

# STUDIEPROTOKOLL

## STUDIE AV LÅNGTIDSEFFEKTEN AV MS-BEHANDLING MED VIRTUAL PLACEBO

### ”ViPI-PROJEKTET”

#### *Inledning*

De första MS-typiska kliniska symtomen (CIS - clinically isolated syndrome) utgörs oftast av en synnervsinflammation eller en övergående hjärnstams- eller ryggmärgsinflammation. Skoven som hos 50-70 % av patienterna följer efter CIS har väsentligen samma symtomatologi. Dessa skovmanifestationer efterlämnar i regel obetydliga eller inga sequele. Men flertalet patienter som haft upprepade MS-skov får senare ett smygande (sekundärprogressivt) förlopp med tilltagande handikapputveckling. På mycket lång sikt gäller det 80 % av dessa patienter. Mediantiden från CIS till ett sekundärprogressivt förlopp är 16 år om man begränsar det till patienter som får kliniskt säkerställd MS med flera skov [1] eller 19 år om analysen får inkludera patienter med CIS utan upprepade skov [2].

Effekten av den sedan ett decennium etablerade långtidsbehandlingen av MS med beta-interferon eller glatiramiracetat är endast säkerställd i skovfasen. Behandlingen ger en måttlig reduktion av skovfrekvensen samtidigt med en kraftig reduktion av antalet aktiva härdar påvisbara vid magnetkameraundersökningar [3], [4], [5], [6]. En ännu kraftigare skovminskande effekt har visats av natalizumab [7]. Effekt av beta-interferon har visats redan från CIS hos patienter som har ett relativt stort antal MRT-härdar som tecken på hög sjukdomsaktivitet [8], [9], [10]. Däremot har effekterna på sekundärprogressivt förlopp varit tveksamma, med en positiv studie [11] följd av fyra negativa studier [12], [13] varav en dock visade effekt på en ny effektparameter [14], och en visade effekt begränsat till skov under progressfasen [15]. Som en konsekvens av dessa studier är beta-interferon nu godkänt för behandling av MS i skovfasen, med tilläggsindikationer för CIS med tecken på hög sjukdomsaktivitet, eller vid progress endast associerad med skovaktivitet.

Vår immunmodulerande långtidsbehandling av MS har alltså ingen påvisad effekt när förloppet blivit rent progressivt. Vi har dock goda skäl att hoppas att tidigt insatt behandling med dämpning av skovaktiviteten skall kunna bromsa utvecklingen mot den 1-2 decennier senare insättande förödande handikapputvecklingen. Man har försökt att utvärdera behandlingseffekten på tendenser till ökande neurologiskt deficitscore under skovfasen, men detta är ifrågasatt eftersom man då ensidigt fångar upp fluktuationer åt det negativa hållet och negligerar fluktuationer åt det positiva hållet i förloppet, och fluktuationer är dessutom lika vanliga som verklig progression [16]. Man har påvisat att axonskador uppkommer vid skoven histologiskt [17] och bedömt med axonskademarkörer i likvor [18]. Den autoimmuna inflammationen kan vara självförstärkande bland annat genom att fler strukturer blir modifierade eller tillgängliga för inflammationen och uppträder som antigen (epitope spreading). Långtidsstudier med en öppen fas efter en randomiserad prövning med upp till 8 års uppföljning totalt talar också för att tidigt insatt behandling med beta-interferon resulterar i att handikappet utvecklas senare än vid fördröjd insättning i skovfasen [19]. Det finns således skäl att tro att immunmodulerande behandling i skovfasen kan minska risken för eller fördröja den senare utvecklingen av sekundärprogressivt förlopp, men fortfarande saknas bevis för den immunmodulerande behandlingens långtidseffekt.

## ***Virtual Placebo***

Två studier har jämfört effekten av glatirameracetat respektive intramuskulärt beta-interferon efter drygt 8 års behandling av MS-sjuka i skovfas med historiska kontroller från en kanadensisk långtidsstudie [20] och funnit väsentligt bättre prognos beträffande handikapputvecklingen hos de behandlade [21, 22]. Det historiska kontrollmaterialet var dock inte indelat i MS med skov- respektive primärprogressivt förlopp (det vill säga progressivt förlopp utan skov), där sistnämnda har en sämre prognos. Dessa två studier är således öppna för de felkällor som användandet av historiska kontroller medför och är därför inkonklusiva, vilket tydligt markeras av författarna [22]. Metoder har nu utvecklats för optimering av historiska kontroller med målsättningen att ersätta placebopatienterna med ”virtual placebo”.

