






Universitat Autònoma de Barcelona

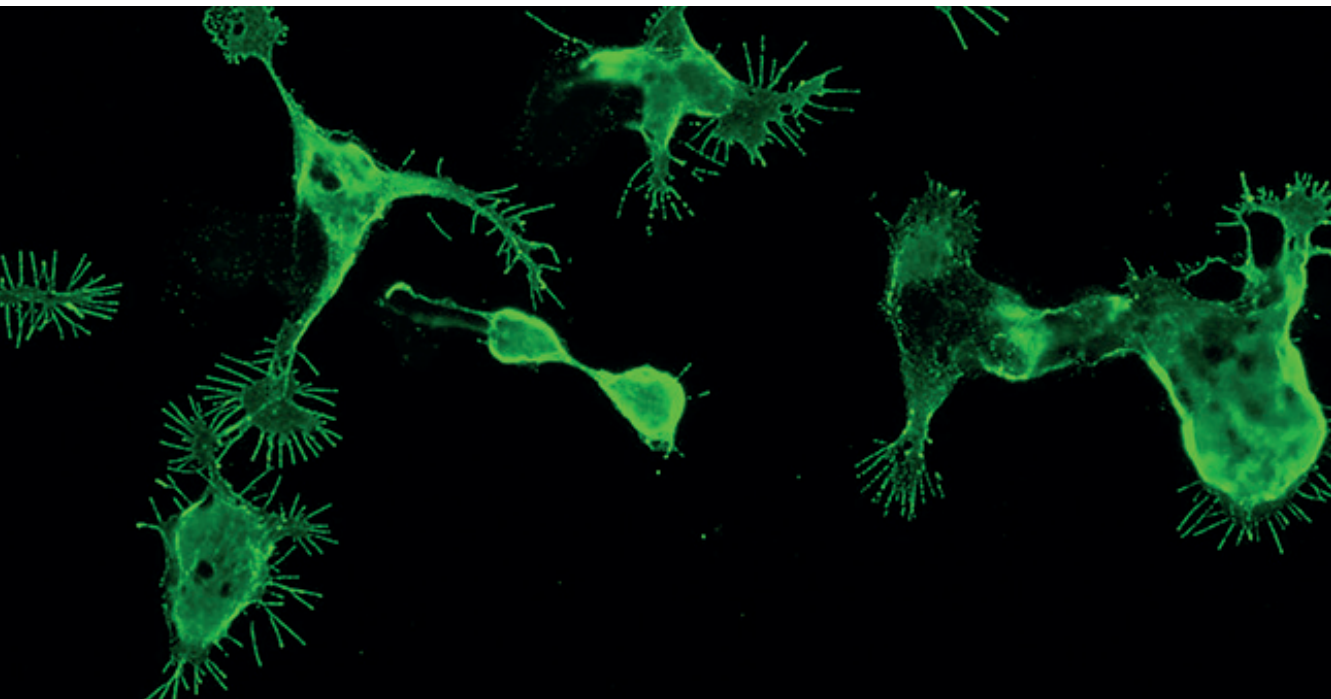
**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  [http://cat.creativecommons.org/?page\\_id=184](http://cat.creativecommons.org/?page_id=184)

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

TESIS DOCTORAL

**ESTUDIO DE  
BIOMARCADORES  
CON UTILIDAD CLÍNICA  
EN NEUROPATÍAS  
AUTOINMUNES**



**LORENA MARTÍN AGUILAR**

**2021**



**TESIS DOCTORAL**

**ESTUDIO DE BIOMARCADORES  
CON UTILIDAD CLÍNICA EN  
NEUROPATÍAS AUTOINMUNES**



**Tesis presentada para optar al grado de Doctor**

**Doctoranda:**

Lorena Martín Aguilar

**Director:**

Dr. Luis Antonio Querol Gutiérrez

**Tutora:**

Dra. Isabel Illa Sendra

**UAB**

Universitat Autònoma  
de Barcelona

**UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA**

Programa de Doctorado en Medicina  
Departamento de Medicina

BARCELONA 2021



A Luis, por ofrecerme la oportunidad de trabajar en tu equipo; por ser un jefe cercano y comprensivo. Por todo lo que me has enseñado de la neurología autoinmune, pero, sobre todo, por todo lo que me has enseñado en el trato con los pacientes y en la investigación. No podría haber escogido mejor mentor. Y por supuesto, a Vera, por dejar que tu padre corrigiera la tesis contigo en brazos.

A la Isabel, per obrir-me les portes de la unitat de Neuromuscular. A tot l'equip de la unitat; Janina, Ricard, Jordi, Montse, Elena; i a tot l'equip del laboratori; Xavi, Noemí, Eduard, per tot el vostre suport i coneixement i per fer-me sentir sempre com a casa. Al Pol, per la seva bona disposició i per totes les hores invertides en l'anàlisi estadístic. I a la Fina, per ensenyar-me a pipetejar i introduir-me en el meravellós món dels cultius cel·lulars.

A Nuria, gracias por hacernos hablar de los problemas reales de los pacientes. Ellos no lo saben, pero tienen un tesoro en ese busca que vale su peso en oro.

A todos los becarios de Neuromuscular; Rodrigo, David, Jorge, por el apoyo mutuo incondicional y por las cervezas infinitas en la China, el Alegre o en el bar de enfrente, el sitio da igual cuando se está en buena compañía. Y en especial, claro está, a Cinta y a Elba. Sin vosotras esto no hubiese sido lo mismo. Doy gracias por haberos encontrado en el camino y espero que forméis parte de él durante mucho tiempo. Sois geniales y no debéis olvidarlo nunca.

A Ana, Esther, Patri y Sonia, por hacer que la vida en el laboratorio haya sido tan amena y divertida; aunque parte del equipo se haya mudado, una parte egoísta de mi espera que no sea para mucho. Por supuesto, queda pendiente un viaje a Newcastle.

A tota la meva família de Can Ruti; per ajudar-me no només en la meva formació com a neuròloga, si no en el meu creixement personal. Us recordo amb afecte i il·lusió.

## I AGRADECIMIENTOS

En especial a tots els residents que han compartit amb mi el camí, ara ja neuròlegs adjunts i alguna forense. No puc nombrar-vos a tots perquè no acabaria mai, però en especial, a la Planas, la residència sense tu no hagués sigut la mateixa. Tenir una coR com tu al meu costat va fer les coses molt fàcils. Gràcies per ser com ets.

Als meus pares, per creure en mi i per animar-me a viure. A la meva mare, per ser la dona més forta que conec. Al meu pare, per ensenyar-me a creure en les segones oportunitats que ofereix la vida. A la meva germana, per ser el meu Yang. Us estimo amb bogeria.

A Carlos, por tu espíritu crítico. Por ser capaz de ver la luz al final del túnel o de imaginártela, al menos. Por obligarme a parar cuando yo no quería. Por respetarme y estar a mi lado con condiciones.

Y a los pacientes, que sois el motivo principal y final de nuestras investigaciones, aunque a veces el sistema sanitario y la burocracia haga que se nos olvide la importancia real que tenéis. Porque cada día me enseñáis cosas nuevas y porque espero seguir aprendiendo y emocionándome con vosotros cada día. Esta tesis también es por y para vosotros.







- A**
- AIDP:** Polineuropatía desmielinizante inflamatoria aguda
  - AMAN:** Neuropatía axonal motora aguda
  - AMSAN:** Neuropatía axonal sensitivo- motora aguda
  - ASAN:** Neuropatía sensitivo-atáxica aguda
  - AUC:** Área bajo la curva
- B**
- BHE:** Barrera hemato-encefálica
  - BHN:** Barrera hemato-neural
- C**
- CAMs:** Moléculas de adhesión celular
  - Caspr1:** Proteína asociada a la contactina-1
  - CBA:** *Cell-based assays* (ensayos basados en células)
  - CIDP:** Polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica
  - CJ:** *Campylobacter jejuni*
  - CMAP:** Amplitud del potencial de acción motor compuesto
  - CPA:** Célula presentadora de antígeno
  - CNTN1:** Contactina-1
  - CS:** Controles sanos
  - CV:** Coeficiente de variación
- D**
- DADS:** Variante de CIDP distal adquirida desmielinizante simétrica
  - DE:** Desviación estándar
- E**
- EAN:** Neuritis autoinmune experimental
  - ECN:** Estudios de conducción nerviosa
  - EGOS:** *Erasmus GBS Outcome Score*
  - EGRIS:** *Erasmus GBS Respiratory Insufficiency Score*
  - ELISA:** Ensayo de inmunoadsorción asociado a enzima
- F**
- FcR:** Receptor de la porción Fc de inmunoglobulina
- G**
- GDS:** *Guillain-Barré Disability Score*
- GeoMedia:** Media geométrica
- GFAP:** Proteína ácida fibrilar glial
  - GMSI-P:** Polineuropatía asociada a la gammapatía monoclonal de significado incierto
- H**
- HEK:** Células embrionarias de riñón humano
  - HLA:** Antígeno leucocitario humano
- I**
- IC:** Intervalo de confianza
  - ICC:** Inmunocitoquímica
  - Igev:** Inmunoglobulinas endovenosas
  - IGOS:** *International Guillain-Barré Syndrome Outcome Study*
  - I-RODS:** *Inflammatory Rasch-built Overall Disability Scale*
- M**
- MADSAM:** Variante de CIDP multifocal adquirida desmielinizante sensitiva y motora
  - MAG:** Glicoproteína asociada a la mielina
  - MHC:** Complejo mayor de histocompatibilidad
  - MRC sum score:** *Medical Research Council sum score*
  - mRS:** Escala modificada de Rankin
- N**
- NF140:** Neurofascina-140
  - NF155:** Neurofascina-155
  - NF186:** Neurofascina-186
  - Nav:** Sodio voltaje-dependiente
  - NfH:** Neurofilamentos de cadena pesada
  - NfL:** Neurofilamentos de cadena ligera
  - NMM:** Neuropatía motora multifocal
  - OR:** Odds-ratio
  - PLEX:** Plasmaféresis
  - RIC:** Rango intercuartílico
  - ROC:** *Receiver Operating Characteristic*
  - SiMoA:** *Single-molecule array*
  - SGB:** Síndrome de Guillain-Barré
  - SMF:** Síndrome de Miller-Fisher
  - SNC:** Sistema nervioso central
  - SNP:** Sistema nervioso periférico
  - TLR:** *Toll-like receptors*
  - VPP:** Valor predictivo positivo
  - VPN:** Valor predictivo negativo
- O**
- P**
- R**
- S**
- T**
- V**

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>3</b>
<b>ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS</b> .....	<b>7</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>11</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>13</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>17</b>
<b>1.1. EL NERVIIO PERIFÉRICO</b> .....	<b>19</b>
1.1.1. Estructura del nervio periférico y tipos de fibra nerviosa .....	19
1.1.2. El nodo de Ranvier y estructura de las fibras mielinizadas .....	22
1.1.3. Patología básica del nervio periférico .....	25
1.1.3.1. Degeneración axonal .....	25
1.1.3.2. Desmielinización segmentaria .....	26
1.1.3.3. Nodopatías .....	27
1.1.4. Inmunología del nervio periférico .....	27
1.1.4.1. La barrera hemato-neural .....	28
1.1.4.2. Inmunología celular .....	29
1.1.4.3. Inmunidad humoral .....	30
<b>1.2. NEUROPATÍAS AUTOINMUNES</b> .....	<b>31</b>
1.2.1. Introducción y clasificación .....	31
1.2.2. Síndrome de Guillain-Barré (SGB) .....	31
1.2.2.1. Características clínicas y variantes del SGB .....	34
1.2.2.1.1. <i>SGB típico: polineuropatía inflamatoria desmielinizante aguda (AIDP)</i> .....	35
1.2.2.1.2. <i>Variantes clínicas</i> .....	35
1.2.2.2. Fisiopatología del SGB .....	38
1.2.2.2.1. <i>Histopatología</i> .....	38
1.2.2.2.2. <i>Anticuerpos y mímica molecular</i> .....	41
1.2.2.3. Pronóstico .....	44
1.2.2.3.1. <i>Síntomas residuales</i> .....	44
1.2.2.3.2. <i>Ventilación y mortalidad</i> .....	45
1.2.2.3.3. <i>Marcadores pronósticos</i> .....	46
1.2.2.3.4. <i>Modelos pronósticos</i> .....	46
1.2.3. Polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP) .....	48
1.2.3.1. Características clínicas de la CIDP y sus variantes .....	49
1.2.3.2. Fisiopatología de la CIDP .....	50
1.2.3.2.1. <i>Histopatología</i> .....	51
1.2.3.2.2. <i>Inmunidad celular</i> .....	51
1.2.3.2.3. <i>Inmunidad humoral y anticuerpos en la CIDP</i> .....	53
1.2.3.2.3.1. <i>Anticuerpos contra proteínas de la mielina y los gangliósidos</i> .....	54
1.2.3.2.3.2. <i>Anticuerpos contra proteínas del nodo y paranodo de Ranvier</i> .....	54
1.2.3.2.3.2.1. <i>Anticuerpos anti-neurofascina-155 (NF155)</i> .....	55
1.2.3.2.3.3. <i>Pronóstico</i> .....	57
<b>1.3. BIOMARCADORES EN NEUROPATÍAS AUTOINMUNES</b> .....	<b>58</b>
1.3.1. Marcadores de daño axonal .....	59
1.3.1.1. Neurofilamentos de cadena pesada (NfH) .....	62
1.3.1.2. Neurofilamentos de cadena ligera (NFL) .....	62
1.3.2. Marcadores de daño mielínico .....	63
1.3.3. Biomarcadores genéticos .....	65
<b>1.4. RELEVANCIA CLÍNICA DE LA DETECCIÓN DE AUTOANTICUERPOS Y NEUROFILAMENTOS EN PACIENTES CON NEUROPATÍAS AUTOINMUNES</b> .....	<b>66</b>

