeficientes eran significativos, fueron los más sencillos, con altos valores de coeficiente de correlación intraclase. Una vez obtenidas las ecuaciones de modelan la disminución mensual del volumen de los compartimentos encefálicos estudiados, se generó la fracción anual de disminución de volumen de SG, SB y LCE en el modelo general, y los modelos que incluyen la variable sexo y rango etario

## **8. Limitaciones**

Las limitaciones en este estudio están determinadas por el método de obtención de los volúmenes encefálicos, a través del proceso de segmentación mediante el software VBM y con las características de la muestra. Se dedica un apartado en detalle, relacionado con las limitaciones en el Capítulo VII, sección 3 de esta tesis. Se decidió abordar las limitaciones en la sección de discusión, debido a que es necesario conocer en detalle los resultados y discutirlos, para poder comprender este tema a cabalidad.

## **9. Aspectos éticos**

El presente estudio contó con la aprobación del comité de ética científica del HCUCH, asegurando que no se utilizaron los datos sensibles de los pacientes (nombre o cédula de identidad) y que la información solo fue utilizada con fines investigativos.

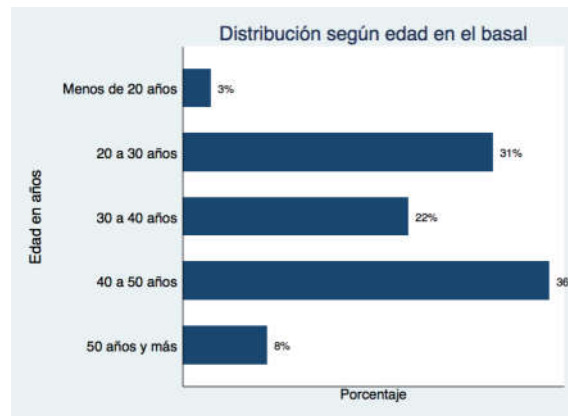
## Capítulo VI: Resultados

### 1. Análisis exploratorio y descriptivo

La muestra final está constituida por 36 pacientes con diagnóstico confirmado de Esclerosis Múltiple, y en los que se desconoce el fenotipo de la enfermedad, tiempo de evolución de su cuadro clínico y si están o no bajo tratamiento inmunomodulador. Del total de esta población de estudio, 27 pacientes son de sexo femenino constituyendo el 75% de esta muestra, y 9 de sexo masculino. La relación mujeres:hombres es de 3:1 (Anexo 2, salida 1). El tiempo de seguimiento máximo en los hombres fue de 47 meses, y en las mujeres fue de 38 meses.

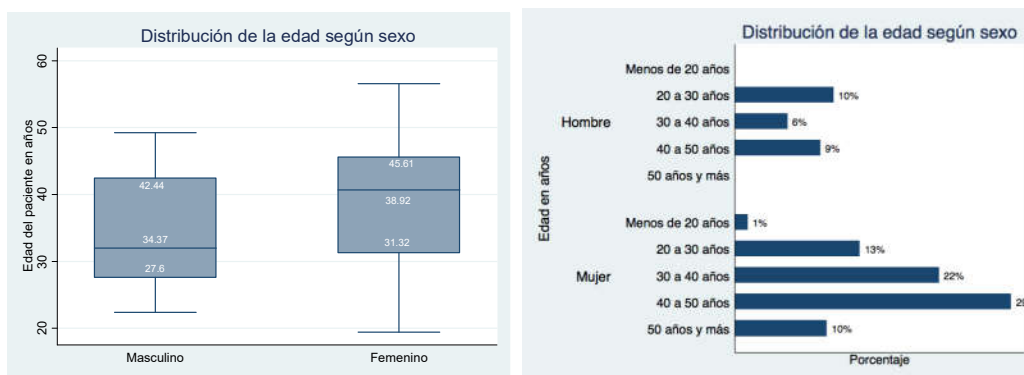
En relación a la edad, al momento del examen basal, la población en estudio estuvo en su mayoría representada por pacientes menores de 50 años (90%). Solo hubo 3 pacientes mayores de 50 años. El rango de edad fue de 19 años y 4 meses a 54 años y 4 meses, con una media de 36 años y 7 meses  $\pm$  9.5 DE (desviaciones estándar). El coeficiente de variación es de un 25.91% lo que refleja una población relativamente homogénea. A pesar de existir una mínima asimetría a la derecha, la distribución de esta variable es normal ( $p=0.3073$ ). (Anexo 2, salida 2). Al ver la distribución de la población por grupo etario, se aprecia que la mayoría de los pacientes se encontraba en el rango de edad entre los 20 y 40 años de edad (19 pacientes). Solo un paciente tenía menos de 20 años, y 16 tenían más de 40 años. Si agrupamos a los pacientes en un rango etario que se puede definir como "edad media", comprendido entre los 20 y los 50 años de edad, 33 de ellos pertenecen a esta categoría (91.67%). (Anexo 2, salida 3) (Gráfico 1)

Gráfico 1. Distribución de la población por grupo etario



Si consideramos la distribución de la edad según el sexo de los pacientes, se observa que todos los hombres se encuentran en el grupo etario entre los 20 y 50 años. 24 mujeres (88.89%) son menores de 50 años de edad y solo 4 (14.81%) están bajo los 20 años, o son mayores de 50 años de edad. (Anexo 2, salida 4) (Gráfico 2)

Gráfico 2. Distribución por grupo etario según sexo



## 2. Análisis de los volúmenes encefálicos

### 2.1. Análisis del volumen de Sustancia Gris (SG)

En relación al volumen de SG se observa una disminución progresiva de su volumen desde el examen basal hasta el último control. Al graficar el volumen de SG de todos los pacientes durante el periodo de seguimiento completo, realizando un ajuste lineal de los datos, se evidencia que la SG disminuye linealmente a medida que transcurre el tiempo (Anexo 2, salida 5) (Gráfico 3) Los volúmenes de SG por control se distribuyen de forma normal (Anexo 2, salida 5) (Tabla 1, gráfico 4)

Gráfico 3. Volumen de SG vs Control y fecha del examen

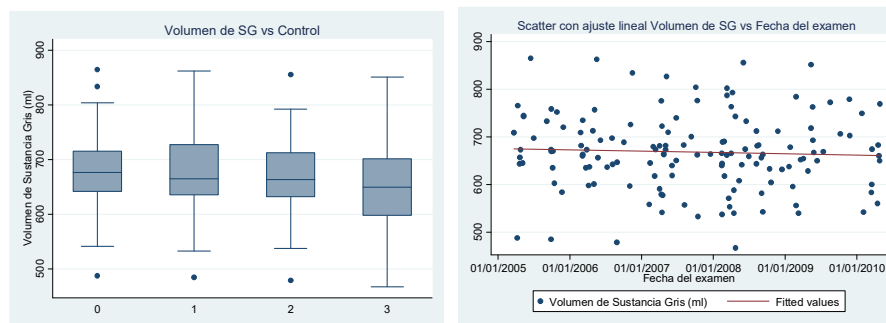


Gráfico 4. Distribución de SG vs control

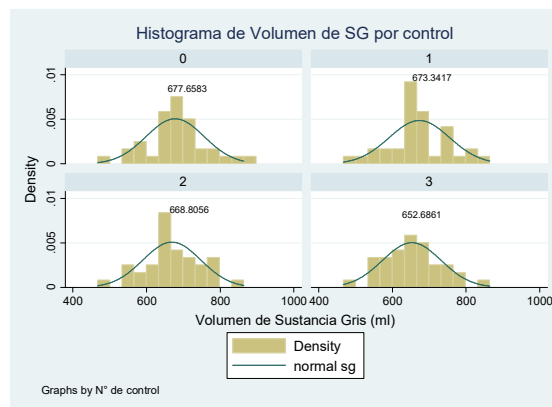


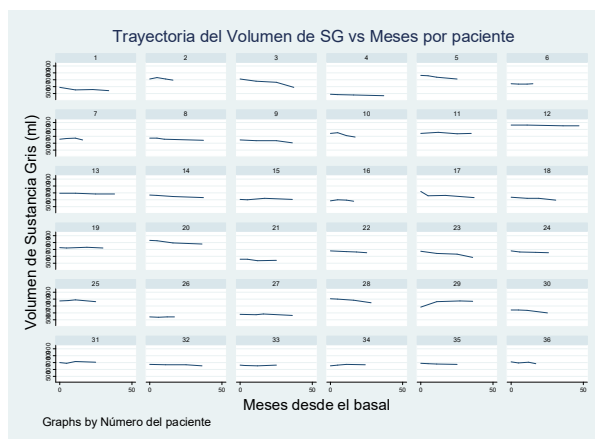


Tabla 1. Test de Shapiro-Wilk para el volumen de SG por control

Volumen de SG	N° Obs	Media Vol SG (ml)	W	p-valor
Basal	36	677.6583	0.98324	0.84843
Control 1	36	673.3417	0.98117	0.78401
Control 2	36	668.8056	0.9829	0.83837
Control 3	36	652.6861	0.9918	0.99423

Esta tendencia a la disminución del volumen de este compartimento es la obtenida en todas las mediciones y en todos los pacientes, sin embargo, por ser este un modelo de medidas repetidas, en el que se cuantificó el volumen de SG de cada paciente en el examen basal y en 3 controles sucesivos; es necesario visualizar cómo se comporta en el tiempo de seguimiento, el volumen de SG en cada uno de los pacientes, lo que se visualiza en el gráfico 5 (Anexo 2, salida 5)

Gráfico 5. Trayectorias del volumen de SG vs meses por paciente



Según este gráfico, se observa que la sustancia gris tiende a disminuir a medida que transcurre el tiempo de seguimiento. En la mayoría de los pacientes pareciera disminuir linealmente, mientras que en otros la trayectoria pareciera no ser lineal. Adicionalmente en algunos pacientes el volumen de este compartimento aumenta levemente. Para ver como el comportamiento del volumen de SG de cada paciente en

función del tiempo de seguimiento se refleja en un modelo general, se ejecutó un modelo mixto que incluye las variables SG y meses (Tabla 2 (Anexo 2, salida 6))

Tabla 2: Tabla resumen del modelo de disminución de SG en el tiempo de seguimiento

		(1)				
		sg				
sg						
Meses		-0.795*** (-6.57)				
_cons		678.6*** (51.97)				
lnsl_1_1						
_cons		4.348*** (36.46)				
lnsig_e						
_cons		2.815*** (41.37)				
N		144				
t statistics in parentheses						
* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001						

Volumen de SG	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)	
Meses	-0.7952761	0.1211014	0.000 *	-1.032631	-0.5579217
Intercepto	678.6161	13.05879	0.000 *	653.0214	704.2109

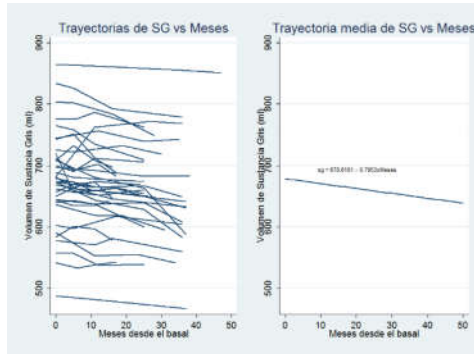
Parámetros de efecto aleatorio	Estimado	Error Estándar	IC (al 95%)	
DE (Intercepto)	77.31453	9.218561	* 61.20241	97.66833
DE (Residuos)	16.69683	1.136096	* 14.61221	19.07884
<b>ICC del Modelo</b>	<b>0.95544</b>	<b>0.01015</b>	<b>* 0.93554</b>	<b>0.97534</b>

Según el modelo, la sustancia gris disminuye 0.795 ml por cada mes de seguimiento, en función de los meses transcurridos desde el control basal, con un valor inicial de 678.6 ml. La desviación estándar del intercepto es de 77.315 ml y la de los residuos es de 16.697 ml. La bondad de ajuste del modelo corresponde al coeficiente de correlación intraclase (ICC) que es igual a 0.95544, con un intervalo de confianza estrecho. Todos los coeficientes son significativos al menos al nivel del 5%. Por lo tanto, la disminución del volumen de SG en función del tiempo responde a la siguiente ecuación:

$$\text{Volumen SG} = 678.6161 - 0.7953 \times \text{Meses}$$

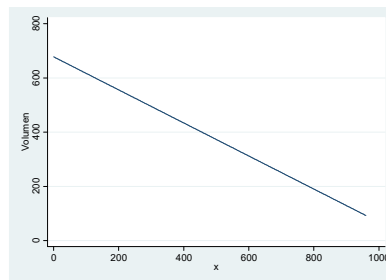
El gráfico de la trayectoria media de la disminución de SG en función del tiempo, para todos los pacientes es el siguiente (Gráfico 6, Anexo 2, Salida 6):

Gráfico 6: Trayectoria media de SG en los meses de seguimiento



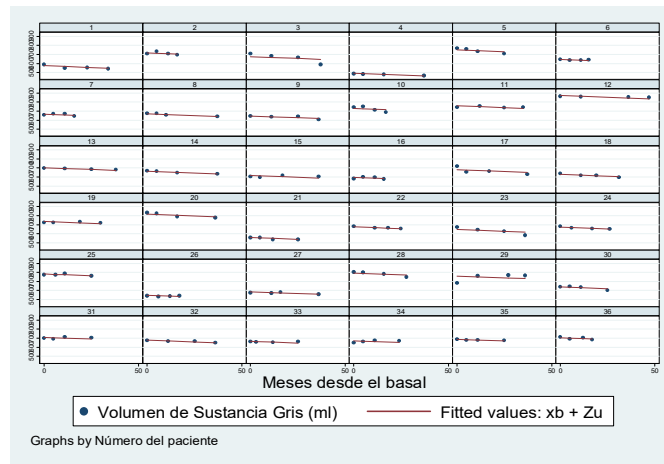
Otra forma de visualizar si el modelo planteado es adecuado, es verificar que el volumen de SG nunca tendrá valores iguales a cero o negativos, ya que esto es imposible del punto de vista biológico. Para esto se graficará la trayectoria media a 80 años de seguimiento (960 meses) (Gráfico 7, Anexo 2, Salida 6). Gráficamente se verifica que al final de este periodo de seguimiento, el volumen de SG tiene un valor de aproximadamente 100 ml. Cabe señalar que la esperanza de vida de un paciente portador de EM es mucho menor.

Gráfico 7: Trayectoria media del modelo a 80 años de seguimiento



Otra forma de verificar gráficamente si el modelo general propuesto se ajusta a la disminución de SG de cada individuo, se consigue graficando las trayectorias predichas por éste (Gráfico 8, Anexo 2, Salida 6)

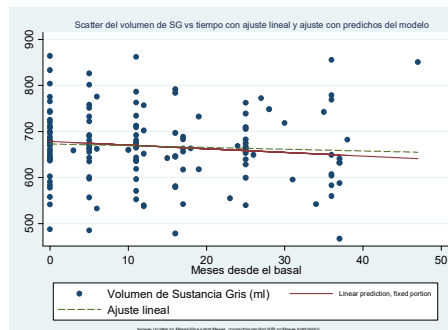
Gráfico 8: Trayectorias predichas del volumen de SG para cada paciente



Según el gráfico, se observa que el modelo general lineal propuesto ajusta de buena forma los valores del volumen de SG de cada sujeto, que va disminuyendo progresivamente desde el estudio basal y en cada uno de sus controles

Adicionalmente, se obtienen los valores de volumen de SG predichos por el modelo y se grafican junto con el ajuste lineal simple para compararlos, observándose una pequeña diferencia entre ambas trayectorias, ya que la pendiente y el intercepto de la predicción del modelo mixto son levemente mayores que las del ajuste lineal simple (Gráfico 9, Anexo 2, Salida 6)

Gráfico 9: Comparación del ajuste lineal simple y la predicción del modelo



Al obtener y graficar los residuos del modelo, se observa un ajuste lineal adecuado de estos, excepto en las colas, lo que nos hace suponer que los residuos son

normales, sin embargo, el test de Shapiro-Wilk de los residuos evidencia que no son normales (Anexo 2, Salida 6)

### 2.1.1. Análisis del volumen de Sustancia Gris (SG) y sexo

Debido a que existen diferencias en los volúmenes de SG entre ambos sexos, se analizó como se expresa la disminución del volumen de SG para hombres y mujeres. Al graficar el volumen de SG de los pacientes según sexo en el seguimiento, y al observar las trayectorias del volumen de SG por sexo (gráfico 10) y el gráfico de cajas (gráfico 11) se evidencia una disminución del volumen de SG en ambos sexos, en función del tiempo. Al graficar el volumen de SG en ambos sexos con ajuste lineal de los datos, se evidencia que la SG disminuye linealmente a medida que transcurre el tiempo (Gráfico 12) (Anexo 2, salida 7) Los volúmenes de SG solo distribuyen normal en las mujeres, sin embargo, por el tamaño muestral y por haber p-valores límites para aceptar o rechazar la hipótesis de normalidad, se considerará que el volumen de SG distribuye normal en ambos sexos (Anexo 2, salida 7) (Tabla 3)

Gráficos 10 y 11: Volumen de SG durante el seguimiento, según sexo

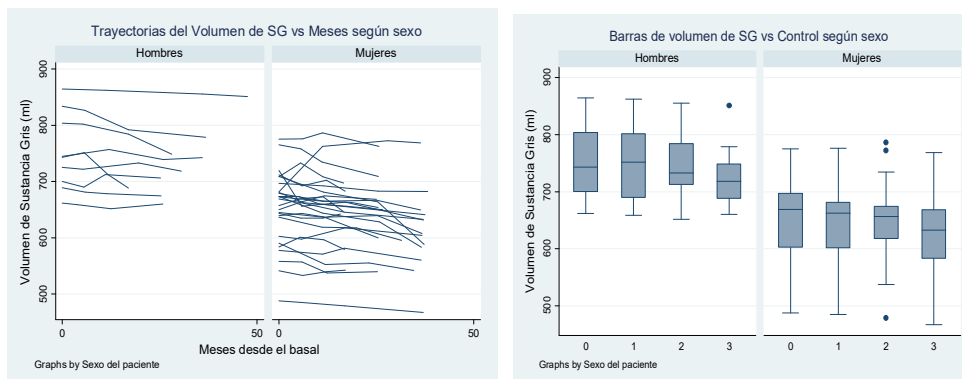


Gráfico 12: Disminución lineal del volumen de SG durante el seguimiento según sexo

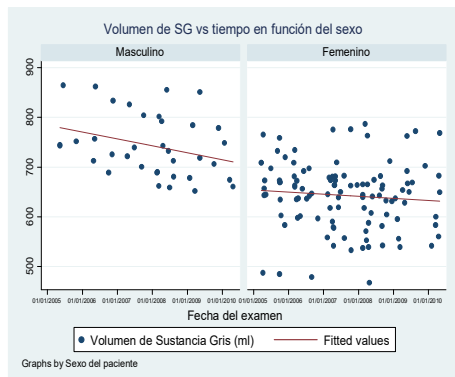


Tabla 3. Test de Shapiro-Wilk para el volumen de SG por sexo

Volumen de SG	Nº Obs	Media Vol SG (ml)	W	p-valor
Hombres	36	742.9194	0.939	0.04728
Mujeres	108	643.1907	0.97699	0.05781

Para verificar si existen diferencias significativas en la media del volumen de SG entre ambos sexos se realiza prueba t de muestras independientes con igual varianza. Previamente se realizó test de Levene, el que evidenció la igualdad de varianzas ( $f(35,107) = -0.8551, p > 0.05$ ) (Anexo 2, salida 7). En la prueba t se observa que al comparar las medias del volumen de SG de los hombres ( $742.92 \pm 21.25$ ) y mujeres ( $643.19 \pm 12.96$ ) la de las mujeres es significativamente menor ( $t(142) = 7.769, p < 0.05$ ) (Anexo 2, salida 7).

Dado que hay diferencias en la disminución de SG según el sexo, se realiza un modelo mixto diferenciando por sexo. Previamente se probaron modelos con distintas estructuras de covarianza, y ajustando un polinomio cuadrático, sin embargo, los coeficientes obtenidos no fueron significativos al nivel del 5%. Finalmente, para cuantificar la diferencia en la disminución de SG según sexo y en función del tiempo, se decidió ejecutar un modelo lineal mixto incorporando la variable de interacción entre el tiempo de seguimiento (meses) y el sexo, que se denomina  $t_{\text{sexo}}$ , la que se obtiene

multiplicando meses con sexo. La ecuación para el volumen de SG que incorpora esta interacción es la siguiente:

$$\text{Volumen SG} = \beta_0 + \beta_1 t + \beta_2 \text{sexo} + \beta_3 t \text{sexo} \quad (\text{siendo } t \text{ los meses de seguimiento})$$

Dado que la variable sexo fue codificada como 0 en los hombres y 1 en las mujeres, las ecuaciones que modelan el volumen de SG en función del tiempo para cada sexo, son las siguientes:

$$\text{Volumen SG hombres} = \beta_0 + \beta_1 t$$

$$\text{Volumen SG mujeres} = \beta_0 + \beta_1 t + \beta_2 + \beta_3 t = (\beta_0 + \beta_2) + (\beta_1 + \beta_3)t$$

Al correr el modelo mixto (Anexo 2, salida 8) con la interacción tsexo, los coeficientes obtenidos se resumen en la siguiente tabla.

Tabla 4: Resumen del modelo de disminución de SG con la variable de interacción tsexo

Volumen de SG		Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)	
Meses	-0.627**	-0.6270713	0.2319475	0.007 *	-1.08168	-.1724626
sexo	-96.87***	-96.87011	25.07807	0.000 *	-146.0222	-47.71799
tsexo	-0.228	-0.2281731	0.2716726	0.401 *	-.7606416	.3042953
Intercepto	751.3***	751.2978	21.71389	0.000 *	708.7394	793.8563
Parámetros de efecto aleatorio		Estimado	Error Estándar	IC (al 95%)		
DE (Intercepto)	63.93474	7.665675	* 50.54512 80.87134			
DE (Residuos)	16.65501	1.133362	* 14.57542 19.0313			
<b>ICC del Modelo</b>	<b>0.93645</b>	<b>0.01427</b>	<b>* 0.90848 0.96442</b>			

(1)	
sg	
sg	
Meses	-0.627** (-2.70)
sexo	-96.87*** (-3.86)
tsexo	-0.228 (-0.84)
_cons	751.3*** (34.60)
lna1_1_1	
_cons	4.158*** (34.68)
lna1g_w	
_cons	2.813*** (41.33)
n	144

t estadístico in parentheses  
\* p<0.05, \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001

Según el modelo, la sustancia gris disminuye en 0.627 ml por cada mes de seguimiento, y según la variable de interacción tsexo en 0.228 ml, mientras que el volumen de SG al inicio del seguimiento es de 751.2978 ml. La desviación estándar del intercepto es de 63.935 ml y la de los residuos es de 16.655 ml. La bondad de ajuste del modelo corresponde al coeficiente de correlación intraclase (ICC) que es igual a 0.93645, con un intervalo de confianza estrecho. Todos los coeficientes son significativos al menos al nivel del 5% excepto en el caso de la variable de interacción tsexo (p-valor=0.401). La

ecuación que modela la disminución de SG en función del tiempo, e incorporando la variable de interacción tsexo es la siguiente:

$$\text{Volumen SG} = 751.2978 - 0.6270713 t - 96.87011 \text{ sexo} - 0.2281731 \text{ tsexo}$$

De este modo, las ecuaciones que modelan la disminución mensual del volumen de SG en función del tiempo y el sexo son las siguientes

$$\text{Volumen SG hombres} = 751.2978 - 0.6270713 x \text{ Meses}$$

$$\text{Vol SG mujeres} = (751.2978 - 96.87011) - (0.6270713 + 0.2281731) x \text{ Meses}$$

$$\text{Volumen SG mujeres} = 654.42769 - 0.8552444 x \text{ Meses}$$

Este modelo se eligió debido a la probable importancia biológica de la interacción tsexo en el modelamiento de la disminución de SG en función del sexo y el tiempo de seguimiento, a pesar que esta variable no influye en forma significativa, dado su p-valor igual a 0.401 (p-valor > 0.05), pero debido a que no es significativa, se optó por ejecutar dos modelos para la disminución de SG, uno para cada sexo (Anexo 2, salida 8) cuyos coeficientes se resumen en la siguiente tabla.

Tabla 5: Resumen del modelo de disminución de SG para cada uno de los sexos

		Tabla del modelo de disminución de SG para los hombres				
		Volumen de SG	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)
sg		Meses	-0.6338577	0.1933515	0.001 *	-1.01282 -0.2548958
		Intercepto	751.3885	20.99149	0.000 *	710.2459 792.531
		<b>Parámetros de efecto aleatorio</b>				
			Estimado	Error Estándar		IC (al 95%)
		DE (Intercepto)	62.10924	14.83891		* 38.88573 99.20241
		DE (Residuos)	13.87933	1.889432		* 10.62899 18.12362
		<b>ICC del Modelo</b>	0.95244	0.02165		* 0.91001 0.99486
		<b>Tabla del modelo de disminución de SG para las mujeres</b>				
		Volumen de SG	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)
		Meses	-0.855224	0.1484565	0.000 *	-1.146193 -0.5642547
		Intercepto	654.4274	12.68492	0.000 *	629.5654 679.2894
		<b>Parámetros de efecto aleatorio</b>				
			Estimado	Error Estándar		IC (al 95%)
		DE (Intercepto)	64.53963	8.944322		* 49.18826 84.68208
		DE (Residuos)	17.48202	1.373517		* 14.98701 20.3924
		<b>ICC del Modelo</b>	0.93164	0.01765		* 0.89705 0.96624

	(1)	(2)
sg		
Meses	-0.634** (-3.28)	-0.855*** (-5.76)
_cons	751.4*** (35.79)	654.4*** (51.59)
lnsl_1_1		
_cons	4.129*** (17.28)	4.167*** (30.07)
lnsig_e		
_cons	2.630*** (19.32)	2.861*** (36.42)
N	36	108

t statistics in parentheses  
\* p<0.05, \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001

(1) Hombres / (2) Mujeres



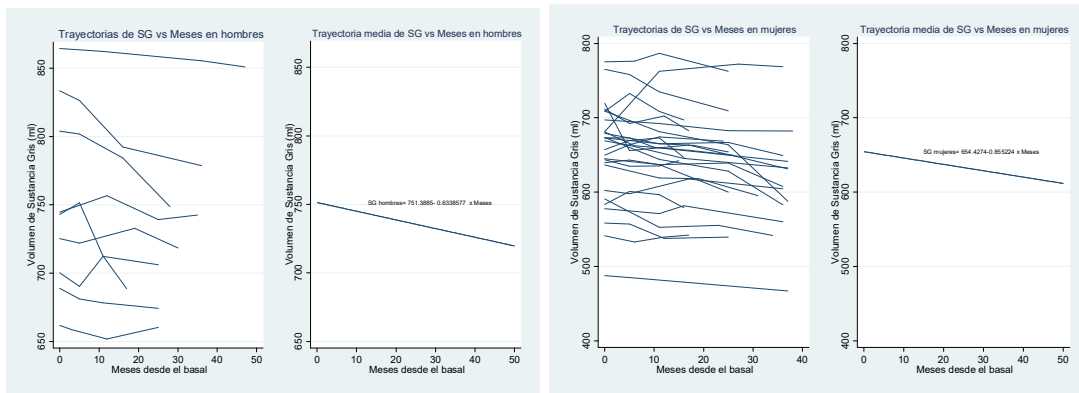
Según estos modelos, en el caso de los hombres, el volumen de SG al inicio del seguimiento es de 751.3885 ml y disminuye a razón de 0.6338 ml por cada mes transcurrido. La desviación estándar del intercepto es de 62.11 ml y la de los residuos es de 13.88 ml, mientras que el coeficiente de correlación intraclase es de 0.95244 con un estrecho intervalo de confianza. En el caso de las mujeres, el volumen inicial de SG es de 654.4274 ml y disminuye en 0.8552 ml por cada mes de seguimiento. La desviación estándar del intercepto es de 64.54 ml y la de los residuos es de 17.48 ml, mientras que el coeficiente de correlación intraclase es de 0.93164 con un estrecho intervalo de confianza. Según estos modelos los hombres, al inicio del seguimiento, tienen 96.96 ml más de volumen de SG en comparación con las mujeres, con un ritmo menor de disminución mensual de este volumen (0.855 ml por mes en hombres vs 0.634 ml en mujeres). Las ecuaciones que modelan la disminución mensual del volumen de SG son las siguientes:

$$\text{Volumen SG hombres} = 751.3885 - 0.6338577 \times \text{Meses}$$

$$\text{Volumen SG mujeres} = 654.4274 - 0.855224 \times \text{Meses}$$

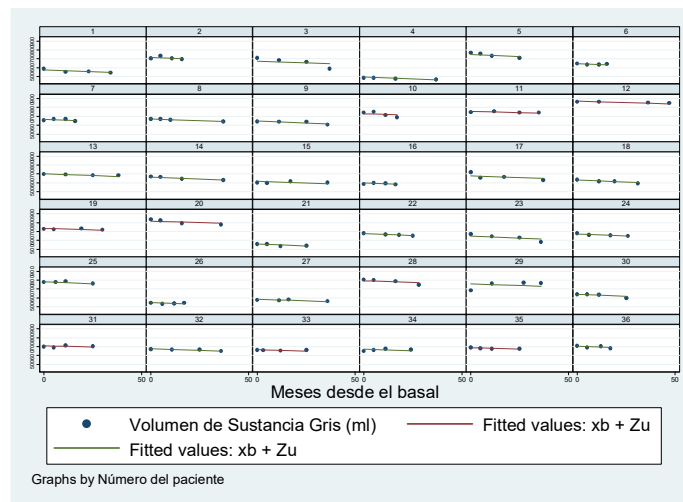
Como se aprecia, existe una mínima diferencia entre estas ecuaciones para los hombres, en comparación con el modelo que incluye la variable de interacción tsexo; y prácticamente no hay diferencias en el caso de las mujeres. Se decide optar por los últimos modelos planteados, debido a su mayor simpleza, a que todos los coeficientes son significativos ( $p$ -valor  $< 0.05$ ) y al mayor coeficiente de correlación intraclase del modelo en los hombres (en las mujeres es similar al modelo con la variable tsexo). A continuación, se grafica la trayectoria media de la disminución de SG para hombres y mujeres durante el seguimiento, obtenida a partir de los modelos planteados (Gráfico 13, Anexo 2, Salida 8). En todos los modelos la disminución de SG es mayor en las mujeres que en los hombres.

Gráfico 13: Trayectoria media de la disminución de SG para hombres y mujeres



Para verificar gráficamente el ajuste de estos modelos, se grafican las trayectorias predichas por éstos (Gráfico 14, Anexo 2, Salida 8)

Gráfico 14: Trayectorias predichas de la disminución de SG en el seguimiento para cada paciente



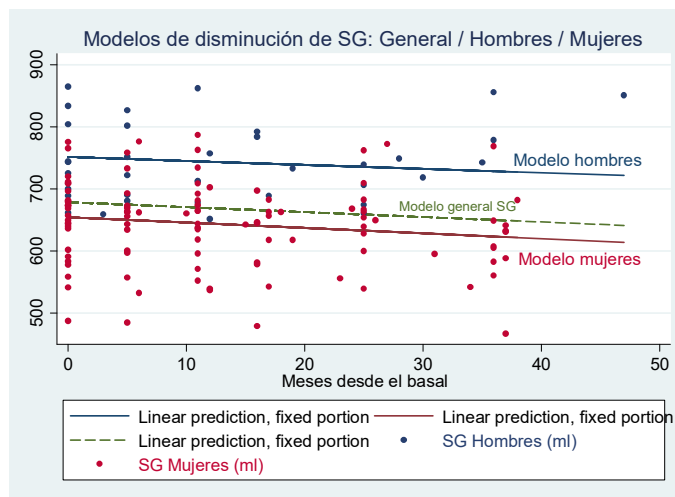
Gráficamente se observa que el modelo mixto propuesto ajusta de buena forma los valores del volumen de SG para cada sujeto, al considerar la variación según el sexo al que pertenecen, durante los meses de seguimiento.

Al obtener y graficar los residuos del modelo, se observa un ajuste lineal adecuado de estos, excepto en las colas, lo que nos hace suponer que los residuos son

normales sin embargo el test de Shapiro-Wilk de los residuos evidencia que no son normales (Anexo 2, Salida 8)

Al graficar los valores de SG predichos por el modelo para hombres y mujeres, se observa la diferencia en la pendiente de la recta de disminución de SG entre ambos sexos, la que es mayor en las mujeres, lo que determina un mayor grado de disminución del volumen de SG en las mujeres, respecto a los hombres durante el periodo de seguimiento. En el gráfico 15 (Anexo 2, Salida 8) se visualiza este hecho. Adicionalmente se incluyó el modelo general de disminución de SG durante el periodo de seguimiento, cuya recta se encuentra entre las rectas de ambos sexos, con una pendiente similar a la del modelo lineal de los pacientes de sexo masculino.