Taktiken i en virtual placebostudie består i att välja historiska kontrollpatienter från databaser med naturalförloppet som har samma karakteristika som patienterna i läkemedelsprövningen beträffande demografi, sjukdomsduration och sjukdomsstadium. Viktiga kriterier på att naturalförloppsstudierna är fria från bias är att analysen baseras på ett material som är välagränsat både geografiskt och i tid (incidensmaterial) och som har longitudinell uppföljning. Det är också väsentligt att man påvisat tidiga egenskaper (prediktorer) som förklarar mycket av spridningen i prognos. Sedan jämför man utfallet hos undergrupper med samma prognos hos de behandlade och de historiska kontrollerna. Virtual placebo-tekniken kan sägas låna fall-kontrollmetodiken från epidemiologin, även om virtual placebometodiken jämför riskfunktioner snarare än individer. Även om man inte kan ge en individuell prognos kan man identifiera kombinationer av prediktorer som påverkar riskfunktioner på ett förutsägbart sätt och därmed ger en relativt enhetlig prognos. Styrkan i virtual placebo-metodiken är att den genom effektiv stratifiering av förloppstyper och handikappsrisiker reducerar det största problemet med historiska kontroller, nämligen osäkerheten om fallen i databasen är representativa för de aktuella behandlade fallen. Vi uppfattar här placebo som en renodlad kontrollfunktion, en kartläggning av ett naturalförlopp under likvärdiga förhållanden i en obehandlad kontrollgrupp, för att reducera felkällor som ”regression towards the mean”. Den s.k. ”placeboeffekten”, inkluderande en suggestionseffekt, kan påverka förloppet och utfallet av läkemedelsprövningar, men man har ifrågasatt om den behåller sin betydelse vid kroniska handikappande förlopp. Det går sannolikt aldrig att få en lika rättvis jämförelsegrupp med virtual placebo som med en verklig placebo-grupp, men även den sistnämnda har potentiella svagheter, förekomsten av svårvärderade placeboeffekter (suggestionseffekter) och risken för otursam randomisering med olikheter vid baseline.

Man har försökt optimera historiska kontroller vid andra sjukdomstillstånd där användandet av placebo kan vara problematiskt, till exempel vid epilepsi [23]. Anledningen till att optimeringen av historiska kontroller i riktning av ”virtual placebo” har drivits vid MS är den unika tillgängligheten av stora databaser innehållande longitudinella data om decennier av naturalförloppet. Den internationella MS-federationen (MSIF) har ambitionen att integrera dessa stora databaser och därifrån med virtual placebo-teknik utvärdera behandlingseffekter. MSIF har satsat betydande resurser på upprättandet av matematisk-statistisk analyskapacitet för detta ändamål i Sylvia Lawry-centret i München. Man har dock hittills mest använt placebomaterial från läkemedelsprövningar med högst 3 års duration, där man utnyttjat scoringsystemet EDSS och skovfrekvensen. Man har hittills inte lyckats göra en syntes av internationellt erkända naturalförloppsstudier. En förutsättning för att använda dessa är att det finns samma definitioner på karakteristika (prediktorer) som är väsentliga för sjukdomsförlopp och prognos i de olika naturalförloppsstudierna. Denna förutsättning har hittills endast varit uppfylld för demografiska data och EDSS men inte för skovrelaterade data..