<b>2. HIPÓTESIS</b> .....	69
2.1. HIPÓTESIS GENERAL .....	71
2.2. HIPÓTESIS ESPECÍFICAS .....	71
2.2.1. Biomarcadores de daño axonal en el síndrome de Guillain-Barré (SGB).....	71
2.2.2. Respuesta terapéutica, biomarcadores de daño axonal y autoanticuerpos anti-neurofascina-155 en la CIDP .....	71
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	73
3.1. OBJETIVO GENERAL.....	75
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	75
3.2.1. Biomarcadores de daño axonal en el síndrome de Guillain-Barré (SGB).....	75
3.2.2. Respuesta terapéutica, biomarcadores de daño axonal y autoanticuerpos anti-neurofascina-155 en la CIDP .....	75
<b>4. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	77
4.1. PACIENTES Y RECOGIDA DE DATOS.....	79
4.1.1. Pacientes con síndrome de Guillain-Barré.....	79
4.1.2. Pacientes con CIDP con anticuerpos anti-neurofascina-155 (CIDP anti-NF155+) .....	81
4.2. DETERMINACIÓN DE NEUROFILAMENTOS DE CADENA LIGERA .....	82
4.3. DETECCIÓN Y TITULACIÓN DE LOS ANTICUERPOS ANTI-NF155.....	82
4.3.1. Inmunocitoquímica (ICC) .....	82
4.3.2. Titulación y subclases de anticuerpos IgG anti-NF155.....	83
4.4. GENOTIPADO DEL ANTÍGENO LEUCOCITARIO HUMANO (HLA) .....	84
4.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	84
<b>5. RESULTADOS</b> .....	89
5.1. SÍNDROME DE GUILLAIN-BARRÉ .....	91
5.1.1. Características basales de los pacientes.....	91
5.1.2. Asociación de los niveles basales de sNfL con las características de la enfermedad.....	91
5.1.3. Asociación de los sNfL basales con las escalas clínicas de gravedad.....	96
5.1.4. Niveles de sNfL al año .....	97
5.1.5. Asociación de los niveles basales de sNfL y el pronóstico.....	97
5.1.6. Capacidad de los niveles de sNfL para predecir endpoints clínicamente relevantes.....	101
5.2. PACIENTES CON CIDP ANTI-NF155+.....	102
5.2.1. Screening de autoanticuerpos anti-NF155 mediante ensayos basados en células (CBA) .....	102
5.2.2. Características clínicas de los pacientes con CIDP anti-NF155+ .....	103
5.2.3. Respuesta al tratamiento y seguimiento clínico .....	105
5.2.4. Características inmunológicas basales .....	109
5.2.5. Niveles séricos de NfL basales.....	109
5.2.6. Relación entre los títulos de NF155, niveles de sNfL y el estado clínico.....	110
5.2.7. Relación entre los títulos de NF155, niveles de sNfL y respuesta al tratamiento con rituximab: Cinética.....	112
<b>6. DISCUSIÓN</b> .....	117
<b>7. CONCLUSIONES</b> .....	131
<b>8. LÍNEAS DE FUTURO</b> .....	135
<b>9. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	141



El daño axonal es el sustrato patológico de la discapacidad permanente en muchos trastornos neurológicos, entre los que se encuentran las neuropatías autoinmunes. La cuantificación y el seguimiento longitudinal del daño axonal son importantes para evaluar la actividad de la enfermedad, monitorizar la respuesta al tratamiento, así como facilitar el desarrollo de nuevos tratamientos y determinar el pronóstico. Actualmente no existen biomarcadores predictores de respuesta terapéutica o de pronóstico a largo plazo para los pacientes con neuropatías autoinmunes.

En la presente tesis investigamos el valor de los neurofilamentos de cadena ligera en suero (sNfL) en el síndrome de Guillain-Barré (SGB) como biomarcador pronóstico a largo plazo y el valor de los anticuerpos anti-neurofascina-155 (NF155) y de los niveles de sNfL en los pacientes con polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP) con anticuerpos anti-NF155 como biomarcadores de actividad clínica y respuesta terapéutica.

Para ello determinamos los niveles sNfL en 98 pacientes con SGB incluidos prospectivamente en el *International GBS Outcome Study* (IGOS) y realizamos una regresión multivariable para analizar la asociación entre los niveles de sNfL y el resultado funcional al año. Los pacientes con SGB tuvieron niveles de sNfL más altos que los controles sanos (CS) (55.49pg/mL vs 9.83pg/mL,  $p < 0.001$ ) y se correlacionaron con las escalas de gravedad clínica GDS y I-RODS. Los pacientes con una variante motora pura y síndrome de Miller Fisher mostraron niveles de sNfL más altos que los pacientes con un SGB sensitivo-motor, y los pacientes con la variante electrofisiológica AMAN tuvieron niveles de sNfL más altos que otras variantes. Niveles elevados de sNfL basales se asociaron con la incapacidad para correr (OR=1.65; IC del 95%: 1.14-2.40;  $p=0.009$ ) y con una menor puntuación en la escala I-RODS ( $\beta$  -2.60; 95%  $\beta$  -4.66-(-0.54);  $p=0.014$ ) al año. Se calcularon puntos de corte para predecir *endpoints* clínicamente relevantes al año con elevada especificidad: incapacidad para caminar de forma independiente ( $>319$ pg/mL), incapacidad para correr ( $>248$ pg/mL) y capacidad para correr ( $<34$ pg/mL). Por lo tanto, concluimos que los niveles basales de sNfL se asocian a la gravedad de la enfermedad y a las variantes axonales y que los sNfL tienen un valor pronóstico independiente en pacientes con SGB.

En el caso de los pacientes con CIDP anti-NF155+ incluimos 40 pacientes de 24 centros diferentes, en los que se analizaron los niveles de autoanticuerpos y sNfL basales y durante el seguimiento. Los pacientes presentaron una debilidad progresiva (75%), sensitivo-motora (87.5%) y simétrica de predominio distal en las extremidades superiores (97.2%) e inferiores (94.5%), con temblor y ataxia (75%). La respuesta al tratamiento con inmunoglobulinas endovenosas (86.8%) o a los corticosteroides (72.2%) fue escasa en la mayoría de los pacientes, mientras que el 77.3% respondió al tratamiento con rituximab. Se detectó el HLA-DRB1\*15 en el 91.3% de los pacientes. Los anticuerpos IgG4 fueron el isotipo predominante en todos los pacientes y los títulos de anti-NF155 se correlacionaron con la escala mRS dentro del mismo paciente ( $r=0.41$ ,  $p=0.004$ ). Los niveles de sNfL fueron mayores en la CIDP anti-NF155+ que en los CS (36.47pg/mL vs 7.56pg/mL,  $p<0.001$ ) y se correlacionaron con los títulos anti-NF155 ( $r=0.43$ ,  $p=0.001$ ), con la puntuación en la escala I-RODS al inicio ( $r=-0.88$ ,  $p<0.001$ ) y con el máximo I-RODS alcanzado ( $r=-0.58$ ,  $p=0.01$ ). Los títulos de anti-NF155 y los niveles de sNfL disminuyeron en todos los pacientes tratados con rituximab. Por lo tanto, concluimos que la CIDP anti-NF155+ presenta un perfil clínico y de respuesta al tratamiento específico y que el rituximab es eficaz en la CIDP anti-NF155+ resistente al tratamiento. Los títulos de autoanticuerpos y los niveles de sNfL son útiles para monitorizar el estado de la enfermedad en estos pacientes.

Así pues, los dos estudios reportados en la presente tesis demuestran que los biomarcadores son útiles en el manejo clínico de los pacientes con neuropatías autoinmunes, ya sea como biomarcadores de pronóstico a largo plazo, como demuestra el estudio de sNfL en el SGB, o como biomarcadores de actividad clínica y respuesta terapéutica, como demuestra el estudio de sNfL y títulos de anticuerpos anti-NF155 en los pacientes con CIDP anti-NF155+.

Axonal damage is the pathological substrate of permanent disability in many neurological disorders, including autoimmune neuropathies. Quantification and longitudinal follow-up of axonal damage are important to assess disease activity, monitor response to treatment, facilitate the development of new treatments and determine prognosis. Nowadays, there are no biomarkers predictive of therapeutic response or long-term prognosis for patients with autoimmune neuropathies.

In this thesis we investigated the value of serum neurofilament light chain levels (sNfL) in Guillain-Barré syndrome (GBS) patients as a long-term prognostic biomarker and the value of anti-neurofascin-155 (NF155) antibodies and sNfL levels in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy (CIDP) patients with anti-NF155 antibodies as biomarkers of clinical activity and therapeutic response.

For this purpose, we determined sNfL levels in 98 GBS patients prospectively included in the International GBS Outcome Study (IGOS) and we performed multivariable regression to analyze the association between sNfL levels and functional outcome at 1 year. GBS patients had higher sNfL levels than healthy controls (HC) (55.49pg/mL vs 9.83pg/mL,  $p < 0.001$ ). sNfL levels correlated with the GDS and I-RODS scales. Patients with pure motor variant and Miller Fisher syndrome showed higher sNfL levels than patients with sensory-motor GBS and patients with the AMAN electrophysiological variant had higher sNfL levels than other variants. High baseline sNfL levels were associated with inability to run (OR=1.65; 95% CI: 1.14-2.40;  $p = 0.009$ ) and lower I-RODS ( $\beta -2.60$ ; 95%  $\beta -4.66$ -(-0.54);  $p = 0.014$ ) at 1 year. Cut-off points predicting clinically relevant outcomes at one year with high specificity were calculated: inability to walk independently ( $>319$ pg/mL), inability to run ( $>248$ pg/mL) and ability to run ( $<34$ pg/mL). Therefore, we conclude that baseline sNfL levels are associated with disease severity and axonal variants and have an independent prognostic value in GBS patients.

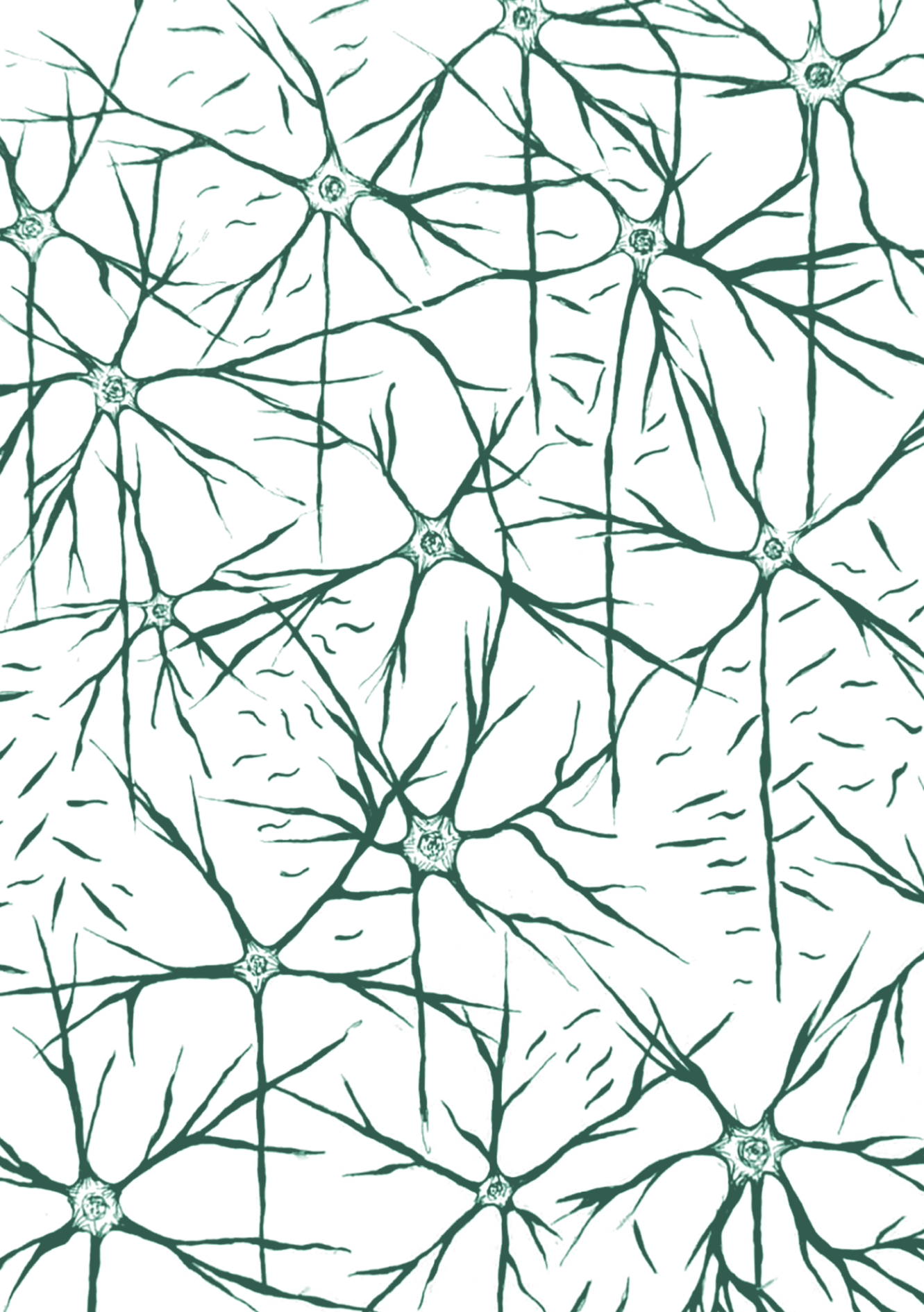
For the study of anti-NF155 CIDP patients, we included 40 patients from 24 different centers, in whom baseline and follow-up sNfL and autoantibody levels were analyzed.



Patients presented progressive (75%), sensory-motor (87.5%) and symmetrical weakness of distal predominance in upper (97.2%) and lower (94.5%) extremities, with tremor and ataxia (75%). Response to intravenous immunoglobulins (86.8%) or corticosteroids (72.2%) was poor in most patients, while 77.3% responded to rituximab. HLA-DRB1\*15 was detected in 91.3% of patients. IgG4 antibodies were predominant in all patients and anti-NF155 titers correlated with mRS within the same patient ( $r=0.41$ ,  $p=0.004$ ). sNfL levels were higher in anti-NF155+ CIDP than in HC (36.47pg/mL vs. 7.56pg/mL,  $p<0.001$ ) and correlated with anti-NF155 titers ( $r=0.43$ ,  $p=0.001$ ), with I-RODS at baseline ( $r=-0.88$ ,  $p<0.001$ ) and with maximum I-RODS achieved ( $r=-0.58$ ,  $p=0.01$ ). Anti-NF155 titers and sNfL levels decreased in all rituximab-treated patients. Therefore, we conclude that anti-NF155+ CIDP presents a specific clinical and treatment response profile, and that rituximab is effective in treatment resistant anti-NF155+ CIDP. Autoantibody titers and sNfL levels are useful to monitor disease status in these patients.