Gráfico 15: Comparación de los modelos de disminución de SG vs meses, según sexo y general

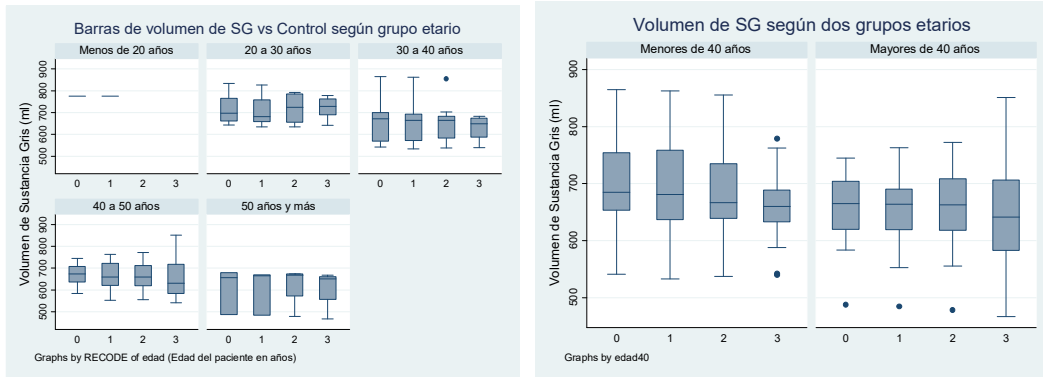


### 2.1.2. Análisis del volumen de Sustancia Gris (SG) y edad

Debido a que existen diferencias en los volúmenes de SG entre los grupos etarios que componen la muestra, se analizó la disminución del volumen de SG considerando la variable edad. Al graficar el volumen de SG de los pacientes según grupo etario durante el periodo de seguimiento (Gráfico 16, Anexo 2, Salida 9) se evidencia una disminución del volumen de SG en los grupos etarios 30 a 40 años y 40 a 50 años de edad. En el

resto de los grupos etarios no se evidencia claramente una disminución en el tiempo del volumen de SG

Gráfico 16: Volumen de SG durante el seguimiento, según grupo etario



Dado que los grupos se encuentran desbalanceados en relación a la cantidad de individuos que los componen, la muestra se divide en 2 grupos etarios, menores de 40 años y mayores de 40 años, bajo el criterio de que la mediana se encuentra en los 39.72 años de edad (Anexo 2, Salida 9). Para el grupo de menores de 40 años, la media de edad es de 30.1 años, mientras que para los mayores de 40 años la media de edad es de 46.14 años (Anexo 2, Salida 9) Los volúmenes de SG solo distribuyen normal en los mayores de 40 años, sin embargo, por el tamaño muestral y por haber p-valores límites para aceptar o rechazar la hipótesis de normalidad, se considerará que el volumen de SG distribuye normalmente en ambos grupos etarios propuestos (Anexo 2, salida 9) (Tabla 6)

Tabla 6. Test de Shapiro-Wilk para el volumen de SG por grupo etario

Volumen de SG	Nº Obs	Media Vol SG (ml)	W	p-valor
Menores de 40	75	682.7560	0.96526	0.03741
Mayores de 40	69	652.2174	0.98080	0.36803

Para verificar si existen diferencias significativas en la media del volumen de SG entre ambos grupos etarios se realiza prueba t de muestras independientes con igual varianza. Previamente se realizó test de Levene, el que evidenció igualdad de las

varianzas ( $f(74,68) = 1.2163, p > 0.05$ ) (Anexo 2, salida 9). En la prueba t se observa que al comparar las medias del volumen de SG de los menores de 40 años ( $682.756 \pm 18.7946$  años) y mayores de 40 años ( $652.2174 \pm 17.7935$  años), la de los individuos mayores de 40 años es significativamente menor ( $t(142) = 2.3431, p < 0.05$ ) en comparación con los menores (Anexo 2, salida 9).

Dado que existen diferencias en la disminución de SG en relación al periodo de seguimiento entre ambos grupos etarios, se realizó un modelo mixto diferenciado para los grupos de edad propuestos. El análisis se hizo de forma similar al de la influencia del sexo, es decir, un modelo por cada uno de los dos grupos etarios ya caracterizados. Los coeficientes obtenidos se resumen en la siguiente tabla (Anexo 2, salida 9)

Tabla 7: Resumen del modelo de disminución de SG para dos grupos etarios

			Tabla del modelo de disminución de SG para los menores de 40 años de edad				
	(1)	(2)	Volumen de SG	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)
	sg	sg	Meses	-1.089425	0.1456121	0.000 *	-1.37482 -0.8040308
			Intercepto	696.1358	18.27236	0.000 *	660.3226 731.9489
			Parámetros de efecto aleatorio				
	sg		Estimado	Error Estándar	IC (al 95%)		
Meses	-1.089***	-0.524*	DE (Intercepto)	81.01789	12.91308	* 59.28048 110.7261	
	(-7.48)	(-2.56)	DE (Residuos)	13.62821	1.299249	* 11.30549 16.42814	
_cons	696.1***	664.9***	<b>ICC del Modelo</b>	0.97248	0.00853	* 0.95576 0.98920	
	(38.10)	(35.06)					
			Tabla del modelo de disminución de SG para mayores de 40 años de edad				
	insl_1_1		Volumen de SG	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)
	_cons		Meses	-0.5242756	0.2048963	0.011 *	-0.925865 -0.1226862
			Intercepto	664.8618	18.962	0.000 *	627.697 702.0267
			Parámetros de efecto aleatorio				
	insig_e		Estimado	Error Estándar	IC (al 95%)		
	_cons		DE (Intercepto)	80.60083	13.49397	* 58.0542 111.9039	
			DE (Residuos)	19.24116	1.933445	* 15.8015 23.42956	
			<b>ICC del Modelo</b>	0.94608	0.01708	* 0.91261 0.97956	
N	75	69					
t statistics in parentheses							
* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001							

(1) Menores de 40 años / (2) Mayores de 40 años

Según estos modelos, en el caso de los menores de 40 años, el volumen de SG al inicio del seguimiento es de 696.1358 ml y disminuye a razón de 1.0894 ml por cada mes transcurrido. La desviación estándar del intercepto es de 81,018 ml y la de los residuos es de 13.628 ml, mientras que el coeficiente de correlación intraclase es de 0.97248 con un estrecho intervalo de confianza. En el caso de los mayores de 40 años, el volumen inicial de SG es de 664.8618 ml y disminuye en 0.5243 ml por cada mes de seguimiento. La desviación estándar del intercepto es de 80.6 ml y la de los residuos es de 19.241 ml,

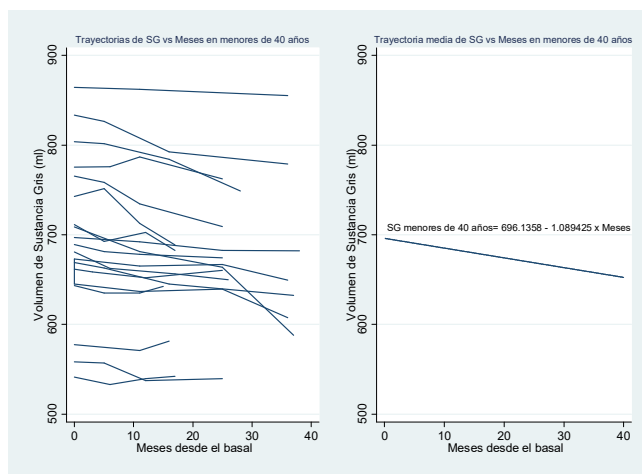
mientras que el coeficiente de correlación intraclase es de 0.94608 con un estrecho intervalo de confianza. Según estos modelos los menores de 40 años de edad, al inicio del seguimiento, tienen 31.27 ml más de volumen de SG en comparación con los mayores de 40 años, pero con un ritmo mayor de disminución mensual de este volumen, que es más del doble que el observado en el otro grupo etario (1.089 ml por mes en menores vs 0.524 ml en mayores de 40 años). Las ecuaciones que modelan la disminución mensual del volumen de SG para ambos grupos etarios son las siguientes:

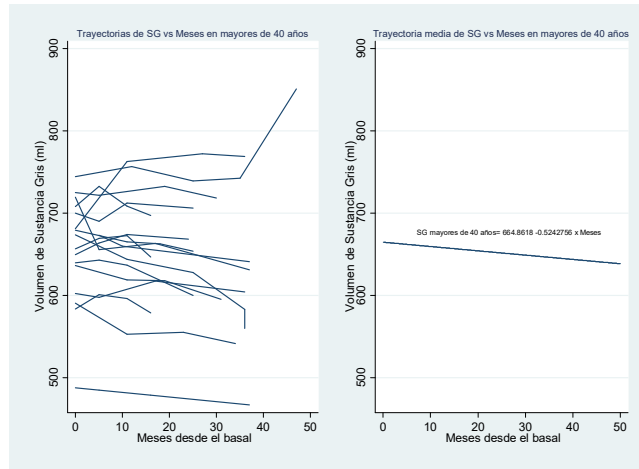
$$\text{Volumen SG menores de 40 años} = 696.1358 - 1.089425 \times \text{Meses}$$

$$\text{Volumen SG mayores de 40 años} = 664.8618 - 0.5242756 \times \text{Meses}$$

A continuación, se grafica la trayectoria media de la disminución de SG para menores y mayores de 40 años durante el seguimiento, obtenida a partir de los modelos planteados (Gráfico 17, Anexo 2, Salida 9).

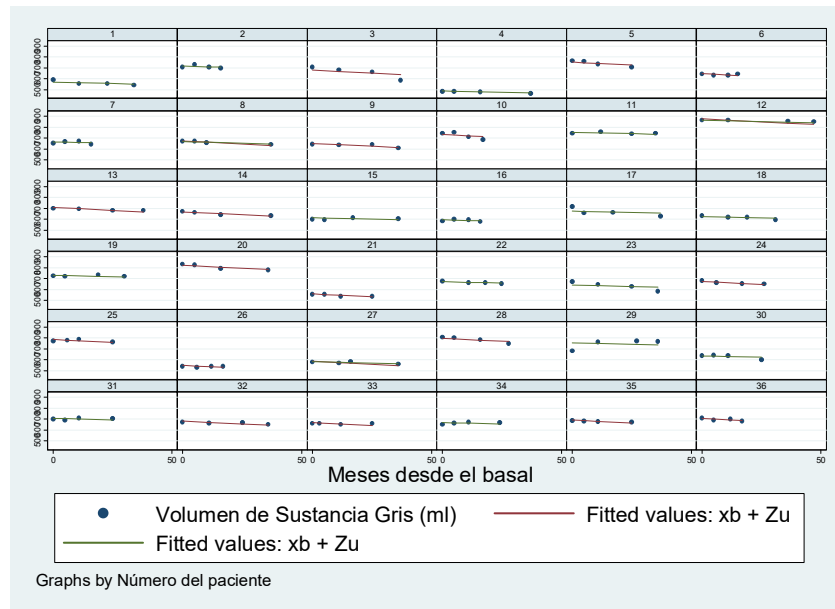
Gráfico 17: Trayectoria media de la disminución de SG en el seguimiento para mayores y menores de 40 años





Para verificar gráficamente el ajuste de estos modelos, se grafican las trayectorias predichas por éstos para cada uno de los pacientes (Gráfico 18, Anexo 2, Salida 9)

Gráfico 18: Trayectorias predichas de la disminución de SG en el seguimiento para cada paciente

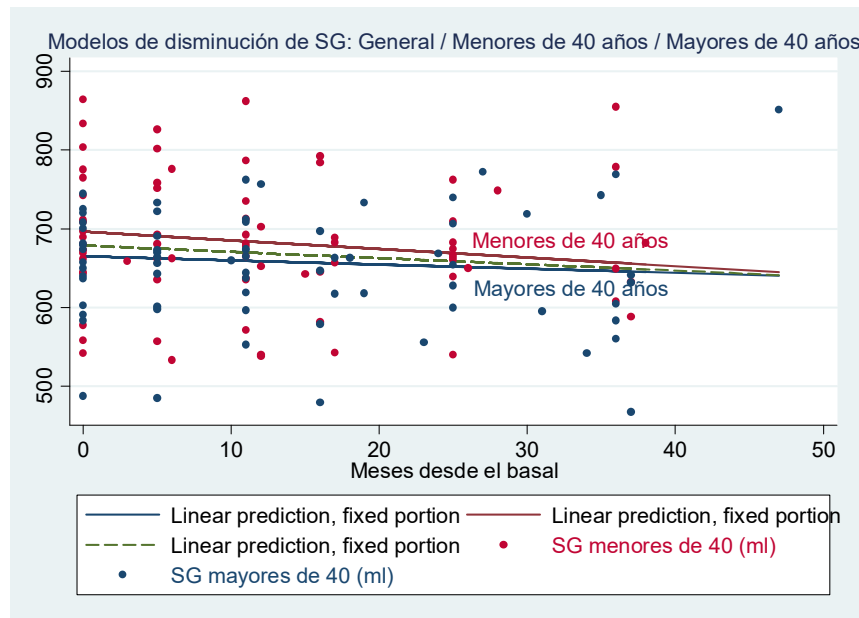


Gráficamente se observa que el modelo mixto propuesto ajusta de buena forma los valores del volumen de SG para cada sujeto, al considerar la variación según el grupo etario al que pertenecen, durante los meses de seguimiento.

Al obtener y graficar los residuos del modelo, se observa un ajuste lineal adecuado de estos, excepto en las colas, lo que nos hace suponer que los residuos son normales sin embargo el test de Shapiro-Wilk de los residuos evidencia que no son normales (Anexo 2, Salida 9)

Al graficar los valores de SG predichos por el modelo para menores y mayores de 40 años, se observa la diferencia en la pendiente de la recta de disminución de SG entre ambos grupos etarios, la que es mayor en los menores, lo que determina un mayor grado de disminución del volumen de SG en este grupo, respecto a los mayores durante el periodo de seguimiento. En el gráfico 19 (Anexo 2, Salida 8) se visualiza este hecho. Adicionalmente se incluyó el modelo general de disminución de SG durante el periodo de seguimiento, cuya recta se sitúa entre las rectas de los modelos según rango etario, pero con una pendiente menor a la de las de los modelos de variación de SG según grupo etario.

Gráfico 19: Comparación de modelos para SG vs meses, según edad y general





## 2.2. Análisis del volumen de Sustancia Blanca (SB)

En relación al volumen de SB, se observa una disminución progresiva de su volumen desde el examen basal hasta el último control. Al graficar el volumen de SB de todos los pacientes durante el periodo de seguimiento completo, realizando un ajuste lineal de los datos, se evidencia que la SB disminuye linealmente a medida que transcurre el tiempo (Anexo 2, salida 10) (Gráfico 20) Los volúmenes de SB por control no se distribuyen de forma normal (Anexo 2, salida 10) (Tabla 8, gráfico 21)

Gráfico 20. Volumen de SB vs Control y fecha del examen

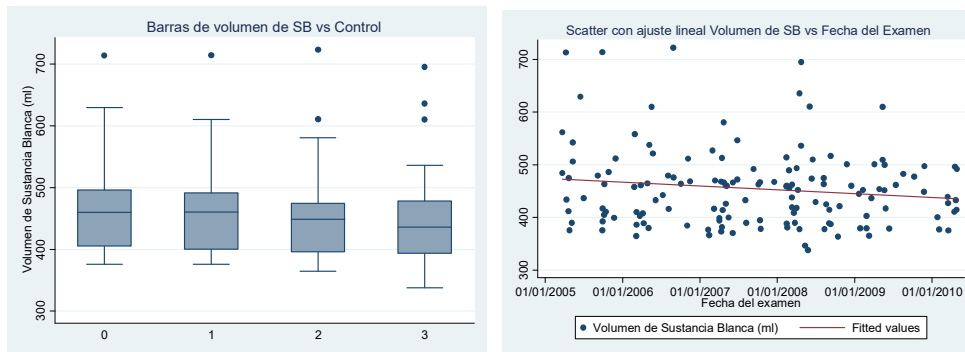


Gráfico 21. Distribución de SB vs control

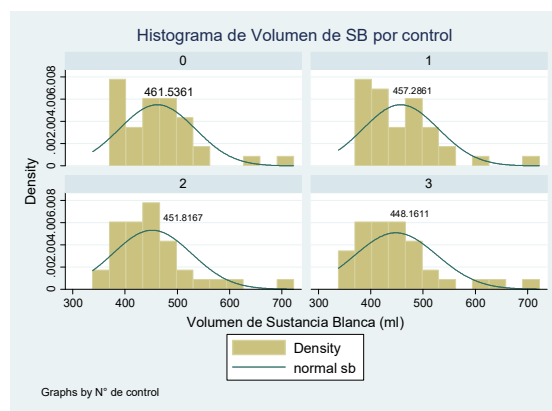
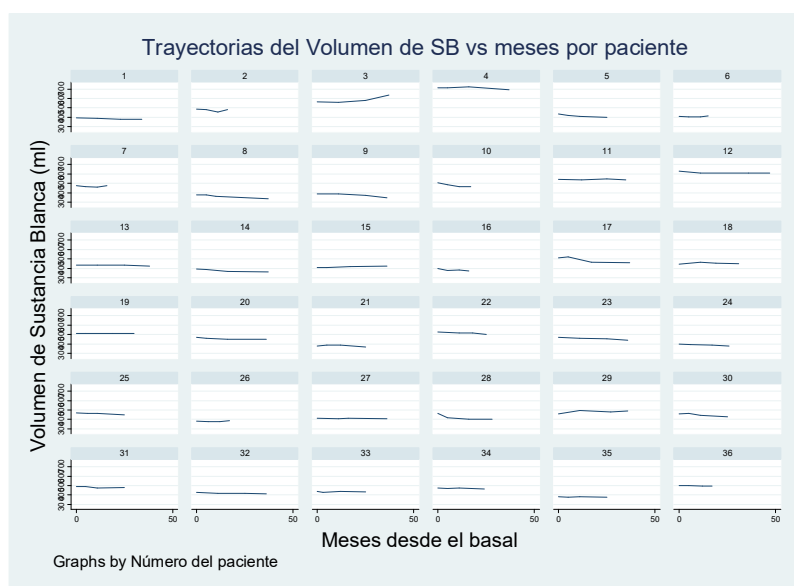


Tabla 8. Test de Shapiro-Wilk para el volumen de SB por control

Volumen de SB	N° Obs	Media Vol SB (ml)	W	p-valor
Basal	36	461.5361	0.88316	0.00122
Control 1	36	457.2861	0.87641	0.00082
Control 2	36	451.8167	0.86417	0.00041
Control 3	36	448.1611	0.89768	0.00295

Esta tendencia a la disminución del volumen de este compartimento es la obtenida en todas las mediciones y en todos los pacientes, sin embargo, por ser este un modelo de medidas repetidas, en el que se cuantificó el volumen de SB de cada paciente en el examen basal y en 3 controles sucesivos; es necesario visualizar cómo se comporta en el tiempo de seguimiento, el volumen de SB en cada uno de los pacientes, lo que se visualiza en el gráfico 22 (Anexo 2, salida 10)

Gráfico 22. Trayectorias del volumen de SB vs meses por paciente



Según este gráfico, se observa que la sustancia blanca tiende a disminuir en la mayoría de los sujetos, a medida que transcurre el tiempo de seguimiento. En varios pacientes (pacientes 3, 11, 15 y 29) se observa un aumento de SB, mientras que en otros

(pacientes 19, 27, 33 y 36) no se evidencia, al menos gráficamente, una variación en el volumen de SB en el tiempo. En la mayoría de los pacientes, la disminución de SB pareciera ser lineal, mientras que en otros la trayectoria no parece ser lineal. Para ver como el comportamiento del volumen de SB de cada paciente en función del tiempo de seguimiento se refleja en un modelo general, se ejecutó un modelo mixto que incluye las variables SB y meses (Tabla 9, Anexo 2, salida 11)

Tabla 9: Resumen del modelo de disminución de SB en el tiempo de seguimiento

		(1)			
		sb			
sb					
Meeses		-0.425*** (-4.69)			
_cons		460.3*** (37.47)			
lns1_1_1					
_cons		4.292*** (36.15)			
lnsig_e					
_cons		2.524*** (37.09)			
N		144			
t statistics in parentheses					
* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001					

Volumen de SB	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)	
Meeses	-0.4247377	0.0905114	0.000 *	-0.6021369	-0.2473386
Intercepto	460.3042	12.28331	0.000 *	436.2293	484.379

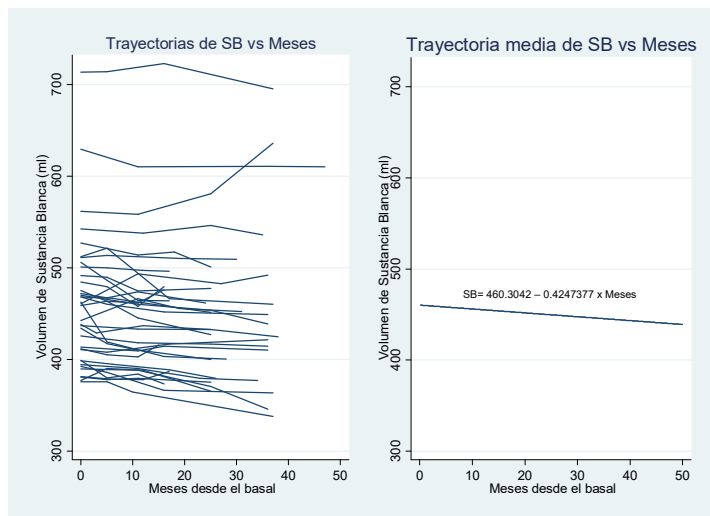
Parámetros de efecto aleatorio	Estimado	Error Estándar	IC (al 95%)	
DE (Intercepto)	73.08497	8.676739	* 57.91251	92.23246
DE (Residuos)	12.47607	0.8489137	* 10.9184	14.25596
<b>ICC del Modelo</b>	0.97168	0.00653	* 0.95888	0.98449

Según el modelo, la sustancia blanca disminuye 0.425 ml por cada mes de seguimiento, en función de los meses transcurridos desde el control basal comenzando con un valor inicial de 460.3 ml. La desviación estándar del intercepto es de 73.085 ml y la de los residuos es de 12.476 ml. La bondad de ajuste del modelo corresponde al coeficiente de correlación intraclase (ICC) que es igual a 0.97168, con un intervalo de confianza estrecho. Todos los coeficientes son significativos al menos al nivel del 5%. Por lo tanto, la disminución del volumen de SB en función del tiempo responde a la siguiente ecuación:

$$\text{Volumen SB} = 460.3042 - 0.4247377 \times \text{Meeses}$$

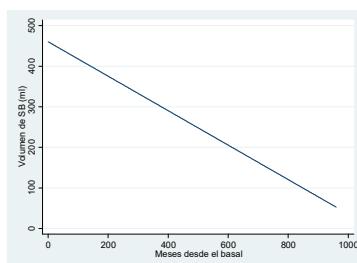
El gráfico de la trayectoria media de la disminución de SB en función del tiempo, para todos los pacientes es el siguiente (Gráfico 23, Anexo 2, Salida 11):

Gráfico 23: Trayectoria media de SB en los meses de seguimiento



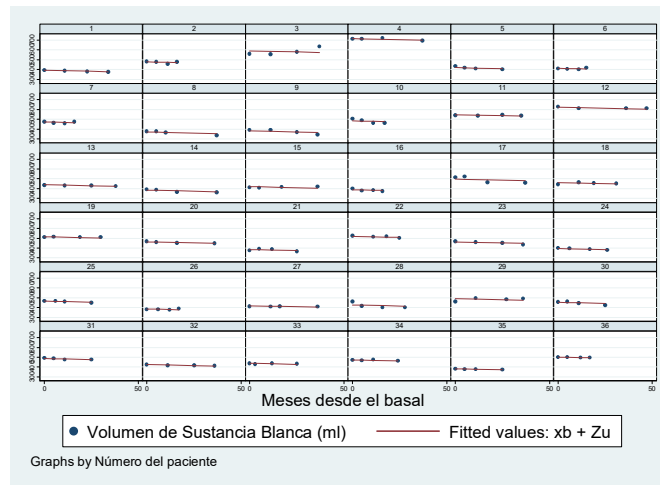
Otra forma de visualizar si el modelo planteado es adecuado, es verificar que el volumen de SB nunca tendrá valores iguales a cero o negativos, ya que esto es imposible del punto de vista biológico. Para esto se graficará la trayectoria media a 80 años de seguimiento (960 meses) (Gráfico 24, Anexo 2, Salida 11) y gráficamente se verifica que al final de este periodo de seguimiento, el volumen de SB tiene un valor de aproximadamente 50 ml. Cabe señalar que la esperanza de vida de un paciente portador de EM es mucho menor.

Gráfico 24: Trayectoria media del modelo a 80 años de seguimiento



Otra forma de verificar gráficamente si el modelo general propuesto se ajusta a la disminución de SB de cada individuo, se consigue graficando las trayectorias predichas por éste (Gráfico 25, Anexo 2, Salida 11)

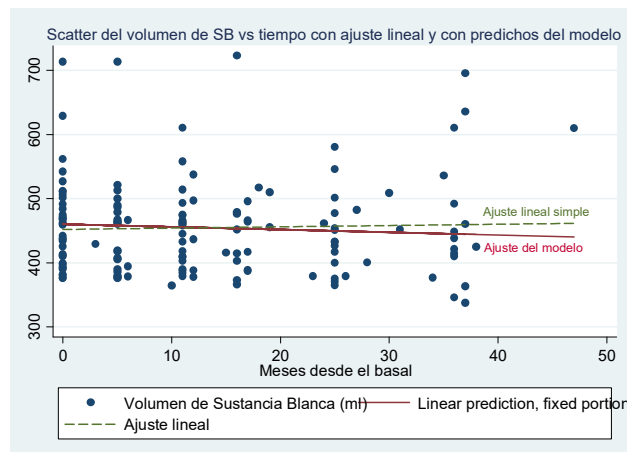
Gráfico 25: Trayectorias predichas del volumen de SB para cada paciente



Según el gráfico se observa que el modelo general lineal propuesto ajusta de buena forma los valores del volumen de SB de cada sujeto, que va disminuyendo progresivamente desde el estudio basal y en cada uno de sus controles

Adicionalmente, se obtienen los valores de volumen de SB predichos por el modelo y se grafican junto con el ajuste lineal simple para compararlos, observándose una pequeña diferencia entre ambas trayectorias, ya que la pendiente del modelo mixto es mayor que la del modelo lineal simple, mientras que el intercepto predicho del modelo mixto es levemente mayor que la del ajuste lineal simple (Gráfico 26, Anexo 2, Salida 11)

Gráfico 26: Comparación del ajuste lineal simple y la predicción del modelo



Al obtener y graficar los residuos del modelo, se observa un ajuste lineal adecuado de estos, excepto en las colas, lo que nos hace suponer que los residuos son normales, sin embargo, el test de Shapiro-Wilk de los residuos evidencia que no son normales (Anexo 2, Salida 11)

### 2.2.1. Análisis del volumen de Sustancia Blanca (SB) y sexo

Debido a que existen diferencias en los volúmenes de SB entre ambos sexos, se analizó como se expresa la disminución del volumen de SB para hombres y mujeres. Al graficar el volumen de SB de los pacientes según sexo en el seguimiento, y al observar las trayectorias del volumen de SB por sexo (gráfico 27) y el gráfico de cajas (gráfico 28) se evidencia una disminución del volumen de SB de ambos sexos en función del tiempo. Al graficar el volumen de SB en ambos sexos con ajuste lineal de los datos, se evidencia que la SB disminuye linealmente a medida que transcurre el tiempo (Gráfico 29) (Anexo 2, salida 12) Los volúmenes de SB solo distribuyen normal en los hombres, sin embargo, por el tamaño muestral y por haber p-valores límites para aceptar o rechazar la hipótesis de normalidad, se considerará que el volumen de SB distribuye normal en ambos sexos (Anexo 2, salida 12) (Tabla 10)

Gráficos 27 y 28: Volumen de SB durante el seguimiento, según sexo

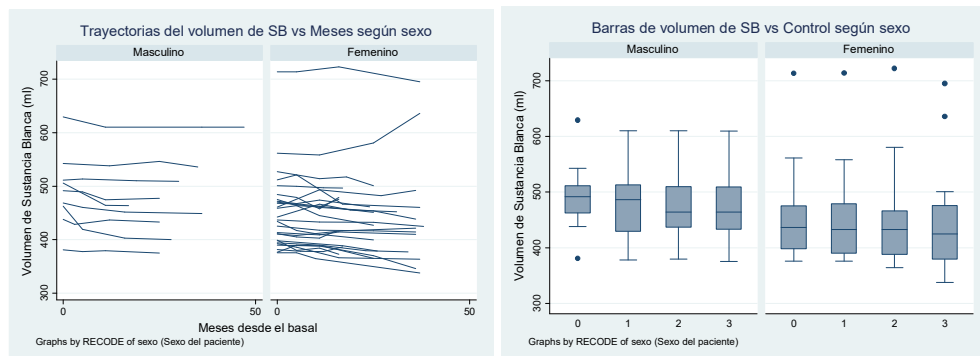


Gráfico 29: Disminución lineal del volumen de SB durante el seguimiento según sexo

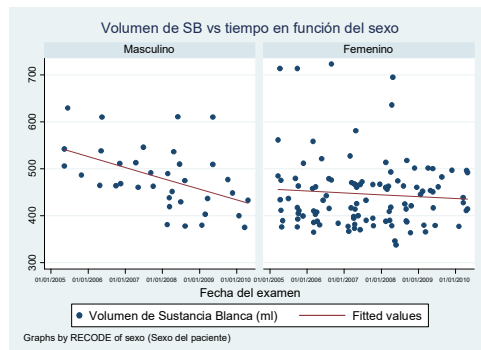


Tabla 10. Test de Shapiro-Wilk para el volumen de SB por sexo

Volumen de SB	Nº Obs	Media Vol SB (ml)	W	p-valor
Hombres	36	480.0694	0.9540	0.13969
Mujeres	108	446.2435	0.83753	0.00000

Para verificar si existen diferencias significativas en la media del volumen de SB entre ambos sexos se realiza prueba t de muestras independientes con igual varianza. Previamente se realizó test de Levene, el que evidenció la igualdad de varianzas ( $f(35,107) = 0.8355, p > 0.05$ ) (Anexo 2, salida 12). En la prueba t se observa que al comparar las medias del volumen de SB de los hombres ( $480.07 \pm 22.996$ ) y mujeres ( $446.24 \pm 14.184$ ) la de las mujeres es significativamente menor ( $t(142) = 2.4133, p < 0.05$ ) (Anexo 2, salida 12).

Dado que hay diferencias en la disminución de SB según el sexo, se realiza un modelo mixto diferenciando por esta variable. Previamente se probaron varios modelos con distintas estructuras de covarianza, y dos modelos ajustando un polinomio cuadrático y otro de tercer grado, con el fin de obtener una función suavizada del ajuste, sin embargo, los coeficientes obtenidos no fueron significativos al nivel del 5%. Al igual que en el análisis de SG, se exploró la posibilidad de incorporar la interacción del tiempo de seguimiento  $t$  (meses) con el sexo, denominada  $t_{\text{sexo}}$ , sin embargo, los coeficientes

obtenidos para sexo y tsexo no fueron significativos al nivel del 5% (p-valor sexo = 0.208 y p-valor tsexo = 0.692) (Anexo 2, salida 13). Por esta razón se optó por ejecutar dos modelos para la disminución de SB, uno para cada sexo (Anexo 2, salida 13) cuyos coeficientes se resumen en la siguiente tabla.