Föreliggande arbete utnyttjar en långtidsuppföljning av totalt 308 MS-patienter utförd på Sahlgrenska universitetssjukhuset [1], [2] där man utkristalliserat ett fåtal demografiska och skovrelaterade prediktorer, kliniska karakteristika som innehåller en väsentlig del av den prognostiska informationen från det initiala sjukdomsförloppet. Samma prediktorer och definitioner registreras fortlöpande i svenska MS-registret. Detta möjliggör jämförelse mellan obehandlade patienter från Göteborgsstudien med behandlade patienter från SMS-registret (msreg.net). SMS-registret erbjuder således en unik möjlighet att bedöma långtidseffekten av vår pågående behandling genom en entydig definitionsstruktur som tillåter samkörning med ett historiskt material på ett sätt som eliminerar eller reducerar skillnader i patientsammansättning. Det går att använda alla behandlade patienter i SMS-registret där debutskovet registrerats med samma prediktorer och endpoints som den Göteborgska incidenskohorten (debut 1950-1964). Studien är givetvis inte blind men syftet att bedöma behandlingseffekter från Svenska MS-registret var endast ett av flera pågående projekt på registerdata, och registerande enheter var knappast tydligt medvetna om syftet att använda registerdata för virtual placebo före preliminära rapporter om detta VT 2007, ungefär samtidigt med att registreringen av kliniska händelser för studien avslutades. Följande karaktäristika har visat sig vara de mest gynnsamma och kraftfulla prediktiva faktorerna vid 25 års uppföljning av den obehandlade Göteborgspopulationen: Monosymtomatisk opticusneurit, övriga rent afferenta symtom, monofokalt insjuknande, fullständig remission. Prediktorerna rent afferent symtomatologi och fullständig remission fick en oberoende bekräftelse då dessa också fungerade som prediktorer i svenska MS-registret. Vi kan inte hoppas på att få ett fullständigt prevalent material omfattande hela den svenska MS-populationen. Bias uppkommer beroende på att 1) inte alla MS-sjuka är med i registret, 2) den behandlade populationen med största sannolikhet skiljer sig från den obehandlade. Mot detta kan vi ställa vår stratifiering i ett antal relativt enhetliga kohorter efter prognos, vilket motverkar bias och minskar kravet på prevalent material. En första studie som utnyttjade stratifiering av aktuellt behandlat material med historiskt obehandlat material för att jämföra prognostiskt likvärdiga strata publicerades i Läkartidningen 2007;104:1684-1688.

Den aktuella Virtual Placebo 1-studien (ViP1-studien) avser att förbättra Läkartidningsstudien i två avseenden:

- 1) Minska bortfallet av patienter i svenska MS-registret
- 2) Monitorera av att data är kompletta och internt konsistenta.
- 3) Höja kvaliteten till en nivå för internationell publikation. Få skriftlig bekräftelse från neurologerna på att registrerade data är kontrollerade.

Göteborgsmaterialet bygger på Posers diagnoskriterier [23]. Syftet är att avsluta datainsamlingen för ViP1-studien innan landskapet radikalt förändras när modifikationerna av diagnosmetoderna [24], och nya behandlingar slår igenom.

## ***Inklusionskriterier***

- Skovformad debut med alla skovdebutsymtomen registrerade
- Debut 1995 eller senare
- Förloppstyp Skovformat (Relapsing-Remitting, RR) eller sekundärprogressivt (SP).
- Progressår registrerat (bekräftas med ViP-registreringen) hos patienter med SP-förlopp.
- Första året för EDSS 6, EDSS 7 registrerat på motsvarande skovregistrering, om patienten har uppnått dessa scores
- Behandling med immunmodulerande MS-farmakon insatt minst en gång med: Avonex, Rebif, Betaferon, Copaxone, eller Mitoxantrone

## ***Terminering***

Kliniska händelser som har inträffat t.o.m. april 2007.

## ***Högercensurering***

Patienten censureras efter senaste besöket som registrerats med EDSS i msreg.net

## ***Vänstertrunkering***

Två analyser utförs:

- 1) Patienten inkluderas från debutåret
- 2) Patienterna inkluderas från första året som hon/han är insatt på Avonex, Rebif, Betaferon, Copaxone, eller Mitoxantrone

## ***Primary outcome parameter***

Övergång till sekundär progression, året då sekundär progression börjar. Vid osäkerhet används det mest sannolika året. Progressåret får justeras i efterhand ifall det senare förloppet tydligare avslöjar när progressionen började.