Thus, the two studies reported in the present thesis demonstrate that biomarkers are useful in the clinical management of patients with autoimmune neuropathies, either as biomarkers of long-term prognosis, as demonstrated by the study of sNfL in GBS, or as biomarkers of clinical activity and therapeutic response, as demonstrated by the study of sNfL and anti-NF155 antibody titers in patients with anti-NF155+ CIDP.







# INTRODUCCIÓN





## **1.1. EL NERVIIO PERIFÉRICO**

El nervio periférico forma parte del sistema nervioso periférico (SNP) y se conforma de un haz de fibras nerviosas que transmite información sensitiva y motora entre los tejidos y los órganos del cuerpo y el sistema nervioso central (SNC). Se pueden clasificar como nervios periféricos motores (eferentes), sensitivos (aférentes) o mixtos, en función del tipo de axones de neuronas que los formen.

### ***1.1.1. Estructura del nervio periférico y tipos de fibra nerviosa***

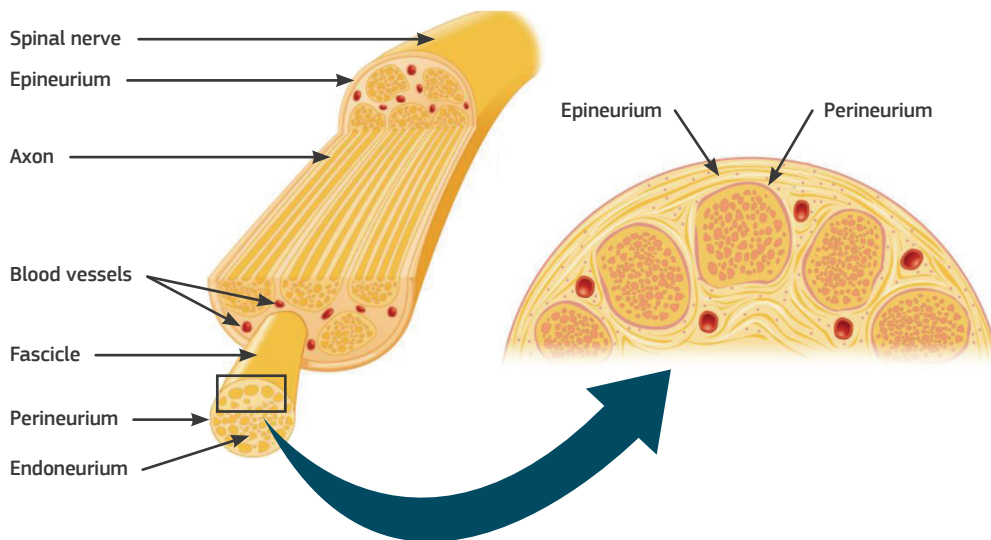
Las fibras nerviosas están compuestas por la asociación de axones y células de Schwann. Los axones son prolongaciones efectoras de las neuronas especializados en la conducción de los impulsos eléctricos. Forman extensiones cilíndricas alargadas y delgadas que se originan en los cuerpos de células neuronales que se encuentran en el cerebro, la médula espinal o la raíz dorsal y los ganglios autónomos y conectan el SNC a los órganos y músculos periféricos. A diferencia de las dendritas, los axones no contienen retículo endoplásmico rugoso, por lo que la síntesis de proteínas se encuentra en el soma neuronal (pericarion) y las proteínas se transportan a lo largo del axón. El axón consta de neurofilamentos, microtúbulos, mitocondrias y vesículas de transporte. Su citoesqueleto está formado principalmente por neurofilamentos intermedios especializados, que están compuestos por tres tipos de subunidades que se polimerizan para formar filamentos no ramificados de aproximadamente 10 nm de diámetro<sup>1</sup>, y los microtúbulos (25 nm de diámetro), compuestos por dímeros de tubulina alfa y beta, que polimerizan para formar un tubo helicoidal de 13 protofilamentos. Estos proporcionan el mecanismo para transportar orgánulos, como las mitocondrias, a lo largo de las considerables distancias desde el cuerpo celular hasta el órgano terminal.

La célula de Schwann es la célula glial de sostén del SNP y tiene funciones de protección y soporte metabólico del axón. Existen dos tipos de células de Schwann: no mielinizantes (células de Remak) o mielinizantes. Estas últimas producen una cubierta con lípidos abundantes a partir de la modificación estructural y bioquímica de su membrana plasmática<sup>2</sup>, llamada vaina de mielina, en forma de espirales concéntricas, que aíslan el axón del compartimento extracelular

## 1 INTRODUCCIÓN

permitiendo la conducción rápida de los impulsos nerviosos. La mielina es una sustancia lipoproteica compuesta por fosfolípidos y glicolípidos como los cerebrósidos, sulfátidos y gangliósidos, y por colesterol.

Las fibras nerviosas están protegidas por un tejido conjuntivo organizado en tres componentes bien definidos: el endoneuro, que rodea cada fibra nerviosa individual; el perineuro, que rodea cada fascículo de fibras nerviosas; y el epineuro, una cubierta de tejido conectivo denso que rodea todo un nervio periférico y llena los espacios entre los fascículos nerviosos, albergando los capilares que irrigan los nervios (*vasa nervorum*) (**figura 1**).



**Figura 1:** Estructura macroscópica del nervio periférico. *Adaptada de Wikimedia Commons*

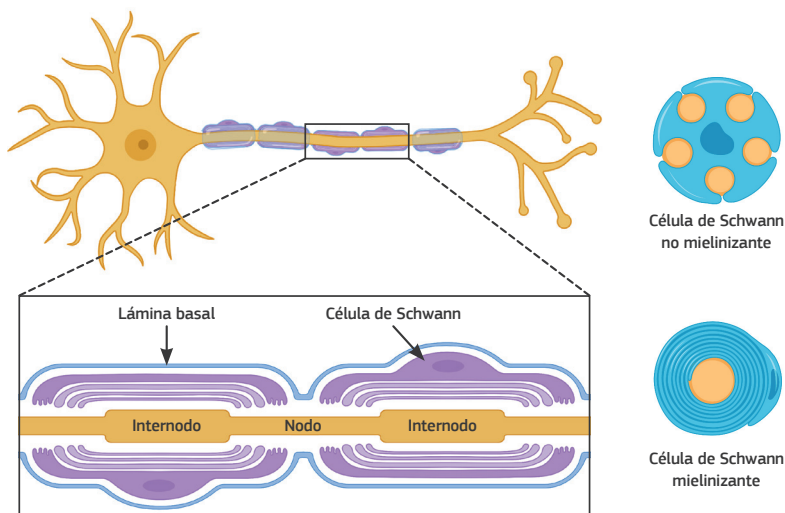
Las características funcionales del axón de una fibra nerviosa determinan su morfología y la de la célula de Schwann que le da soporte. Las fibras nerviosas pueden estar mielinizadas o no y se clasifican en diferentes tipos A, B y C (clasificación de Erlanger y Gasser) en función de sus características morfológicas y funcionales (estructura, diámetro, velocidad de conducción) (**tabla 1**). Su velocidad de conducción depende del diámetro de las fibras y la existencia o no de una vaina de mielina que envuelve el axón. Las fibras mielinizadas gruesas y medianas (A y B) conducen los impulsos motores y las sensaciones del tacto,

presión y propiocepción. Las fibras mielinizadas finas y las fibras amielínicas conducen las sensaciones térmicas, nociceptivas y autonómicas.

Clasificación Erlanger y Gasser	Clasificación numérica	Funciones	Diámetro (µm)	Mielina	VC (m/s)
Aα	Ia	Motor somático, propiocepción (husos musculares)	12-20	Sí	70-120
Aα	Ib	Propiocepción (Órganos de Golgi)	12-20	Sí	70-120
Aβ	II	Tacto, presión	5-12	Sí	30-70
Aγ		Motor (husos musculares)	3-6	Sí	15-30
Aδ	III	Dolor (rápido), temperatura, tacto	2-5	Sí	5-30
B		Preganglionar autonómico	<3	Sí	3-15
C	IV	Dolor (lento), temperatura, mecanorreceptores, postganglionar autonómico	0.2-1.5	No	1-2

**Tabla 1:** Clasificación de los tipos de fibras nerviosas. *Extraída de Marani et al. 2012<sup>3</sup>*

En las fibras nerviosas amielínicas, una célula de Schwann engloba a varios axones pequeños en su citoplasma, dándoles soporte. En las fibras mielinizadas, cada célula de Schwann proporciona mielina a un solo axón, envolviendo un segmento de longitud variable (20-2000µm). Entre dos células de Schwann mielinizantes, persiste un pequeño segmento de axón expuesto de 1-2µm llamado nodo de Ranvier. El espacio entre dos nodos de Ranvier, ocupado por una célula de Schwann, es el espacio internodal o internodo (**figura 2**).

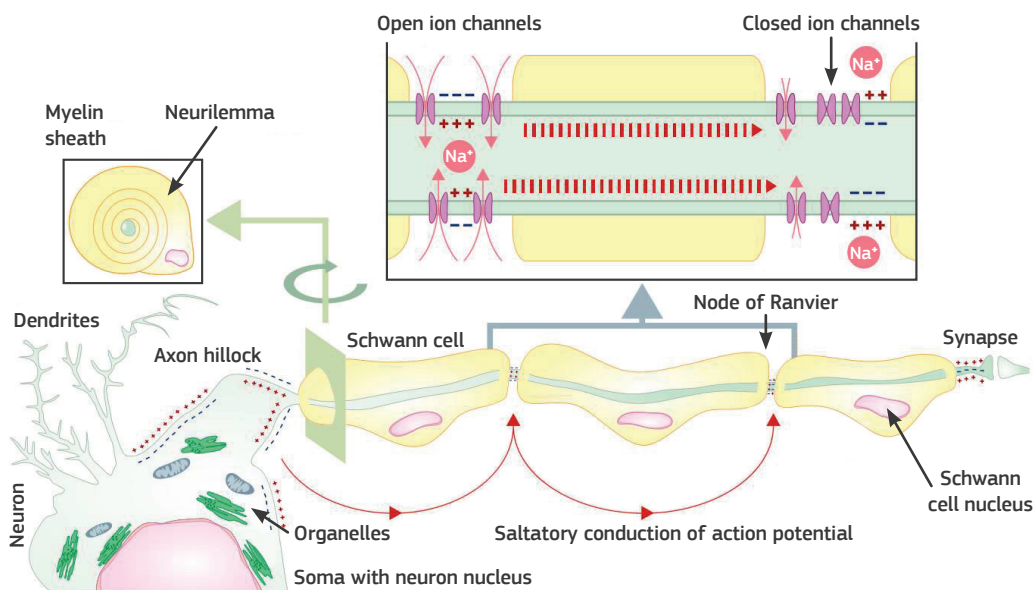


**Figura 2:** Estructura de una fibra mielinizada y tipos de células de Schwann (*creada con BioRender*)



# 1 INTRODUCCIÓN

A nivel molecular, un conjunto complejo de eventos químicos y eléctricos permite la propagación de la señal eléctrica. La membrana del axón está revestida con canales de sodio voltaje-dependientes (Nav), controlados por un sensor de voltaje que responde al nivel del potencial de la membrana. En las fibras amielínicas, la propagación del impulso se produce de forma continua, mientras que en las fibras mielínicas la transmisión de los impulsos se realiza mediante conducción saltatoria entre los nodos de Ranvier (**figura 3**). La despolarización sólo ocurre en las pequeñas áreas no aisladas de la membrana entre los internodos, y el potencial de acción salta de un nodo de Ranvier a otro. En los nodos de Ranvier hay un gran número de canales de Nav (hasta cuatro órdenes de magnitud superior a la densidad de los axones amielínicos <sup>4</sup>), que permiten que los potenciales de acción se regeneren de forma eficaz en ellos. Este tipo de conducción es más rápida y requiere menos energía que la propagación continua de la excitación nerviosa.

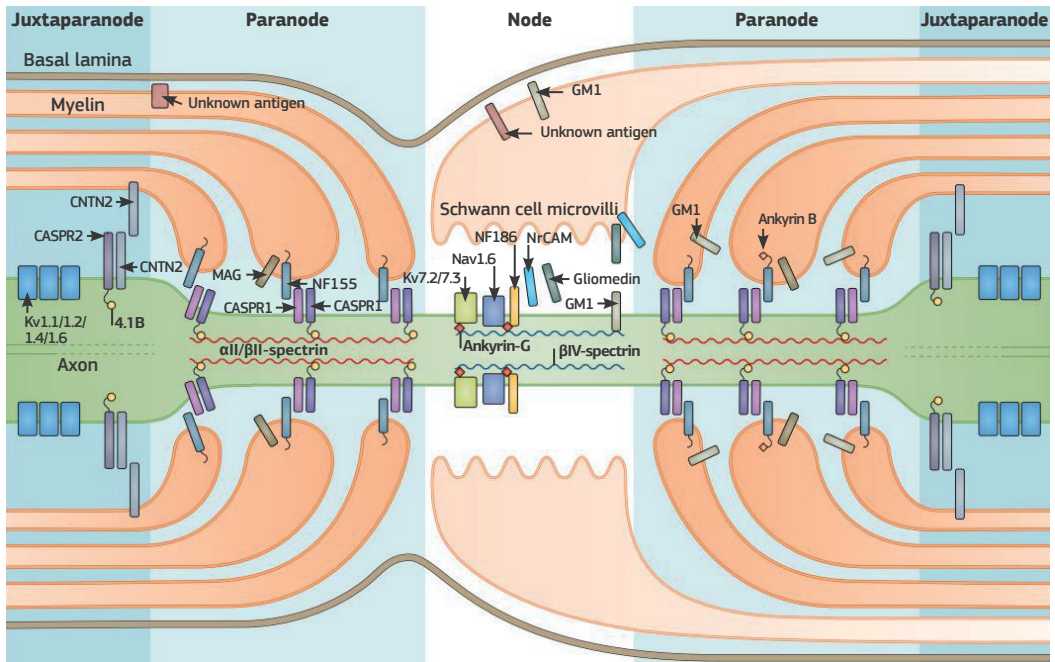


**Figura 3:** Propagación del potencial de acción en una fibra mielinizada. *Adaptada de Wikimedia Commons.*

## 1.1.2. El nodo de Ranvier y estructura de las fibras mielinizadas

Las fibras mielinizadas se organizan en su unión axo-glial mediante una serie de dominios de membrana con características funcionales específicas: el nodo de Ranvier y sus regiones

adyacentes, los paranodos y yuxtaparanodos (**figura 4**). La función del axón y su integridad dependen de esta organización en dominios <sup>5</sup>.