Tabla 11: Resumen del modelo de disminución de SB para cada uno de los sexos

	(1)	(2)
	sb	sb
sb		
Meses	-0.485** (-3.15)	-0.403*** (-3.67)
_cons	486.5*** (21.43)	451.5*** (31.88)
lnsl_l1		
_cons	4.214*** (17.75)	4.290*** (31.28)
lnsig_e		
_cons	2.403*** (17.65)	2.557*** (32.55)
N	36	108
t statistics in parentheses		
* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001		

Tabla del modelo de disminución de SB para los hombres				
Volumen de SB	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)
Meses	-0.4848944	0.1540302	0.002	* -0.786788 -0.1830007
Intercepto	486.5482	22.70467	0.000	* 442.0478 531.0485
Parámetros de efecto aleatorio				
Estimado	Error Estándar	IC (al 95%)		
DE (Intercepto)	67.60813	16.05213	* 42.45209 107.671	
DE (Residuos)	11.05226	1.504337	* 8.464334 14.43142	
ICC del Modelo	0.97397	0.01204	* 0.95038 0.99757	

Tabla del modelo de disminución de SB para las mujeres				
Volumen de SB	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)
Meses	-0.4027077	0.109616	0.000	* -0.617551 -0.1878643
Intercepto	451.5346	14.16387	0.000	* 423.774 479.2953
Parámetros de efecto aleatorio				
Estimado	Error Estándar	IC (al 95%)		
DE (Intercepto)	72.93144	10.00262	* 55.74059 95.42407	
DE (Residuos)	12.90098	1.013602	* 11.05976 15.04872	
ICC del Modelo	0.96966	0.00807	* 0.95384 0.98548	

Según estos modelos, en el caso de los hombres, el volumen de SB al inicio del seguimiento es de 486.5482 ml y disminuye a razón de 0.4849 ml por cada mes transcurrido. La desviación estándar del intercepto es de 67.61 ml y la de los residuos es de 11.05 ml, mientras que el coeficiente de correlación intraclase es de 0.97397 con un estrecho intervalo de confianza. En el caso de las mujeres, el volumen inicial de SB es de 451.5346 ml y disminuye en 0.4027 ml por cada mes de seguimiento. La desviación estándar del intercepto es de 72.93 ml y la de los residuos es de 12.90 ml, mientras que el coeficiente de correlación intraclase es de 0.96966 con un estrecho intervalo de confianza. Según estos modelos los hombres, al inicio del seguimiento, tienen 35.01 ml más de volumen de SB en comparación con las mujeres, con un ritmo levemente mayor de disminución mensual de este volumen (0.485 ml por mes en hombres vs 0.403 ml en mujeres). Las ecuaciones que modelan la disminución mensual del volumen de SB son las siguientes:

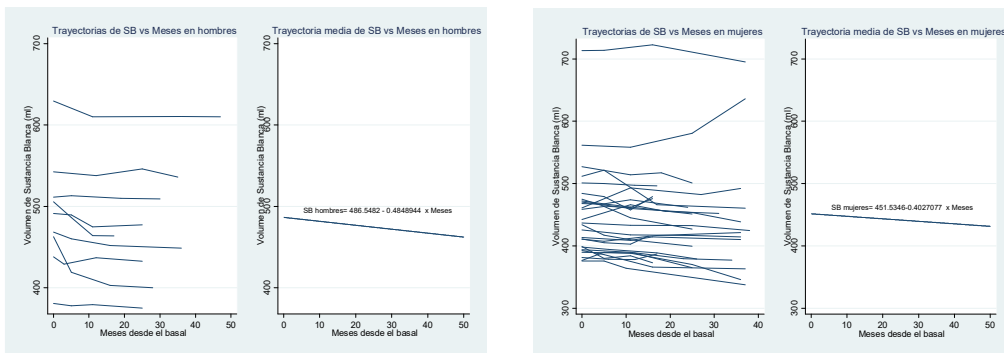


$$\text{Volumen SB hombres} = 486.5482 - 0.4848944 \times \text{Meses}$$

$$\text{Volumen SB mujeres} = 451.5346 - 0.4027077 \times \text{Meses}$$

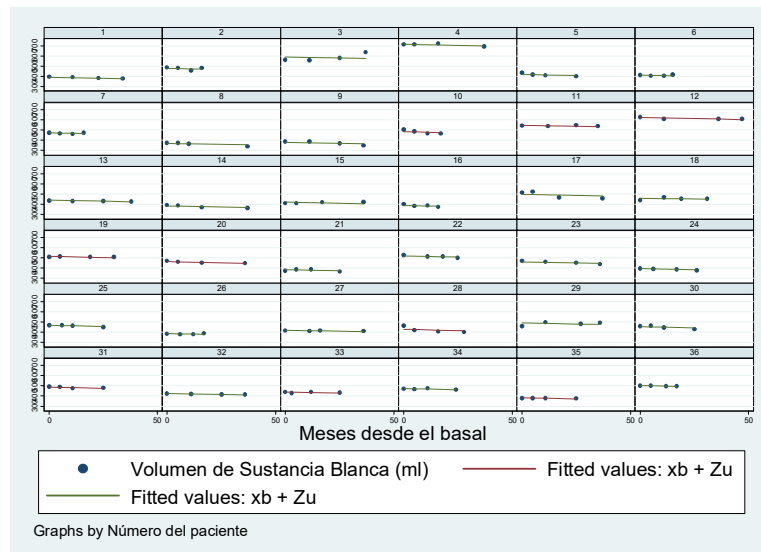
A continuación, se grafica la trayectoria media de la disminución de SB para hombres y mujeres durante el seguimiento, obtenida a partir de los modelos planteados (Gráfico 30, Anexo 2, Salida 13). En los modelos se observa gráficamente, que la disminución de SB es levemente mayor en los hombres que en las mujeres.

Gráfico 30: Trayectoria media de SB en el seguimiento para ambos sexos



Para verificar gráficamente el ajuste de estos modelos, se grafican las trayectorias predichas por éstos (Gráfico 31, Anexo 2, Salida 13)

Gráfico 31: Trayectorias predichas de la disminución de SB en el seguimiento para cada paciente

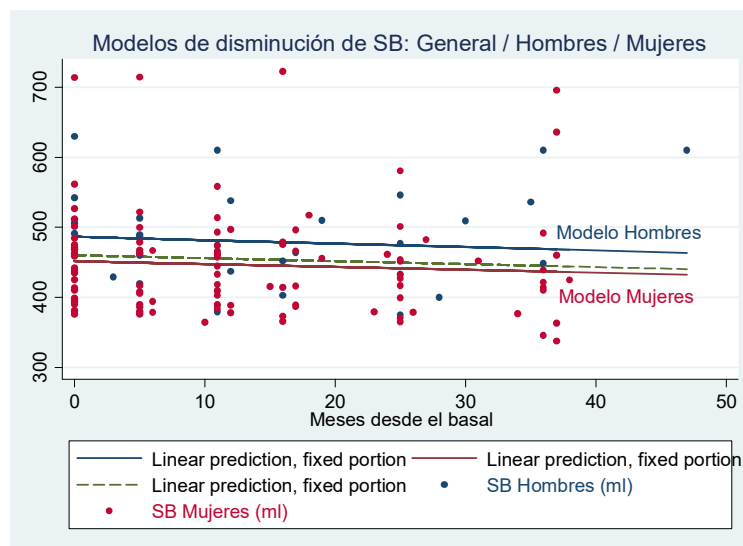


Gráficamente se observa que el modelo mixto propuesto ajusta de buena forma los valores del volumen de SB para cada sujeto, al considerar la variación del volumen de este compartimento según el sexo al que pertenecen, durante los meses de seguimiento.

Al obtener y graficar los residuos del modelo, se observa un ajuste lineal adecuado de estos, excepto en las colas, lo que nos hace suponer que los residuos son normales, sin embargo, el test de Shapiro-Wilk de los residuos evidencia que no son normales (Anexo 2, Salida 13)

Al graficar los valores de SB predichos por el modelo para hombres y mujeres, se observa la diferencia en la pendiente de la recta de disminución de SB entre ambos sexos, la que es levemente mayor en los hombres, lo que determina un mayor grado de disminución del volumen de SB en estos, respecto a las mujeres durante el periodo de seguimiento. En el gráfico 32 (Anexo 2, Salida 13) se visualiza este hecho. Adicionalmente se incluyó el modelo general de disminución de SB durante el periodo de seguimiento. Se debe notar que la pendiente del modelo general es similar al de las mujeres, mientras que su intercepto se encuentra entre los interceptos de las rectas de ambos sexos, pero más cerca del intercepto de la recta de las mujeres.

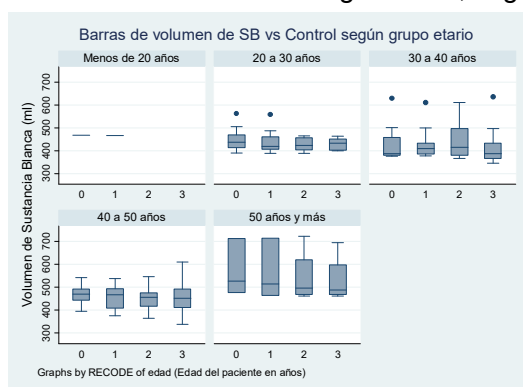
Gráfico 32: Comparación de los modelos de disminución de SB vs meses, según sexo y general



## 2.2.2. Análisis del volumen de Sustancia Blanca (SB) y edad

Debido a que existen diferencias en los volúmenes de SB entre los grupos etarios que componen la muestra, se analizó la disminución del volumen de SB considerando la variable edad. Al graficar el volumen de SB de los pacientes según grupo etario durante el periodo de seguimiento (Gráfico 33, Anexo 2, Salida 14) se evidencia una disminución del volumen de SB en los grupos etarios 40 a 50 años y 50 años y más de edad. En el resto de los grupos etarios no se evidencia claramente una disminución en el tiempo del volumen de SB

Gráfico 33: Volumen de SB durante el seguimiento, según grupo etario



Análogamente al análisis del volumen de SG según edad, y por el mismo criterio del desbalance de la cantidad de individuos que componen la muestra en relación a la variable edad, el análisis se realizó en base a los dos grupos etarios, menores de 40 años y mayores de 40 años, bajo el criterio de que la mediana se encuentra en los 39.72 años de edad (Anexo 2, Salida 9). Para el grupo de menores de 40 años, la media de edad es de 30.1 años, mientras que para los mayores de 40 años la media de edad es de 46.14 años (Anexo 2, Salida 9) Los volúmenes de SB no distribuyen normal ninguno de los dos grupos etarios, sin embargo, por el tamaño muestral de ambos grupos, se considerará que el volumen de SG distribuye normalmente en ambos grupos etarios propuestos (Anexo 2, salida 14) (Tabla 12)

Tabla 12. Test de Shapiro-Wilk para el volumen de SB por grupo etario

Volumen de SB	Nº Obs	Media Vol SG (ml)	W	p-valor
Menores de 40	75	435.08	0.84895	0.0000
Mayores de 40	69	476.0261	0.86835	0.0000

Para verificar si existen diferencias significativas en la media del volumen de SB entre ambos grupos etarios se realiza prueba t de muestras independientes con igual varianza. Previamente se realizó test de Levene, el que evidenció igualdad de las varianzas ( $f(74,68) = 0.7004, p > 0.05$ ) (Anexo 2, salida 14). En la prueba t se observa que al comparar las medias del volumen de SB de los menores de 40 años ( $435.08 \pm 14.9658$  años) y mayores de 40 años ( $476.0261 \pm 18.6714$  años), la de los individuos mayores de 40 años es significativamente mayor ( $t(142) = -3.4379, p < 0.05$ ) en comparación con los menores (Anexo 2, salida 14).

Dado que existen diferencias en la disminución de SB en relación al periodo de seguimiento entre ambos grupos etarios, se realizó un modelo mixto diferenciado para los grupos de edad propuestos. El análisis se hizo de forma similar al de la influencia del sexo, es decir, un modelo por cada uno de los dos grupos etarios ya caracterizados. Los coeficientes obtenidos se resumen en la siguiente tabla (Anexo 2, salida 14)

Tabla 13: Resúmenes del modelo de disminución de SB para dos grupos etarios

			Tabla del modelo de disminución de SB para los menores de 40 años de edad				
	(1)	(2)	Volumen de SB	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)
sb	sb	sb	Meses	-0.4109871	0.145302	0.005 *	-0.6957738 -0.1262004
			Intercepto	439.7504	14.91259	0.000 *	410.5222 468.9785
			Parámetros de efecto aleatorio				
			Estimado	Error Estándar	IC (al 95%)		
			DE (Intercepto)	65.83678	10.55232	*	48.08814 90.13619
			DE (Residuos)	13.6035	1.297545	*	11.28393 16.39989
			ICC del Modelo	0.95905	0.01259	*	0.93438 0.98373
			Tabla del modelo de disminución de SB para mayores de 40 años de edad				
	(1)	(2)	Volumen de SB	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)
sb	sb	sb	Meses	-0.4572477	0.1214808	0.000 *	-0.6953457 -0.2191497
			Intercepto	484.6425	18.61056	0.000 *	448.1665 521.1185
			Parámetros de efecto aleatorio				
			Estimado	Error Estándar	IC (al 95%)		
			DE (Intercepto)	80.38865	13.15044	*	58.33783 110.7744
			DE (Residuos)	11.3699	1.137739	*	9.34502 13.83352
			ICC del Modelo	0.98039	0.00629	*	0.96806 0.99272
			N	75	69		
t statistics in parentheses							
* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001							

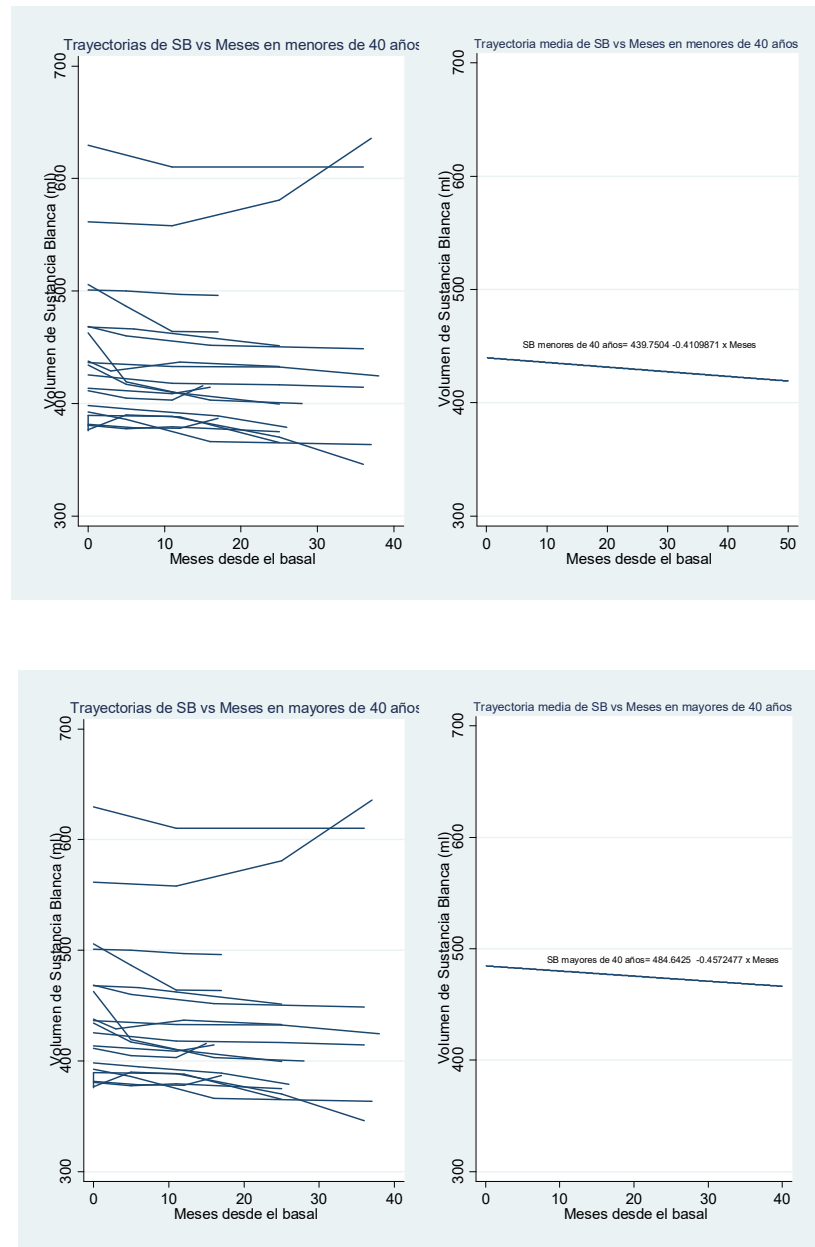
Según estos modelos, en el caso de los menores de 40 años, el volumen de SB al inicio del seguimiento es de 439.7504 ml y disminuye a razón de 0.411 ml por cada mes transcurrido. La desviación estándar del intercepto es de 65.837 ml y la de los residuos es de 13.604 ml, mientras que el coeficiente de correlación intraclase es de 0.95905 con un estrecho intervalo de confianza. En el caso de los mayores de 40 años, el volumen inicial de SB es de 484.6425 ml y disminuye en 0.4572 ml por cada mes de seguimiento. La desviación estándar del intercepto es de 80.39 ml y la de los residuos es de 11.37 ml, mientras que el coeficiente de correlación intraclase es de 0.98039 con un estrecho intervalo de confianza. Según estos modelos los menores de 40 años de edad, al inicio del seguimiento, tienen un 44.89 ml menos de volumen de SB en comparación con los mayores de 40 años, con un ritmo similar de disminución mensual de este volumen, que es levemente menor que el observado en el otro grupo etario (0.411 ml por mes en menores vs 0.457 ml en mayores de 40 años). Las ecuaciones que modelan la disminución mensual del volumen de SB para ambos grupos etarios son las siguientes:

$$\text{Volumen SB menores de 40 años} = 439.7504 - 0.4109871 \times \text{Meses}$$

$$\text{Volumen SB mayores de 40 años} = 484.6425 - 0.4572477 \times \text{Meses}$$

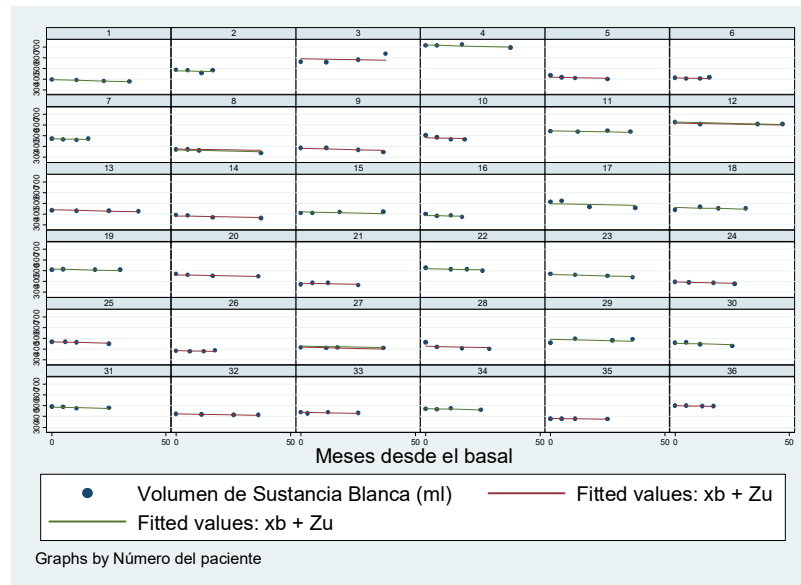
A continuación, se grafica la trayectoria media de la disminución de SB para menores y mayores de 40 años durante el seguimiento, obtenida a partir de los modelos planteados (Gráfico 34, Anexo 2, Salida 14).

Gráfico 34: Trayectoria media de SB en el seguimiento para mayores y menores de 40 años



Para verificar gráficamente el ajuste de estos modelos, se grafican las trayectorias predichas por éstos para cada uno de los pacientes (Gráfico 35, Anexo 2, Salida14)

Gráfico 35: Trayectorias predichas de la disminución de SB en el seguimiento para cada paciente



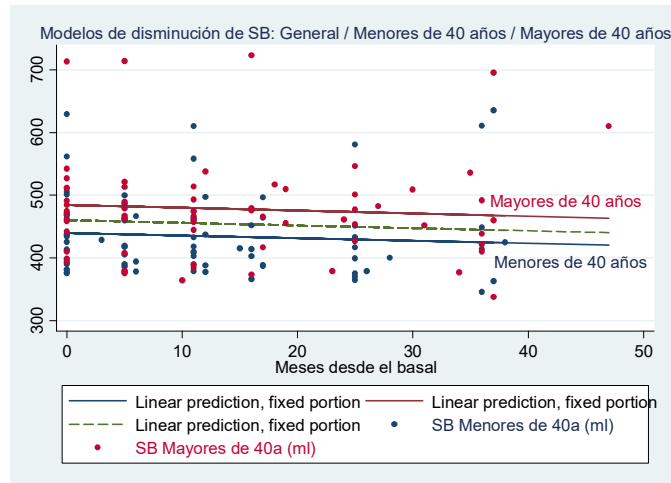
Gráficamente se observa que el modelo mixto propuesto ajusta de buena forma los valores del volumen de SB para cada sujeto al considerar la variación según el grupo etario al que pertenecen, durante los meses de seguimiento.

Al obtener y graficar los residuos del modelo, se observa un ajuste lineal adecuado de estos, lo que nos hace suponer que los residuos son normales. Al realizar el test de Shapiro-Wilk de los residuos se evidencia que efectivamente estos son normales (Anexo 2, Salida 14)

Al graficar los valores de SB predichos por el modelo para menores y mayores de 40 años, se observa que la pendiente de la recta de disminución de SB entre ambos grupos etarios es similar, pero levemente mayor en los mayores de 40 años, lo que determina un mayor grado de disminución del volumen de SB en este grupo, respecto a los menores durante el periodo de seguimiento. En el gráfico 36 (Anexo 2, Salida 14) se visualiza este hecho. Adicionalmente se incluyó el modelo general de disminución de SB durante el periodo de seguimiento, que también tiene una pendiente similar a la de los

dos grupos etarios, con un intercepto que se sitúa entre el intercepto de estos dos grupos.

Gráfico 36: Comparación de los modelos de disminución de SG vs meses, según edad y general



Si bien es cierto, este modelo para los dos grupos etarios ajusta de buena forma a los datos, tiene una buena bondad de ajuste, representada por un alto valor en el coeficiente de correlación intraclass para cada uno de los grupos de edad, y no tiene errores matemáticos ni metodológicos, al parecer no tiene sustento biológico ni clínico, ya que es difícil desde estos aspectos que el grupo de mayor edad tenga un volumen de SB mayor que los menores, dado que la disminución de SB se asocia fisiológicamente al envejecimiento, por lo que es esperable que el grupo de mayores de 40 años tenga un volumen menor de SB que los menores a esta edad. Por este motivo, este modelo se considera como no válido. La exploración de otros modelos, incluida la interacción entre el tiempo de seguimiento (meses) y la variable de recodificación de la edad, denominada edad40 (mayores y menores de 40 años) siempre arrojó volúmenes de SB mayores en el grupo etario de mayor edad. Al verificar la media del volumen de SB en los grupos etarios originales (menores de 20 años, entre 20 y 30 años, entre 30 y 40 años, entre 40 y 50 años y mayores de 50 años) se objetiva el hecho de que los volúmenes de SB son mayores en los grupos de mayor edad, lo que ya era evidente en el boxplot (gráfico 33) y se presenta en la tabla 14.



Tabla 14: Resumen de medias en los rangos etarios originales

Rango de edad	N° de Observaciones	Ponderación	Media Ponderada SB (ml)	Media SB (ml)	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación %	Mínimo / Máximo (ml)
Menos de 20 años	2	0.01	6.489	467.200	0.9899452	0.21%	466.5 467.9
20 a 30 años	34	0.24	103.399	437.927	43.07203	9.84%	388.4 561.5
30 a 40 años	39	0.27	116.716	430.951	80.92736	18.78%	345.9 635.8
40 a 50 años	55	0.38	174.516	456.915	54.78023	11.99%	337.8 610
50 años y más	14	0.10	53.580	551.107	107.3217	19.47%	461.4 722.7
<b>Total</b>	<b>144</b>	<b>1.00</b>	<b>454.700</b>	<b>468.820</b>			

Llama la atención el desbalance en el número de sujetos que conforma cada grupo etario, y el hecho de que desde el grupo de menores de 20 años se observa que en los grupos de mayor edad se observa una disminución progresiva del volumen de SB, tendencia que se rompe a partir del grupo entre 40 y 50 años, donde además se objetiva una tendencia al aumento del volumen de este compartimento, lo que claramente no tiene sustento biológico ni clínico. Bajo estas condiciones, es imposible que el modelo de la variación del volumen de SB según edad, pueda ser ajustado en forma correcta.

A pesar de lo afirmado anteriormente, existe evidencia en la literatura relacionada con la atrofia encefálica, y la relacionada con el envejecimiento normal, que reporta que el volumen de SB puede mantenerse en el tiempo a medida que un individuo envejece, e incluso este volumen puede aumentar, al menos hasta los 70 años de edad, momento en el cual comienza una disminución lineal y progresiva de este volumen hasta la muerte.

### 2.3. Análisis del volumen de Líquido Cerebroespinal (LCE)

En relación al volumen de LCE, que indistintamente se denomina como líquido cerebroespinal o líquido cefalorraquídeo (LCR), se observa un aumento progresivo de su volumen desde el examen basal hasta el último control. Al graficar el volumen de LCE de todos los pacientes durante el periodo de seguimiento completo, realizando un ajuste lineal de los datos, se evidencia que el LCE aumenta linealmente a medida que transcurre el tiempo (Anexo 2, salida 15) (Gráfico 37) Los volúmenes de LCE por control se distribuyen de forma normal en todos los controles, excepto en el basal (Anexo 2, salida 15) (Tabla 15, gráfico 38)

Gráfico 37. Volumen de LCE vs Control y fecha del examen

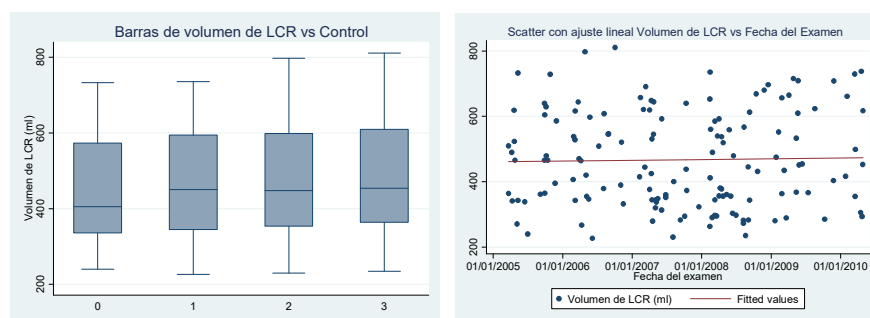


Gráfico 38. Distribución de LCE vs control

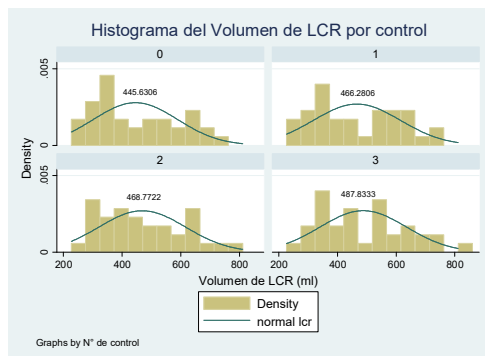
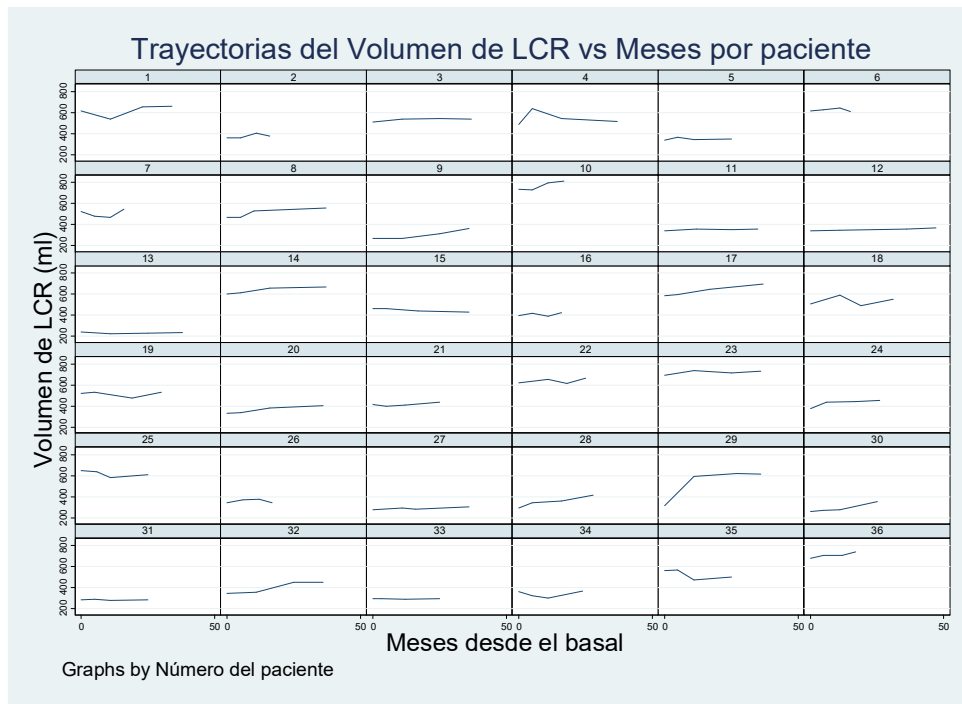


Tabla 15. Test de Shapiro-Wilk para el volumen de LCE por control

Volumen de LCE	Nº Obs	Media Vol SB (ml)	W	p-valor
Basal	36	445.6306	0.92793	0.02167
Control 1	36	466.2806	0.94026	0.05176
Control 2	36	468.7722	0.95805	0.18711
Control 3	36	487.8333	0.96229	0.25274

La tendencia evidenciada, al aumento del volumen de este compartimento, es la obtenida en todas las mediciones y en todos los pacientes, sin embargo, por ser este un modelo de medidas repetidas, en el que se cuantificó el volumen de LCE de cada paciente en el examen basal y en los 3 controles sucesivos; es necesario visualizar cómo se comporta en el tiempo de seguimiento, el volumen de LCE en cada uno de los pacientes, lo que se visualiza en el gráfico 39 (Anexo 2, salida 15)

Gráfico 39. Trayectorias del volumen de LCE vs meses por paciente



Según este gráfico, se observa que la sustancia el LCE tiende a aumentar en la mayoría de los sujetos, a medida que transcurre el tiempo de seguimiento. En varios pacientes (pacientes 15, 25 y 35) se observa una disminución del volumen de LCE, mientras que en otros (pacientes 6, 13, 26, 31, 33 y 34) no se evidencia, al menos gráficamente, una variación en el volumen de LCE en el tiempo. Cabe señalar que, en el caso de los pacientes cuyos volúmenes de LCE disminuyen o se mantienen, esta tendencia se visualiza cuando se compara el volumen entre el basal y en último control, mientras que, en los controles intermedios, la trayectoria del volumen varía al aumento o a la disminución. En la mayoría de los pacientes el aumento del LCE pareciera ser lineal, mientras que en los otros la trayectoria no parece ser lineal. Para determinar cómo varía del volumen de LCE de cada paciente en función del tiempo de seguimiento, en el contexto de un modelo general, se ejecutó un modelo mixto que incluye las variables LCE y meses (Tabla 16, Anexo 2, salida 16)

Tabla 16: Resumen del modelo del aumento del LCE en el tiempo de seguimiento

	(1)
lce	
lce	
Meeses	1.352*** (5.07)
_cons	449.3*** (18.82)
ins1_1_1	
_cons	4.945*** (41.25)
insig_e	
_cons	3.605*** (52.98)
N	144

t statistics in parentheses  
\* p<0.05, \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001

Volumen de LCR	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)	
Meeses	1.352235	0.266699	0.000	* 0.8295143	1.874955
Intercepto	449.2872	23.869	0.000	* 402.5048	496.0696

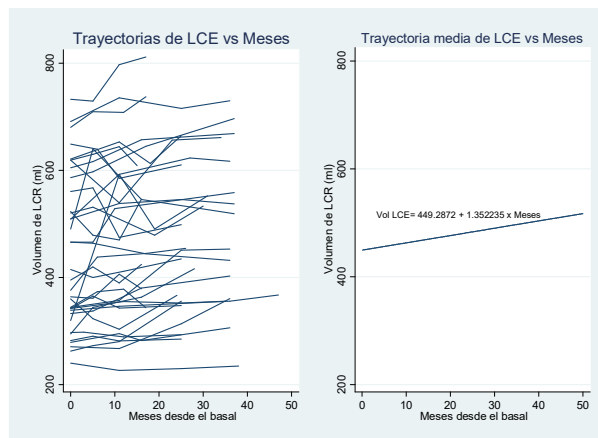
Parámetros de efecto aleatorio	Estimado	Error Estándar	IC (al 95%)	
DE (Intercepto)	140.45	16.83735	* 111.0398	177.65
DE (Residuos)	36.78267	2.502769	* 32.19035	42.03013
<b>ICC del Modelo</b>	<b>0.93582</b>	<b>0.0144</b>	<b>* 0.90759</b>	<b>0.96404</b>

Según el modelo, el líquido cerebroespinal aumenta en 1.352 ml por cada mes de seguimiento, en función de los meses transcurridos desde el control basal, comenzando con un valor inicial de 449.3 ml. La desviación estándar del intercepto es de 140.45 ml y la de los residuos es de 36.783 ml. La bondad de ajuste del modelo corresponde al coeficiente de correlación intraclase (ICC) que es igual a 0.93582, con un intervalo de confianza estrecho. Todos los coeficientes son significativos al menos al nivel del 5%. Por lo tanto, la disminución del volumen de SB en función del tiempo responde a la siguiente ecuación:

$$\text{Volumen LCE} = 449.2872 + 1.352235 \times \text{Meeses}$$

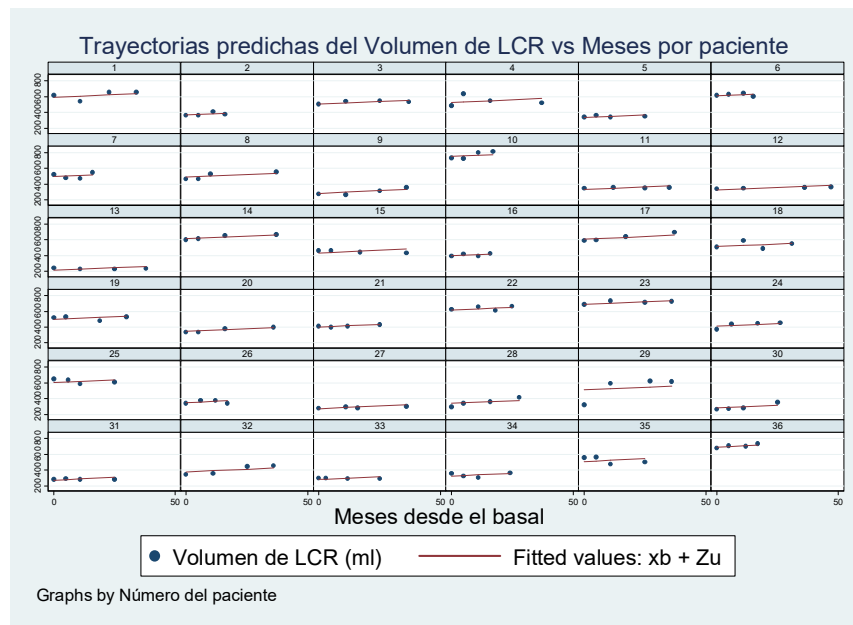
El gráfico de la trayectoria media del aumento del volumen de LCE en función del tiempo, para todos los pacientes es el siguiente (Gráfico 40, Anexo 2, Salida 16):

Gráfico 40: Trayectoria media del aumento del LCE en los meses de seguimiento



Otra forma de verificar gráficamente si el modelo general propuesto se ajusta al aumento del volumen de LCE de cada individuo, se consigue graficando las trayectorias predichas por éste (Gráfico 41, Anexo 2, Salida 16)

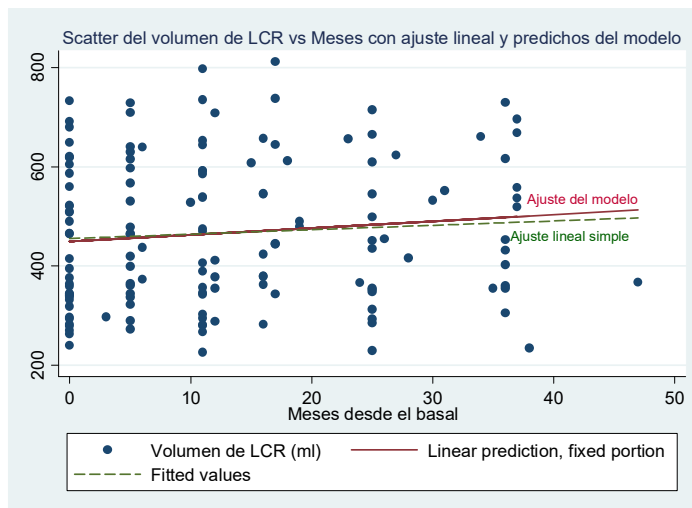
Gráfico 41: Trayectorias predichas del volumen de LCE para cada paciente



Según este gráfico, se observa que el modelo general lineal propuesto ajusta de buena forma los valores del volumen de LCE de cada sujeto, que va aumentando progresivamente desde el estudio basal y en cada uno de sus controles. Se verifica además que el modelo ajusta bien incluso en el caso de los pacientes en los que el volumen de LCE se mantiene relativamente constante, e incluso en los que este volumen disminuye.