## ***Secondary outcome parameters***

EDSS 6 och EDSS 7

## ***Procedur, monitorering***

### ***Första importen från msreg.net, kriterier:***

Uppgift finns om debutår, med debutår 1995 eller senare

Skovformad debut registrerad, eller minst ett skovdebutsymtom registrerat

### ***Exklusionskriterium från msreg.net***

Primärprogressivt förlopp

### ***Utskick för första kvalitetskontrollen.***

Excelark med markering om avsaknad eller potentiellt motsägelsefull information, samt begäran om komplettering i msreg.net

Inkomplett information om debutskov och debutskovsymtom

Uppgift om EDSS 4 eller högre i frånvaro av uppgift om sekundär progression

Förloppstyp 8 (värde inväntas) eller 9 (värde saknas)

### ***Utskick för andra kvalitetskontrollen***

- 1) ytterligare påminnelse om ev. återstående problem från första kvalitetskontrollen som inte åtgärdats
- 2) nämna att smreg.net innehåller ett antal med mer bristfälliga patientregistreringar. Gäller här endast patienter med antingen debut efter 95 eller debutår saknas, eller 190001, -6. I så fall konstatera att det är en nackdel för studien att dessa saknas. Komplettering med fullständiga registreringar av dessa patienter är önskvärd för att få ett mer prevalent material, men kan vara omöjligt att åstadkomma under den givna tiden. Det är viktigare att utförda registreringar blir noggranna och kan bekräftas med ViP1.

### ***Utskick för tredje kvalitetskontrollen, verifikation av alla data i ViP1-märkade patienter genom signering.***

En markering i ViP1-fältet garanterar att prediktorer (debutskovsdata) och endpoints (progress, EDSS 6, 7) är korrekt registrerade, så att patienten kan inkluderas i ViP1-studien. Vi rekommenderar att patienterna successivt registreras med ViP1 allteftersom för studien nödvändiga registreringar blir klara. Inför ”clean file” och statistisk utvärdering ber vi till slut registrerande neurologkollega/PAL lämna en skriftlig förbindelse att alla hennes/hans ViP1-registreringar är kompletta. PAL behöver alltså bara skriva under på ett ställe men med innebörden att alla för studien nödvändiga registreringar (inkl debutskovets egenskaper, SPMS och progressår om detta inträffat, och EDSS 6 eller 7 om detta inträffat) är granskade och kompletta på alla patienter markerade i ViP1-fältet.

## ***Databearbetning***

Samkörning sker mot dödsorsaksregistret för att skilja endpoint EDSS 10 från censurering pga död i annan sjukdom. När alla kvalitetskontroller är klara beslutas om ”clean file” varefter databasen är låst, och den statistiska bearbetningen påbörjas med Kaplan-Meier-analys och fortsätts med en multifaktoriell modell i samarbete med professor Anders Odén, matematisk statistik, Göteborgs universitet.

Preliminär publikationspolicy: Centra som deltar aktivt studien, ffa bidrar med ett stort antal registreringar.

# Definitioner i Svenska MS-registret ([www.msreg.net](http://www.msreg.net))

## 1. Registrering av debutskovet i SMS-registret

### MONOSYMPATOMATISK OPTIKUSNEURIT:

**ja = monosymtomatisk ON**

**nej = inte enbart monosymtomatisk ON**

### ÖVRIGA RENT AFFERENTA SYMTOM:

**ja = rent afferenta** (undantag monosymtomatisk ON som registreras med ja vid ON).

- **Sensoriska symtom**

(inklusive sensoriskt betingad ataxi pga baksträngspåverkan)

- **Vestibulära symtom/statusfynd**

- Vestibulär yrsel, ofta lägesändringsyrsel

- Vestibulär nystagmus

Obs! INO och cerebellära symtom inräknas inte i rent afferenta symtom.

**nej = inte rent afferenta symtom**

(innefattar även monosymtomatisk ON som registreras med nej här). Bifynd som Babinski accepteras här under "rent afferent" eftersom det inte finns något absolut krav på fullständigt status.

### MONOFOKAL SYMTOM/STATUSFYND:

**ja = symtom och/eller statusfynd som kan hänföras till en enda lesion**

**nej = symtom och/eller statusfynd som inte kan hänföras till en enda lesion**

(polyfokalt). För polyfokalitet krävs symtom och/eller statusfynd från minst två av följande CNS-regioner: synnerv, storhjärna, hjärnstam eller ryggmärg

### FULLSTÄNDIG REMISSION:

**ja = inga resterande symtom och/eller statusfynd**

Symtom och statusfynd är identiska med de som registrerades innan det aktuella skovet.

**nej = resterande symtom och/eller statusfynd**

Endast konstanta restsymtom räknas.