**Figura 4:** Nodo de Ranvier. *Adaptada de Querol et al. 2017*<sup>14</sup>

Los **nodos de Ranvier** son dominios axonales flanqueados por uniones paranodales y son característicos de las fibras mielinizadas del sistema nervioso. A diferencia de los internodos, su membrana axonal no está envuelta por mielina, aunque se encuentra en contacto directo con las microvellosidades de las células de Schwann; de esta forma, el axón se encuentra expuesto y se comunica con el ambiente extracelular. Su diámetro varía entre 1 a 2  $\mu\text{m}$ , siendo de menor tamaño que el internodo, lo que sugiere una reducción de la fosforilación y/o un empaquetamiento mayor de los neurofilamentos en los nodos <sup>6</sup>. Los nodos de Ranvier permiten la propagación saltatoria rápida de los potenciales de acción gracias a la presencia de grupos de canales de Nav y la propiedad capacitiva de la mielina <sup>7</sup>. La subunidad  $\alpha$  predominante en el nodo es Nav1.6 <sup>8,9</sup>, pero también contienen canales de K, encargados de estabilizar el potencial de reposo <sup>10</sup>. Ambos tipos de canales quedan anclados al citoesqueleto axonal gracias a proteínas estructurales como las anquirinas y la  $\beta\text{IV}$ -espectrina.

## 1 INTRODUCCIÓN

En el nodo de Ranvier también encontramos moléculas de adhesión celular (CAMs) que actúan como puente entre las células de Schwann y el citoesqueleto del axón. Entre ellas se encuentran la NrCAM y la isoforma de neurofascina de 186 kDa (NF186)<sup>11</sup>, que se unen a la gliomedina, una proteína de matriz glial sintetizada por las células de Schwann que promueve la formación de los nodos en el SNP<sup>5,12</sup>. La localización nodal de los canales de Nav viene determinada por estas interacciones axo-gliales<sup>13</sup>, sugiriendo que la célula de Schwann es la responsable del agrupamiento de los canales de Na y del mantenimiento de la estructura del nodo de Ranvier.

En las regiones directamente adyacentes a los nodos, denominadas **paranodos**, los bucles de mielina forman una unión estrecha, similar a un tabique, con la membrana axonal<sup>15</sup>. Estas uniones axo-gliales están formadas por complejos entre las proteínas axonales contactina-1 (CNTN1) y la proteína asociada a la contactina-1 (Caspr1), ambas proteínas de membrana en el axolema que forman un dímero, y la isoforma 155 de la neurofascina (NF155), expresada en los bucles paranodales de la célula de Schwann<sup>16</sup>. La unión de este complejo permite la separación entre los canales de potasio del yuxtaparanodo y los canales de Nav del nodo de Ranvier<sup>17</sup>.

La región contigua al paranodo es el denominado **yuxtaparanodo**, donde existe una alta concentración de canales iónicos de potasio voltaje-dependientes (principalmente Kv1.1 y Kv1.2), que permiten reestablecer el potencial de membrana de reposo después de un potencial de acción. Su anclaje al citoesqueleto del axón se realiza mediante la proteína de anclaje 4.1.B y las isoformas  $\alpha$ II y  $\beta$ II de la espectrina y está mediado por el complejo formado por la proteína asociada a contactina-2 (Caspr2) y la glicoproteína axonal transitoriamente expresada 1 (TAG1), también conocida como contactina-2 (CNTN2).

El **internodo** es la zona comprendida entre dos yuxtaparanodos y es el dominio estructural más extenso en la superficie de una fibra mielinizada. También contiene CAMs que ayudan a estabilizar la unión axo-glial: nectin-like CAMs como las Necl1, Necl2 y Necl4 y la glicoproteína asociada a mielina (MAG) (**tabla 2**).

	Nodo de Ranvier	Paranodo	Yuxtaparanodo	Internodo
<b>Célula de Schwann</b>	Gliomedina Laminina HSPGs Colágeno V	NF155	TAG1	Necl2 y 4 MAG
<b>CAMs axonales</b>	NF186 NrCAM	CNTN1 Caspr1	TAG1 Caspr2	Necl1 y 2
<b>Canales axonales</b>	Nav1.6 KCNQ2,3		Kv1.1 Kv1.2	
<b>Citoesqueleto axonal</b>	AnquirinaG βIV-espectrina	4.1.B AnquirinaB αII/βII-espectrina	4.1.B αII/βII-espectrina	

**Tabla 2:** Organización y composición de los dominios de las fibras mielinizadas del SNP.  
*Adaptada de Salzer et. al. 2008<sup>5</sup>.*

La organización de la fibra nerviosa mielinizada en los diferentes dominios descritos previamente permite la conducción saltatoria de los impulsos nerviosos, ya que, para una propagación eficiente del potencial de acción, es crucial que los canales de Na y K voltaje-dependientes permanezcan en regiones distintas. La ausencia de algunas proteínas encargadas de la unión axo-glial o de la agrupación de los canales Nav o K provoca una alteración de la conducción saltatoria en modelos animales<sup>18</sup>.

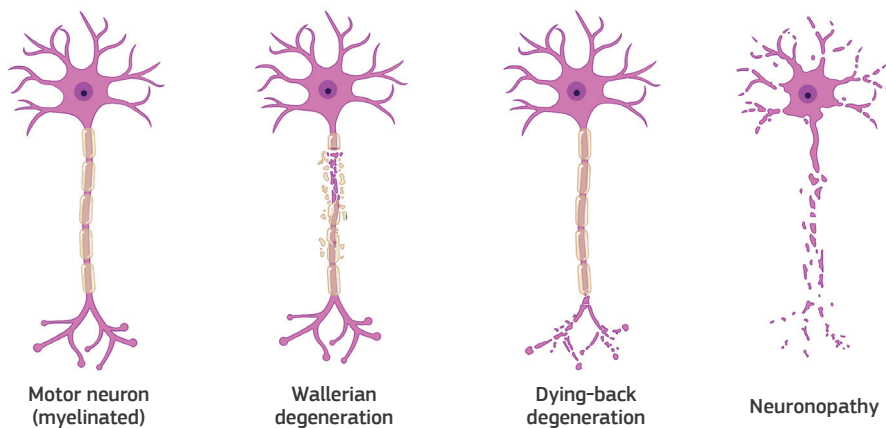
### **1.1.3. Patología básica del nervio periférico**

Desde un punto de vista neuropatológico, las neuropatías se pueden clasificar en axonales, desmielinizantes, combinadas (mixtas) o por afectación primaria de la neurona. Recientemente, la reciente aparición del concepto de nodopatía<sup>19</sup> ha revolucionado la clasificación clásica de las neuropatías.

#### **1.1.3.1. Degeneración axonal**

La enfermedad afecta primariamente a los axones produciendo una degeneración axonal y secundariamente una ruptura de la vaina de mielina. La degeneración axonal se puede inducir por 3 mecanismos diferentes (**figura 5**):

1. Degeneración Walleriana: degeneración axonal distal al sitio de transección del nervio<sup>20</sup>. Los mecanismos de regeneración se producen a través de un aumento de células de Schwann, que se inician de forma distal al sitio de la transección y se inicia un proceso de regeneración de forma temprana pero lenta (2-3 mm/día; “*axonal sprouting*”).
2. Axonopatía o “*Dying-back degeneration*”: degeneración distal de los axones por un trastorno metabólico en el axón con un fallo del transporte axonal<sup>21</sup>. Su efecto clínico es la polineuropatía simétrica y es el mecanismo más frecuente de las neuropatías tóxicas o metabólicas.
3. Neuronopatía: degeneración axonal por una alteración morfológica o metabólica del cuerpo neuronal. Se puede afectar la segunda neurona motora o las neuronas sensitivas primarias y las manifestaciones clínicas derivarán del tipo de neurona afectada.



**Figura 5:** Mecanismos de degeneración axonal (creada con Biorender)

Además, puede existir una degeneración axonal secundaria después de un proceso desmielinizante primario, cuyo mecanismo más probable es la degeneración Walleriana, en las zonas en las que se produce una desmielinización segmentaria severa<sup>22</sup>.

### 1.1.3.2. Desmielinización segmentaria

En las neuropatías donde el proceso primario es la desmielinización, se produce un daño en la vaina de la mielina en los segmentos internodales, con preservación de los axones<sup>23</sup>. La desmielinización acostumbra a iniciarse en los nodos de Ranvier y puede ser inducida por cambios metabólicos de las células de Schwann, invaginación de la mielina (por ejemplo, en neuropatías

compresivas), formación de edema en la vaina de mielina o descamación de la misma por linfocitos activados o macrófagos, como ocurre en el síndrome de Guillain-Barré (SGB). En los casos en los que se produce de forma repetida desmielinización y remielinización, las células de Schwann se dividen y algunas de ellas son incapaces de encontrar un segmento de axón que envolver, de manera que se separan y crean una capa fina alrededor de las fibras, formándose las células de Schwann en bulbos de cebolla (*"onion bulbs"*).

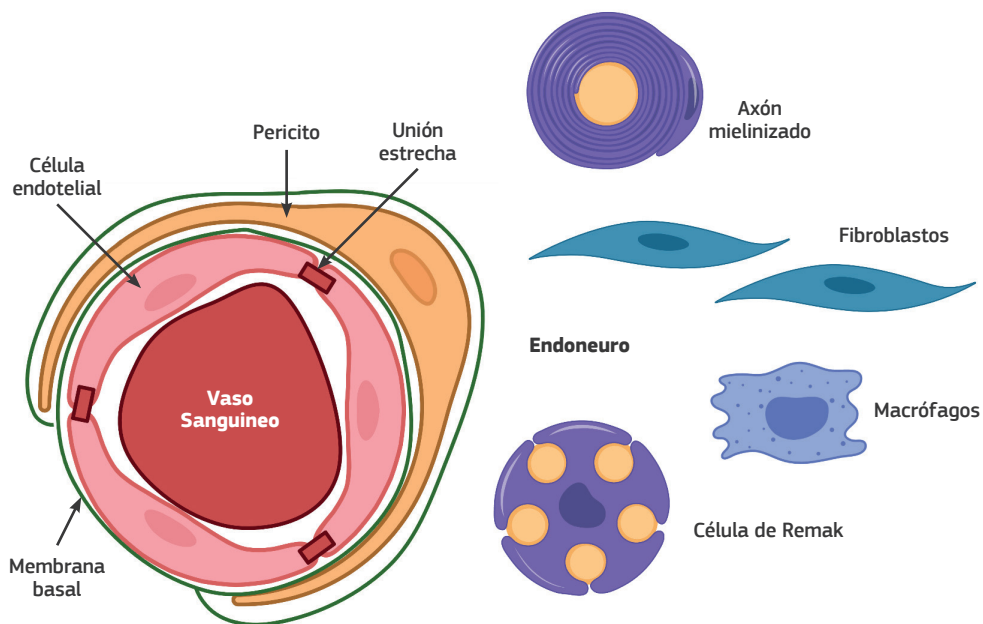
### **1.1.3.3. Nodopatías**

Recientemente, la nodopatía se ha introducido como un concepto nuevo en la fisiopatología de las neuropatías inmunomediadas<sup>19,24,25</sup>. Este concepto nace del descubrimiento de la participación de la región nodal en la fisiopatología de las neuropatías inmunomediadas y de la necesidad de reformular la clasificación de las neuropatías como desmielinizantes o axonales en aquellos pacientes en los que no hay afectación desmielinizante clara ni denervación en el estudio de aguja, pero en los que existe una caída de la amplitud de los potenciales motores en la neurografía, traduciendo un fallo de la conducción motora que es reversible cuando mejora el cuadro. Este concepto permite establecer un continuo fisiopatológico desde el bloqueo transitorio de la conducción nerviosa hasta la degeneración axonal; ya que el bloqueo de la conducción puede ser rápidamente reversible sin que se desarrolle una dispersión temporal excesiva y, eventualmente, la degeneración axonal puede ser la consecuencia del bloqueo de conducción primario. El término nodopatía se centra en el sitio de la lesión del nervio primario, evita la confusión con las neuropatías desmielinizantes segmentarias y elude la aparente paradoja de que algo axonal pueda ser reversible y tener un buen pronóstico<sup>26</sup>, como ocurre clásicamente en algunos pacientes con una neuropatía axonal motora aguda.

### **1.1.4. Inmunología del nervio periférico**

La interacción del sistema inmunológico con los nervios periféricos contribuye al desarrollo de neuropatías inflamatorias, infecciosas o paraneoplásicas. Los efectores del sistema inmunológico tanto celular como humoral están implicados e incluyen células T, células NK, macrófagos, anticuerpos y proteínas del complemento.