Adicionalmente, se obtienen los valores de volumen de LCE predichos por el modelo, y se grafican junto con el ajuste lineal simple para compararlos, observándose una pequeña diferencia entre ambas trayectorias, ya que la pendiente del modelo mixto es levemente mayor que la del modelo lineal simple, mientras que el intercepto predicho del modelo mixto es levemente menor que la del ajuste lineal simple (Gráfico 42, Anexo 2, Salida 16)

Gráfico 42: Comparación del ajuste lineal simple y la predicción del modelo



Al obtener y graficar los residuos del modelo, se observa un ajuste lineal adecuado de estos, excepto en las colas, lo que nos hace suponer que los residuos son normales, sin embargo, el test de Shapiro-Wilk de los residuos evidencia que no son normales (Anexo 2, Salida 16)

### 2.3.1 Análisis del volumen de Líquido Cerebroespinal y sexo

Debido a que existen diferencias en los volúmenes de LCE entre ambos sexos, se analizó como se manifiesta la disminución del volumen de LCE para hombres y mujeres. Al graficar el volumen de LCE de los pacientes según sexo en el seguimiento, y al observar las trayectorias del volumen de LCE por sexo (gráfico 43) y el gráfico de cajas (gráfico 44), se evidencia un aumento del volumen de LCE de ambos sexos en función del tiempo, el que es más marcado en las mujeres, y con una menor dispersión del rango intercuartílico en torno a la media, en comparación con los hombres. Al graficar el volumen de LCE en ambos sexos con ajuste lineal de los datos, se evidencia que el volumen de LCE disminuye linealmente a medida que transcurre el tiempo en los hombres y aumenta en las mujeres, lo que muestra que este tipo de gráficos,

probablemente el más usado para evaluar visualmente la tendencia en la relación lineal entre dos variables, no es el adecuado cuando los datos tienen una estructura longitudinal y jerárquica (Gráfico 45) (Anexo 2, salida 17) Los volúmenes de LCE no distribuyen normalmente en ningún sexo, sin embargo, por el tamaño muestral se consideró que el volumen de LCE distribuye normal en ambos sexos (Anexo 2, salida 17) (Tabla 17)

Gráficos 43 y 44: Volumen de LCE durante el seguimiento, según sexo

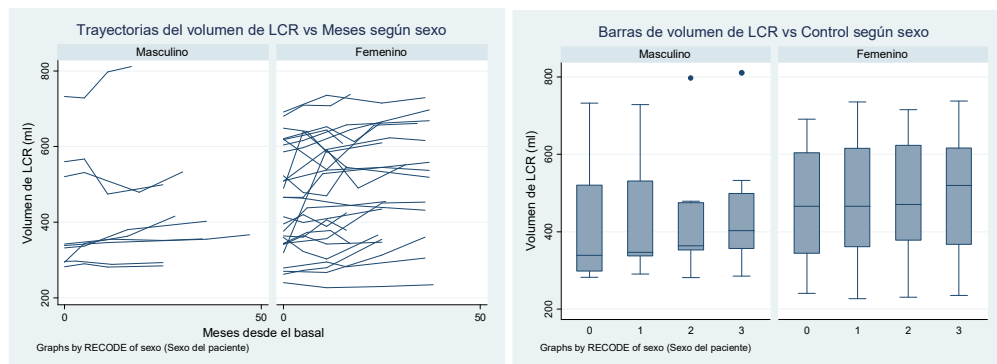


Gráfico 45: Variación lineal del volumen de LCE durante el seguimiento según sexo

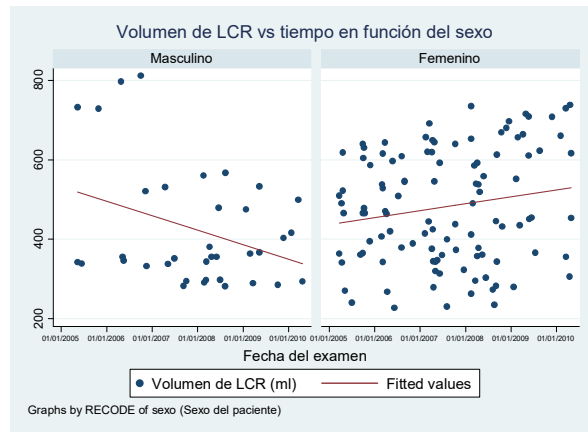


Tabla 17. Test de Shapiro-Wilk para el volumen de LCE por sexo

Volumen de LCE	Nº Obs	Media Vol SB (ml)	W	p-valor
Hombres	36	423.1806	0.81628	0.00003
Mujeres	108	481.7787	0.95770	0.00170

Para verificar si existen diferencias significativas en la media del volumen de LCE entre ambos sexos se realiza prueba t de muestras independientes con igual varianza. Previamente se realizó test de Levene, el que evidenció la igualdad de varianzas ( $f(35,107) = 1.1223, p > 0.05$ ) (Anexo 2, salida 17). En la prueba t se observa que al comparar las medias del volumen de LCE de los hombres ( $423.18 \pm 50.944$ ) y mujeres ( $481.78 \pm 27.11$ ) el de las mujeres es significativamente mayor ( $t(142) = -2.1108, p < 0.05$ ) (Anexo 2, salida 17) y también se verifica el hecho de que el error estándar de la media del volumen de LCE de los hombres, tiene un valor muy alto lo que redunda en un amplio intervalo de confianza del 95% para esta media.

Dado que hay diferencias en el aumento del LCE según el sexo, se propone un modelo mixto diferenciando por esta variable. Previamente se probaron varios modelos con distintas estructuras de covarianza, y un modelo ajustando una función de 2° grado, sin embargo, los coeficientes obtenidos no fueron significativos al nivel del 5%. Al igual que en el análisis de SG y SB, se exploró la posibilidad de incorporar la interacción del tiempo de seguimiento  $t$  (meses) con el sexo, denominada  $t_{\text{sexo}}$ , sin embargo, los coeficientes obtenidos para sexo y  $t_{\text{sexo}}$  no fueron significativos al nivel del 5% ( $p$ -valor sexo = 0.374 y  $p$ -valor  $t_{\text{sexo}}$  = 0.173) (Anexo 2, salida 18). Por esta razón se optó por ejecutar dos modelos para la disminución de LCE, uno para cada sexo (Anexo 2, salida 18) cuyos coeficientes se resumen en la siguiente tabla.

Tabla 18: Resumen del modelo del aumento de LCE para cada uno de los sexos

	(1)	(2)
	lcr	lcr
lcr		
Meses	0.775 (1.94)	1.572*** (4.78)
_cons	412.8*** (8.35)	461.1*** (17.36)
lnsl_1_1		
_cons	4.988*** (20.96)	4.904*** (35.30)
lnsig_e		
_cons	3.357*** (24.66)	3.657*** (46.55)
N	36	108

t statistics in parentheses  
\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$

Tabla del modelo de disminución de LCR para los hombres				
Volumen de LCR	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)
Meses	0.7750848	0.399775	0.053	* -0.0084599 1.558629
Intercepto	412.8246	49.42623	0.000	* 315.9509 509.6982
Parámetros de efecto aleatorio				
Estimado	Error Estándar	IC (al 95%)		
DE (Intercepto)	146.7106	34.91864	* 92.0167 233.914	
DE (Residuos)	28.69117	3.90465	* 21.97385 37.46194	
ICC del Modelo	0.96316	0.01689	* 0.93006 0.99627	
Tabla del modelo de disminución de LCR para las mujeres				
Volumen de LCR	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)
Meses	1.572315	0.3290046	0.000	* 0.9274773 2.217152
Intercepto	461.1202	26.55723	0.000	* 409.069 513.1715
Parámetros de efecto aleatorio				
Estimado	Error Estándar	IC (al 95%)		
DE (Intercepto)	134.7696	18.72012	* 102.6494 176.9407	
DE (Residuos)	38.74785	3.044318	* 33.2178 45.19853	
ICC del Modelo	0.92365	0.01959	* 0.88525 0.96205	



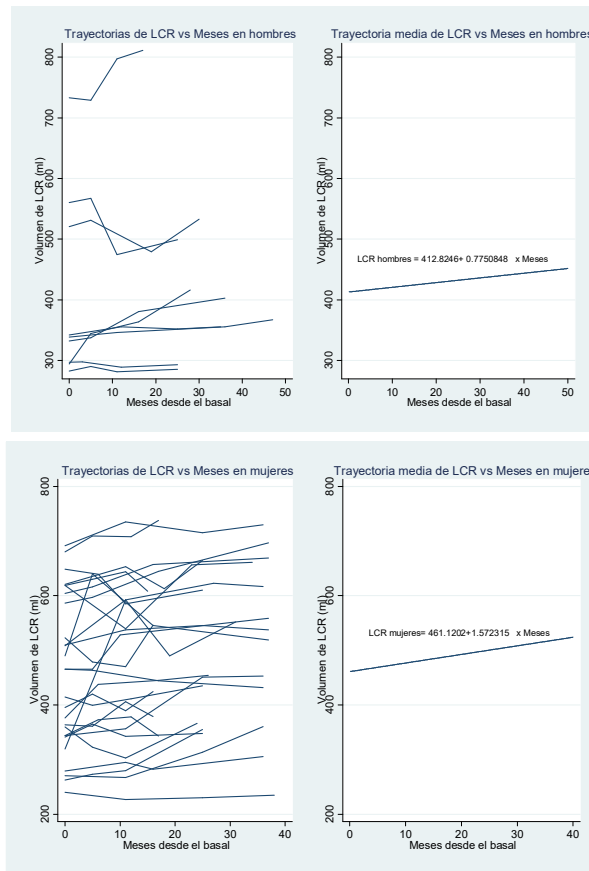
Según estos modelos, en el caso de los hombres, el volumen de LCE al inicio del seguimiento es de 412.8246 ml y aumenta a razón de 0.7751 ml por cada mes transcurrido. La desviación estándar del intercepto es de 146.71 ml y la de los residuos es de 28.69 ml, mientras que el coeficiente de correlación intraclase es de 0.96316 con un estrecho intervalo de confianza. En el caso de las mujeres, el volumen inicial de LCE es de 461.1202 ml y aumenta en 1.5723 ml por cada mes de seguimiento. La desviación estándar del intercepto es de 134.77 ml y la de los residuos es de 38.75 ml, mientras que el coeficiente de correlación intraclase es de 0.92365 con un estrecho intervalo de confianza. Según estos modelos las mujeres, al inicio del seguimiento, tienen 48.3 ml más de volumen de LCE en comparación con los hombres, con un ritmo de aumento mensual de este volumen que es más del doble que el de los hombres (0.775 ml por mes en hombres vs 1.572 ml en mujeres). Las ecuaciones que modelan el aumento mensual del volumen de LCE en ambos sexos, son las siguientes:

$$\text{Volumen LCE hombres} = 412.8246 + 0.7750848 \times \text{Meses}$$

$$\text{Volumen LCE mujeres} = 461.1202 + 1.572315 \times \text{Meses}$$

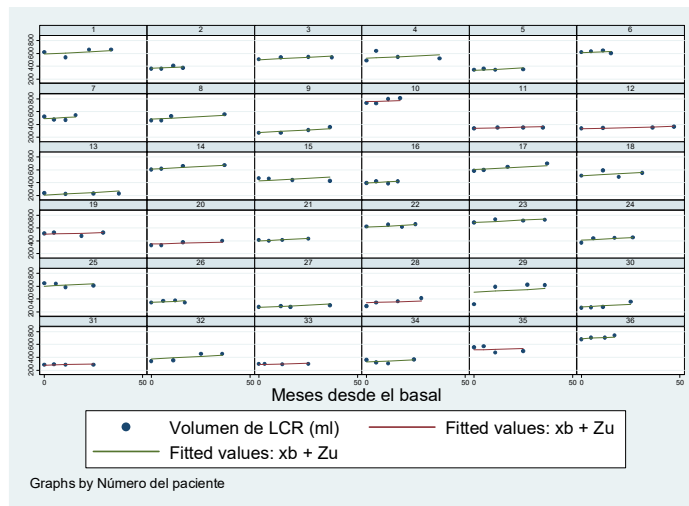
A continuación, se grafica la trayectoria media del aumento del volumen de LCE para hombres y mujeres durante el seguimiento, obtenida a partir de los modelos planteados (Gráfico 46, Anexo 2, Salida 18). En los modelos se observa gráficamente, que el aumento del LCE es levemente mayor en las mujeres que en los hombres.

Gráfico 46: Trayectoria media del LCE en el seguimiento para hombres y mujeres



Para verificar gráficamente el ajuste de estos modelos, se grafican las trayectorias predichas por éstos (Gráfico 47, Anexo 2, Salida 18)

Gráfico 47: Trayectorias predichas del aumento del LCE en el seguimiento para cada paciente

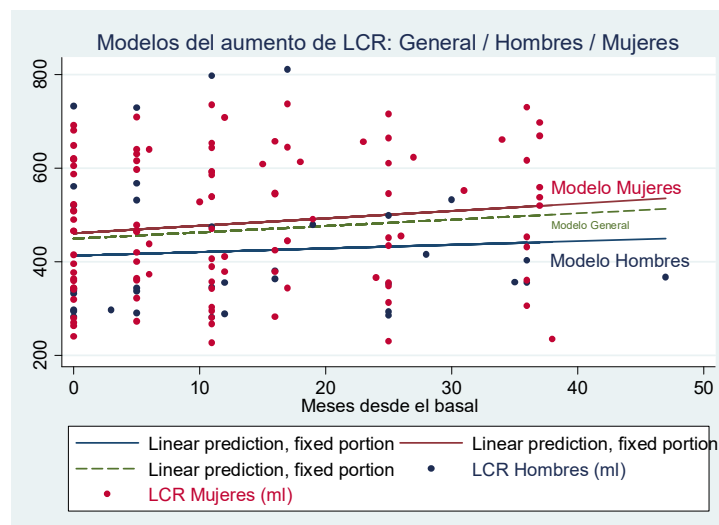


Gráficamente se observa que el modelo mixto propuesto ajusta de buena forma los valores del volumen de LCE para cada sujeto, al considerar la variación del volumen de este compartimento según el sexo al que pertenecen, durante los meses de seguimiento.

Al obtener y graficar los residuos del modelo, se observa un ajuste lineal adecuado de estos, excepto en las colas, lo que nos hace suponer que los residuos podrían ser normales, sin embargo, el test de Shapiro-Wilk de los residuos evidencia que no son normales (Anexo 2, Salida 18)

Al graficar los valores de LCE predichos por el modelo para hombres y mujeres, se observa la diferencia en la pendiente de la recta del aumento de LCE entre ambos sexos, la que es mucho más pronunciada en las mujeres, lo que determina un mayor grado de aumento del volumen de LCE en ellas, respecto a los hombres durante el periodo de seguimiento, a pesar de que su volumen inicial de LCE es mayor que el de los hombres. En el gráfico 48 (Anexo 2, Salida 18) se visualiza este hecho. Adicionalmente se incluyó el modelo general del aumento de LCE durante el periodo de seguimiento. Se debe notar que la pendiente del modelo general es levemente menor que el de las mujeres, mientras que su intercepto es levemente menor

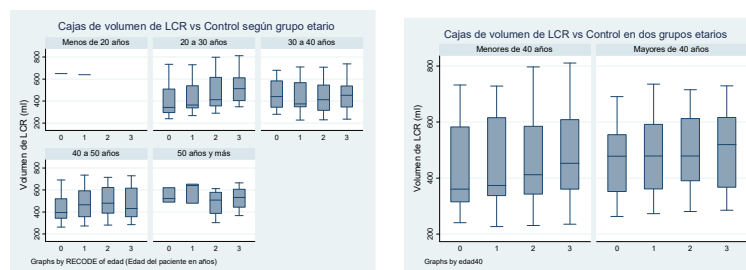
Gráfico 48: Comparación de los modelos del LCE vs meses, según sexo y general



### 2.3.2 Análisis del volumen de Líquido Cerebroespinal y edad

Debido a que existen diferencias en los volúmenes de LCE entre los grupos etarios que componen la muestra, se analizó el aumento del volumen de LCE considerando la variable edad. Al graficar el volumen de LCE de los pacientes según grupo etario durante el periodo de seguimiento (Gráfico 49, Anexo 2, Salida 19) se evidencia un aumento del volumen de LCE en los grupos etarios 20 a 30 años y 40 a 50 años de edad. En el resto de los grupos etarios no se evidencia un claro aumento del volumen de LCE durante el tiempo de seguimiento.

Gráfico 49: Volumen de LCE durante el seguimiento, según grupo etario



Análogamente al análisis del volumen de SG y SB según edad, y por el mismo criterio del desbalance de la cantidad de individuos que componen la muestra en relación a la variable edad, el análisis se realizó en base a los dos grupos etarios, menores de 40 años y mayores de 40 años, bajo el criterio de que la mediana se encuentra en los 39.72 años de edad (Anexo 2, Salida 9). Para el grupo de menores de 40 años, la media de edad es de 30.1 años, mientras que para los mayores de 40 años la media de edad es de 46.14 años (Anexo 2, Salida 9). En el mismo gráfico 49 se observa que, al dividir la muestra en dos grupos etarios, menores de 40 años y mayores de 40 años, el volumen de LCE aumenta claramente en ambos grupos etarios, lo que reafirma la evidencia para haber decidido dividir la muestra en estos dos grupos. Los volúmenes de LCE no distribuyen normal ninguno de los dos grupos etarios, sin embargo, por el tamaño muestral de ambos grupos, se considerará que el volumen de LCE distribuye normalmente en ambos grupos etarios propuestos (Anexo 2, salida 19) (Tabla 19)

Tabla 19. Test de Shapiro-Wilk para el volumen de LCE por grupo etario

Volumen de SB	Nº Obs	Media Vol SG (ml)	W	p-valor
Menores de 40	75	453.8053	0.93028	0.00048
Mayores de 40	69	481.6116	0.95715	0.01867

Para verificar si existen diferencias significativas en la media del volumen de LCE entre ambos grupos etarios se realiza prueba t de muestras independientes con igual varianza. Previamente se realizó test de Levene, el que evidenció igualdad de las varianzas ( $f(74,68) = 1.3464, p > 0.05$ ) (Anexo 2, salida 19). En la prueba t se observa que al comparar las medias del volumen de LCE de los menores de 40 años ( $453.8053 \pm 35.831$  años) y mayores de 40 años ( $481.6116 \pm 32.2415$  años), no existe diferencia estadísticamente significativa ( $t(142) = -1.1431, p > 0.05$ ) entre las medias de LCE de estos dos grupos etarios (Anexo 2, salida 19).

A pesar de que no existen diferencias significativas en el aumento de LCE en relación al periodo de seguimiento entre ambos grupos etarios, se realizó un modelo mixto diferenciado para los grupos de edad propuestos, para visualizar si existe un patrón del aumento del volumen de este compartimento. El análisis se hizo de forma similar al de la influencia del sexo, es decir, un modelo por cada uno de los dos grupos etarios ya caracterizados. Los coeficientes obtenidos se resumen en la siguiente tabla (Anexo 2, salida 19)

Tabla 20: Resumen del modelo del aumento de LCE para dos grupos etarios

	(1)	(2)
	lcr	lcr
lcr		
Meses	1.276*** (4.48)	1.419*** (2.91)
_cons	435.8*** (12.82)	448.9*** (14.71)
lns1_1_1		
_cons	5.015*** (31.45)	4.834*** (28.37)
lnsig_e		
_cons	3.284*** (34.45)	3.829*** (38.21)
N	75	69

t statistics in parentheses  
\* p<0.05, \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001

Tabla del modelo del aumento de LCR para los menores de 40 años de edad				
Volumen de LCR	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)
Meses	1.275575	0.2850234	0.000 *	-0.7169391 1.83421
Intercepto	435.7951	33.99536	0.000 *	369.1654 502.4248
Parámetros de efecto aleatorio				
	Estimado	Error Estándar	IC (al 95%)	
DE (Intercepto)	150.5925	24.0086	* 110.1789 205.8299	
DE (Residuos)	26.67789	2.542757	* 22.132 32.1575	
ICC del Modelo	0.96957	0.00941	* 0.95113 0.98801	
Tabla del modelo del aumento de LCR para mayores de 40 años de edad				
Volumen de LCR	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)
Meses	1.41857	0.486974	0.004 *	0.4641185 2.373021
Intercepto	448.8802	30.51327	0.000 *	389.0753 508.6851
Parámetros de efecto aleatorio				
	Estimado	Error Estándar	IC (al 95%)	
DE (Intercepto)	125.7568	21.42834	* 90.05133 175.619	
DE (Residuos)	46.01861	4.612015	* 37.81164 56.0069	
ICC del Modelo	0.88191	0.03549	* 0.81234 0.95147	

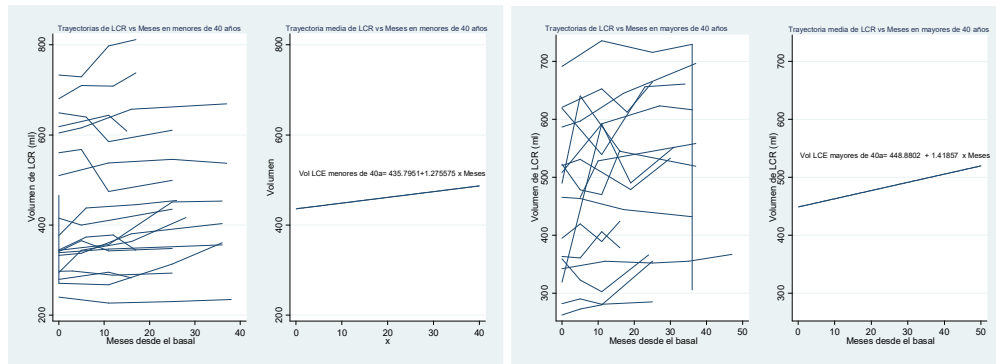
Según estos modelos, en el caso de los menores de 40 años, el volumen de LCE al inicio del seguimiento es de 435.7951 ml y aumenta a razón de 1.276 ml por cada mes transcurrido. La desviación estándar del intercepto es de 150.593 ml y la de los residuos es de 26.678 ml, mientras que el coeficiente de correlación intraclase es de 0.96957 con un estrecho intervalo de confianza. En el caso de los mayores de 40 años, el volumen inicial de LCE es de 448.8802 ml y aumenta en 1.41857 ml por cada mes de seguimiento. La desviación estándar del intercepto es de 125.757 ml y la de los residuos es de 46.019 ml, mientras que el coeficiente de correlación intraclase es de 0.88191 con un amplio intervalo de confianza. Si bien es cierto, el ICC de este grupo de pacientes es el menor obtenido en todos los modelos presentados, sigue siendo un buen modelo desde el punto de vista de la correlación de las medidas intrasujeto. Según los modelos entre grupos etarios, los menores de 40 años de edad, al inicio del seguimiento, tienen 13.09 ml menos de volumen de LCE en comparación con los mayores de 40 años, con un ritmo levemente menor de aumento mensual de este volumen (1.276 ml por mes en menores vs 1.419 ml en mayores de 40 años). Las ecuaciones que modelan el aumento mensual del volumen de LCE para ambos grupos etarios son las siguientes:

$$\text{Volumen LCE menores de 40 años} = 435.7951 + 1.275575 \times \text{Meses}$$

$$\text{Volumen LCE mayores de 40 años} = 448.8802 + 1.41857 \times \text{Meses}$$

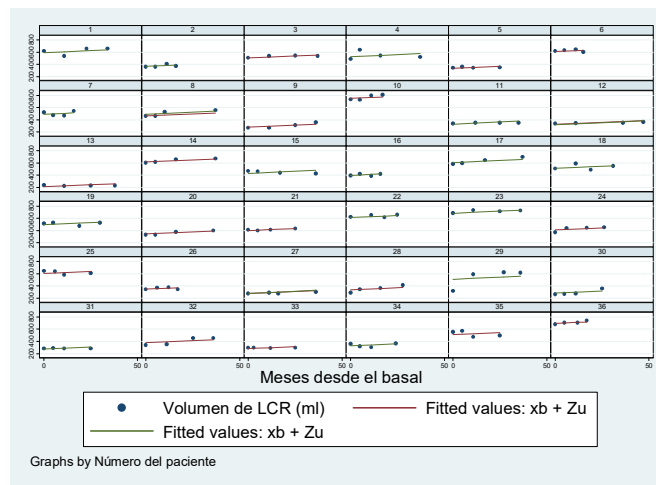
A continuación, se grafica la trayectoria media del aumento de LCE para menores y mayores de 40 años durante el seguimiento, obtenida a partir de los modelos planteados (Gráfico 50, Anexo 2, Salida 19).

Gráfico 50: Trayectoria media del LCE para mayores y menores de 40 años



Para verificar gráficamente el ajuste de estos modelos, se grafican las trayectorias predichas por éstos para cada uno de los pacientes (Gráfico 51, Anexo 2, Salida19)

Gráfico 51: Trayectorias predichas del aumento de LCE en el seguimiento para cada paciente

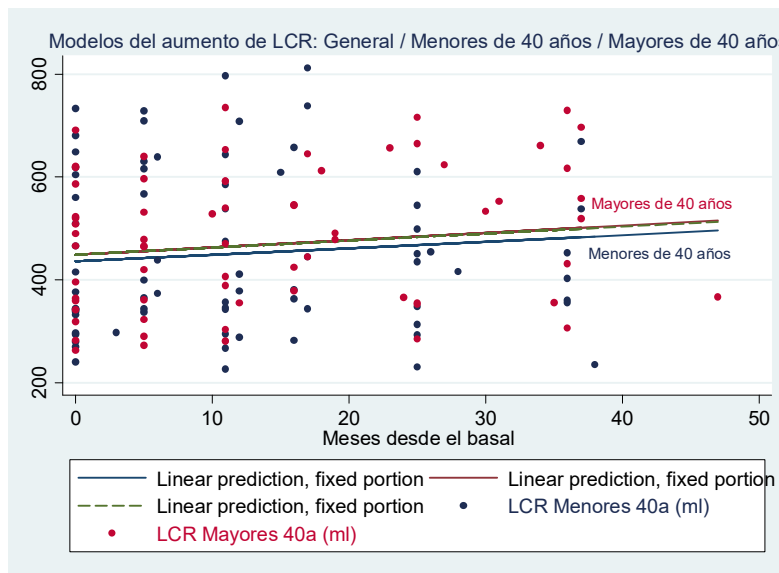


Gráficamente se observa que el modelo mixto propuesto ajusta de buena forma los valores del volumen de LCE para cada sujeto al considerar la variación según el grupo etario al que pertenecen, durante los meses de seguimiento.

Al obtener y graficar los residuos del modelo, se observa un ajuste lineal adecuado de estos, lo que nos hace suponer que los residuos son normales. Al realizar el test de Shapiro-Wilk de los residuos se evidencia que efectivamente estos son normales (Anexo 2, Salida 19)

Al graficar los valores de LCE predichos por el modelo para menores y mayores de 40 años, se observa que la pendiente de la recta del aumento de LCE entre ambos grupos etarios es similar, pero levemente mayor en los mayores de 40 años, lo que determina un mayor grado de disminución del volumen de LCE en este grupo, respecto a los menores durante el periodo de seguimiento. En el gráfico 52 (Anexo 2, Salida 19) se visualiza este hecho. Adicionalmente se incluyó el modelo general del aumento de LCE durante el periodo de seguimiento, que también tiene una pendiente similar a la de los dos grupos etarios, con prácticamente el mismo intercepto y una mínima diferencia en la pendiente respecto al modelo de los mayores de 40 años.

Gráfico 52: Comparación de los modelos del LCE vs meses, según edad y general



Finalmente se presentan las siguientes tablas resumen (tablas 21, 22 y 23), para todos los modelos ejecutados en los distintos compartimentos encefálicos, en la que se establece la variación porcentual anual en cada uno de los compartimentos ( $\Delta$  anual), y asociada a cada una de las variables demográficas estudiadas. En algunos estudios consultados, a este atributo se le denomina Fracción anual de SG, SB y LCE, según corresponda, lo que normaliza la disminución del volumen de cada compartimento, al volumen encefálico total.