Anamnestisk information eller bifynd som Babinski accepteras som komplett remission eftersom det inte finns något krav på fullständigt status för denna bedömning.

**Utvärderas när ev fullständig remission inträffat eller minst 12 månader efter skovdebut**

## 2. Registrering av progressår i SMS-registret ifall sekundär progression förekommer

Sekundär progression är ett basalt kliniskt-neurologiskt fynd, som bl.a. utnyttjas som in- eller exklusionskriterier i läkemedelsprövningar, där det oftast inte definieras. Eftersom dock flera tolkningar är möjliga väljer vi i registret följande definition:

En fas av sjukdomen där man kan säkerställa ett sakta tilltagande centralt (pyramidalt) para- (tetra- blås-) syndrom. I några fall kan det i stället handla om att man kan säkerställa ett sakta

tilltagande cerebellärt syndrom. Det mest strikta kriteriet är att dessa tilltagande pyramidala (eller cerebellära) fynd dokumenterats objektivt, dvs i successiva status, men utan uppgifter om akuta eller subakuta nytillkomna motsvarande symtom eller symtomaccentueringar.

I SMS-registret anges det årtal då något av dessa syndrom har debuterat.

### **3. EDSS 6, 7 måste registreras på varje besök så att det går att identifiera vilket år pat. kommit till "milestone" EDSS.**

Resultatparameter ("endpoint") i ViP1-studien är alltså sekundär progression. Alternativa endpoints är EDSS 6, 7 eller 10 som används som i första omgång används som kvalitetskontroll. T.ex då pat uppnått EDSS 6 är det ganska troligt att förloppet är progressivt. EDSS skall registreras vid första besök där dessa förekommer. I databearbetningen kommer detta att exkluderas vid besök där samtidigt pågående skov registrerats.

Registrering av endpoints måste kompletteras retrospektivt till ev. tidigare besök och uppdateras vid nya besök. Det är bättre att EDSS är retrospektivt bedömt än att det utelämnas, vilket kan ge en felaktig information om ett benigt förlopp.

### **4. Registrering av året för insättning av beta-interferon eller Copaxone**

I ViP1-studien registreras året för insättning av beta-interferon, Copaxone eller mitoxantron. I denna första studie tas inte hänsyn till tillfällig eller definitiv utsättning eller byte av preparaten. Detta kan sägas motsvara principen "intent-to-treat" i randomiserade läkemedelsprövningar.

## ***Referenser***

1. Runmarker B, Andersen O. Prognostic factors in a multiple sclerosis incidence cohort with twenty-five years of follow-up, *Brain*. 1993;116:117-34
2. Eriksson M, Andersen O, Runmarker B. Long-term follow up of patients with clinically isolated syndromes, relapsing-remitting and secondary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2003; 9:260-74.
3. The IFNB Multiple Sclerosis Study Group Interferon beta-1b is effective in relapsing – remitting multiple sclerosis. *Neurology*.1993;43: 655-61
4. The PRISMS (Prevention of Relapses and Disability by Interferon beta-1a Subcutaneously in Multiple Sclerosis) Study Group. Randomised double-blind placebo-controlled study of interferon  $\beta$ -1a in a relapsing/remitting multiple sclerosis. *Lancet*.1998; 352:1498-504
5. The PRISMS Study Group and the University of British Columbia MS/MRI Analysis Group, PRISMS-4: Long-term efficacy of interferon- $\beta$ -1a in relapsing MS, *Neurology* 2001;56:1628-36.