1.1.4.1. La barrera hemato-neural



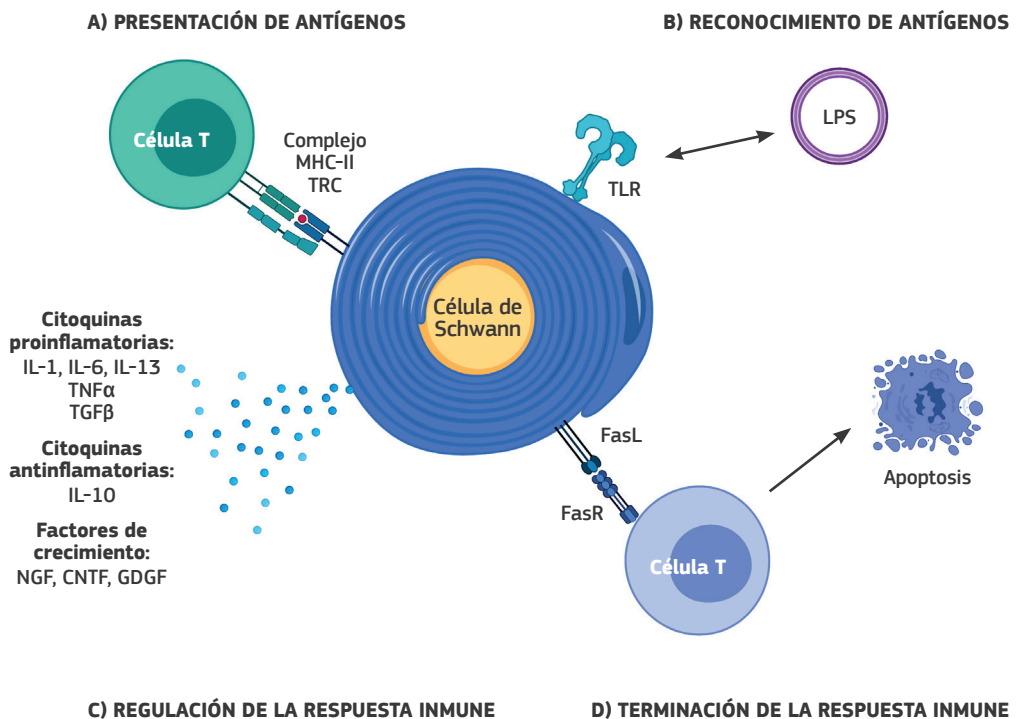
**Figura 6:** Componentes de la barrera hemato-neural (adaptada de Richner et al. 2019<sup>31</sup>, creada con Biorender).

En la figura se observa un vaso sanguíneo endoneural individual rodeado por células endoteliales, pericitos y la membrana basal. La BHN está expuesta a las células y moléculas que circulan en la sangre, protegiendo los componentes del endoneuro (células de Remak, axones mielinizados, macrófagos residentes y fibroblastos) de los factores tóxicos.

El nervio periférico está aislado del sistema inmune por la barrera hemato-neural (BHN), equivalente a la barrera hemato-encefálica (BHE) en el SNC. Su integridad es fundamental para la homeostasis del sistema inmune en el SNP e implica que éste sea considerado un sistema “inmuno-privilegiado”. Aun así, su aislamiento es menor que el de la BHE<sup>27,28</sup>, por lo que algunos autores han sugerido que el término “interfaz hemato-nerviosa” sería más apropiado<sup>29</sup>. La BHN se encuentra en la capa más interna del perineuro y está formada por células endoteliales de los vasos endoneurales, conectadas por uniones estrechas, por pericitos y por una membrana basal<sup>30</sup> (**figura 6**). A nivel proximal, en las raíces nerviosas y el ganglio raquídeo dorsal, así como en sus segmentos más distales, donde se encuentra la unión neuromuscular, la BHN no está presente y, por tanto, estas áreas están más expuestas a moléculas y células circundantes.

### 1.1.4.2. Inmunología celular

La sensibilización de los linfocitos T en el nervio periférico implica el reconocimiento de péptidos con epítopos antigénicos expresados en el endoneuro. La célula T es activada gracias a las células presentadoras de antígeno (CPA), como los macrófagos<sup>32</sup> o las células de Schwann<sup>33,34</sup>. Tras su activación, las células T secretan citoquinas proinflamatorias (IL2, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ )<sup>35</sup> que contribuyen a propagar la respuesta inmune e iniciar su expansión clonal, así como la activación de los macrófagos endoneurales o migrantes, que participan en la actividad fagocítica y citotóxica contra la mielina o las células de Schwann.



**Figura 7:** Acciones de la célula de Schwann en el sistema inmune.

*Adaptada de Hörste et al, 2008<sup>33</sup> y creada con BioRender.*

Las células de Schwann participan activamente en las respuestas inmunitarias innata y adaptativa (**figura 7**). Éstas expresan receptores de reconocimiento de patrones, como los receptores tipo Toll (TLR)<sup>36</sup>, que les permite reconocer señales de peligro exógenas y endógenas. Además, controlan la respuesta de las células T actuando como CPAs, como



## 1 INTRODUCCIÓN

demuestran las biopsias de nervio de pacientes con SGB y CIDP, donde se observa una tinción positiva para MHC de clase II en ellas <sup>37,38</sup>. Tras ser activadas, pueden producir y secretar citoquinas <sup>39</sup>, óxido nítrico <sup>40</sup> y CAMs <sup>41</sup>, que ayudan a amplificar la respuesta atrayendo a otras células, como los macrófagos. Por otro lado, también pueden producir citoquinas antiinflamatorias, ayudando a prevenir la sobreactivación de la respuesta inmune <sup>42</sup>, y pueden terminarla promoviendo la apoptosis de las células T <sup>43</sup>.

Uno de los más conocidos ejemplos de inmunidad celular en el nervio periférico es la neuritis aguda experimental (EAN). La EAN puede ser inducida mediante la sensibilización del nervio periférico por diferentes proteínas mielínicas como la proteína P2 <sup>44,45</sup>, PO <sup>46</sup> o la galactocerebrosidasa <sup>47</sup>. Los animales desarrollan una enfermedad monofásica que consiste en debilidad y ataxia, donde los nervios periféricos son infiltrados por macrófagos y células T.

### **1.1.4.3. Inmunidad humoral**

Uno de los mecanismos clave de la patogénesis de la desmielinización inmunomediada del nervio periférico es la respuesta aberrante de las células B contra glicolípidos y glicoproteínas. Los anticuerpos pueden dañar la mielina mediante diferentes mecanismos: uniéndose al receptor Fc de los macrófagos e induciendo citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos; al opsonizar las estructuras diana, promoviendo su internalización por los macrófagos; o, al unirse a los epítomos antigénicos, activando la vía clásica del complemento <sup>48</sup>; dando como resultado la formación de poros, y permitiendo la entrada de calcio y liberación de proteasas.

El paradigma clásico del papel de la inmunidad humoral en el nervio periférico son los anticuerpos antigangliósido en el SGB, pero la presencia de anticuerpos contra gangliósidos o glucolípidos también se han descrito en la CIDP, en la neuropatía motora multifocal (NMM) y en las neuropatías atáxicas crónicas <sup>49</sup>. Además, aproximadamente el 50% de los pacientes con neuropatía asociada a gammapatía monoclonal tiene anticuerpos IgM anti-MAG <sup>50</sup>. Recientemente, se han descrito varios autoanticuerpos que reconocen diferentes antígenos

localizados en el paranodo y el nodo de Ranvier en la CIDP y que se asocian a fenotipos clínicos específicos<sup>51,52</sup>. La patogenicidad de estos anticuerpos ha sido demostrada en algunos casos específicos, como en los anticuerpos antigangliósido (GQ1b o GD1b) en el SGB<sup>53,54</sup> y en los anticuerpos paranodales anti-neurofascina-155 y anti-contactina-1 en la CIDP<sup>55,56</sup>.

## **1.2. NEUROPATÍAS AUTOINMUNES**

### **1.2.1. Introducción y clasificación**

Las neuropatías inflamatorias o autoinmunes son un grupo heterogéneo de enfermedades raras del SNP caracterizadas por la disfunción y el daño de diferentes estructuras de los nervios periféricos. Su diagnóstico se basa en criterios clínicos y electrofisiológicos, lo que determina una gran heterogeneidad en su espectro clínico. Existen formas agudas englobadas en el síndrome de Guillain-Barré (SGB) y sus variantes, y crónicas como la polirradiculoneuropatía inflamatoria desmielinizante crónica (CIDP), la neuropatía motora multifocal (NMM) o la polineuropatía asociada a gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI-P). La presencia de infiltrados inflamatorios en nervios y raíces<sup>57</sup> así como su respuesta a tratamientos inmunomoduladores<sup>58</sup>, apoyan su patogenia autoinmune.

### **1.2.2. Síndrome de Guillain-Barré (SGB)**

El SGB es una neuropatía inflamatoria autoinmune aguda caracterizada por una debilidad flácida simétrica y ascendente con hiporreflexia o arreflexia, de curso subagudo y monofásico, que alcanza su nadir en las primeras 4 semanas, si bien el 70% de los pacientes lo alcanza en 2 semanas. Aunque se trata de una neuropatía rara, es la neuropatía parálitica aguda más común y más grave; en una revisión sistemática de estudios de América del Norte y Europa, su incidencia varió de 0.81 a 1.89 casos por 100.000 personas-año<sup>59</sup>. Su incidencia aumenta con la edad (un 20% por cada década) y es más común en hombres que en mujeres, siendo el riesgo relativo 1.78 (IC 95% 1.36-2.33) veces mayor en los hombres<sup>60,61</sup>. Se desconocen las razones de la distribución por edad y sexo, que no son las típicas de una enfermedad autoinmune.

## 1 INTRODUCCIÓN

Dos tercios de los pacientes presentan un antecedente de infección previa, principalmente infecciones respiratorias de vías altas o gastroenteritis<sup>60</sup>. Se ha descrito su asociación con muchos patógenos<sup>49</sup>, pero los más frecuentes son el *Campylobacter jejuni* (CJ) (30-40%)<sup>62</sup> y el *Citomegalovirus* (CMV) (10%)<sup>63</sup>. Otros patógenos como el *Mycoplasma*, *Haemophilus*, el virus *Zika*<sup>64</sup> o la *Hepatitis E*<sup>65</sup> también se han asociado a SGB. Otro mecanismo causal descrito en la literatura son las vacunas; en las que sólo se ha demostrado su relación con las primeras campañas masivas de vacunación de la gripe<sup>66</sup>, y no se ha demostrado un claro mecanismo causal en vacunaciones posteriores<sup>67</sup>.

Los síntomas del SGB son variables, aunque en la forma típica predomina una debilidad subaguda de predominio proximal relativamente simétrica que puede progresar rápidamente y afectar a la musculatura craneal, bulbar y respiratoria. Aunque los criterios clínicos clásicos hablan de una ausencia de síntomas sensitivos, la mayoría de los pacientes refieren algún tipo de síntoma sensitivo, como acroparestesias<sup>68</sup>. Los síntomas craneales más frecuentes son la parálisis facial (hasta en un 70% de los casos) y otros síntomas comunes son la disfunción autonómica (como hipertensión o fluctuaciones prominentes en la tensión arterial o el ritmo cardíaco, o hiperhidrosis)<sup>69</sup> y el dolor (como síntoma precedente al inicio de la debilidad en un tercio de los pacientes, en la fase aguda de los síntomas y también como dolor crónico)<sup>70</sup>.

El diagnóstico de la enfermedad es fundamentalmente clínico<sup>71,72</sup> y se realiza en base a las características clínicas, la evolución y la ausencia de enfermedades concomitantes, así como diversos factores que apoyan el diagnóstico, entre los que se encuentran los estudios neurofisiológicos y la disociación albumino-citológica en la punción lumbar. Estos criterios se basan en los criterios definidos inicialmente por Asbury y Cornblath<sup>73</sup>, posteriormente ampliados a los criterios de Brighton<sup>72,74</sup> (**tablas 3 y 4**).

Hallazgos necesarios
Debilidad progresiva bilateral de brazos y piernas (inicialmente pueden estar involucradas sólo piernas)
Reflejos musculares profundos ausentes o disminuidos en las extremidades afectadas (en algún momento de la evolución clínica)
Hallazgos que respaldan firmemente el diagnóstico (criterios de apoyo)
Alcance del nadir de días a 4 semanas (generalmente <2 semanas)
Simetría relativa de síntomas y signos
Síntomas y signos sensitivos relativamente leves (ausentes en la variante motora pura)
Afectación de pares craneales, especialmente parálisis facial bilateral
Disfunción autonómica
Dolor muscular o radicular en la espalda o en las extremidades
Aumento del nivel de proteínas en LCR; niveles normales de proteínas no descartan el diagnóstico
Características electrofisiológicas de neuropatía motora o sensitivo-motora (la electrofisiología normal en las primeras etapas no descarta el diagnóstico)

**Tabla 3:** Criterios diagnósticos del SGB. *Adaptado de Willison et al. 2016*<sup>75</sup>

Criterios diagnósticos	Nivel de certeza diagnóstica			
	1	2	3	4
Debilidad flácida bilateral de las extremidades	+	+	+	+/-
Arreflexia o hiporreflexia en las extremidades débiles	+	+	+	+/-
Curso monofásico y nadir entre 12h y 28 días	+	+	+	+/-
<50 células en LCR	+	+ <sup>a</sup>	-	+/-
Proteínas en LCR por encima de los valores normales	+	+/- <sup>a</sup>	-	+/-
ECN compatible con alguna variante del SGB	+	+/-	-	+/-
Ausencia de un diagnóstico alternativo	+	+	+	+

**Tabla 4:** Criterios diagnósticos de Brighton. *Adaptado de Fokke et al, 2014*<sup>74</sup>

**a:** Si no hay disponibilidad de LCR, los estudios de conducción nerviosa (ECN) deben ser compatibles con un SGB

El tratamiento específico del SGB es útil en cualquiera de las variantes del SGB y se basa fundamentalmente en dos terapias: las inmunoglobulinas endovenosas (Igev) y la plasmaféresis<sup>76,77</sup>. La plasmaféresis fue el primer tratamiento que demostró eficacia en reducir la gravedad del SGB y en la mejora de su pronóstico<sup>78</sup> y, posteriormente, un ensayo clínico aleatorizado demostró que ambos tratamientos tienen una eficacia similar cuando se utilizan 5 recambios plasmáticos en comparación con la dosis estándar de Igev (2g/kg)<sup>79</sup>. La comodidad de la administración y su mejor disponibilidad han hecho que las Igev se conviertan en el tratamiento estándar del SGB.

## 1 INTRODUCCIÓN

Se ha descrito que algunos pacientes presentan un empeoramiento clínico tras la primera dosis de Igev (fluctuaciones relacionadas con el tratamiento) y algunos autores han propuesto como posible mecanismo una disminución de la concentración de inmunoglobulinas en sangre, por lo que en estos casos se planteaba la opción de administrar una segunda dosis de Igev. Recientemente se han publicado los resultados de un ensayo aleatorizado a recibir una segunda dosis de Igev en pacientes con mal pronóstico y que ha resultado negativo: no se han observado diferencias en eficacia clínica y los pacientes que recibieron una segunda dosis de Igev tuvieron más efectos adversos, incluyendo más eventos tromboembólicos<sup>80</sup>.