Tabla 21: Resumen de los modelos generales

Volumen de SG	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)		Tendencia	Δ Anual
Meses	-0.795	0.1211014	0.000 *	-1.032631	-0.5579217	↓	1.41%
Intercepto	678.616	13.05879	0.000 *	653.0214	704.2109		
<b>ICC del Modelo</b>	0.95544	0.01015		0.93554	0.97534		

Volumen de SB	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)		Tendencia	Δ Anual
Meses	-0.425	0.0905114	0.000 *	-0.6021369	-0.2473386	↓	1.11%
Intercepto	460.304	12.28331	0.000 *	436.2293	484.379		
<b>ICC del Modelo</b>	0.97168	0.00653		0.95888	0.98449		

Volumen de LCR	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)		Tendencia	Δ Anual
Meses	1.352	0.266699	0.000 *	0.8295143	1.874955	↑	3.61%
Intercepto	449.287	23.869	0.000 *	402.5048	496.0696		
<b>ICC del Modelo</b>	0.93582	0.0144		0.90759	0.96404		

Tabla 22: Resumen de los modelos según sexo

Volumen de SG hombres	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)		Tendencia	Δ Anual
Meses	-0.634	0.1933515	0.001 *	-1.01282	-0.2548958	↓	1.01%
Intercepto	751.389	20.99149	0.000 *	710.2459	792.531		
<b>ICC del Modelo</b>	0.95244	0.02165		0.91001	0.99486		

Volumen de SG mujeres	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)		Tendencia	Δ Anual
Meses	-0.855	0.1484565	0.000 *	-1.146193	-0.5642547	↓	1.57%
Intercepto	654.427	12.68492	0.000 *	629.5654	679.2894		
<b>ICC del Modelo</b>	0.93164	0.01765		0.89705	0.96624		

Volumen de SB hombres	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)		Tendencia	Δ Anual
Meses	-0.485	0.1540302	0.002 *	-0.786788	-0.1830007	↓	1.20%
Intercepto	486.548	22.70467	0.000 *	442.0478	531.0485		
<b>ICC del Modelo</b>	0.97397	0.01204		0.95038	0.99757		

Volumen de SB mujeres	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)		Tendencia	Δ Anual
Meses	-0.403	0.109616	0.000 *	-0.617551	-0.1878643	↓	1.07%
Intercepto	451.535	14.16387	0.000 *	423.774	479.2953		
<b>ICC del Modelo</b>	0.96966	0.00807		0.95384	0.98548		

Volumen de LCR hombres	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)		Tendencia	Δ Anual
Meses	0.775	0.399775	0.053 *	-0.0084599	1.558629	↑	2.25%
Intercepto	412.825	49.42623	0.000 *	315.9509	509.6982		
<b>ICC del Modelo</b>	0.96316	0.01689		0.93006	0.99627		

Volumen de LCR mujeres	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)		Tendencia	Δ Anual
Meses	1.572	0.3290046	0.000 *	0.9274773	2.217152	↑	4.09%
Intercepto	461.120	26.55723	0.000 *	409.069	513.1715		
<b>ICC del Modelo</b>	0.92365	0.01959		0.88525	0.96205		

Tabla 23: Resumen de los modelos según rangos etarios

Volumen de SG < 40 años	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)		Tendencia	Δ Anual
Meses	-1.089	0.1456121	0.000 *	-1.37482	-0.8040308	↓	1.88%
Intercepto	696.136	18.27236	0.000 *	660.3226	731.9489		
<b>ICC del Modelo</b>	0.97248	0.00853		* 0.95576	0.98920		

Volumen de SG > 40 años	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)		Tendencia	Δ Anual
Meses	-0.524	0.2048963	0.011 *	-0.925865	-0.1226862	↓	0.95%
Intercepto	664.862	18.962	0.000 *	627.697	702.0267		
<b>ICC del Modelo</b>	0.94608	0.01708		* 0.91261	0.97956		

Volumen de SB < 40 años	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)		Tendencia	Δ Anual
Meses	-0.411	0.145302	0.005 *	-0.6957738	-0.1262004	↓	1.12%
Intercepto	439.750	14.91259	0.000 *	410.5222	468.9785		
<b>ICC del Modelo</b>	0.95905	0.01259		* 0.93438	0.98373		

Volumen de SB > 40 años	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)		Tendencia	Δ Anual
Meses	-0.457	0.1214808	0.000 *	-0.6953457	-0.2191497	↓	1.13%
Intercepto	484.643	18.61056	0.000 *	448.1665	521.1185		
<b>ICC del Modelo</b>	0.98039	0.00629		* 0.96806	0.99272		

Volumen de LCR < 40 años	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)		Tendencia	Δ Anual
Meses	1.276	0.2850234	0.000 *	-0.7169391	1.83421	↑	3.51%
Intercepto	435.795	33.99536	0.000 *	369.1654	502.4248		
<b>ICC del Modelo</b>	0.96957	0.00941		* 0.95113	0.98801		

Volumen de LCR > 40 años	Coefficientes	Error Estándar	P >  z	IC (al 95%)		Tendencia	Δ Anual
Meses	1.419	0.486974	0.004 *	0.4641185	2.373021	↑	3.79%
Intercepto	448.880	30.51327	0.000 *	389.0753	508.6851		
<b>ICC del Modelo</b>	0.88191	0.03549		* 0.81234	0.95147		

## Capítulo VII: Discusión

Del presente trabajo se puede extraer que los pacientes portadores de EM que componen la muestra, presentaron una disminución del volumen de SG y SB, con un aumento concomitante del volumen de LCE. Los cambios en los volúmenes de los tres compartimentos encefálicos fueron significativos, por lo que la hipótesis nula de este estudio se rechaza, aceptando la hipótesis alternativa, la que establece que los volúmenes de SG y SB presentan disminuciones significativas, mientras que el volumen de LCE aumenta de forma compensatoria para mantener el volumen encefálico constante. Este hecho determina la presencia de atrofia cerebral producto de la enfermedad, la que aparentemente es proporcional a la progresión de la enfermedad.

El modelo lineal mixto multinivel para medidas repetidas utilizado, resultó apropiado para evidenciar la cuantía de la disminución de los volúmenes de SG y SB, así como el aumento del volumen de LCE, ajustando de buena forma el modelo general planteado, y sus interacciones, al patrón de variación de cada uno de los pacientes, considerando el sexo y el grupo etario al que pertenecen. La mayoría de los trabajos reportados en la literatura, que estudian la atrofia cerebral relacionada a la EM, utilizan mediciones de distancias morfométricas lineales, a nivel ventricular y de otras estructuras encefálicas, y posteriormente las relacionan entre sí para determinar el grado de aumento o disminución porcentual de estas medidas en el tiempo, mientras que muy pocos estudios utilizan un método estadístico para realizar este tipo de análisis, que considere las variaciones inter e intrasujeto en los volúmenes o en otro tipo de medición, a medida que se relaciona con la evolución de la enfermedad. Solo un trabajo consultado en la literatura, utilizó el método de ecuaciones de estimación generalizadas (GEE), mientras que Battaglini y cols utilizaron VBM y un modelo general lineal (GLM) (12) (24) (33) (35). Este tipo de modelamiento es válido para muestras grandes, con varias mediciones en el tiempo, pero estas mediciones deben idealmente, ser realizadas en el mismo tiempo y en

igual cantidad de ocasiones, para que el modelo sea consistentemente válido en los distintos niveles. Adicionalmente el método GEE requiere que los datos cumplan con el supuesto de normalidad, para asegurar la validez de los resultados (28) (29). El modelo mixto ejecutado en esta tesis no ha sido reportado en la literatura consultada. Desde el punto de vista metodológico es más robusto que el método GEE, ya que permite la heterocedasticidad de las mediciones, arroja resultados válidos con un número menor de observaciones y si las mediciones tomadas a los individuos en estudio no son iguales en cantidad, e incluso si son tomadas con mucha distancia en el tiempo entre ellas. Adicionalmente entrega la posibilidad de utilizar una medida de bondad de ajuste, el coeficiente de correlación intraclase, que permite cuantificar la variabilidad intersujeto, que además se manifiesta a nivel intrasujeto, lo que se corroboró gráficamente mediante el ajuste observado de los modelos para cada compartimento (SG, SB y LCE) en los gráficos de trayectoria para cada paciente. Respecto a los gráficos, en la sección “Resultados”, en lo relacionado con el análisis de los volúmenes cerebrales, al inicio de la descripción de los volúmenes de SG según sexo, se obtuvieron scatterplots con ajuste lineal para mostrar la variación de este volumen según sexo durante el periodo de seguimiento. En este gráfico se observa que la pendiente de la disminución es mayor en los hombres que en las mujeres. Finalmente, el modelo aplicado objetivó que el volumen disminuía más en las mujeres que en los hombres. En el caso del volumen de LCE en función del seguimiento y el sexo, en el scatterplot con ajuste lineal se observa que el volumen de LCE disminuye en los hombres, mientras que aumenta en las mujeres. El modelo aplicado evidenció un aumento de este volumen en ambos sexos, mucho más marcado en las mujeres que en los hombres. Este hecho muestra que este tipo de gráfico, probablemente el más usado para visualizar exploratoriamente la variación de una variable dependiente respecto a la independiente, no es adecuado cuando se analizan datos de tipo longitudinal, ya que no expresa la variación de la variable dependiente en función del tiempo.

## 1. Muestra

Desde el punto de vista de las características de la muestra, se estableció que las variables demográficas de los pacientes no se correlacionaron con lo que habitualmente se encuentra en la población, y en lo clásicamente se ha reportado en la epidemiología de la EM. Típicamente, la tasa de prevalencia de la EM es mayor en las mujeres que en los hombres. La relación mujeres:hombres es de 2:1, sin embargo en este trabajo la relación es de 3:1. Este hecho no debe llamar la atención, puesto que en una publicación se ha reportado que la prevalencia de la EM se ha incrementado marcadamente en las últimas décadas, aumentando especialmente en las mujeres, de modo que actualmente se ha evidenciado que la relación entre mujeres y hombres ha aumentado hasta 3:1 e incluso 3.5:1 (34). En este trabajo se vio que la relación 3:1 pudiera ser una limitante para el análisis y la validez de los resultados obtenidos, sin embargo, esta relación es la actualmente aceptada como correcta. El mayor incremento de la prevalencia de EM en las mujeres, se ha señalado como una consecuencia probablemente asociada a la presencia de cambios no identificados en el ambiente o en la dieta, al aumento de la prevalencia en mujeres del virus Epstein-Barr, niveles menores de vitamina D, mayor exposición a la radiación solar y aumento del tabaquismo, que son factores bien documentados que se asocian con un leve aumento del riesgo de padecer EM (Odd Ratio > 1.3), aunque se investiga en la actualidad para buscar evidencias basadas en factores de susceptibilidad genética (34). Toda esta evidencia permite validar la distribución de la muestra en relación al sexo y haberla considerado como una variable posiblemente asociada a la variación de los volúmenes encefálicos, y por lo tanto relacionada con la atrofia cerebral.

En relación a la distribución de la muestra en grupos etarios, claramente existe una condición de desbalance, ya que está compuesta de una mínima cantidad de pacientes jóvenes. Desde el punto de vista epidemiológico, la EM se presenta en individuos jóvenes, laboralmente activos. La edad de inicio de los síntomas habitualmente

está entre los 20 y los 40 años, mientras que es muy difícil encontrar pacientes afectados a edades avanzadas, siendo esta patología, la segunda más prevalente en individuos adultos jóvenes (2) (4) (36). En la actualidad se ha evidenciado una disminución en la edad de debut de los síntomas asociados a esta enfermedad, la que podría estar asociada a la exposición a factores ambientales y factores inmunogenéticos aún desconocidos (34). En la práctica clínica en Chile, cada vez es más común la confirmación del diagnóstico en menores de 20 años. Esta observación podría estar interferida por el hecho de que en nuestro país cada vez son más accesibles los métodos de diagnóstico para EM (resonancia magnética estructural principalmente y presencia de bandas oligoclonales en el análisis electroforético del LCE) lo que hace suponer que este aumento en la prevalencia de la EM en los más jóvenes, en realidad pudiera corresponderse con un aumento en el diagnóstico precoz. Dado que la mayoría de los estudios relacionados con la epidemiología de la EM son de tipo transversal, la descripción de los grupos etarios no siempre es correlacionable con los estudios longitudinales, sin embargo, apoyan la evidencia de que existe relación entre el curso de la EM y la edad (36). Dada la distribución etaria de la muestra se decidió dividirla en dos grupos etarios (mayores y menores de 40 años) utilizando el criterio de la mediana, para generar dos grupos homogéneos en cuanto a su cantidad de integrantes. La evidencia de que el curso de la EM se relaciona con la edad, permite validar su consideración como una variable probablemente relacionada con la variación de los volúmenes encefálicos, y del mismo modo con la atrofia cerebral.

## 2. Atrofia Cerebral

Diversos estudios han evidenciado que los pacientes con EM presentan distintos grados de atrofia cerebral, tanto global como regional, así como de la médula espinal. Los factores patológicos responsables de esta atrofia se relacionan con la pérdida axonal en las lesiones inflamatorias de la SB y con la reducción del diámetro axonal como consecuencia de la desmielinización. La atrofia es detectable incluso en etapas precoces

de la enfermedad (23) (24) (33) (35). La atrofia se puede estimar mediante mediciones directas del volumen cerebral total o diferenciando por compartimentos (SG, SB y LCE o volumen ventricular), así como medidas lineales o en superficie con métodos manuales, semiautomáticos y automáticos. En la actualidad se utilizan los automáticos, para asegurar una mayor reproducibilidad y precisión. La metodología automática preferida es la que permite realizar un análisis de todo el volumen encefálico, utilizando la información contenida en la unidad mínima de volumen obtenido en la RM, el vóxel (35). El análisis vóxel a vóxel, actualmente se consigue mediante las técnicas VBM (Voxel Based Morphometry), Freesurfer, ITK-SNAP y SIENA/X. Esta última está especialmente diseñada para el estudio de la pérdida de volumen del tejido encefálico, analizando el cambio del volumen del encéfalo, como predictor de atrofia en estudios transversales y longitudinales.

Dado que la atrofia global se puede evaluar a través de mediciones directas del volumen del parénquima cerebral, la disminución de este volumen puede valorarse y cuantificarse a través del análisis del aumento del volumen del LCE, el que aumenta a medida que la atrofia cerebral progresa como consecuencia de la EM (23) (33) (35) por lo que el aumento del volumen de este compartimento se ha utilizado como marcador del grado de atrofia cerebral. Antes de la utilización de los métodos de cuantificación basados en el vóxel, la medición de distancias ventriculares se utilizó como marcador para los mismos propósitos (35). Más adelante se discute el aumento del LCE en la muestra de pacientes que constituyen este estudio.

Existe evidencia de que la atrofia se correlaciona con el fenotipo de la enfermedad, remitente-recurrente (EMRR), primaria y secundariamente progresiva (EMPP y EMSP respectivamente) (33) aunque otros autores no encuentran que haya diferencias significativas en la atrofia, en relación al fenotipo de la EM (35); sin embargo, la atrofia se relaciona claramente con los déficits motores, sensitivos y cognitivos que presentan los pacientes, mientras que estos déficits no se relacionan clara y

consistentemente con la carga de lesiones (23) (33) (35). Al parecer la atrofia global se relaciona fuertemente con las alteraciones cognitivas, ya que entre un 40% y un 60% de los pacientes afectados por EM que exhiben atrofia, tienen alteraciones de la atención, memoria, memoria de trabajo y velocidad de proceso. En relación a la atrofia global, los pacientes con poco déficit somático (motor y sensitivo) y mucha alteración del espectro cognitivo, presentan un grado de atrofia global mayor que los que tienen alteraciones solamente somáticas (35).

Sin embargo, hay que considerar la existencia de un probable sesgo de selección en este estudio. A raíz de éste, puede ser que el comportamiento volumétrico de los individuos de este estudio, no refleje fidedignamente la disminución de volumen en todos los compartimentos encefálicos y que pueda extrapolarse a otras muestras de individuos con características demográficas distintas a las de este estudio.

## 2.1. Atrofia y Sustancia Gris

A pesar de que la EM tradicionalmente se considera como una enfermedad que afecta a la SB, la disminución del volumen de la SG juega un rol primordial en las manifestaciones clínicas de esta enfermedad, como consecuencia de la atrofia de presente en este compartimento. Se ha evidenciado en la literatura una disminución significativa del volumen de SG, que incluso puede acompañarse de un incremento en el volumen de SB que pudiera enmascarar la atrofia global (26) (35). Este hecho es el fundamento del estudio de los tres compartimentos encefálicos por separado. La atrofia de la SG es un fenómeno independiente de la degeneración walleriana, secundaria al daño en la SB, ya que no se correlaciona necesariamente con la distribución regional de la injuria en la SB, y porque se ha reportado que se asocia a la presencia de lesiones y de fenómenos de apoptosis neuronal en la misma SG, que se manifiesta con una disminución del grosor cortical medio, del grosor en algunas regiones subcorticales y disminución de la densidad neuronal en los núcleos grises (3) (35).



Dado que la SG se encuentra en los núcleos de la base, en el cerebelo y en la corteza cerebral, el método de cuantificación de su volumen utilizado en este estudio, en los pacientes en función del tiempo, no hizo diferencias regionales en su distribución, si no que consideró todas las localizaciones como un solo compartimento. Existe evidencia de que la disminución del volumen de SG es linealmente constante como consecuencia del envejecimiento normal (37), y esta disminución es también linealmente más acentuada en los pacientes afectados por la EM, comprometiendo principalmente a la SG profunda, hipocampo y regiones corticales fronto-parietales superiores (24) (35). Se ha reportado una pérdida de población neuronal en el tálamo que varía entre un 16 y un 22%, mientras que, en relación a la SG global, se ha reportado una disminución de que varía de un 1.18% a un 1.35%, y de un 2.5% a un 3.8% en etapas precoces de la enfermedad, mientras que en etapas tardías se ha objetivado una disminución de hasta un 7.1%. Existen otros reportes que indican que en una muestra de pacientes con EMRR la disminución del volumen de SG fue significativamente mayor en los pacientes que en los controles normales (2.6% vs 0.72% respectivamente). Los estudios que no han reportado diferencias en la variación del volumen de SG son muy escasos, y la falta de significación puede deberse al análisis en una muestra reducida o a una falla en el método de segmentación usado (35). La atrofia en este compartimento es la que tiene una mayor correlación con los déficits neurológicos que exhiben los pacientes afectados por EM, siendo las alteraciones cognitivas las más asociadas a la atrofia de este compartimento (6) (9) (35).

Según lo reportado, la atrofia de la SG es más acentuada que la de la SB. En algunos reportes incluso se indica que solo hay evidencia en la progresión de la sustancia gris, ya que en algunos de ellos se ha visto que la atrofia de la SG puede acompañarse de incrementos en el volumen de SB. La evidencia apunta que en la EM, la mayor disminución de volumen se produce en la SG (35)

En este trabajo, el volumen de sustancia gris disminuyó a una razón de 0.8 ml por cada mes de seguimiento. Esto significa que la disminución de la fracción anual de SG es de 1.4%, la que se relaciona con la reportada por la literatura, y es significativamente mayor que la exhibida por los controles normales en estos mismos reportes. Del mismo modo, también existe gran evidencia de que las mujeres presentan una atrofia mayor que los hombres en todos los compartimentos, especialmente en la SG, y habitualmente tienen un mayor compromiso cognitivo secundario a la enfermedad, lo que se relaciona con la atrofia de SG. Existen muy pocos estudios que abordan esta evidencia desde el punto de vista cuantitativo (5) (6) (12) (35). En este trabajo se abordó la diferencia en el patrón de atrofia de la SG según el sexo, y se encontró una mayor disminución del volumen de este compartimento en las mujeres que en los hombres (0.86 ml mensual vs 0.63 ml mensual respectivamente). La disminución de la fracción anual de SG en las mujeres también es mayor que en los hombres (1.57% vs 1.01%). En relación a la disminución del volumen de SG según grupo etario, existe un reporte que indica que la disminución de este volumen encefálico es mayor en los grupos etarios más jóvenes que en los mayores (36). En este estudio, al dividir la muestra en menores y mayores de 40 años, se encontró que había consistencia en los volúmenes iniciales, es decir, los más jóvenes tienen un mayor volumen de SG que los mayores (696.14 ml vs 664.86 ml respectivamente), y que la disminución mensual de SG es casi el doble mayor en los menores de 40 años que en los mayores (1.09 ml por mes vs 0.52 ml respectivamente). La disminución de la fracción anual de SG es del mismo modo mucho mayor (prácticamente el doble) en los menores que en los mayores (1.88% vs 0.95% respectivamente). Esta evidencia apoya la idea de que la disminución del volumen de SG es mayor en los pacientes más jóvenes que en los mayores. Lamentablemente no se encontraron más estudios que reportaran diferencias claras de la atrofia de SG en pacientes jóvenes, en comparación con pacientes mayores.

Por lo tanto, en este trabajo, el patrón de atrofia de la sustancia gris se relaciona con la evidencia reportada por la literatura.

## 2.2. Atrofia y Sustancia Blanca

Los mecanismos fisiopatológicos de la EM, en teoría, debieran explicar una mayor atrofia de la SB en relación a los otros compartimentos encefálicos. Existen reportes que indican que el volumen de SB se mantiene durante el proceso de envejecimiento normal (10), mientras en otros se indica que incluso aumenta hasta aproximadamente los 70 años de edad, tras lo cual comienza a disminuir (37). En la EM se ha reportado que la disminución del volumen de SB pudiera enmascarse por los fenómenos inflamatorios y el edema que la afecta; y por la presencia de gliosis secundaria al daño y degeneración axonal. Al respecto existe evidencia de que en pacientes con síndromes clínicamente aislados, relacionados con EM, se objetivó una pérdida significativa del volumen de SG, pero con pequeños incrementos en el volumen de SB que enmascaran la atrofia (3) (35). Las diferencias en la atrofia de SG o SB según el fenotipo de la enfermedad han sido poco estudiadas, sin embargo, se ha reportado evidencia contradictoria, pero que apunta a una mayor atrofia de la SB en la EMSP en comparación con la atrofia presente en el fenotipo de EMRR (35). La evidencia apunta fuertemente a que la pérdida de SG comparada con la disminución de la SB, solo es suficiente para establecer progresión de la atrofia en la SG (35). Existen reportes que han evidenciado que la correlación entre la cantidad de lesiones de la SB y la discapacidad funcional de los pacientes es débil y que la correlación entre la atrofia de SB y la discapacidad es débil o moderada, mientras que la atrofia de la SB sería poco dependiente de la carga lesional en este mismo compartimento (4) (9) (35). Solo se ha podido correlacionar que el aumento de las lesiones de la SB se asocia con atrofia de SG en el cíngulo, ínsula y en áreas de asociación prefrontal, temporal y parietal, mientras que la correlación entre la atrofia de la SB y el deterioro cognitivo es menos que débil (35). Por todos estos motivos, la atrofia de la SB es poco apreciable y poco significativa en la EM, a pesar de que la enfermedad

afecta primariamente a este compartimento, mientras que su volumen aumenta, o al menos se mantiene, durante el envejecimiento normal.

En este trabajo se encontró que en términos generales el volumen de SB disminuyó a razón de 0.43 ml por mes de seguimiento, con una disminución de la fracción anual de SB de un 1.11%. Respecto a la disminución del volumen de SB en relación al sexo, probablemente exista un sesgo derivado de la mayor cantidad de pacientes mujeres en comparación con los hombres, pero se encontró una leve mayor disminución del volumen de este compartimento en los hombres en comparación con las mujeres (0.49 ml vs 0.4 ml respectivamente), lo que no se puede relacionar con lo encontrado en la literatura. En relación a la disminución del volumen de SB en función del grupo etario, se estableció que el modelo propuesto era metodológicamente válido, pero inviable del punto de vista biológico, ya que se encontró que el volumen inicial de SB era mayor en el grupo de mayores de 40 años, en comparación con el grupo de los menores de esta edad (484.6 ml vs 439.8 ml respectivamente), sin embargo, la evidencia expuesta anteriormente indica que el volumen de SB puede aumentar en presencia de la enfermedad; y que también aumenta durante el envejecimiento normal hasta los 70 años. Cabe señalar que el paciente de más edad de la muestra tenía 57 años, por lo que los pacientes de mayor edad todavía seguían con la posibilidad de expandir su volumen de SB como consecuencia del envejecimiento normal. Por este motivo, al parecer el modelo no era efectivamente inválido desde el punto de vista biológico. En relación a la disminución del volumen de SB en función del seguimiento y el grupo etario de los pacientes, en este trabajo no se encontraron diferencias significativas en el patrón de atrofia de este compartimento entre los menores de 40 años (disminución de 0.41 ml mensual, disminución de la fracción anual de 1.12%) y los mayores de 40 años (disminución de 0.46 ml mensual, disminución de la fracción anual de 1.13%). Las diferencias son muy menores y existe una atrofia levemente mayor en el grupo de más edad.

Por lo tanto, los hallazgos de este estudio solo se pueden correlacionar con la literatura, en el hecho de que el grupo de pacientes de mayor edad tiene un volumen inicial de SB mayor que el de menor edad. No se puede correlacionar el patrón de la atrofia de este compartimento con lo reportado en la literatura, principalmente por la falta de evidencia respecto al efecto que juega la edad en relación a la atrofia de SB.

### 2.3. Atrofia y Líquido Cerebroespinal

Ya se ha discutido el rol de la atrofia de la SG en el deterioro neurológico de los pacientes afectados por EM, mientras que el comportamiento del volumen de SB en esta patología es poco predecible y poco correlacionable con el deterioro neurológico de los pacientes. El LCE tiende a aumentar su volumen en forma progresiva y lineal, como consecuencia del envejecimiento normal (37), sin embargo, en todos los trabajos consultados que abordan la atrofia cerebral en EM, se ha reportado que el aumento del volumen de este compartimento es más marcado en los individuos afectados por esta enfermedad, que en los individuos normales (23) (33) (35). Dado que el aumento del LCE se relaciona con la disminución del volumen del parénquima cerebral, ya que aumenta de forma compensatoria a esta disminución, para preservar el volumen encefálico total, el aumento del volumen del LCE se ha constituido como el marcador de la atrofia global encefálica, ya que por sí solo refleja las variaciones del volumen de SG y SB en conjunto (8) (10) (11) (19) (23) (24) (35). El aumento del volumen de LCE ha sido encontrado incluso en etapas tempranas de la enfermedad, y por esta razón ha sido analizado desde los primeros estudios que se realizaron en relación a la atrofia cerebral en EM; principalmente tomado medidas lineales y distancias de los ventrículos cerebrales, ancho del tercer ventrículo y disminución del grosor del cuerpo caloso, entre otras (35). La atrofia parenquimatosa se relaciona en forma directa y proporcional con el aumento del volumen del LCE, tanto en lo estructural, como en su correlación con el deterioro neurológico clínicamente evaluable ya discutido anteriormente. La atrofia global encefálica se relaciona con la disminución en el rendimiento en las escalas clínicas de

discapacidad y del rendimiento cognitivo en los pacientes afectados por EM, principalmente alteraciones de la memoria y del razonamiento conceptual (22) (23) (35). Diversos estudios han reportado un aumento del volumen del LCE de entre un 2.7% (pacientes solo con fenotipo de EMRR) y un 4.7% (pacientes con fenotipo EMRR y EMSP), aunque otros autores también han reportado que el aumento del volumen de LCE no se relaciona con el fenotipo clínico de la enfermedad (22) (35).

En este trabajo se encontró que, en términos generales, el volumen de LCE aumentó a razón de 1.35 ml por mes de seguimiento, con un aumento de la fracción anual de LCE de un 3.61%, lo que se correlaciona con los valores reportados por la literatura en los fenotipos más comunes de la EM. Respecto al aumento del volumen del LCE en relación al sexo, se encontró un aumento mucho mayor del volumen de este compartimento en las mujeres en comparación con los hombres (1.57 ml vs 0.78 ml mensual respectivamente) lo que corresponde a un aumento de la fracción anual del LCE de un 2.25% en los hombres versus un 4.1% en las mujeres, lo que también se puede relacionar con lo encontrado en la literatura consultada, así como el hecho de que el volumen de LCE al inicio del seguimiento es mayor en las mujeres que en los hombres. En relación al aumento del volumen de LCE en función del grupo etario, en este trabajo se encontró que el volumen inicial de LCE era mayor en el grupo de mayores de 40 años, en comparación con el grupo de los menores de esta edad (435.8 ml vs 448.9 ml respectivamente), lo que concuerda con la evidencia biológica de que el volumen de LCE aumenta normalmente en forma fisiológica al avanzar la edad. Sobre el hallazgo del aumento mensual del LCE en ambos grupos etarios, este estudio encontró que el volumen aumenta más en los mayores de 40 años en comparación con los menores a esta edad (1.42 ml vs 1.28 ml mensual respectivamente), lo que se corresponde con un aumento en la fracción anual de LCE de un 3.79% para los mayores versus un 3.51% en los menores. Este hecho podría estar en relación a que la tasa de atrofia producida por la EM probablemente se mantenga ente los distintos grupos etarios, solo que en edades

más avanzadas este fenómeno se acompaña de una mayor tasa de atrofia normal en los individuos mayores. Los hallazgos de este estudio sobre la atrofia del LCE (aumento del volumen de este compartimento) y de esta atrofia en relación al sexo y a la edad tiene sustento biológico y clínico; y se correlaciona con la literatura consultada.

### 3. Limitaciones

Este trabajo cuenta con limitaciones derivadas de la metodología de investigación, así como de las herramientas utilizadas para la obtención de las imágenes y la segmentación de estas para obtener los resultados. Se presentaron limitaciones relativamente importantes atribuibles al software SPM y su herramienta VBM, que, si bien permite obtener volúmenes con una determinada exactitud e incluso relacionar aspectos estadísticos en estas mediciones, también puede cometer errores sistemáticos en los distintos niveles del proceso, como se analiza a continuación, y que deben ser discutidos.

Las imágenes estructurales analizadas mediante VBM deben ser adquiridas en el mismo resonador con idénticos parámetros de adquisición, lo que efectivamente ocurrió en la muestra utilizada en este estudio. Esto es porque cualquier error o efecto significativo en la obtención de los volúmenes, puede atribuirse a las diferencias que existen entre los distintos equipos y las distintas secuencias, como calibraciones distintas por ausencia de controles de calidad. Además, el hecho de tener exámenes realizados en diferentes equipos, puede resultar en la obtención de imágenes con tamaños distintos, lo cual podría inducir además a un error en la normalización espacial, lo que deriva en una interpretación errada de los resultados (12)

Otra limitación atribuible al procedimiento que realiza la técnica VBM, se relaciona con la normalización espacial de las imágenes, pues como adapta todos los cerebros a un patrón estándar, aquellos cerebros atípicos, con formas irregulares o más asimétricos de lo común; pueden distorsionarse a raíz de esta adaptación, lo cual derivaría en una segmentación probablemente incorrecta y por consiguiente en una volumetría

incongruente, que arrojaría diferencias en los volúmenes obtenidos de los compartimentos encefálicos, que no reflejarían cambios reales en las cantidades de SG o SB, produciendo así una serie de errores sistemáticos (12). Esta situación se presentó durante el procesamiento de las imágenes de los pacientes de este trabajo, por lo que cuatro individuos debieron ser excluidos del estudio debido a una segmentación incorrecta, producida probablemente por errores en la normalización, y que derivarían finalmente en resultados volumétricos inconsistentes. Esta situación incide en la disminución del número de pacientes que constituyeron la muestra final de este estudio.

La segmentación también estaría condicionada a algunos aspectos de la adquisición de la imagen debido a que la mayoría de los programas que realizan volumetría son muy sensibles a artefactos como la inhomogeneidad de las radiofrecuencias (B1), inhomogeneidad del campo magnético principal (B0) y el doblamiento de las imágenes o aliasing (12). En respuesta a lo anterior, aquellas imágenes en las cuales se evidencian estos artefactos no deberían ser incluidas en el análisis, pues sus resultados no serían confiables. En este trabajo se tuvieron que desechar las imágenes de tres pacientes debido a la presencia de artefactos, lo que deriva en un número menor de componentes de la muestra que lo planificado al inicio del estudio.

Los problemas anteriormente mencionados son limitaciones básicas de la técnica VBM que influyeron en la ejecución del estudio y que eventualmente pudieron inducir a errores sistemáticos en los resultados obtenidos. Por estas y otras razones, en la actualidad la técnica VBM está cuestionada como una técnica apropiada para la segmentación de imágenes. Los últimos estudios relacionados con la medición de volumetría cerebral para cuantificar atrofia global y/o regional utilizan los softwares SIENA/X, FSL, ITK-SNAP y Freesurfer para estos fines, ya que no tienen las limitaciones de la técnica VBM, explicadas en parte en esta discusión.