6. Johnson KP, Brooks BR, Cohen JA, Ford CC, Goldstein J, Lisak RP, et al. Copolymer 1 reduces relapse rate and improves disability in relapsing-remitting multiple sclerosis: results of a phase III multicenter, double-blind, placebo-controlled trial. 1995. *Neurology* 2001;57:16-24
7. Polman CH, O'Connor PW, Havrdova E, Hutchinson M, Kappos L, Miller DH, Phillips JT, Lublin FD, Giovannoni G, Wajgt A, Toal M, Lynn F, Panzara MA, Sandrock AW; AFFIRM Investigators. A randomized, placebo-controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2006 Mar 2;354(9):899-910.
8. Jacobs LD, Beck RW, Simon JH, Kinkel RP, Brownscheidle CM, Murray TJ, et al. Intramuscular interferon beta-1a therapy initiated during a first demyelinating event in multiple sclerosis. CHAMPS Study Group. *N Engl J Med.* 2000;343:898-904
9. Comi G, Filippi M, Barkhof F, Durelli L, Edean G, Fernandez O, et al. Effect of early interferon treatment on conversion to definite multiple sclerosis: a randomised study. *Lancet.* 2001; 357: 1571-82
10. European Study Group on Interferon  $\beta$ -1b in secondary Progressive MS. Placebo-controlled multicentre randomised trial of interferon  $\beta$ -1b in treatment of secondary progressive multiple sclerosis, *Lancet.* 1998; 352: 1491-7
11. Kappos L, Polman CH, Freedman MS, Edan G, Hartung HP, Miller DH, Montalban X, Barkhof F, Bauer L, Jakobs P, Pohl C, Sandbrink R. Treatment with interferon beta-1b delays conversion to clinically definite and McDonald MS in patients with clinically isolated syndromes. *Neurology.* 2006b Oct 10;67(7):1242-9.
12. North American Study Group on Interferon beta-1b in Secondary Progressive MS. Interferon beta-1b in secondary progressive MS: results from a three-year controlled study. *Neurology* 2004;63:1788-1795.
13. Andersen O, Elovaara I, Farkkila M, Hansen HJ, Mellgren SI. Multicentre, randomised, double blind, placebo controlled, phase III study of weekly, low dose, subcutaneous interferon beta-1a in secondary progressive multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004;75:706-10.
14. Cohen JA, Cutter GR, Fischer JS, Goodman AD, Heidenreich FR, Kooijmans MF, et al. Benefit of interferon b-1a on MSFC progression in secondary progressive MS. *Neurology* 2002;59:679-87.
15. SPECTRIMS Study Group Randomized controlled trial of interferon-beta-1a in secondary progressive MS, *Neurology* 2001;56:1496-504
16. Liu C, Blumhardt LD Disability outcome measures in therapeutic trials of relapsing remitting multiple sclerosis: effects of heterogeneity of disease course in placebo cohorts. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2000;68:450-457.
17. Trapp BD, Bo L, Mork S, Chang A. Pathogenesis of tissue injury in MS lesions. *J Neuroimmunol.* 1999; 98: 49-56
18. Lycke J, Karlsson JE, Andersen O, Rosengren LE. Neurofilament protein in cerebrospinal fluid: a potential marker of activity in multiple sclerosis, *J Neurol Neurosurg psychiatry* 1998;64: 402-4

19. Kappos L, Traboulsee A, Constantinescu C, Eralinna JP, Forrester F, Jongen P, Pollard J, Sandberg-Wollheim M, Sindic C, Stubinski B, Uitdehaag B, Li D  
Long-term subcutaneous interferon beta-1a therapy in patients with relapsing-remitting MS. *Neurology*. 2006a Sep 26;67(6):944-53
20. Weinshenker BG, Rice GPA, Carriere W, Baskerville J, Ebers GC. The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. I. Clinically course and disability. *Brain*. 1999;112:133-46
21. Johnson KP, Brooks BR, Ford CC, Goodman A, Guarnaccia J, Lisak RP, et al. Sustained clinical benefits of glatiramer acetate in relapsing multiple sclerosis patients observed for 6 years. *Mult Scler*. 2000;6:255-66
22. Rudick RA, Cutter GR, Baier M, Weinstock-Guttman B, Mass MK, Fischer E. Estimating long-term effects of disease-modifying drug therapy in multiple sclerosis patients. *Mult. Scler*. 2005;11:626-34
23. Baulac M. Historical data in the design and interpretation of trials with newly diagnosed patients. *Reviews/Epilepsy Research* 2006;68: 77-81.
24. Poser CM, Patty DW, Scheinberg L, McDonald WI, Davis FA, Ebers GC, et al. New Diagnostic Criteria for Multiple Sclerosis: Guidelines for Research Protocols. *Ann Neurol* 1983;13: 227-31
25. McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, et al. Recommended diagnostic Criteria for Multiple Sclerosis Guidelines from the International Panel on the Diagnosis of Multiple Sclerosis. *Ann Neurol*. 2001;50:121-7