Los corticoides no han demostrado efectividad en el SGB<sup>81</sup>, aunque existen algunas series de casos en los que el uso de bolus de metilprednisonola ev como terapia añadida podría ser efectiva<sup>82,83</sup>, particularmente, en pacientes que presentan un SGB como complicación neurológica tras tratamiento con inhibidores de los puntos de control inmunitarios<sup>84,85</sup>.

### **1.2.2.1. Características clínicas y variantes del SGB**

La clasificación de las variantes del SGB atendiendo a criterios electrofisiológicos es la más utilizada. Los subtipos más comunes son la polineuropatía inflamatoria desmielinizante aguda (AIDP) y la neuropatía motora axonal aguda (AMAN), pero existen otras variantes clínicas menos frecuentes (**tabla 5**), como la neuropatía sensitivo-atáxica aguda (ASAN), el síndrome de Miller-Fisher (SMF) o la encefalitis de Bickerstaff y las variantes loco-regionales. Existe una diferencia notable en la distribución geográfica de los subtipos de SGB: en Europa y América del Norte el SGB desmielinizante representa hasta el 90% de los casos<sup>86</sup>, mientras que en China, Japón, Bangladesh y Méjico<sup>87-89</sup>, la variante AMAN representa el 35-65% de los casos.

Subtipos y variantes clínicas del SGB	Anticuerpo antigangliósido
<b>Polineuropatía aguda inflamatoria desmielinizante (AIDP)</b>	No
<b>Neuropatía axonal motora aguda (AMAN)</b>	GM1, GD1a
<b>Neuropatía axonal sensitivo-motora aguda (AMSAN)</b>	GM1, GD1a
<b>SGB sensitivo</b>	GD1b
<b>Neuropatía sensitivo-atáxica aguda (ASAN)</b>	Disialosil
<b>Síndrome de Miller-Fisher</b>	GQ1b, GT1a
<b>Encefalitis de Bickerstaff</b>	GQ1b, GT1a
<b>Variante faringo-cérvico-braquial</b>	GT1a
<b>Diplejía facial con parestesias</b>	No
<b>Variante paraparética</b>	No
<b>Pandisautonomía aguda</b>	No

**Tabla 5:** Espectro clínico del síndrome de Guillain-Barré y anticuerpos antigangliósidos asociados

#### 1.2.2.1.1. SGB típico: polineuropatía inflamatoria desmielinizante aguda (AIDP)

Durante muchos años y desde su descripción original, el SGB se consideró un trastorno único y se denominó polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria aguda (AIDP, por sus siglas en inglés). Además, los criterios diagnósticos del SGB se han basado en las características clínicas y electrofisiológicas de la AIDP. Ésta se caracteriza electrofisiológicamente por la presencia de rasgos desmielinizantes en la neurografía motora, destacando la presencia de latencias distales alargadas, velocidades de conducción reducidas, bloqueos de la conducción o dispersión del potencial motor y aumento de latencia o desaparición de las respuestas F, en ausencia de caídas de amplitud generalizadas y denervación. Todo ello puede no estar presente al inicio de la enfermedad y por tanto, en caso de sospecha clínica y estudio electrofisiológico precoz normal es conveniente valorar su repetición<sup>73</sup>.

#### 1.2.2.1.2. Variantes clínicas

**Variantes axonales: Neuropatía axonal motora aguda (AMAN) y neuropatía axonal sensitivo-motora aguda (AMSAN).**

Desde los primeros casos de SGB descritos por Guillain, Barré y Strohl en Francia en 1916<sup>90</sup>, el SGB fue considerado siempre como una enfermedad única. Este concepto cambió en

## 1 INTRODUCCIÓN

los años 1990, cuando se reportaron casos axonales en el norte de China y se acuñó el concepto de AMAN<sup>91-93</sup>. En comparación con la AIDP, las variantes axonales tienen una menor frecuencia de afectación craneal, menor frecuencia de afectación sensitiva y disautonomía<sup>94</sup> y su progresión clínica y tiempo hasta el nadir es más rápido<sup>95</sup>.

La mayoría de los casos están precedidos por una enfermedad gastrointestinal con diarrea y, específicamente, se asocia a la infección por CJ<sup>62,96,97</sup>. Sus síntomas son predominantemente motores y los hallazgos electrofisiológicos son compatibles con daño axonal, presentando caída de amplitudes de los potenciales motores, así como presencia de signos de denervación en el estudio de aguja, en ausencia de desmielinización<sup>98</sup>, lo que implica un proceso similar o idéntico al AMSAN, con la excepción de los potenciales sensitivos normales<sup>91-93</sup>.

La variante AMSAN del SGB presenta un patrón clínico y epidemiológico similar al de la variante motora pura y se diferencia de ella por la presencia de síntomas sensitivos más prominentes. El estudio electrofisiológico presenta características axonales en las neurográficas motoras y sensitivas, en ausencia de rasgos desmielinizantes. Este síndrome representa una variante de SGB que es clínicamente indistinguible de los casos típicos, aunque muy agudos, pero en los que los axones son el objetivo de la reacción inmunitaria.

La evidencia sugiere que AMAN y AMSAN comparten un perfil inmunológico común y representan un continuo dentro del espectro del SGB axonal<sup>99,100</sup>, ya que la presencia de anticuerpos anti-gangliósido anti-GM1 y anti-GD1a se asocia fuertemente a las dos formas axonales<sup>49,100-102</sup>. Además, se ha demostrado que la afectación de las fibras sensitivas que distingue a las dos variantes axonales suele estar implicada de forma subclínica en pacientes con AMAN<sup>103</sup>.

### **Variantes sensitivas puras y atáxicas: síndrome de Miller-Fisher (SMF) y neuropatía sensitivo-atáxica aguda (ASAN)**

El SMF, caracterizado por la tríada clásica de oftalmoparesia, ataxia y arreflexia con anticuerpos anti-GQ1b positivos<sup>104</sup>, es la más frecuente de ellas. Representa

aproximadamente el 5% de los casos de SGB en América del Norte y Europa, pero es más frecuente en Asia Oriental (hasta un 20-25% de los pacientes)<sup>104,105</sup>. La diplopía suele ser el primer síntoma, seguido de la ataxia de las extremidades o de la marcha, aunque pueden encontrarse formas parciales con ataxia u oftalmoparesia aislada. Los movimientos de las extremidades de gran amplitud, descoordinados y escasamente métricos son indistinguibles de una ataxia eferente cerebelosa y, de hecho, se ha postulado que se pueda asociar una afectación central cerebelosa<sup>106-108</sup>. En general, el SMF es considerado como un cuadro benigno y autolimitado; aunque también puede aparecer debilidad bulbar y complicaciones respiratorias.

Una variante del SMF en la que aparece afectación central con alteración del nivel de conciencia y signos de afectación de vías largas es la encefalitis de Bickerstaff, también asociada a anti-GQ1b<sup>109</sup>. En la encefalitis de Bickerstaff se pueden encontrar lesiones de aspecto inflamatorio en el tronco del encéfalo<sup>110-112</sup>, responsables de la clínica central de los pacientes.

El SMF y sus variantes menores se caracterizan por presentar con una frecuencia muy elevada (90-95%) anticuerpos IgG contra los gangliósidos GQ1b, siendo la correlación clínico-inmunológica más sólida de las neuropatías autoinmunes<sup>109</sup>. En muchas ocasiones, esta reactividad se acompaña de reactividad cruzada con el gangliósido GT1a, que comparte un epítipo terminal común con GQ1b (NeuNAcNeuNAcGal).

Por otro lado, el SGB se puede presentar únicamente con síntomas sensitivos, sean globales o de alguna de las modalidades sensitivas de forma aislada<sup>113,114</sup>. En esta variante aparece alteración de la sensibilidad profunda con Romberg positivo, sin alteración de la fuerza ni de la oculomotricidad. La presencia de Romberg positivo sugiere que la ataxia en la ASAN, a diferencia del SMF, tiene un origen periférico<sup>115-117</sup>. Recientemente, se ha demostrado que la ASAN tiene una reactividad específica contra el epítipo terminal disialosil de los gangliósidos<sup>118</sup>.



### **Variantes loco-regionales: parálisis faringo-cérvico-braquial.**

La mayoría de las formas de SGB aparecen de forma simétrica y con predominio de la clínica en las extremidades, pero también se pueden encontrar formas con afectación focal. La más característica y más rara es la parálisis faringo-cérvico-braquial <sup>119</sup>, en la que aparece debilidad en la musculatura bulbar, cervical y proximal de las extremidades superiores. Esta variante se asocia a anticuerpos contra el gangliósido GT1a de forma aislada <sup>120,121</sup>. Del mismo modo que en el SMF, también pueden aparecer formas parciales, en forma de parálisis bulbar pura. Aunque infrecuentes, su reconocimiento tiene implicaciones terapéuticas y, por lo tanto, es importante tenerlas en cuenta.

#### **1.2.2.2. Fisiopatología del SGB**

La inmunopatogenia del SGB es relativamente desconocida; se han postulado varios mecanismos inmunitarios implicados, incluyendo la inmunidad humoral y celular, la deposición del complemento, las citoquinas proinflamatorias y otros mediadores inflamatorios <sup>122</sup>. Muchas de estas implicaciones se han obtenido de estudios basados en la neuritis aguda experimental (EAN).

##### **1.2.2.2.1. Histopatología**

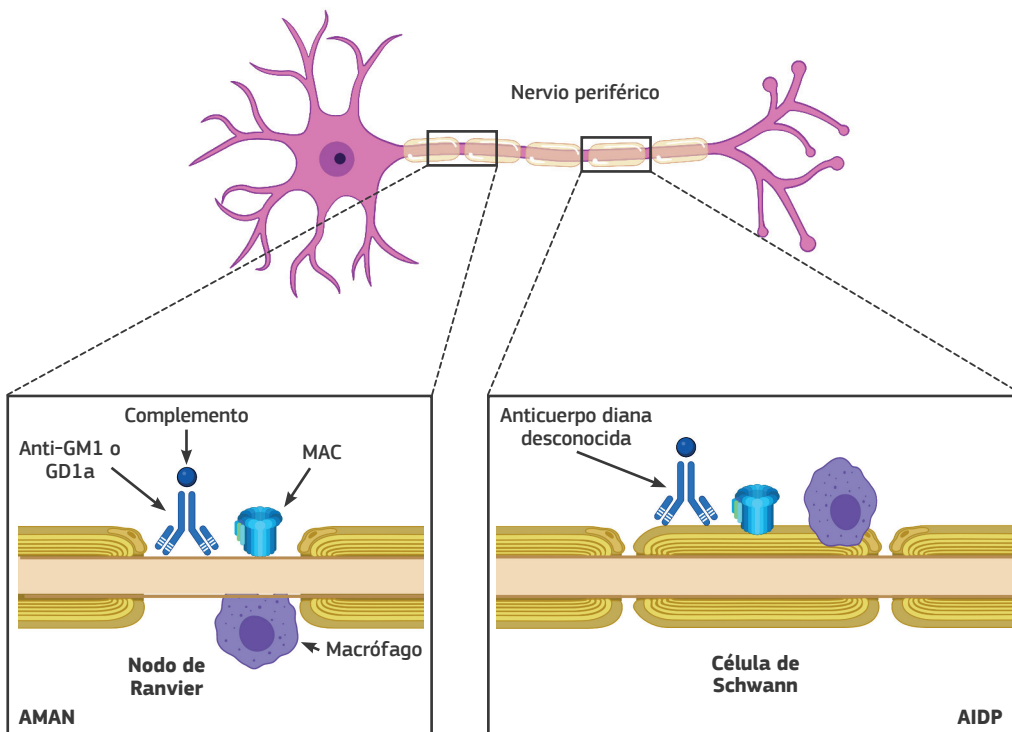
La mayoría de las características histopatológicas en el SGB se describieron hace años en los hallazgos de autopsias <sup>22,123</sup>. Existen varios estudios que muestran edema, desmielinización segmentaria, daño axonal e infiltrados inflamatorios, con una afectación más importante de la raíz como más proximal es el segmento analizado <sup>123</sup>. La secuencia descrita por Haymaker y Kernohan en 1949 muestra que el primer hallazgo encontrado es el edema (día +4 desde el inicio de los síntomas), seguido de cambios en la mielina y en el axón (día +5), aparición de células linfocitarias (día +9) y, finalmente, aparición de células fagocitarias como macrófagos (día +11) <sup>123</sup>.

En la AIDP, cambios tempranos en el nervio incluyen la unión de anticuerpos y deposición de complemento en la superficie de las células de Schwann y mielina <sup>124</sup>, seguido de la

invasión de las células T y macrófagos <sup>125</sup>. En los estudios patológicos clásicos del SGB, la desmielinización fue más prominente junto a las regiones de intensa inflamación perivenular <sup>22,126</sup>, con una acumulación de linfocitos y macrófagos en una distribución perivas- cular y con predilección por las raíces espinales <sup>22,99</sup>. Por este motivo, se postula que una hipotética secuencia sea que las células T activadas, estimuladas por una infección previa, alteran la BHN, atacan los antígenos endoneurales y liberan citocinas inflamatorias <sup>122,127</sup>, que atraen a los macrófagos, produciendo la desmielinización y el daño axonal <sup>122,128</sup>. Se cree que la diana del proceso patológico es la mielina en sí y no las células de Schwann, ya que los macrófagos invaden la vaina de mielina, dejando el citoplasma de la célula de Schwann intacto en las fases tempranas de la enfermedad <sup>129</sup>.