Existen otras limitaciones con respecto a esta técnica volumétrica, sin embargo, éstas no tienen relación con el estudio propuesto, ya que son parte de la aplicación del análisis estadístico ejecutado en el proceso de VBM completo. El paquete SPM incluye comandos que se utilizan para realizar pruebas estadísticas, que en el caso de VBM permiten determinar localizaciones encefálicas, en las que se objetiva la presencia de la atrofia de SG, lo que se denomina atrofia regional encefálica. Esta opción no fue utilizada en el presente estudio.

Una limitación importante de este estudio que no depende de aspectos relacionados con el software, se relaciona con las características de la muestra. La investigación al estar basada en datos secundarios provenientes de imágenes y volúmenes obtenidos en otro estudio, no tuvo acceso a información importante de los individuos como lo es el fenotipo de EM, que resulta ser un factor influyente en la tasa de atrofia, especialmente en la atrofia de la SG. De este modo, los individuos que poseen el subtipo EMSP, tendrán una atrofia cerebral por año mayor a la de un paciente cuyo fenotipo sea de EMRR (24). Por este motivo no se pudo realizar un estudio más detallado que permitiera estimar la tasa de atrofia asociada a un fenotipo específico. Además, el desconocimiento de la cantidad de pacientes que se encuentran en tratamiento, induce a alteraciones en la estimación de un patrón de atrofia, pues la presencia de una mayor o menor velocidad en la disminución de volumen cerebral, depende de la efectividad de las terapias implementadas en cada paciente, pudiendo presentarse una mínima manifestación de este fenómeno, como una disminución en la tasa de atrofia en pacientes cuyo tratamiento es más efectivo que en otros, o una mucho menor tasa de atrofia en comparación con pacientes sin tratamiento.

Otra limitación deriva del hecho de que no se tuvo acceso a la objetivación de la presencia, y cuantificación del déficit neurológico ni del déficit cognitivo de los pacientes, lo que podría haberse correlacionado con la atrofia global encefálica o con la tasa de

disminución del volumen de SG, dando una descripción y carácter más clínico a este estudio

Todas las limitaciones relacionadas con la muestra derivan del hecho de que no se realizó un muestreo, si no que la muestra fue obtenida a demanda de lo disponible.

## Capítulo VIII: Conclusiones

La EM es la enfermedad desmielinizante del sistema nervioso central más común en los seres humanos. Si bien es cierto afecta a la sustancia blanca, la evidencia apunta fuertemente a que la atrofia cerebral es el marcador de la enfermedad que más se correlaciona con la discapacidad neurológica y el deterioro cognitivo. En la actualidad se investigan los mecanismos que inciden en la aparición y progresión de esta atrofia, la que para ser objetivada, caracterizada y cuantificada, ha derivado en el uso de prácticamente todos los procedimientos y medidas disponibles en los diversos métodos imagenológicos existentes. La metodología de imágenes y estadística utilizada en este estudio, resultó ser adecuada y pertinente para poder evaluar la atrofia cerebral en los pacientes afectados por EM.

En este estudio se ha evidenciado que los volúmenes encefálicos de SG, SB y LCE varían en los pacientes afectados por esta enfermedad, y que están afectados por la EM, por lo que se pudo comprobar la hipótesis enunciada, aceptando el hecho de que los volúmenes de SG y SB disminuyen en conjunto, con un aumento compensatorio del LCE, determinando así la existencia de atrofia cerebral asociada a esta enfermedad.

El volumen de SG disminuye significativamente en todos los pacientes y en todos los controles durante el periodo de seguimiento. Según el sexo de éstos, la SG disminuye más marcadamente en las mujeres, y según la edad disminuye más marcadamente en los pacientes más jóvenes (menores de 40 años de edad). Todos estos hallazgos se correlacionan con lo descrito en la literatura que ha abordado este tema.

La variación del volumen de SB fue más difícil de caracterizar, dado que incluso en la literatura existen reportes contradictorios en relación a su comportamiento durante el curso de la enfermedad. En el modelo general, el volumen de SB en este estudio disminuyó durante el seguimiento en los controles realizados. Según el sexo, se encontró que el volumen de SB disminuyó más en las mujeres que en los hombres, mientras que

según la edad se encontró que el volumen de SB disminuyó más en el grupo etario de mayor edad, y adicionalmente, este mismo grupo etario tuvo un volumen inicial de SB mayor que el grupo más joven, lo que se correlacionó con la evidencia que indica que el volumen de este compartimiento puede mantenerse constante o incluso aumentar durante el proceso normal de envejecimiento, y que la inflamación y otras alteraciones asociadas a la EM en la SB pueden enmascarar la atrofia en este compartimento.

El volumen de LCE, cuyo aumento es el marcador de la atrofia global encefálica, aumentó significativamente en el modelo general, mientras que en relación al sexo se observó un aumento significativamente mayor en las mujeres. En relación a la edad se encontró que el volumen de LCE aumenta con una mayor tasa mensual en el grupo etario de mayor edad.

A la luz de la evidencia disponible en la literatura y en este trabajo, se puede concluir que existe un patrón de atrofia encefálica asociado a la presencia de EM en los pacientes afectados por esta enfermedad, y que esta atrofia afecta más a las mujeres que a los hombres, mientras que en relación a la edad, el patrón cambia dependiendo del compartimento que se analice. Los resultados de este estudio se pueden correlacionar con los reportados por los autores consultados en la bibliografía. El patrón de la atrofia en todos los compartimientos es de tipo lineal.

Se cumplieron los objetivos, general y específicos planteados en esta tesis, con la metodología de análisis propuesta. El análisis de los volúmenes de SG, SB y LCE realizado mediante un modelo mixto multinivel fue adecuado para la naturaleza de los datos, y novedoso, dado que no se encontró en ningún reporte que este método de análisis de la atrofia cerebral fuera utilizado por otros autores. La idea de utilizar este método surgió de la analogía que el autor hizo con los modelos de crecimiento en niños. Como alcance futuro, esta misma metodología de análisis basada en modelos mixtos multinivel, pudiera aplicarse en otras patologías del sistema nervioso central que se

asocian con atrofia encefálica, como la enfermedad de Alzheimer, las afasias primarias progresivas y otros trastornos del espectro neurodegenerativo. La adquisición de imágenes mediante resonancia magnética que posteriormente son postprocesadas para la obtención de los volúmenes de los compartimentos encefálicos, debieran segmentarse con softwares con una validación actual mayor que VBM, como lo son SIENA/X, FSL, ITK-SNAP y Freesurfer.

Finalmente, la cuantificación de la atrofia relacionada con EM debiera estudiarse en Chile, mediante estudios diseñados que incluyan la volumetría asociada a la carga lesional en SG y SB, a escalas de evaluación de discapacidad neurológica, a escalas de evaluación de la función cognitiva, a la evaluación del fenotipo de la enfermedad, a la consideración de la variable existencia y tipo de tratamiento, a la asociación con el uso de algún biomarcador que pueda cuantificar el estado inflamatorio de la SB, a la latitud de residencia de los pacientes. Adicionalmente estos estudios debieran llevarse a cabo durante un periodo de seguimiento mayor, con el fin de conocer con el máximo detalle posible el estado de la evolución natural de la enfermedad, y probablemente, servir como insumo para la generación de un modelo predictivo adecuado a nuestra realidad, de una enfermedad cada vez más prevalente en nuestro país.

## Capítulo IX: Bibliografía

1. Alemany-Rodríguez M, Aladro Y, Amela-Peris R, Pérez-Viétez M, Déniz-Naranjo M, Sánchez-García F. Enfermedades autoinmunes y esclerosis múltiple. *Revista de Neurología*. 2005;(40): p. 587-594.
2. Williams R, Rugby AS, Airey M. Multiple Esclerosis: its epidemiological, genetic and health care impact. *J Epidemiology and Community Health*. 1995;(49): p. 563-69.
3. Correale J, Ysrraelit C. Compromiso neuronal en esclerosis múltiple. *Medicina*. 2006;(66): p. 472-485.
4. Aracena R, Bungler S, Cuevas G, Medina V. *Guía Clínica Esclerosis Múltiple 2010*. Santiago: MINSAL; 2010.
5. Barkhof F, Kalkers NF, Vrenken H, Uitdehaag B, Polman CH. Brain atrophy in multiple sclerosis: impact of lesions and of damage of whole brain tissue. *Multiple Sclerosis*. 2002;(8): p. 410-414.
6. Chard D, Griffin C, Parker G, Kapoor R, Thompson A. Brain atrophy in clinically early relapsing-remitting multiple sclerosis. *Brain*. 2002;(125): p. 327-337.
7. Kido MD. D, Tong MD. K, Giang MD. D. How different MR imaging criteria relate to the diagnosis of multiple sclerosis and its outcome. *NeuroimagClin N Am*. 2003;(13): p. 265– 272.
8. Anderson VM. Magnetic resonance imaging measures of brain atrophy in multiple sclerosis. *J. Magn. Reson*. 2006;(23): p. 605–618.
9. Hartley G, Kennedy P, Provance P. “Brain Atrophy and Disability in Multiple Sclerosis, A roundtable Discussion. In *Multiple Sclerosis Counseling Points*; 2009. p. 5-6.
10. Jasperse B. Brain volume may predict rate of brain atrophy in MS. *ArchNeurology*. 2007;(64): p. 190-194.
11. Bermel RA, Bakshi R. The measurement and clinical relevance of brain atrophy in multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 2006;(5(2)): p. 158-70.
12. Ceccarelli A, Rocca MA, Pagani E, Colombo B, Martinelli V. A voxel-based morphometry study of grey matter loss in MS patients with different clinical phenotypes. *NeuroImage*. 2008;(42): p. 315–322.
13. Cotrell DA, Kremenchutzky M, Rice GPA. The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study: the clinical features and natural history of primary progressive múltiple sclerosis. *Brain*. 1999;(122): p. 625-39.

14. Ebers GC, Koopman WJ, Hader W. The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study: Familial multiple sclerosis. *Brain*. 2000;(123): p. 641-9.
15. Fernández C. R. Esclerosis Múltiple en la Región de Magallanes-Chile, Extremo Austral del Continente. In Nogales DJ. *Esclerosis Múltiple*. Santiago: XXX; 2008. p. 20-48.
16. Álvarez G, Castillo J, Ruiz F. Multiple Sclerosis in Chile. *Acta Neurol Scand*. 1992;(85): p. 1-4.
17. Ebers GC. Environmental factors and multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 2008;(7): p. 268-77.
18. Bedregal P. Estudio de Carga de Enfermedad para Chile. Santiago: P.U. Católica y Departamento de Epidemiología; 2007.
19. Sastre-Garriga J, Arévalo M, Renom M, Alonso J, Rovira A. Brain volumetry counterparts impairment in patients with multiple sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences*. 2009;(282): p. 120-124.
20. Bendelft K, Kuster P, Traud S, Egger H, Winklhofer S. Association of regional gray matter volume loss and progression of white matter lesions in multiple sclerosis - A longitudinal voxel based morphometry study. *Neuroimage*. 2009;(45): p. 60-67.
21. Jasperse B. MRI Derived Brain Atrophy Measures in Multiple Sclerosis. Amsterdam, The Netherlands: VU University, Medical Center; 2008.
22. Kalkers N, Ameziane N, Bot J, Minneboo A, Barkhof F. Longitudinal Brain Volume Measurement in Multiple Sclerosis: rate of brain atrophy is independent of the disease subtype. *Archives of Neurology*. 2002;(59): p. 1572-1576.
23. Miller D, Barkhof F, Frank J, Parker G. "Measurement of atrophy in multiple sclerosis: pathological basis, methodological aspects and clinical relevance. *Brain*. 2002;(125): p. 1676-1695.
24. Ge Y, Grossman R, Udupa J, Wei L, Mannon L. Brain atrophy in relapsing-remitting multiple sclerosis and secondary progressive multiple sclerosis: longitudinal quantitative analysis. *Radiology*. 2000;(214): p. 665-670.
25. Chard DT, Griffin CM, Rashid W, Davies GR. "Progressive grey matter atrophy in clinically early relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult.Scler*. 2004;(10): p. 387-391.
26. Tao G, He R, Nelson F, Wolinsky J, Narayana P. Deep gray matter atrophy in multiple sclerosis: a tensor based morphometry. *J. NeurolSci*. 2009; July 15(282): p. 39-46.
27. Rabe-Hesketh S, Skrondal A, Pickles A. Generalized multilevel structural equation modeling. *Psychometrika*. June 2004; 69(2): p. 167-190.

28. Rabe-Hesketh S, Skrondal A. Multilevel and Longitudinal Modeling Using Stata. In.: Stata Press, College Station.
29. Twisk J. Applied Longitudinal Data Analysis: A Practical Guide. In.: Cambridge University Press; 2012.
30. Zhang H. Analysis of Infant Growth Curves Using Multivariate Adaptive Splines. *Biometrics*. 1999; Vol. 55(2 (Jun)): p. 452-459.
31. Corona T, Román CG. Multiple Esclerosis in Latin America. *Neuroepidemiology*. 2006; 26: p. 1-3.
32. Losseff N, Wang L, Lai H. Progressive cerebral atrophy in multiple sclerosis: a serial MRI study. *Brain*. 1996;(119): p. 2009-2019.
33. Quarantelli C, Brescia M, Orefice G, Larobina M. Brain tissue volume changes in relapsing-remitting multiple sclerosis: correlation with lesion load. *NeuroImage*. 2003;(18): p. 360-366.
34. Harbo H, Gold R, Tintoré M. Sex and gender issues in multiple sclerosis. *Ther Adv Neurol Disord*. 2013;6(4): p. 237-248
35. Del Pino M, Nieto A, Barroso J. Atrofia cerebral en la esclerosis múltiple. *Rev Española de Esclerosis Múltiple*. 2010;(15): p. 13-33 58.
36. Vukusic S, Confavreux C. Natural history of multiple sclerosis: risk factors and prognostic indicators. *Curr Opin Neurol*. Junio, 2007;20(3):269-74. Review.
37. Ge Y, Grossman R, Babb J, Rabin M, Mannon L. Age-Related total Gray Matter and White Matter changes in normal Adult Brain. Part I: Volumetric MR Imaging Analysis. *Am J Neuroradiol*. 2002;(23): p. 1327-1333.



## 5. Anexos

### Anexo 1: Glosario de términos

1. **Espectroscopia por RM (MRS):** Técnica de la RM que no obtiene imágenes, sino que, utilizando el desplazamiento químico de los protones, permite obtener información de la presencia y concentración de metabolitos presentes en una muestra, los que disminuyen o aumentan en condiciones patológicas.
2. **Fracción de anisotropía (FA):** Parámetro derivado de las imágenes potenciadas en difusión que permiten detectar zonas en la que se ha perdido la integridad de las fibras mielinizadas, lo que se correlaciona con interrupción de haces de fibras blancas en el encéfalo, médula y nervios periféricos.
3. **Imágenes potenciadas en difusión (DWI):** Técnica de RM que permite detectar zonas de restricción a la difusión libre de las moléculas de agua, las que se correlacionan con isquemia, ruptura de la barrera hematoencefálica, inflamación, hiper celularidad, etc.
4. **Lesión desmielinizante:** Lesión inflamatoria que afecta a la sustancia blanca encefálica y de la médula espinal que tiene como consecuencia final la pérdida de la sustancia blanca de los axones y su destrucción posterior, la que se manifiesta en una biopsia como degeneración axonal y gliosis.
5. **Métodos morfométricos:** Métodos computacionales que permiten extraer información de la señal de los tejidos encefálicos, su volumen y distribución, a partir de imágenes de RM potenciadas principalmente en T1
6. **Potenciación T1:** Imagen que permite expresar la diferencias en los tiempos de relajación longitudinal T1, entre los tejidos que la componen.
7. **Potenciación T2:** Imagen que permite expresar la diferencias en los tiempos de relajación transversal T2, entre los tejidos que la componen.
1. **Región de interés (ROI):** Cursor en forma redonda que se ubica sobre una estructura anatómica de interés, que permite obtener información de intensidad de

señal, posición en el plano, e información de otros parámetros de imagen que pueden ser de interés.

2. **Resonancia Magnética:** Abreviada como RM. Es una técnica imagenológica que utiliza campos magnéticos y pulsos de radiofrecuencia para generar imágenes a partir de los protones (átomos de hidrógeno) presentes en una muestra o en un paciente.
3. **Tamaño ventricular:** Volumen de los ventrículos laterales en el cerebro y de los espacios que contienen al líquido cerebroespinal, que incluye las cisternas subaracnoideas y los surcos corticales
4. **Transferencia de Magnetización (MTC):** Técnica de RM que, mediante la excitación selectiva del agua ligada a macromoléculas a través de radiofrecuencias, permite obtener información del nivel de desestructuración de los tejidos. A mayor desestructuración, mayor el daño del tejido.
5. **Volumen lesional T2:** Volumen constituido por el total de lesiones desmielinizantes que se obtiene segmentado las lesiones observadas en secuencias de RM potenciadas en T2 (T2 Turbo Spin Echo, FLAIR y Doble Inversión Recuperación)
6. **Vóxel:** Unidad cúbica que compone un objeto tridimensional. Es equivalente a los cuadros que componen una imagen en dos dimensiones, pero el voxel hace referencia al mismo concepto en tres dimensiones.

## Anexo 2: Salidas

### ANÁLISIS EXPLORATORIO Y DESCRIPTIVO

#### Salida 1. Distribución de la población por sexo

```
. tab sexo if control==0
```

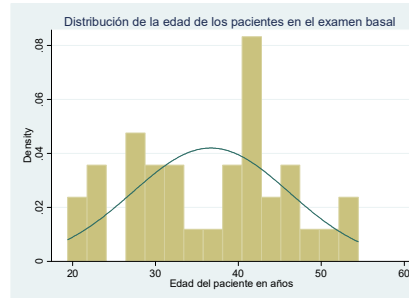
Sexo del paciente	Freq.	Percent	Cum.
0	9	25.00	25.00
1	27	75.00	100.00
Total	36	100.00	



#### Salida 2. Distribución de la población por edad

```
. sum edad if control==0,d
```

Edad del paciente en años					
Percentiles	Smallest				
1%	19.41	19.41			
5%	21.23	21.23			
10%	22.79	22.4	Obs	36	
25%	28.675	22.79	Sum of Wgt.	36	
50%	38.43		Mean	36.67306	
			Std. Dev.	9.501392	
75%	43.465	49.04	Largest		
90%	49.04	50.55	Variance	90.27646	
95%	53.1	53.1	Skewness	-.0499726	
99%	54.46	54.46	Kurtosis	2.002432	

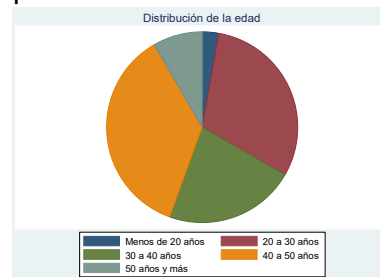


```
. swilk edad if control==0
```

Shapiro-Wilk W test for normal data					
Variable	Obs	N	V	z	Prob>z
edad	36	0.96511	1.272	0.503	0.30732

#### Salida 3. Distribución de la población por grupo etario

RECODE of edad (Edad del paciente en años)	Freq.	Percent	Cum.
Menos de 20 años	1	2.78	2.78
20 a 30 años	11	30.56	33.33
30 a 40 años	8	22.22	55.56
40 a 50 años	13	36.11	91.67
50 años y más	3	8.33	100.00
Total	36	100.00	



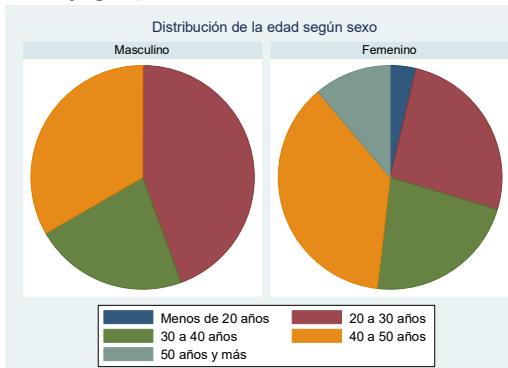
## Salida 4. Distribución de la edad según sexo y grupo etario

```
. tab edad_agrup if control=0 & sexo=0
```

RECODE of edad (Edad del paciente en años)	Freq.	Percent	Cum.
20 a 30 años	4	44.44	44.44
30 a 40 años	2	22.22	66.67
40 a 50 años	3	33.33	100.00
Total	9	100.00	

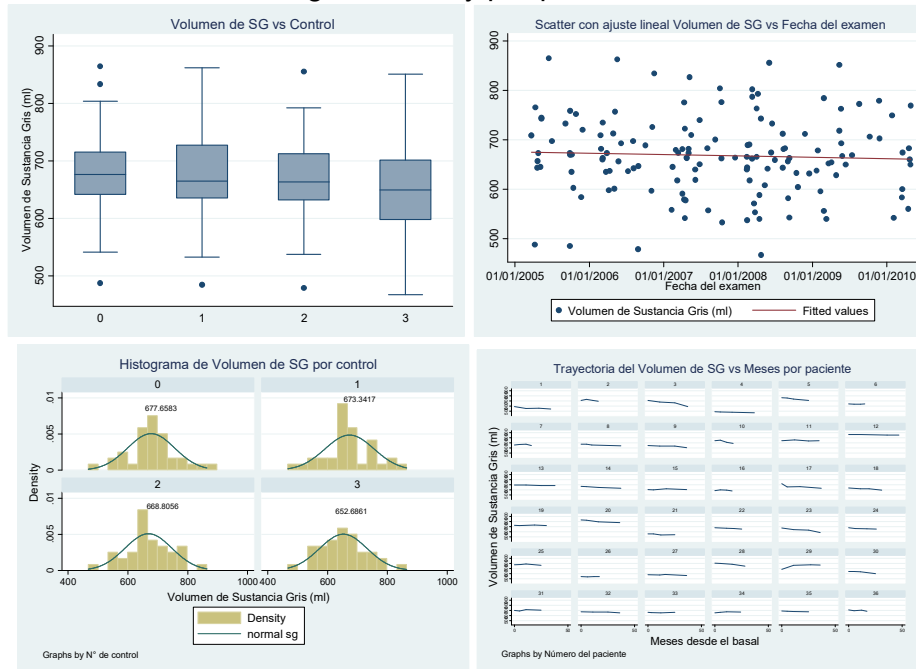
```
. tab edad_agrup if control=0 & sexo=1
```

RECODE of edad (Edad del paciente en años)	Freq.	Percent	Cum.
Menos de 20 años	1	3.70	3.70
20 a 30 años	7	25.93	29.63
30 a 40 años	6	22.22	51.85
40 a 50 años	10	37.04	88.89
50 años y más	3	11.11	100.00
Total	27	100.00	



## ANÁLISIS DEL VOLUMEN ENCEFÁLICO

### Salida 5. Volumen de SG según control y por paciente



```
. swilk sg if control=0
```

Shapiro-Wilk W test for normal data

Variable	Obs	W	V	z	Prob>=z
sg	36	0.98324	0.611	-1.030	0.84843

```
. swilk sg if control=1
```

Shapiro-Wilk W test for normal data

Variable	Obs	W	V	z	Prob>=z
sg	36	0.98117	0.687	-0.786	0.78401

```
. swilk sg if control=2
```

Shapiro-Wilk W test for normal data

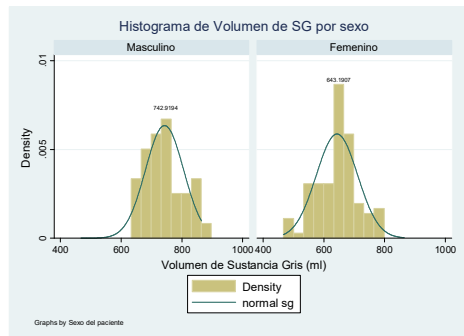
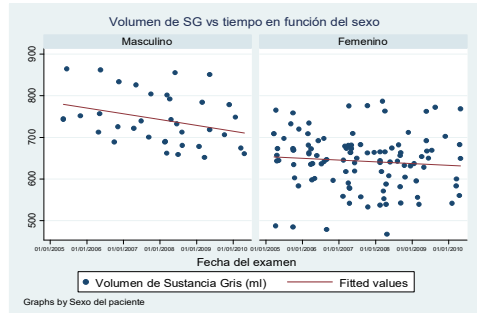
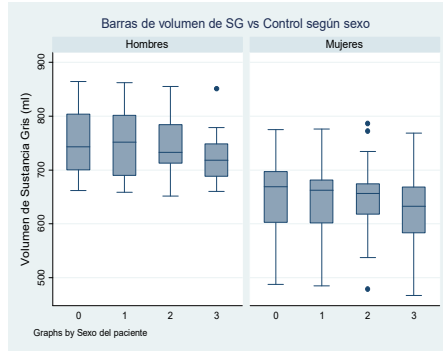
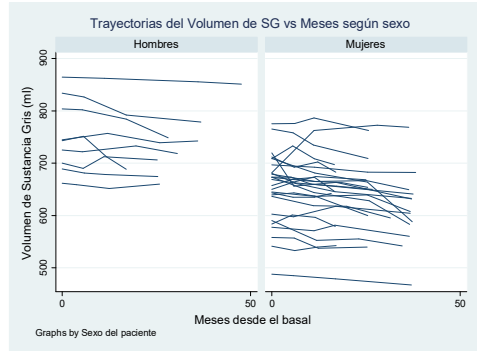
Variable	Obs	W	V	z	Prob>=z
sg	36	0.98290	0.624	-0.988	0.83837

```
. swilk sg if control=3
```

Shapiro-Wilk W test for normal data

Variable	Obs	W	V	z	Prob>=z
sg	36	0.99180	0.299	-2.526	0.99423

## Salida 7. Modelo de la variación del volumen de SG en el tiempo según sexo



```
. by sexo1,sort:swilk sg
-----
-> sexo1 = Masculino

Shapiro-Wilk W test for normal data
Variable | Obs   W       V       z       Prob>=z
-----|-----
sg       |  36  0.93900  2.224   1.672   0.04728

-> sexo1 = Femenino

Shapiro-Wilk W test for normal data
Variable | Obs   W       V       z       Prob>=z
-----|-----
sg       | 108  0.97699  2.027   1.573   0.05781
```

```
. sdtest sg,by(sexo1)

Variance ratio test
-----
Group | Obs   Mean   Std. Err.   Std. Dev.   [95% Conf. Interval]
-----|-----
Masculin |  36  742.9194  10.46916   62.81498   721.6659   764.173
Femenino | 108  643.1907  6.536503   67.92934   630.2329   656.1486
combined | 144  668.1229  6.61246   79.34952   655.0521   681.1937

ratio = sd(Masculin) / sd(Femenino)          f = 0.8551
Ho: ratio = 1                                degrees of freedom = 35, 107

Ha: ratio < 1                                Ha: ratio != 1                                Ha: ratio > 1
Pr(F < f) = 0.3043                          2*Pr(F < f) = 0.6087                          Pr(F > f) = 0.6957
```

```
. ttest sg, by(sexo1)

Two-sample t test with equal variances
-----
Group | Obs   Mean   Std. Err.   Std. Dev.   [95% Conf. Interval]
-----|-----
Masculin |  36  742.9194  10.46916   62.81498   721.6659   764.173
Femenino | 108  643.1907  6.536503   67.92934   630.2329   656.1486
combined | 144  668.1229  6.61246   79.34952   655.0521   681.1937

diff |          99.7287   12.83742          74.35155   125.1059

diff = mean(Masculin) - mean(Femenino)          t = 7.7686
Ho: diff = 0                                degrees of freedom = 142

Ha: diff < 0                                Ha: diff != 0                                Ha: diff > 0
Pr(T < t) = 1.0000                          Pr(|T| > |t|) = 0.0000                          Pr(T > t) = 0.0000
```

## Salida 8. Modelo de la variación del volumen de SG con la interacción tsexo

```
. xtmixed sg Meses sexo tsexo||pac:mle cov(uns) nolog
Note: single-variable random-effects specification; covariance structure set to identity

Mixed-effects ML regression      Number of obs   =   144
Group variable: pac              Number of groups =    36

                                Obs per group: min =    4
                                avg             =   4.0
                                max             =    4

                                Wald chi2(3)     =   60.02
                                Prob > chi2      =   0.0000

Log likelihood = -683.03911
```

sg	Coef.	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
Meses	-.6270713	.2319475	-2.70	0.007	-1.08168 - .1724626
sexo	-96.87011	25.07807	-3.86	0.000	-146.0222 -47.71799
tsexo	-.2281731	.2716726	-0.84	0.401	-.7606416 .3042953
_cons	751.2978	21.71389	34.60	0.000	708.7394 793.8563

Random-effects Parameters	Estimate	Std. Err.	[95% Conf. Interval]
pac: Identity			
sd(_cons)	63.93474	7.665675	50.54512 80.87134
sd(Residual)	16.65501	1.133362	14.57542 19.0313

LR test vs. linear regression: chibar2(01) = 247.04 Prob >= chibar2 = 0.0000

Intraclass Correlation Estimates

	ICC	Std. Err.	[95% Conf. Interval]
pac	0.93645	0.01427	0.90848 0.96442

```
. esttab modelotsexo
```

	(1)
sg	
Meses	-0.627** (-2.70)
sexo	-96.87*** (-3.86)
tsexo	-0.228 (-0.84)
_cons	751.3*** (34.60)
lns1_i_1	
_cons	4.158*** (34.68)
lnsig_e	
_cons	2.813*** (41.33)
N	144
t statistics in parentheses	
* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001	

## Modelo sin la interacción tsexo

```
. xtmixed sg Meses||pac: if sexo=0,mle cov(uns) nolog
Note: single-variable random-effects specification; covariance structure set to identity

Mixed-effects ML regression      Number of obs   =    36
Group variable: pac              Number of groups =    9

                                Obs per group: min =    4
                                avg             =   4.0
                                max             =    4

                                Wald chi2(1)     =   10.75
                                Prob > chi2      =   0.0010

Log likelihood = -165.55681
```

sg	Coef.	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
Meses	-.6338577	.1933515	-3.28	0.001	-1.01282 -.2548958
_cons	751.3885	20.99149	35.79	0.000	710.2459 792.531

Random-effects Parameters	Estimate	Std. Err.	[95% Conf. Interval]
pac: Identity			
sd(_cons)	62.10924	14.83891	38.88573 99.20241
sd(Residual)	13.87933	1.889432	10.62899 18.12362

LR test vs. linear regression: chibar2(01) = 67.33 Prob >= chibar2 = 0.0000

Intraclass Correlation Estimates

	ICC	Std. Err.	[95% Conf. Interval]
pac	0.95244	0.02165	0.91001 0.99486

```
. xtmixed sg Meses||pac: if sexo=1,mle cov(uns) nolog
Note: single-variable random-effects specification; covariance structure set to identity

Mixed-effects ML regression      Number of obs   =   108
Group variable: pac              Number of groups =    27

                                Obs per group: min =    4
                                avg             =   4.0
                                max             =    4

                                Wald chi2(1)     =   33.19
                                Prob > chi2      =   0.0000

Log likelihood = -516.47727
```

sg	Coef.	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
Meses	-.855224	.1484565	-5.76	0.000	-1.146193 -.5642547
_cons	654.4274	12.68492	51.59	0.000	629.5654 679.2894

Random-effects Parameters	Estimate	Std. Err.	[95% Conf. Interval]
pac: Identity			
sd(_cons)	64.53963	8.944322	49.18826 84.68208
sd(Residual)	17.48202	1.373517	14.98701 20.3924