En cambio, en la variante AMAN, los hallazgos en autopsias muestran una degeneración axonal con poca desmielinización o inflamación <sup>93</sup>, sin infiltrados inflamatorios, y aparecen depósitos de IgG y complemento en el axolema de los nodos de Ranvier de las fibras motoras <sup>130</sup>. La degeneración axonal parece estar causada por el complejo de ataque de membrana y la degeneración Walleriana ocurre desde las raíces ventrales hacia los nervios motores. Estudios patológicos con microscopía electrónica han demostrado la presencia de macrófagos en el espacio periaxonal de los internodos mielinizados <sup>125,131</sup>. Modelos animales experimentales de AMAN, utilizando animales sensibilizados con gangliósidos GM1, han creado lesiones muy similares a las humanas y han ayudado a entender su patogénesis <sup>132</sup>. Aunque la patogenia de la AMAN no se ha dilucidado por completo, estos hallazgos son sugestivos de un ataque mediado por anticuerpos altamente selectivo en las membranas axonales, en lugar de una enfermedad mediada por células T <sup>99,130</sup> (**figura 8**). La etapa final de este proceso es la interrupción de los axones motores, con degeneración axonal Walleriana que se extiende hasta la zona de entrada de la raíz ventral. Estos pacientes sólo pueden recuperarse mediante la regeneración, un proceso que requiere períodos de tiempo muy largos y que, además, es poco probable que se complete. Sin embargo, existe evidencia que sugiere que los anticuerpos IgG anti-GM1 o anti-GD1a se unen al axolema en el nodo de Ranvier, conduciendo a la formación del complejo de ataque a la membrana y produciendo fallos de la conducción. Estos cambios inmunomediados reversibles en los nodos de

Ranvier pueden explicar la rápida recuperación que ocurre en algunos pacientes con AMAN, tasa comparable a la de los pacientes con AIDP. Estos pacientes con fallos de conducción nodales reversibles son clasificables dentro del concepto de nodopatía descrita previamente.



**Figura 8:** Inmunopatogénesis en el SGB.

*Adaptada de van den Berg et al. 2014<sup>133</sup> y creada con Biorender.*

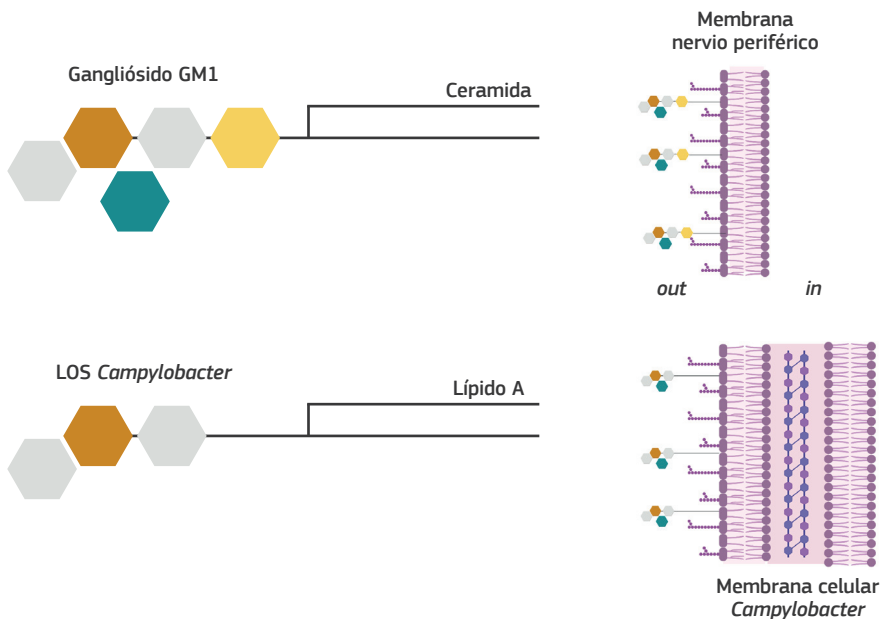
Los anticuerpos anti-GM1 y anti-GD1a se unen al axolema nodal, esto activa el complemento, seguido de la formación del complejo de ataque de membrana (MAC), produciendo la desaparición de los canales de Nav. Este daño puede provocar desprendimiento de mielina paranodal y bloqueos de la conducción nerviosa. Posteriormente, los macrófagos invaden desde los nodos de Ranvier hacia el espacio periaxonal. En el caso de la AIDP, los antígenos son desconocidos, pero se presume que se dirigen contra la vaina de mielina. Los anticuerpos pueden activar el complemento, lo que conduce a la formación de MAC en la superficie externa de las células de Schwann, el inicio de la degeneración vesicular y la invasión de la mielina por macrófagos.

Existe discusión al respecto de los hallazgos patológicos en las variantes motoras del SGB. Algunos autores han descrito la presencia de edema perineural en los segmentos más proximales de pacientes con variantes axonales<sup>134,135</sup>, donde la permeabilidad vascular es mayor, y en concordancia con los hallazgos patológicos descritos por Haymaker y Kernohan,

en los que el edema fue el primer hallazgo patológico descrito<sup>123</sup>. En estos casos, se postula que podría existir un componente humoral primario que causa la inflamación y el edema en las raíces motoras, determinando un aumento de presión endoneural, potencial causa de un compromiso del flujo vascular transperineural, produciendo un daño isquémico y el consiguiente fallo en la conducción nerviosa.

#### 1.2.2.2.2. *Anticuerpos y mímica molecular*

En la patogenia del SGB hay que recalcar la importancia del mimetismo molecular entre algunos componentes de la superficie de algunos microorganismos (lipooligosacáridos) y los gangliósidos del nervio periférico, como se ha demostrado en los pacientes con infección previa por CJ<sup>136</sup>.



**Figura 9:** Mimetismo molecular entre los gangliósidos y lipooligosacáridos de *Campylobacter* (LOS).

Adaptada de Wim Ang et al, 2003<sup>137</sup>, creada con BioRender.

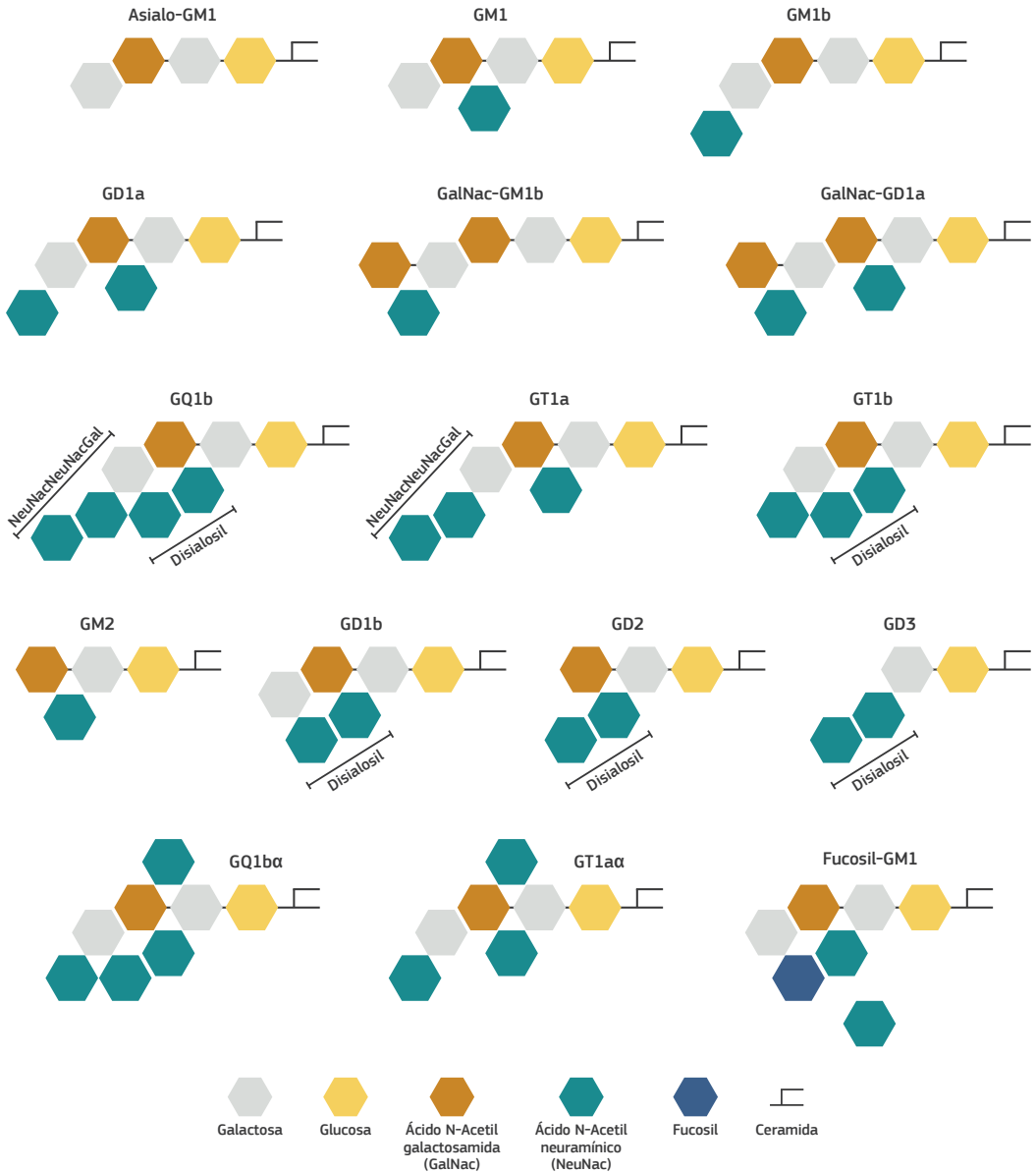
Los estudios inmunológicos, patológicos y bacteriológicos han demostrado un mimetismo de carbohidratos entre los gangliósidos GM1 y GD1a presentes en el nervio periférico y los lipooligosacáridos (LOS) de la pared celular de la bacteria CJ<sup>101</sup> (**figura 9**). Se deben cumplir 4 criterios para concluir que una enfermedad autoinmune se desencadena por mimetismo

## 1 INTRODUCCIÓN

molecular <sup>137</sup>: una asociación epidemiológica entre el agente infeccioso y la enfermedad inmunomediada; la identificación de células T o anticuerpos dirigidos contra los antígenos diana del paciente; la identificación del mimetismo microbiano del antígeno diana; y la reproducción de la enfermedad en un modelo animal. La AMAN posterior a la enteritis por CJ cumple los cuatro criterios <sup>138</sup>.

Los glicosfingolípidos están compuestos por una ceramida (esfingosina N-acilada) unida a uno o más azúcares (hexosas) <sup>139</sup>. La ceramida hidrófoba se sumerge en la membrana lipídica y cuando la estructura hidrófila del carbohidrato se expone extracelularmente, como es el caso de las membranas plasmáticas, es capaz de actuar como diana de los autoanticuerpos. Todos los anticuerpos antigangliósidos se dirigen contra esta estructura extracelular de los carbohidratos. El término gangliósido se refiere a la gran familia de glicosfingolípidos que contienen ácido siálico unido al núcleo de oligosacáridos, sintetizado mediante la adición de monosacáridos de forma escalonada mediante glucosiltransferasas y sialiltransferasas <sup>49</sup>. Los gangliósidos están presentes en todo el cuerpo, pero están muy concentrados en el sistema nervioso <sup>140</sup>.

Los anticuerpos antigangliósido son anticuerpos oligoclonales que activan el complemento y que afectan a la función del nodo de Ranvier en los axones motores <sup>141</sup>. La descripción de la aparición de un SGB motor en 7 pacientes tras la inyección de gangliósidos parenterales <sup>142</sup> apoya su papel en la patogenia de la enfermedad. Los gangliósidos principales del sistema nervioso incluyen GM1, GM2, GD1a, GD1b, GT1a, GT1b y GQ1b (**figura 10**).



**Figura 10:** Estructura de los gangliósidos.

*Adaptada de Willison et al, 2002<sup>49</sup>, creada con Biorender.*

Los gangliósidos GQ1b y GT1a comparten el epítipo NeuNacNeuNacGal, asociados al espectro SMF. Los gangliósidos GT1b, GD1b, GD2 y GD3 comparten el epítipo disialosil, asociados a la variante ASAN.

Los gangliósidos tienen localizaciones específicas en inmunohistoquímica de nervios periféricos: por ejemplo, el gangliósido GM1 se encuentra en mayor proporción en las raíces

## 1 INTRODUCCIÓN

ventrales en comparación con las raíces dorsales<sup>143</sup>, GD1a se localiza en las fibras motoras, GD1b en los ganglios raquídeos dorsales<sup>144</sup> y GQ1b en los nervios de la musculatura ocular extrínseca<sup>145</sup>. Así pues, la presencia del epítipo GQ1b en los nervios de la musculatura ocular explicaría la oftalmoparesia en el SMF y su presencia en los ganglios raquídeos dorsales explicaría la ataxia asociada. Sin embargo, a partir de estos estudios, es evidente que los gangliósidos también están presentes en sitios no afectados por el proceso de la enfermedad; por lo que la distribución tisular de los gangliósidos por sí sola se considera una explicación insuficiente para la localización de la patología clínica<sup>49</sup>. La asociación de cada subtipo de gangliósido con el fenotipo de SGB está detallada en la **tabla 5**. Estas asociaciones de anticuerpos antiglicolipídicos con formas clínicas o variantes del SGB son estadísticamente significativas, pero no siempre constantes. La única situación en la que existe una asociación altamente específica es entre anticuerpos anti-GQ1b/GT1a y el SMF; sin embargo, otras variantes, como la AMAN y los anticuerpos anti-GM1, no cumplen siempre con este estándar.

### **1.2.2.3. Pronóstico**

#### **1.2.2.3.1. Síntomas residuales**

La mayoría de los pacientes con SGB tienen una evolución rápidamente progresiva seguida de una fase de meseta (*plateau*) de duración variable. En el momento del déficit máximo, casi la mitad de los pacientes permanecen en silla de ruedas o en cama<sup>146</sup>. Aproximadamente el 15% de los pacientes tienen una afección leve y se recuperan después de algunas semanas y, por el contrario, un 5-20% de los pacientes desarrollan tetraplejía con necesidad de ingreso en cuidados intensivos, ventilación asistida y degeneración axonal<sup>147</sup>. Este grupo de pacientes acostumbra a ser en gran parte variantes axonales y, en estos casos, la recuperación es lenta y casi siempre incompleta<sup>148</sup>; permaneciendo déficits motores residuales al año de seguimiento<sup>149</sup>.