LR test vs. linear regression: chibar2(01) = 181.31 Prob >= chibar2 = 0.0000

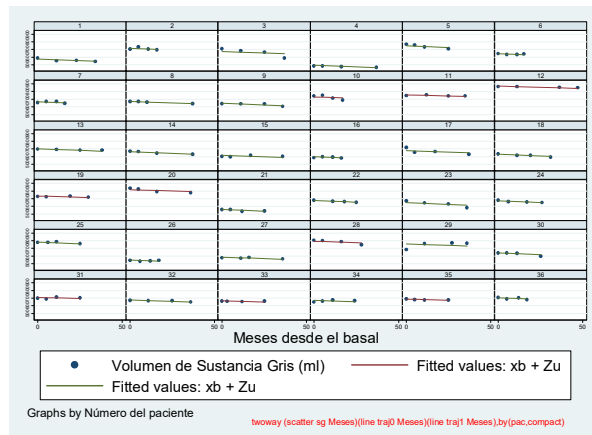
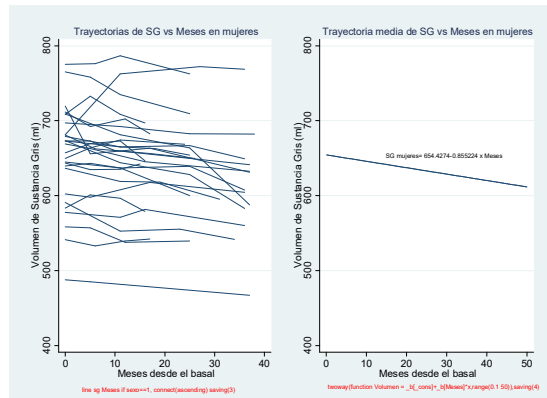
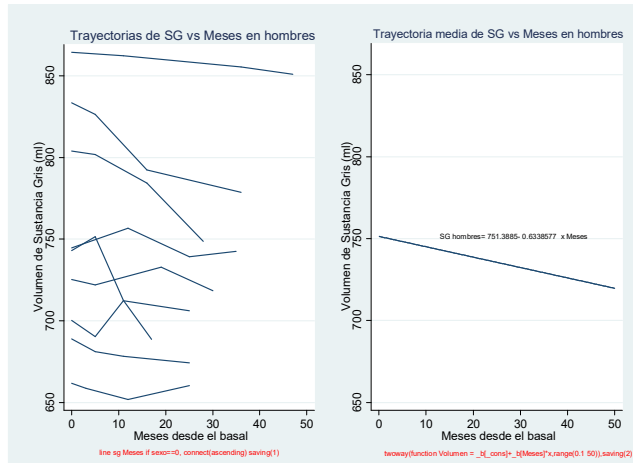
Intraclass Correlation Estimates

	ICC	Std. Err.	[95% Conf. Interval]
pac	0.93164	0.01765	0.89705 0.96624

. estab

	(1)	(2)
	sg	sg
sg		
Meses	-0.634** (-3.28)	-0.855*** (-5.76)
_cons	751.4*** (35.79)	654.4*** (51.59)
lnsl_1_1		
_cons	4.129*** (17.28)	4.167*** (30.07)
lnsig_e		
_cons	2.630*** (19.32)	2.861*** (36.42)
N	36	108

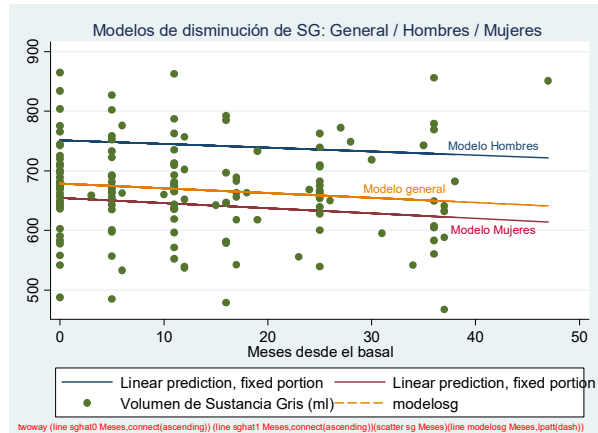
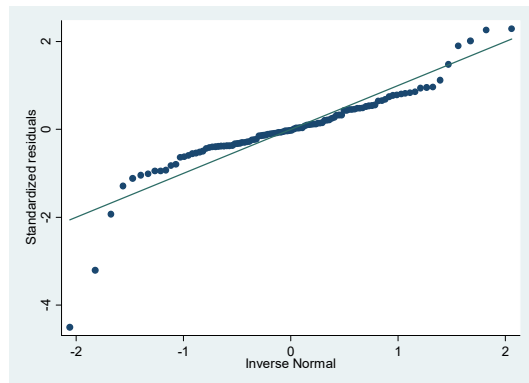
t statistics in parentheses  
\* p<0.05, \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001



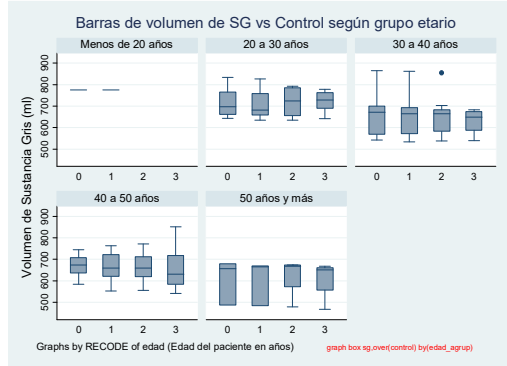
. swilk rs

Shapiro-Wilk W test for normal data

Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
rs	108	0.87053	11.401	5.421	0.00000



## Salida 9. Modelo de la variación del volumen de SG según la variable edad



```
. sum edad, d
```

Edad del paciente en años			
Percentiles	Smallest		
1%	19.91	19.41	
5%	22.4	19.91	
10%	24.18	20.33	Obs 144
25%	29.945	21.23	Sum of Wgt. 144
50%	39.715		Mean 37.78618
		Largest	Std. Dev. 9.47507
75%	44.845	55.42	
90%	49.52	55.99	Variance 89.77695
95%	53.1	56.15	Skewness -.0717811
99%	56.15	56.56	Kurtosis 2.0311

```
. by mayores40, sort: swilk sg
```

```
-> mayores40 = 0
```

Shapiro-Wilk W test for normal data

Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
sg	75	0.96526	2.262	1.782	0.03741

```
-> mayores40 = 1
```

Shapiro-Wilk W test for normal data

Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
sg	69	0.98080	1.168	0.337	0.36803

```
. sum edad if edad<39.99
```

Variable	Obs	Mean	Std. Dev.	Min	Max
edad	75	30.0996	5.550947	19.41	39.9

```
. sum edad if edad>40
```

Variable	Obs	Mean	Std. Dev.	Min	Max
edad	69	46.14116	4.3893	40.12	56.56

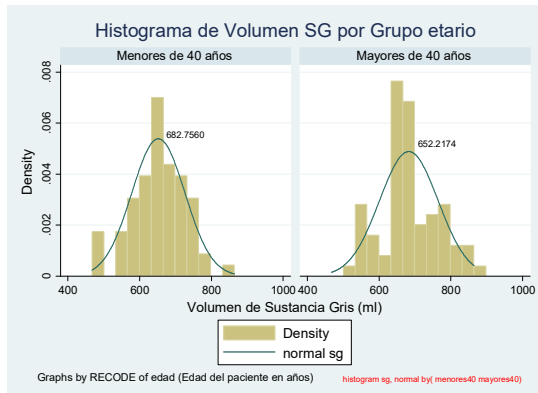
```
. by mayores40, sort: sum sg
```

```
-> mayores40 = 0
```

Variable	Obs	Mean	Std. Dev.	Min	Max
sg	75	682.756	81.68757	532.9	864.5

```
-> mayores40 = 1
```

Variable	Obs	Mean	Std. Dev.	Min	Max
sg	69	652.2174	74.06976	467.2	851



```
. sdtest sg, by(edad40)
```

Variance ratio test

Group	Obs	Mean	Std. Err.	Std. Dev.	[95% Conf. Interval]
0	75	682.756	9.432468	81.68757	663.9614 701.5506
1	69	652.2174	8.916951	74.06976	634.4239 670.0109
combined	144	668.1229	6.61246	79.34952	655.0521 681.1937

ratio = sd(0) / sd(1) F = 1.2163

Ho: ratio = 1 degrees of freedom = 74, 68

Ha: ratio < 1 Pr(F < f) = 0.7928

Ha: ratio != 1 2\*Pr(F > f) = 0.4144

Ha: ratio > 1 Pr(F > f) = 0.2072

```
. ttest sg, by(edad40)
```

Two-sample t test with equal variances

Group	Obs	Mean	Std. Err.	Std. Dev.	[95% Conf. Interval]
0	75	682.756	9.432468	81.68757	663.9614 701.5506
1	69	652.2174	8.916951	74.06976	634.4239 670.0109
combined	144	668.1229	6.61246	79.34952	655.0521 681.1937
diff		30.53861	13.03337		4.774088 56.30312

diff = mean(0) - mean(1) t = 2.3431

Ho: diff = 0 degrees of freedom = 142

Ha: diff < 0 Pr(T < t) = 0.9897

Ha: diff != 0 Pr(|T| > |t|) = 0.0205

Ha: diff > 0 Pr(T > t) = 0.0103



```
. xtmixed sg Meses||pac: if edad40==0,mle cov(uns) nolog
Note: single-variable random-effects specification; covariance structure set to identity
```

```
Mixed-effects ML regression      Number of obs   =    75
Group variable: pac              Number of groups =    20

                                 Obs per group: min =    1
                                 avg   =    3.8
                                 max   =    4
```

```
Log likelihood = -350.94696      Wald chi2(1)    =    55.98
                                 Prob > chi2          =    0.0000
```

sg	Coef.	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
Meses	-1.089425	.1456121	-7.48	0.000	-1.37482 - .8040308
_cons	696.1358	18.27236	38.10	0.000	660.3226 731.9489

Random-effects Parameters	Estimate	Std. Err.	[95% Conf. Interval]
pac: Identity			
sd(_cons)	81.01789	12.91308	59.28048 110.7261
sd(Residual)	13.62821	1.299249	11.30549 16.42814

LR test vs. linear regression:  $\chi^2_{(01)} = 169.84$  Prob >=  $\chi^2_{(01)} = 0.0000$

Intraclass Correlation Estimates

	ICC	Std. Err.	[95% Conf. Interval]
pac	0.97248	0.00853	0.95576 0.98920

```
. xtmixed sg Meses||pac: if edad40==1,mle cov(uns) nolog
Note: single-variable random-effects specification; covariance structure set to identity
```

```
Mixed-effects ML regression      Number of obs   =    69
Group variable: pac              Number of groups =    19

                                 Obs per group: min =    1
                                 avg   =    3.6
                                 max   =    4
```

```
Log likelihood = -340.97768      Wald chi2(1)    =    6.55
                                 Prob > chi2          =    0.0105
```

sg	Coef.	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
Meses	-.5242756	.2048963	-2.56	0.011	-.925865 - .1226862
_cons	664.8618	18.962	35.06	0.000	627.697 702.0267

Random-effects Parameters	Estimate	Std. Err.	[95% Conf. Interval]
pac: Identity			
sd(_cons)	80.60083	13.49397	58.0542 111.9039
sd(Residual)	19.24116	1.933445	15.8015 23.42956

LR test vs. linear regression:  $\chi^2_{(01)} = 106.94$  Prob >=  $\chi^2_{(01)} = 0.0000$

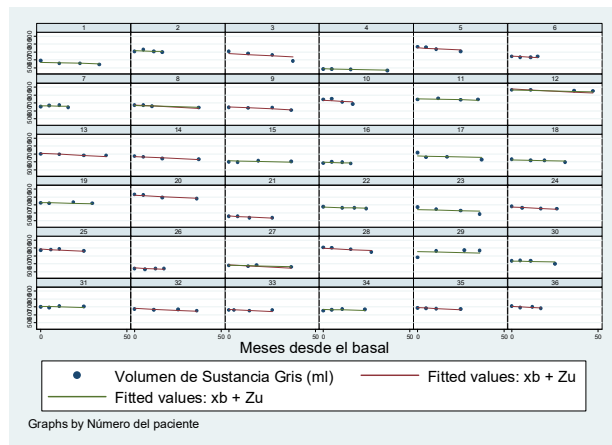
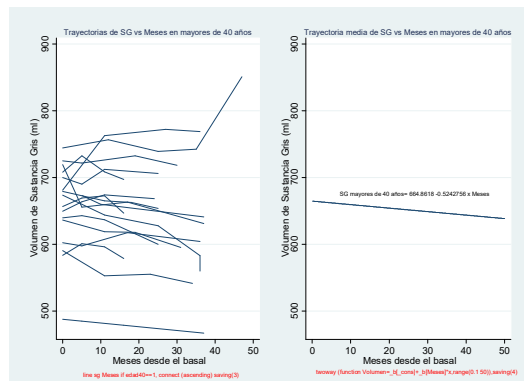
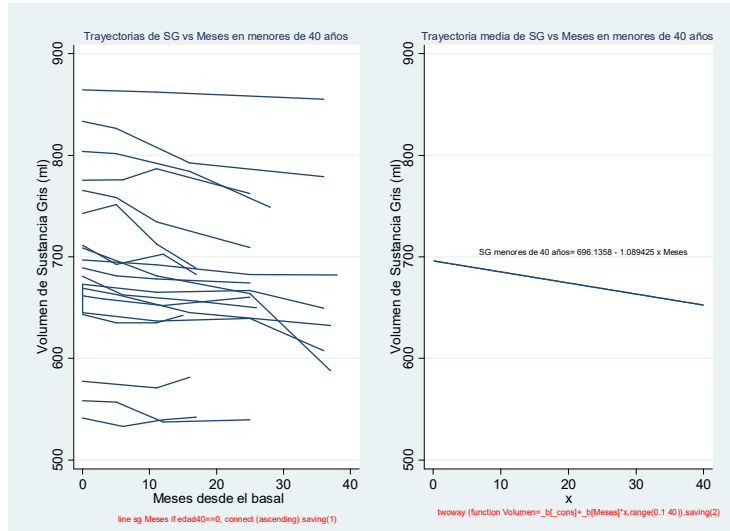
Intraclass Correlation Estimates

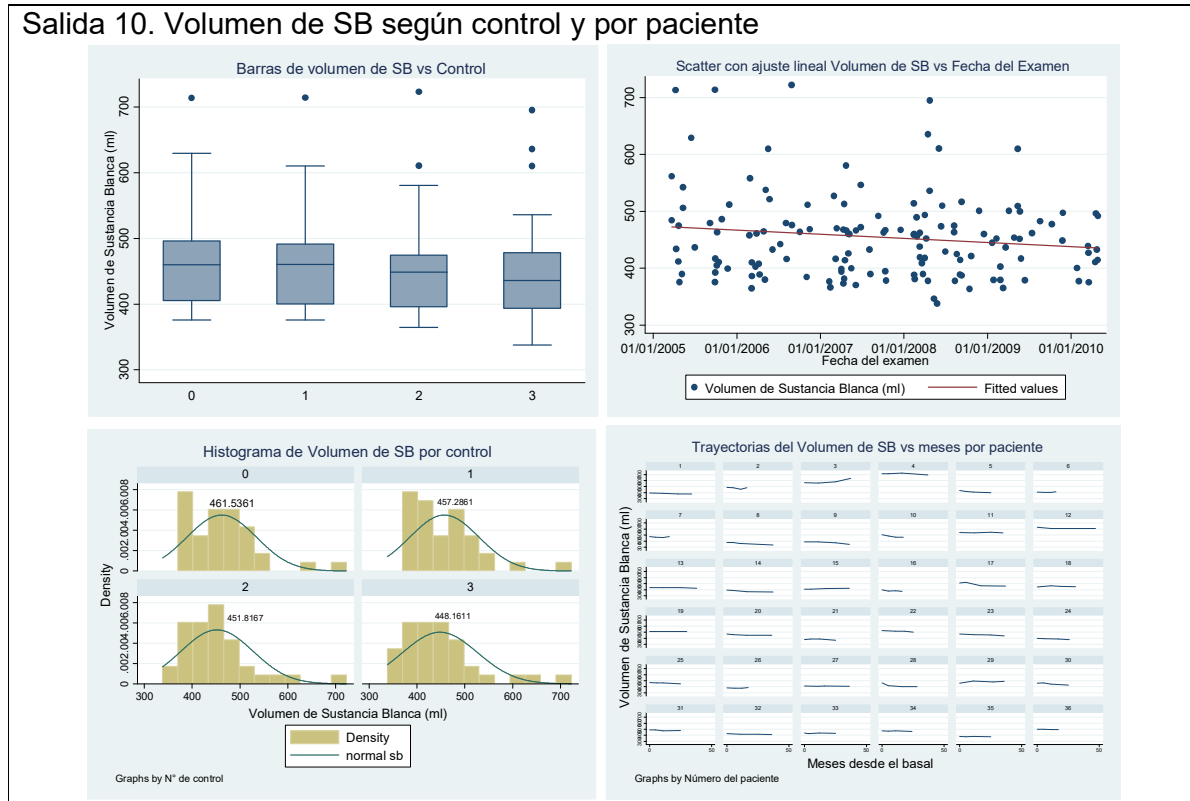
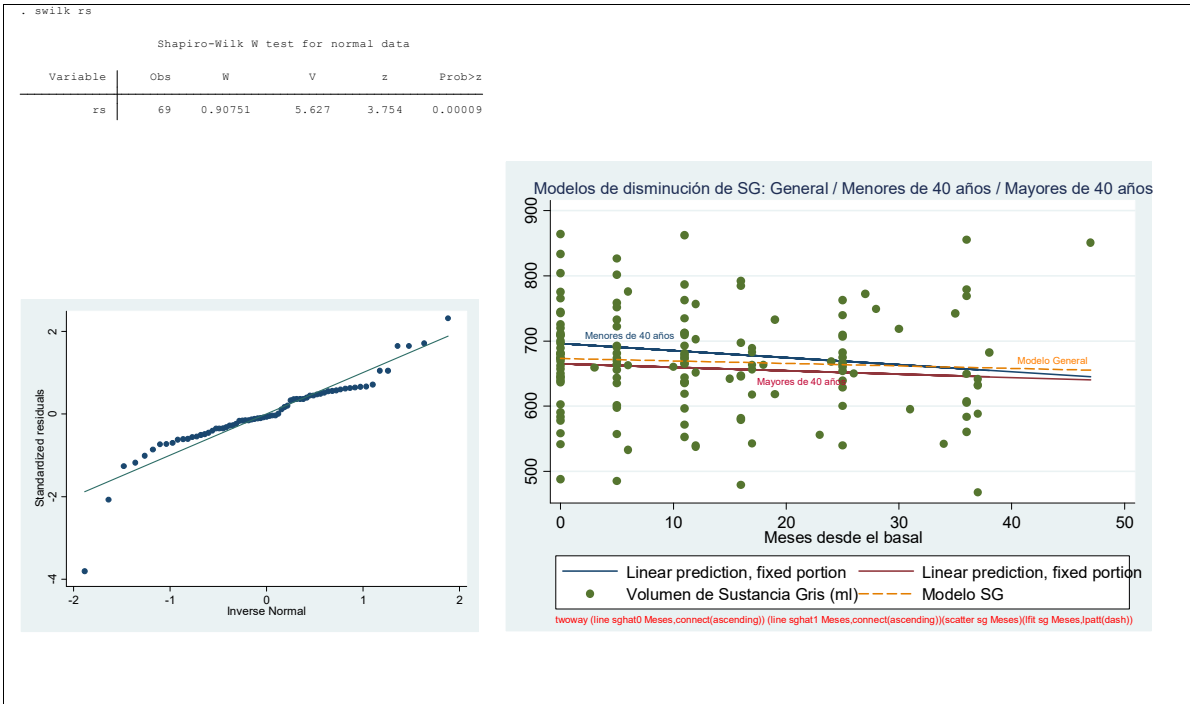
	ICC	Std. Err.	[95% Conf. Interval]
pac	0.94608	0.01708	0.91261 0.97956

```
. esttab
```

	(1)	(2)
	sg	sg
Meses	-1.089*** (-7.48)	-0.524* (-2.56)
_cons	696.1*** (38.10)	664.9*** (35.06)
lnsl_1_1		
_cons	4.395*** (27.57)	4.390*** (26.22)
lnsig_e		
_cons	2.612*** (27.40)	2.957*** (29.43)
N	75	69

t statistics in parentheses  
\* p<0.05, \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001





```

. swilk sb if control=0
      Shapiro-Wilk W test for normal data
+-----+-----+-----+-----+-----+
Variable | Obs  W      V      z      Prob>w
+-----+-----+-----+-----+-----+
sb       | 36  0.88316  4.260  3.031  0.00122
+-----+-----+-----+-----+-----+
. swilk sb if control=1
      Shapiro-Wilk W test for normal data
+-----+-----+-----+-----+-----+
Variable | Obs  W      V      z      Prob>w
+-----+-----+-----+-----+-----+
sb       | 36  0.87641  4.507  3.148  0.00092
+-----+-----+-----+-----+-----+
. swilk sb if control=2
      Shapiro-Wilk W test for normal data
+-----+-----+-----+-----+-----+
Variable | Obs  W      V      z      Prob>w
+-----+-----+-----+-----+-----+
sb       | 36  0.86417  4.953  3.346  0.00041
+-----+-----+-----+-----+-----+
. swilk sb if control=3
      Shapiro-Wilk W test for normal data
+-----+-----+-----+-----+-----+
Variable | Obs  W      V      z      Prob>w
+-----+-----+-----+-----+-----+
sb       | 36  0.89768  3.731  2.753  0.00295
+-----+-----+-----+-----+-----+

```

### Salida 11. Modelo general de la variación del volumen de SB en el tiempo

```

. esttab modelosb
-----+-----
(1)
sb
-----+-----
Meses      -0.425***
            (-4.69)
-----+-----
_cons      460.3***
            (37.47)
-----+-----
lnsl_l_1
_cons      4.292***
            (36.15)
-----+-----
lnsig_e
_cons      2.524***
            (37.09)
-----+-----
N          144

t statistics in parentheses
* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001

. xtmixed sb Meses||pac;nolog
Mixed-effects ML regression      Number of obs   =    144
Group variable: pac             Number of groups =     36

                                Obs per group: min   =     4
                                avg                   =    4.0
                                max                   =     4

                                Wald chi2(1)         =    22.02
                                Prob > chi2          =    0.0000

Log likelihood = -656.48126      Wald chi2(1)     =    22.02
                                Prob > chi2          =    0.0000

+-----+-----+-----+-----+-----+
| sb      | Coef.  Std. Err.  z    P>|z|  [95% Conf. Interval]
+-----+-----+-----+-----+-----+
| Meses   | -0.4247377  .0905114  -4.69  0.000  -.6021369  -.2473386
| _cons   | 460.3042  12.28331  37.47  0.000  436.2293  484.379
+-----+-----+-----+-----+-----+

Random-effects Parameters      Estimate  Std. Err.  [95% Conf. Interval]
+-----+-----+-----+-----+-----+
pac: Identity
| sd(_cons) | 73.08497  8.676739  57.91251  92.23246
+-----+-----+-----+-----+-----+
| sd(Residual) | 12.47607  .8489137  10.9184  14.25596
+-----+-----+-----+-----+-----+

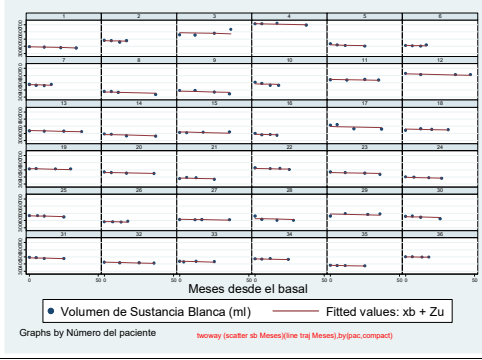
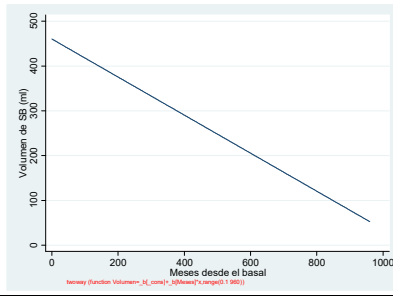
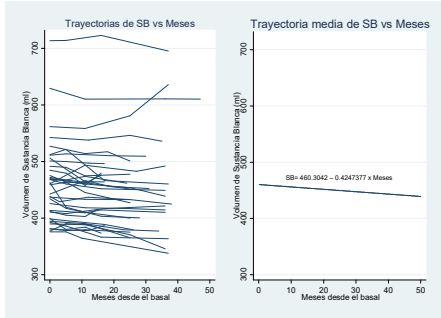
LR test vs. linear regression:  chibar2(01) = 334.30 Prob >= chibar2 = 0.0000

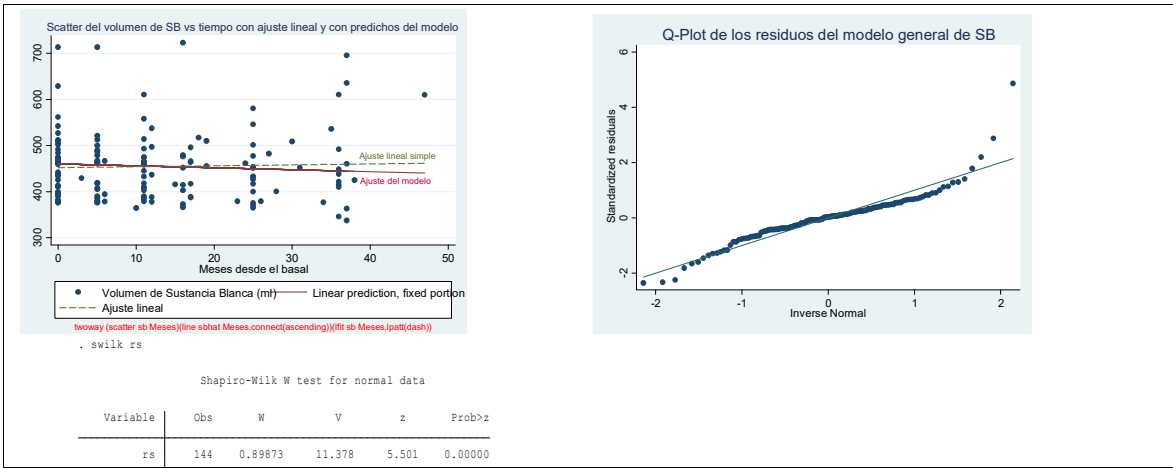
```

Variable	Estimate	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
sb					
Meses	-0.425***		-4.69		[-0.6021369, -0.2473386]
_cons	460.3***		37.47		[436.2293, 484.379]
lnsl_l_1					
_cons	4.292***		36.15		
lnsig_e					
_cons	2.524***		37.09		
N	144				

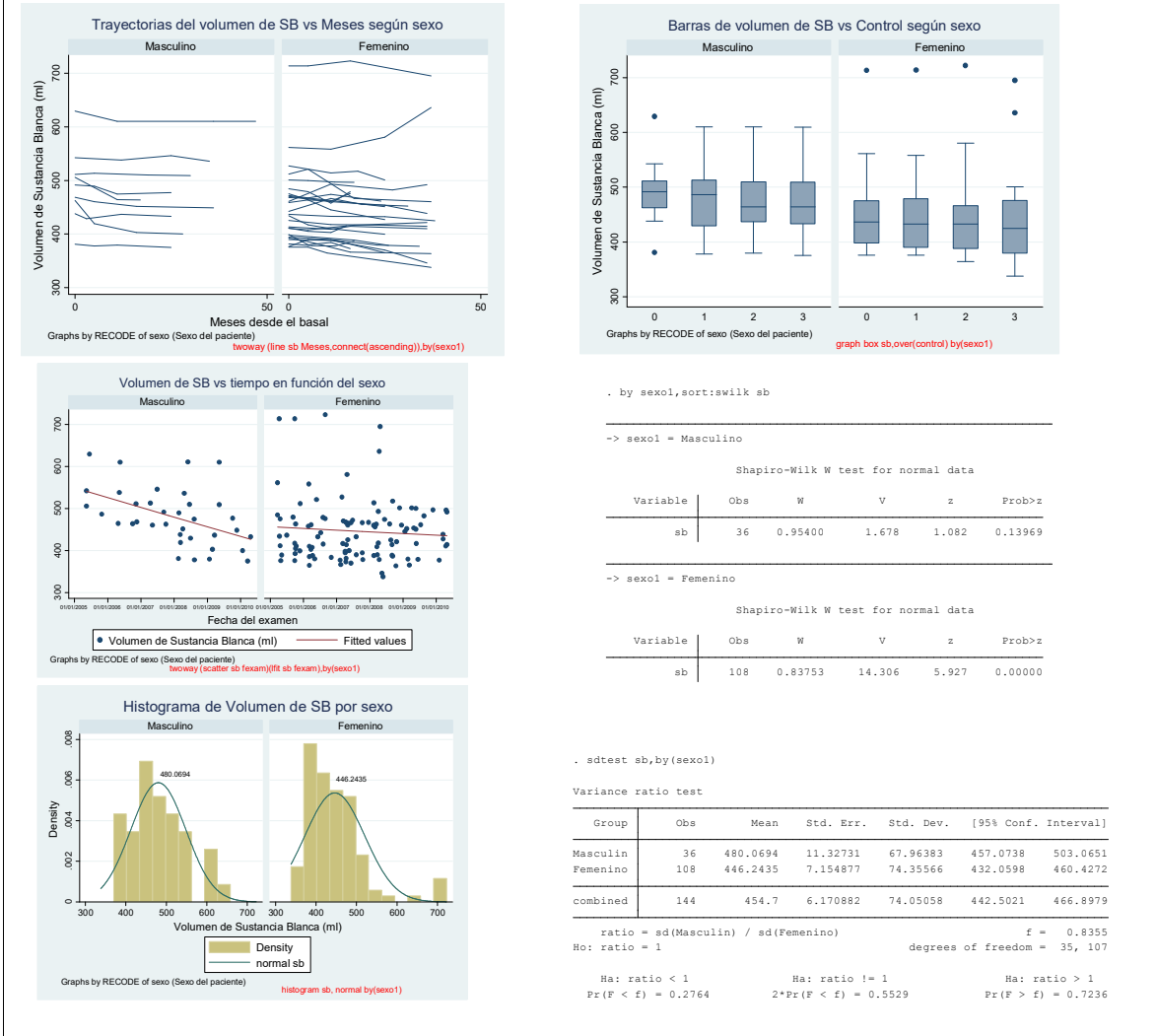
Intraclass Correlation Estimates

Variable	ICC	Std. Err.	[95% Conf. Interval]
pac	0.97168	0.00653	[0.95888, 0.98449]





## Salida 12. Modelo de la variación del volumen de SB en el tiempo según sexo



```
. ttest sb,by(sexo1)

Two-sample t test with equal variances
```

Group	Obs	Mean	Std. Err.	Std. Dev.	[95% Conf. Interval]
Masculin	36	480.0694	11.32731	67.96383	457.0738 503.0651
Femenino	108	446.2435	7.154877	74.35566	432.0598 460.4272
combined	144	454.7	6.170882	74.05058	442.5021 466.8979
diff		33.82593	14.01659		6.117785 61.53407

```

diff = mean(Masculin) - mean(Femenino)          t = 2.4133
Ho: diff = 0                                     degrees of freedom = 142

Ha: diff < 0           Ha: diff != 0           Ha: diff > 0
Pr(T < t) = 0.9915     Pr(|T| > |t|) = 0.0171     Pr(T > t) = 0.0085

```

### Salida 13. Modelo de la variación del volumen de SB con la interacción tsexo

```
. xtmixed sb Meses sexo tsexo | pac, mle cov(uns) nolog
Note: single-variable random-effects specification; covariance structure set to identity
```

```

Mixed-effects ML regression      Number of obs   = 144
Group variable: pac              Number of groups = 36

                                Obs per group: min = 4
                                avg = 4.0
                                max = 4

                                Wald chi2(3)         = 23.70
Log likelihood = -655.6663        Prob > chi2      = 0.0000

```

sb	Coef.	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
Meses	-4.4833659	1.1737026	-2.78	0.005	-8.238167 -1.1429152
sexo	-34.99211	27.80899	-1.26	0.208	-89.49673 19.5125
tsexo	.0805829	.2034439	0.40	0.692	-3181599 .4793257
_cons	486.5278	24.0811	20.20	0.000	439.3297 533.7258

```

Random-effects Parameters      Estimate  Std. Err.  [95% Conf. Interval]
-----+-----+-----
pac: Identity
      sd(_cons)                 71.6364   8.507877   56.75982   90.41208
      sd(Residual)              12.4646   .8481569   10.90833   14.24291
LR test vs. linear regression:  chibar2(01) = 329.04 Prob >= chibar2 = 0.0000

```

```
. iccvar

Intraclass Correlation Estimates
```

	ICC	Std. Err.	[95% Conf. Interval]
pac	0.97061	0.00677	0.95734 0.98389

### Modelo sin la interacción tsexo

```
. xtmixed sb Meses | pac: if sexo==0, mle cov(uns) nolog
Note: single-variable random-effects specification; covariance structure set to identity
```

```

Mixed-effects ML regression      Number of obs   = 36
Group variable: pac              Number of groups = 9

                                Obs per group: min = 4
                                avg = 4.0
                                max = 4

                                Wald chi2(1)         = 9.91
Log likelihood = -160.14477       Prob > chi2      = 0.0016

```

sb	Coef.	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
Meses	-4.4848944	1.1540302	-3.15	0.002	-7.86788 -1.1830007
_cons	486.5482	22.70467	21.43	0.000	442.0478 531.0485

```

Random-effects Parameters      Estimate  Std. Err.  [95% Conf. Interval]
-----+-----+-----
pac: Identity
      sd(_cons)                 67.60813  16.05213   42.45209   107.671
      sd(Residual)              11.05226  1.504337   8.464334   14.43142
LR test vs. linear regression:  chibar2(01) = 83.20 Prob >= chibar2 = 0.0000

```

```
. iccvar

Intraclass Correlation Estimates
```

	ICC	Std. Err.	[95% Conf. Interval]
pac	0.97397	0.01204	0.95038 0.99757

```
. xtmixed sb Meses | pac: if sexo==1, mle cov(uns) nolog
Note: single-variable random-effects specification; covariance structure set to identity
```

```

Mixed-effects ML regression      Number of obs   = 108
Group variable: pac              Number of groups = 27

                                Obs per group: min = 4
                                avg = 4.0
                                max = 4

                                Wald chi2(1)         = 13.50
Log likelihood = -495.02411       Prob > chi2      = 0.0002

```

sb	Coef.	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
Meses	-4.4027077	1.09616	-3.67	0.000	-6.17551 -1.878643
_cons	451.5346	14.16387	31.88	0.000	423.774 479.2953

```

Random-effects Parameters      Estimate  Std. Err.  [95% Conf. Interval]
-----+-----+-----
pac: Identity
      sd(_cons)                 72.93144  10.00262   55.74059   95.42407
      sd(Residual)              12.90098  1.013602   11.05976   15.04872
LR test vs. linear regression:  chibar2(01) = 246.10 Prob >= chibar2 = 0.0000

```

```
. iccvar

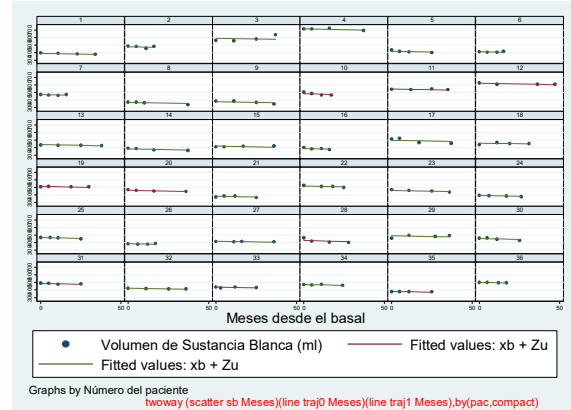
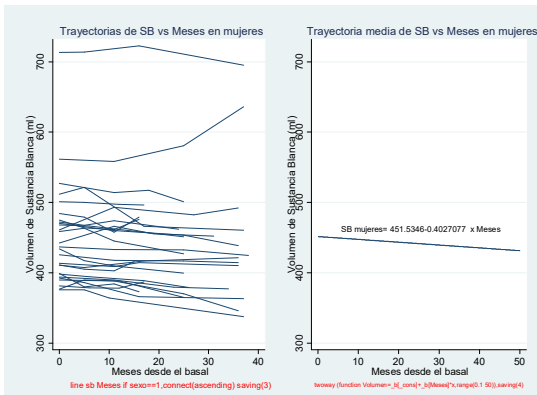
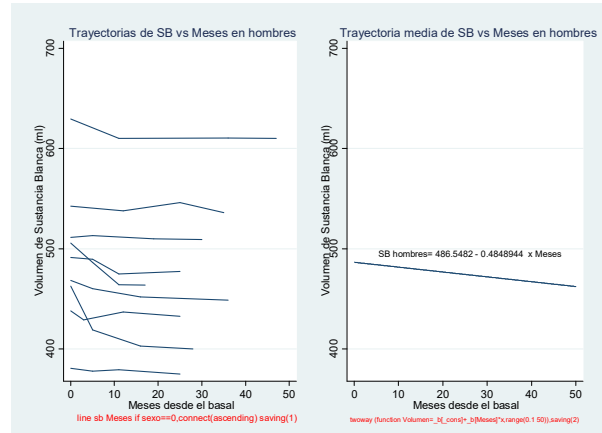
Intraclass Correlation Estimates
```

	ICC	Std. Err.	[95% Conf. Interval]
pac	0.96966	0.00807	0.95384 0.98548

. estab

	(1)	(2)
	sb	sb
sb		
Meses	-0.485** (-3.15)	-0.403*** (-3.67)
_cons	486.5*** (21.43)	451.5*** (31.88)
lnsl_1_1		
_cons	4.214*** (17.75)	4.290*** (31.28)
lnsig_e		
_cons	2.403*** (17.65)	2.557*** (32.55)
N	36	108

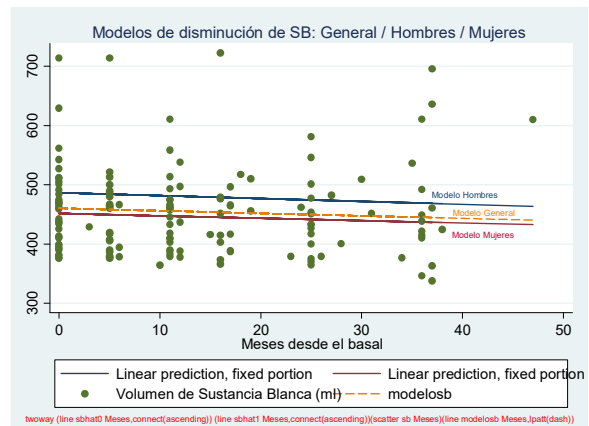
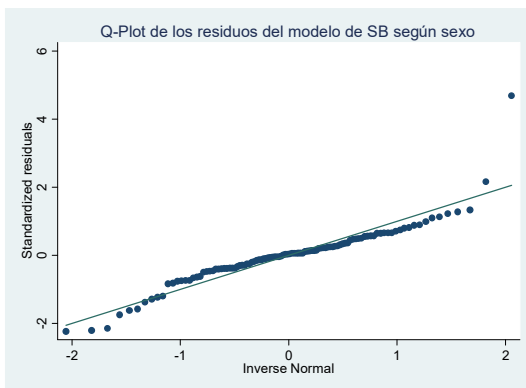
t statistics in parentheses  
\* p<0.05, \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001



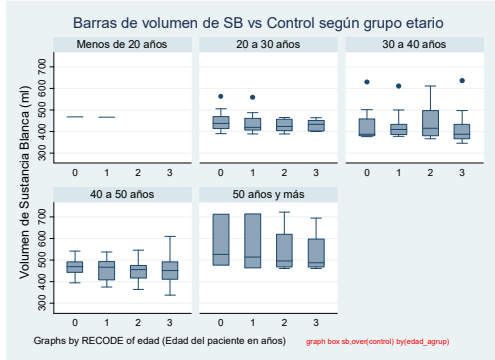
. swilk rs

Shapiro-Wilk W test for normal data

Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
rs	108	0.89155	9.550	5.027	0.00000



# Salida 14. Modelo de la variación del volumen de SB según la variable edad

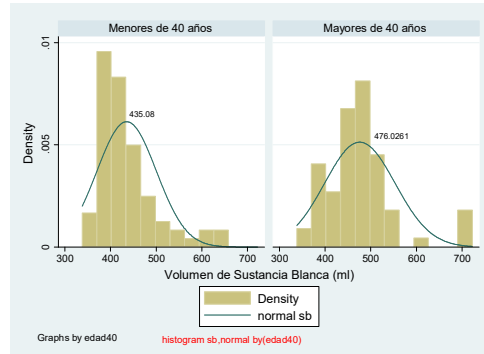


```
. by edad40,sort:swilk sb
-> edad40 = 0
Shapiro-Wilk W test for normal data
Variable | Obs   W       V       z       Prob>z
-----+-----+-----+-----+-----+-----
sb       | 75   0.84895  9.835   4.991   0.00000

-> edad40 = 1
Shapiro-Wilk W test for normal data
Variable | Obs   W       V       z       Prob>z
-----+-----+-----+-----+-----+-----
sb       | 69   0.86835  8.010   4.521   0.00000
```

```
. by edad40,sort:sum sb
-> edad40 = 0
Variable | Obs   Mean   Std. Dev.   Min   Max
-----+-----+-----+-----+-----+-----
sb       | 75   435.08  65.04648   345.9  635.8

-> edad40 = 1
Variable | Obs   Mean   Std. Dev.   Min   Max
-----+-----+-----+-----+-----+-----
sb       | 69   476.0261 77.72401   337.8  722.7
```



```
. sdtest sb,by(edad40)
Variance ratio test
+-----+-----+-----+-----+-----+
| Group | Obs   Mean   Std. Err.   Std. Dev.   [95% Conf. Interval] |
+-----+-----+-----+-----+-----+
| 0     | 75   435.08  7.51092    65.04648    420.1142    450.0458 |
| 1     | 69   476.0261 9.356871   77.72401    457.3547    494.6974 |
+-----+-----+-----+-----+-----+
| combined | 144  454.7   6.170882   74.05058    442.5021    466.8979 |
+-----+-----+-----+-----+-----+
| ratio = sd(0) / sd(1) | f = 0.7004 | |
| Ho: ratio = 1 | degrees of freedom = 74, 68 |
| Ha: ratio < 1 | Ha: ratio != 1 | Ha: ratio > 1 |
| Pr(F < f) = 0.0672 | 2*Pr(F < f) = 0.1344 | Pr(F > f) = 0.9328 |
```

```
. ttest sb,by(edad40)
Two-sample t test with equal variances
+-----+-----+-----+-----+-----+
| Group | Obs   Mean   Std. Err.   Std. Dev.   [95% Conf. Interval] |
+-----+-----+-----+-----+-----+
| 0     | 75   435.08  7.51092    65.04648    420.1142    450.0458 |
| 1     | 69   476.0261 9.356871   77.72401    457.3547    494.6974 |
+-----+-----+-----+-----+-----+
| combined | 144  454.7   6.170882   74.05058    442.5021    466.8979 |
+-----+-----+-----+-----+-----+
| diff   | -40.94609 11.91015 | -64.4902 | -17.40197 | | | |
| diff = mean(0) - mean(1) | t = -3.4379 |
| Ho: diff = 0 | degrees of freedom = 142 |
| Ha: diff < 0 | Ha: diff = 0 | Ha: diff > 0 |
| Pr(T < t) = 0.0004 | Pr(|T| > |t|) = 0.0008 | Pr(T > t) = 0.9996 |
```

```
. xtmixed sb Meses||pac: if edad40==0,mle cov(uns) nolog
Note: single-variable random-effects specification; covariance structure set to identity
Mixed-effects ML regression      Number of obs   =   75
Group variable: pac              Number of groups =   20
                                   Obs per group: min =   1
                                   avg   =   3.8
                                   max   =   4
                                   Wald chi2(1)   =   8.00
Log likelihood = -346.73933        Prob > chi2     = 0.0047
```

sb	Coef.	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
Meses	-.4109871	.145302	-2.83	0.005	-.6957738 - .1262004
_cons	439.7504	14.91259	29.49	0.000	410.5222 468.9785

```
Random-effects Parameters      Estimate   Std. Err.   [95% Conf. Interval]
pac: Identity
      sd(_cons)      65.83678   10.55232    48.08814   90.13619
      sd(Residual)  13.6035   1.297545    11.28393   16.39989
LR test vs. linear regression:  chibar2(01) = 144.60 Prob >= chibar2 = 0.0000
```

```
. iccvar
Intraclass Correlation Estimates
+-----+-----+-----+-----+
|      | ICC   Std. Err.   [95% Conf. Interval] |
+-----+-----+-----+-----+
| pac  | 0.95905  0.01259   0.93438   0.98373 |
```

```
. xtmixed sb Meses||pac: if edad40==1,mle cov(uns) nolog
Note: single-variable random-effects specification; covariance structure set to identity
Mixed-effects ML regression      Number of obs   =   69
Group variable: pac              Number of groups =   19
                                   Obs per group: min =   1
                                   avg   =   3.6
                                   max   =   4
                                   Wald chi2(1)   =  14.17
Log likelihood = -314.5085        Prob > chi2     = 0.0002
```

sb	Coef.	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
Meses	-.4572477	.1214808	-3.76	0.000	-.6953457 - .2191497
_cons	484.6425	18.61056	26.04	0.000	448.1665 521.1185

```
Random-effects Parameters      Estimate   Std. Err.   [95% Conf. Interval]
pac: Identity
      sd(_cons)      80.38865   13.15044    58.33783   110.7744
      sd(Residual)  11.3699   1.137739    9.34502   13.83352
LR test vs. linear regression:  chibar2(01) = 166.52 Prob >= chibar2 = 0.0000
```

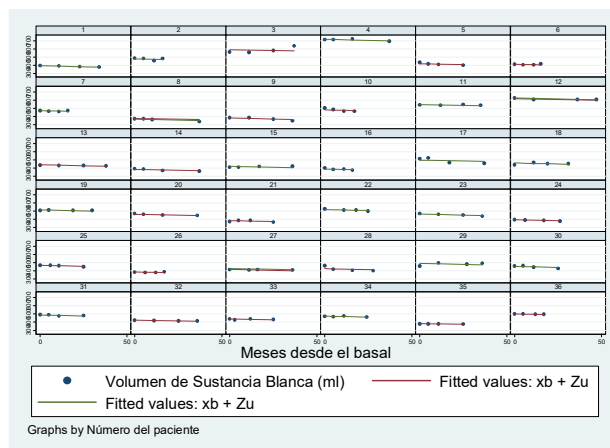
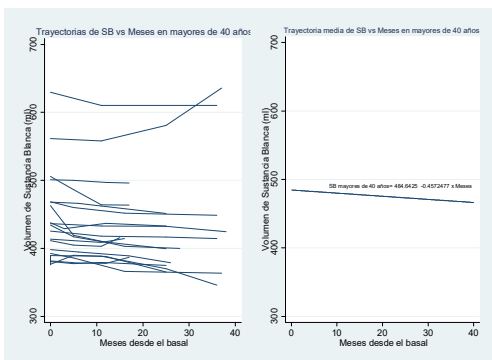
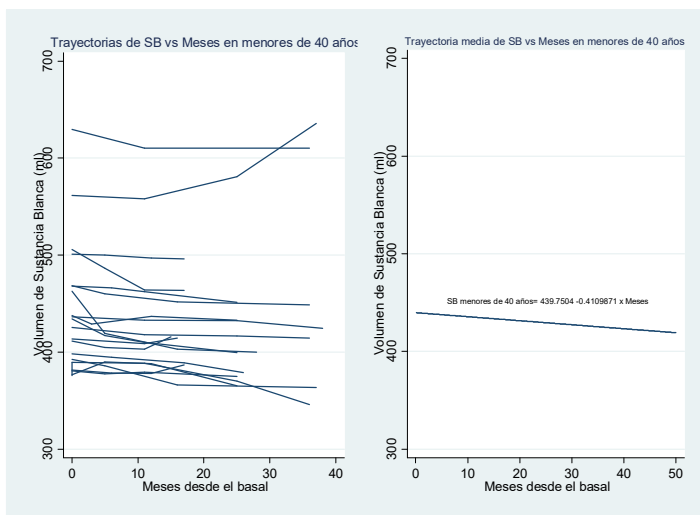
```
. iccvar
Intraclass Correlation Estimates
+-----+-----+-----+-----+
|      | ICC   Std. Err.   [95% Conf. Interval] |
+-----+-----+-----+-----+
| pac  | 0.98039  0.00629   0.96806   0.99272 |
```

```
. esttab
```

	(1)	(2)
	sb	sb
sb		
Meses	-0.411** (-2.83)	-0.457*** (-3.76)
_cons	439.8*** (29.49)	484.6*** (26.04)
lnsl_1_1		
_cons	4.187*** (26.12)	4.387*** (26.82)
lnsig_e		
_cons	2.610*** (27.37)	2.431*** (24.29)
N	75	69

t statistics in parentheses

\* p<0.05, \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001

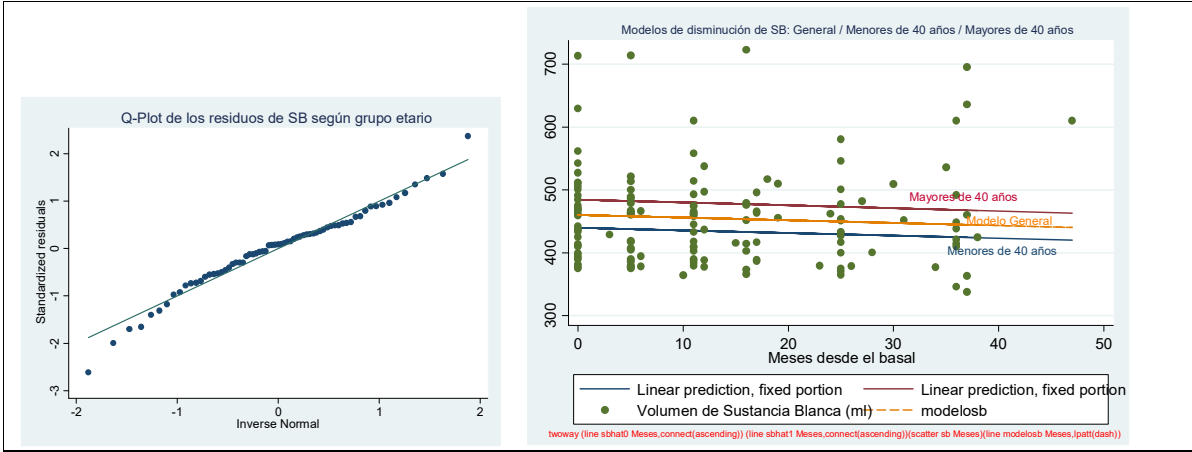


```
. swilk rs
```

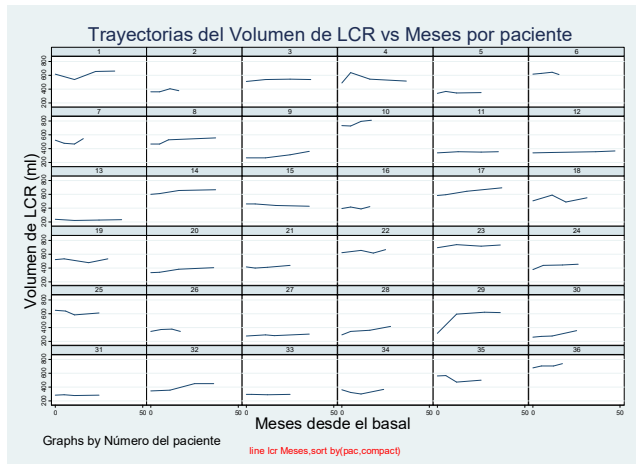
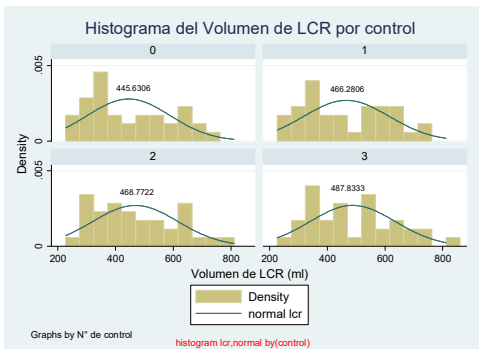
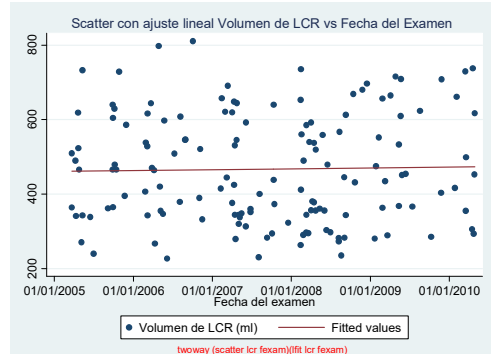
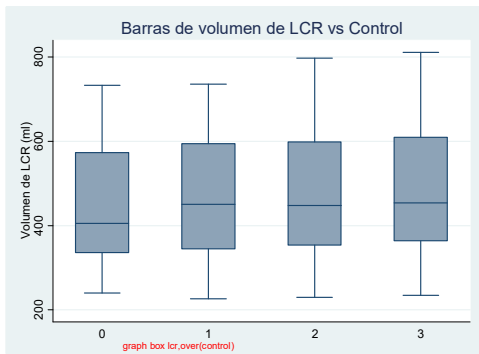
Shapiro-Wilk W test for normal data

Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
rs	69	0.97998	1.218	0.428	0.33426





### Salida 15. Volumen de LCR según control y por paciente



```

. by control,sort:swilk lcr
-----
-> control = 0

Shapiro-Wilk W test for normal data
-----
Variable | Obs   W       V     z     Prob>=
-----+-----
lcr      | 36   0.92793  2.628  2.020  0.02167
-----+-----

-> control = 1

Shapiro-Wilk W test for normal data
-----
Variable | Obs   W       V     z     Prob>=
-----+-----
lcr      | 36   0.94026  2.178  1.628  0.05176
-----+-----

-> control = 2

Shapiro-Wilk W test for normal data
-----
Variable | Obs   W       V     z     Prob>=
-----+-----
lcr      | 36   0.95805  1.530  0.889  0.18711
-----+-----

-> control = 3

Shapiro-Wilk W test for normal data
-----
Variable | Obs   W       V     z     Prob>=
-----+-----
lcr      | 36   0.96229  1.375  0.666  0.25274
-----+-----

```

### Salida 16. Modelo general de la variación del volumen de LCE en el tiempo

```

. xtmixed lcr Meses||pac:mle cov(uns) nolog
Note: single-variable random-effects specification; covariance structure set to identity

```

Mixed-effects ML regression  
Group variable: pac

Number of obs = 144  
Number of groups = 36

Obs per group: min = 4  
avg = 4.0  
max = 4

Wald chi2(1) = 25.71  
Prob > chi2 = 0.0000

Log likelihood = -796.94403

lcr	Coef.	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
Meses	1.352235	.266699	5.07	0.000	.8295143 1.874955
_cons	449.2872	23.869	18.82	0.000	402.5048 496.0696

Random-effects Parameters	Estimate	Std. Err.	[95% Conf. Interval]
pac: Identity			
sd(_cons)	140.45	16.83735	111.0398 177.65
sd(Residual)	36.78267	2.502769	32.19035 42.03013

LR test vs. linear regression:  $\chi^2(0) = 248.22$  Prob >=  $\chi^2 = 0.0000$

```

. esttab
-----+-----
(1)
lcr
-----+-----
Meses 1.352***
      (5.07)
-----+-----
_cons 449.3***
      (18.82)
-----+-----
lns1_i1
_cons 4.945***
      (41.25)
-----+-----
lnsig_e
_cons 3.605***
      (52.98)
-----+-----
N 144
t statistics in parentheses
* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001

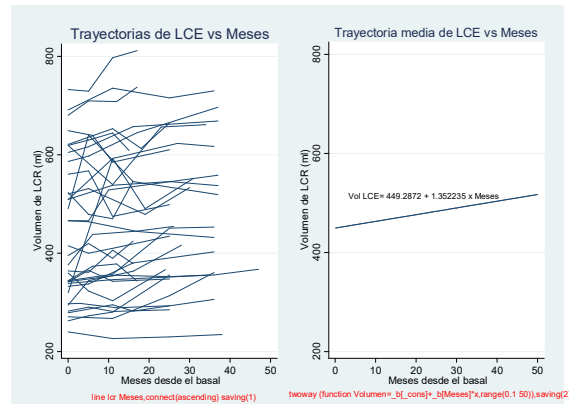
```

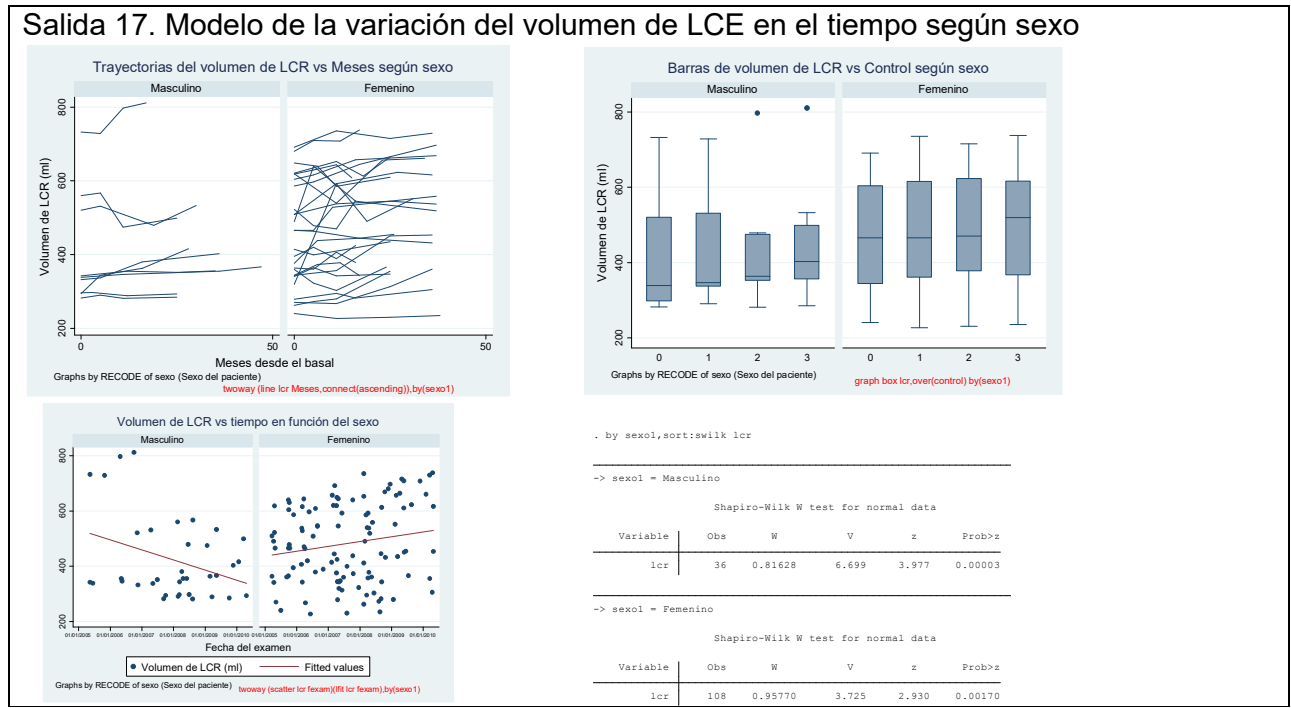
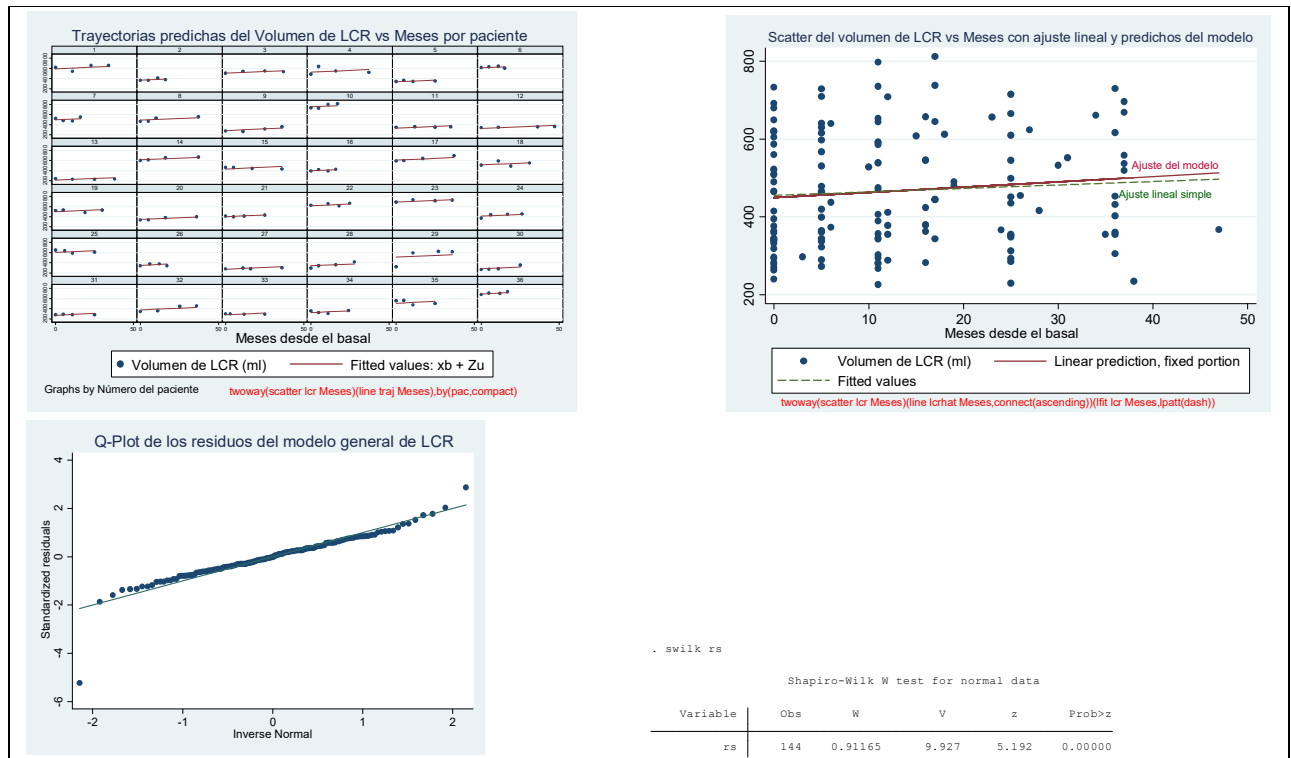
```

. iccvar
Intraclass Correlation Estimates

```

	ICC	Std. Err.	[95% Conf. Interval]
pac	0.93582	0.01440	0.90759 0.96404







```
. iccvar
Intraclass Correlation Estimates
```

	ICC	Std. Err.	[95% Conf. Interval]	
pac	0.96316	0.01689	0.93006	0.99627

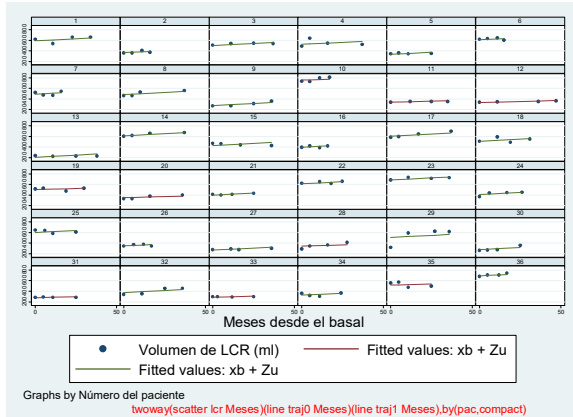
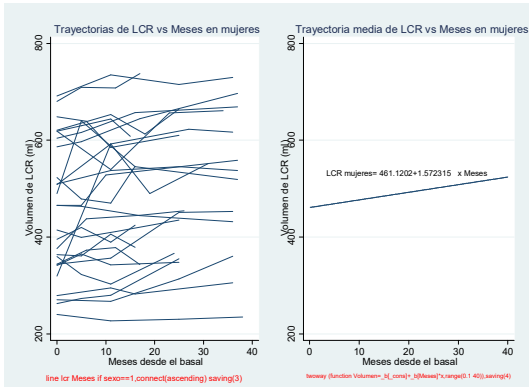
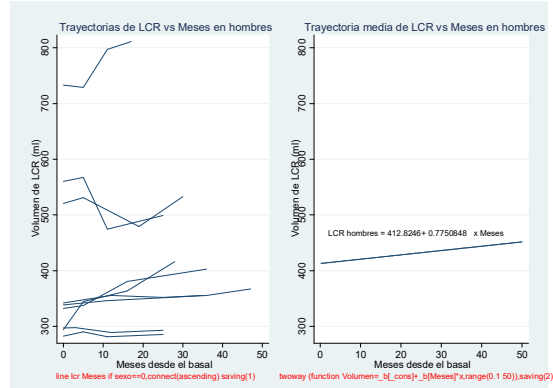
```
. iccvar
Intraclass Correlation Estimates
```

	ICC	Std. Err.	[95% Conf. Interval]	
pac	0.92365	0.01959	0.88525	0.96205

```
. esttab
```

	(1)	(2)
	lcr	lcr
lcr		
Meses	0.775 (1.94)	1.572*** (4.78)
_cons	412.8*** (8.35)	461.1*** (17.36)
lnsl_l_l		
_cons	4.988*** (20.96)	4.904*** (35.30)
lnsig_e		
_cons	3.357*** (24.66)	3.657*** (46.55)
N	36	108

t statistics in parentheses  
\* p<0.05, \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001



```
. swilk rs
```

Shapiro-Wilk W test for normal data

Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
rs	108	0.89732	9.042	4.905	0.00000