Se acostumbra a asumir que el pronóstico de recuperación en pacientes con SGB es generalmente favorable, y la mayoría de los pacientes presenta una recuperación de los síntomas

más invalidantes. Aun así, aproximadamente el 20% de los pacientes con SGB no pueden caminar de forma independiente 6 meses después del inicio de la enfermedad<sup>60,98,150</sup>. Para gradar el estado de discapacidad de los pacientes con SGB con frecuencia se utiliza la escala de discapacidad del SGB (*Guillain-Barré Disability Score* - GDS; puntuando del 0 al 6, donde 0 significa un paciente sin discapacidad residual)<sup>151</sup>. En el estudio de los primeros 1000 pacientes de la cohorte internacional IGOS, el 77% recuperó la capacidad de caminar de forma independiente a los 6 meses y el 81% a los 12 meses<sup>60</sup>. En general, los pacientes tienen déficits residuales que afectan en gran medida sus actividades diarias y su calidad de vida<sup>152-155</sup>, e incluso los pacientes con un buen resultado funcional (GDS  $\leq 1$ ) tienen una reducción en el estado de salud psicosocial<sup>156</sup>. Los déficits residuales más frecuentes son la debilidad muscular, síntomas sensitivos, fatiga y dolor<sup>70,153,154,157</sup>.

#### **1.2.2.3.2. Ventilación y mortalidad**

Aproximadamente el 25% de los pacientes desarrollan insuficiencia respiratoria, requiriendo ventilación artificial<sup>74</sup>. El riesgo de insuficiencia respiratoria en el SGB aumenta en pacientes con una progresión rápida de la enfermedad (pocos días desde el inicio de los síntomas al ingreso hospitalario)<sup>158-160</sup>, presencia de debilidad severa de las extremidades en el momento del ingreso (MRC *sum score*)<sup>89,160</sup> y debilidad bulbar<sup>89,159,161,162</sup>. Otros factores asociados al riesgo de ventilación asistida son la capacidad vital<sup>159</sup> y la hipoalbuminemia<sup>163</sup>, así como la debilidad de la musculatura cervical<sup>158,159</sup>.

En cuanto a la mortalidad, estudios antiguos reportaron mortalidades tan altas como 10-20%<sup>164,165</sup>. Estos porcentajes se ha reducido al 3-7% en Norteamérica y Europa<sup>60,166-168</sup>, muy probablemente debido al manejo en unidades de cuidados intensivos con experiencia en el tratamiento del SGB<sup>167,169</sup>. Los predictores de un mayor riesgo de muerte son la edad avanzada, la enfermedad grave, el aumento de la comorbilidades (índice de comorbilidad de Charlson), las complicaciones pulmonares y cardíacas, la ventilación mecánica y la infección sistémica<sup>147,166-168</sup>. Las causas más frecuentes de muerte son la insuficiencia respiratoria, infecciones pulmonares, disfunción autonómica y paro cardíaco<sup>146,147,168</sup>.



### **1.2.2.3.3. Marcadores pronósticos**

Se han descrito múltiples características clínicas que se asocian a un mal pronóstico. Las características que predicen una mala recuperación (incapacidad para caminar de forma independiente a los 6 meses) con una certeza muy elevada son: una edad avanzada <sup>147,159,161,170-174</sup>, antecedente de diarrea previa <sup>89,147,161,171,173,175,176</sup> y la gravedad clínica en el momento del ingreso (determinada por la escala GDS <sup>89,159,175,176</sup> o por la puntuación en el MRC *sum score* <sup>161,177</sup>). Otras características que confieren peor pronóstico, aunque con menor evidencia científica, son el antecedente de infección por CJ <sup>89,161</sup> o infección por CMV <sup>173</sup> y la hipoalbuminemia <sup>163</sup>.

En cuanto a los estudios electrofisiológicos, el pronóstico empeora en pacientes con una amplitud del potencial de acción motor (CMAP) distal medio disminuida <sup>170,172,178,179</sup>. Otras mediciones que también se han asociado a peor pronóstico son la ausencia de CMAP <sup>175</sup> y la inexcitabilidad de los nervios motores <sup>171,174</sup>.

### **1.2.2.3.4. Modelos pronósticos**

La predicción precisa del pronóstico es importante para permitir adaptar la atención y el tratamiento a las necesidades individuales del paciente e informar a los pacientes y familiares sobre el curso clínico esperado. Parte de la dificultad en predecir el pronóstico en el SGB reside en su gran variabilidad clínica, así como en la definición de buen o mal pronóstico. El mal pronóstico en el SGB se ha definido clásicamente como la incapacidad para caminar de forma independiente a los 6 meses. De ello se ha derivado que el buen pronóstico sea considerado ser capaz de caminar de forma independiente a los 6 meses, siendo éste el *endpoint* primario en la mayoría de ensayos clínicos en el SGB, que, en algunos casos, podría no ser suficientemente sensible para detectar los efectos del tratamiento <sup>180</sup>.

Se han descrito diferentes modelos pronósticos para el SGB. El primero en describirse fue el *Erasmus GBS Outcome Score* (EGOS), que utiliza características clínicas fáciles de obtener durante la fase aguda de la enfermedad (edad,

antecedente de diarrea y escala GDS a las 2 semanas) para predecir la posibilidad de poder caminar de forma independiente a los 6 meses <sup>176</sup> (**tabla 6**). El modelo EGOS modificado (mEGOS) reemplazó la puntuación GDS por la puntuación MRC *sum score*, una escala más precisa <sup>161</sup>, y es aplicable en dos tiempos diferentes: en el momento del ingreso hospitalario y una semana después del ingreso. Se utiliza para predecir la incapacidad para caminar de forma independiente a las 4 semanas, 3 meses y 6 meses. Además, se ha validado otro modelo pronóstico para predecir la insuficiencia respiratoria (EGRIS), incluyendo el tiempo entre el inicio de la debilidad y el ingreso hospitalario, la puntuación MRC *sum score* y la presencia o ausencia de debilidad facial o bulbar <sup>160</sup>.

Factores pronósticos	Categorías	EGOS	mEGOS		EGRIS
		Día 14	En el ingreso	Día 7	En el ingreso
Edad al inicio	<40 años	0	0	0	
	41-60 años	0.5	1	1	
	>60 años	1	2	2	
Diarrea previa (4 semanas)	Ausente	0	0	0	
	Presente	1	1	1	
Tiempo desde el inicio de la debilidad hasta el ingreso	<7 días				0
	4-6 días				1
	<3 días				2
Debilidad facial o bulbar	Presente				1
	Ausente				0
MRC <i>sum score</i>	60-51		0	0	0
	50-41		2	3	1
	40-31		4	6	2
	30-21				3
	<20				4
	<30		6	9	
GDS	0-1	1			
	2	2			
	3	3			
	4	4			
	5	5			
<b>TOTAL</b>		<b>1-7</b>	<b>0-9</b>	<b>0-12</b>	<b>0-7</b>

**Tabla 6:** Puntuaciones de los modelos pronósticos Erasmus GBS Outcome Score (EGOS), EGOS modificado (mEGOS) y Erasmus GBS Respiratory Insufficiency Score (EGRIS) <sup>160,161,173</sup>.

### **1.2.3. Polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP)**

La CIDP es la neuropatía inflamatoria crónica más frecuente<sup>181</sup>, con una prevalencia de entre 0.8 y 8 pacientes por cada 100.000 habitantes y con una incidencia anual de 0.5-1.6 de cada 100.000<sup>182</sup>. Es más frecuente en hombres y puede aparecer en todas las edades, aunque es más frecuente entre los 30 y 60 años. Su presentación clínica es relativamente heterogénea y se caracteriza por debilidad de predominio proximal y síntomas sensitivos distales en las cuatro extremidades con arreflexia e instauración progresiva en al menos 2 meses. Sin embargo, existen pacientes que tienen una evolución remitente-recurrente (más frecuentes en pacientes jóvenes<sup>183</sup>), pacientes que presentan un inicio agudo de los síntomas (CIDP aguda, frecuentemente diagnosticadas inicialmente de SGB<sup>184</sup>) y pacientes que presentan variantes clínicas atípicas<sup>185</sup>.

El diagnóstico se realiza en base a criterios clínicos y electrofisiológicos<sup>185</sup> propuestos por la EFNS/PNS, que combinan características clínicas y electrofisiológicas de desmielinización, junto con unos criterios de soporte, como la disociación albumino-citológica en LCR, el realce de gadolinio de las raíces nerviosas o del plexo en RM, la evidencia de desmielinización en biopsia de nervio y la mejoría clínica tras inicio de tratamiento inmunomodulador<sup>185</sup>. Estos criterios, en actual revisión, establecen 3 categorías diagnósticas (CIDP definida, probable y posible); sin embargo, éstos son relativamente amplios, ya que su objetivo es detectar todos aquellos pacientes que se beneficiarían de un posible tratamiento inmunomodulador. Esto determina una importante heterogeneidad clínica que hace que los pacientes difieran en su fenotipo clínico, respuesta a tratamiento y mecanismo inmunopatogénico.

La respuesta al tratamiento inmunomodulador es buena en la mayoría de los casos, pero se trata de un tratamiento complejo y que requiere de una estrategia individualizada. El tratamiento de primera línea consiste en Igev, corticoides orales (1mg/kg/d) o en pulsos endovenosos y plasmaféresis<sup>58</sup>. Todos ellos pueden ser utilizados de forma individual o combinada, aunque la plasmaféresis acostumbra a ser relegada como segunda opción por su menor accesibilidad. Sin embargo, la evaluación de la respuesta al tratamiento se ve obstaculizada

por la falta de medidas objetivas, la mala correlación con los datos electrofisiológicos, la incidencia variable de degeneración axonal, que es poco probable que responda rápidamente a los tratamientos, y la variabilidad del curso de la enfermedad.

Además de los tratamientos de primera línea, se pueden utilizar inmunosupresores como la ciclosporina, metotrexato, micofenolato, rituximab o ciclofosfamida, como inmunosupresores de base o como tratamientos ahorradores de corticoides<sup>186</sup>. El rituximab puede ser una opción terapéutica en aquellos pacientes que presenten anticuerpos contra proteínas del nodo de Ranvier con mala respuesta a corticoterapia<sup>187</sup>.

### 1.2.3.1. Características clínicas de la CIDP y sus variantes

La desmielinización en la CIDP es multifocal, afectando a las raíces espinales, los plexos y los troncos nerviosos proximales<sup>188,189</sup>; en consecuencia, sus manifestaciones clínicas y patológicas pueden diferir entre pacientes, explicando el gran número de variantes de la enfermedad en función de la distribución de los signos y síntomas. Sólo un 50-75% de los pacientes con CIDP presentan un fenotipo clínico típico<sup>190,191</sup> y entre las formas atípicas se incluyen la variante simétrica distal (DADS)<sup>192</sup>, la asimétrica multifocal sensitivo-motora (Síndrome de Lewis-Sumner o MADSAM)<sup>193,194</sup>, la focal<sup>195</sup>, la sensitiva pura<sup>196</sup>, la polirradiculopatía sensitiva crónica inmune<sup>197</sup> y la motora pura<sup>198</sup> (**tabla 7**).

Variante fenotípica	Prevalencia	Síntomas	Distribución
<b>CIDP típica</b>	50-75%	Sensitivo-motor	Simétrica, proximal y distal
<b>DADS</b>	2-17%	Sensitivo predominante (puede aparecer afectación motora)	Simétrica, distal
<b>MADSAM</b>	6-15%	Sensitivo-motor	Asimétrica, frecuente inicio en extremidades superiores
<b>CIDP Focal</b>	1%	Sensitivo-motor	Focal
<b>CIDP sensitiva pura</b>	4-35%	Sensitivo predominante (motor subclínico)	Simétrica, proximal y distal
<b>Polirradiculopatía sensitiva crónica inmune</b>	5-12%	Ataxia sensitiva	Simétrica, proximal y distal
<b>CIDP motora pura</b>	4-10%	Motor predominante	Simétrica, proximal y distal
<b>CIDP de inicio agudo</b>	2-16%	Sensitivo-motor	Simétrica, proximal y distal

**Tabla 7:** Variantes fenotípicas. *Adaptada de Mathey et al, 2015*<sup>190</sup>

La variante DADS presenta una distribución simétrica distal con síntomas predominantemente sensitivos, aunque a menudo hay evidencia electrofisiológica de afectación motora<sup>192</sup>. Ante este fenotipo clínico se debe descartar la presencia de una gammapatía monoclonal, ya que en el 70% de los pacientes con el cuadro clínico del fenotipo DADS, la causa es una gammapatía monoclonal IgM asociada a anticuerpos anti-MAG, una entidad claramente diferenciada de la CIDP<sup>192,199</sup>.

Por otro lado, el MADSAM se caracteriza por la asimetría, presentándose como una mono-neuropatía múltiple multifocal, más frecuentemente en extremidades superiores<sup>200</sup>. La mayoría de los pacientes eventualmente desarrollan una CIDP típica<sup>200,201</sup>. También se han reportado casos de CIDP focal con síntomas restringidos a una región (por afectación del plexo braquial o lumbosacro o de uno o más nervios periféricos en una extremidad superior o inferior)<sup>195</sup> durante un largo período de tiempo.

La CIDP sensitiva pura ocurre en el 5-35% de los pacientes<sup>202,203</sup> y aunque los síntomas son sensitivos, los estudios electrofisiológicos frecuentemente muestran desmielinización en las conducciones motoras<sup>196</sup>. Muchos pacientes desarrollan debilidad motora con el tiempo de evolución, a veces varios años después del inicio de los síntomas sensitivos<sup>204</sup>. Del mismo modo, un pequeño grupo de pacientes (5%) presenta una ataxia sensitiva progresiva<sup>205</sup>, denominada polirradiculopatía sensitiva crónica inmune, en los que se afectan las fibras gruesas de las raíces posteriores sin desmielinización en los nervios sensitivos distales. También se ha reportado la variante motora pura, con tasas más elevadas en pacientes jóvenes<sup>183</sup>, y cuyo principal diagnóstico diferencial es la NMM<sup>206</sup>.

### **1.2.3.2. Fisiopatología de la CIDP**

La CIDP se considera una enfermedad autoinmune que involucra a la inmunidad celular y humoral<sup>58</sup>. Sin embargo, y a diferencia del SGB, no se han determinado eventos desencadenantes ni se ha encontrado ningún antígeno diana, excepto en algunos casos de CIDP asociada a melanoma, en los que las células tumorales comparten epítopos de carbohidratos con las células de Schwann<sup>207,208</sup>.

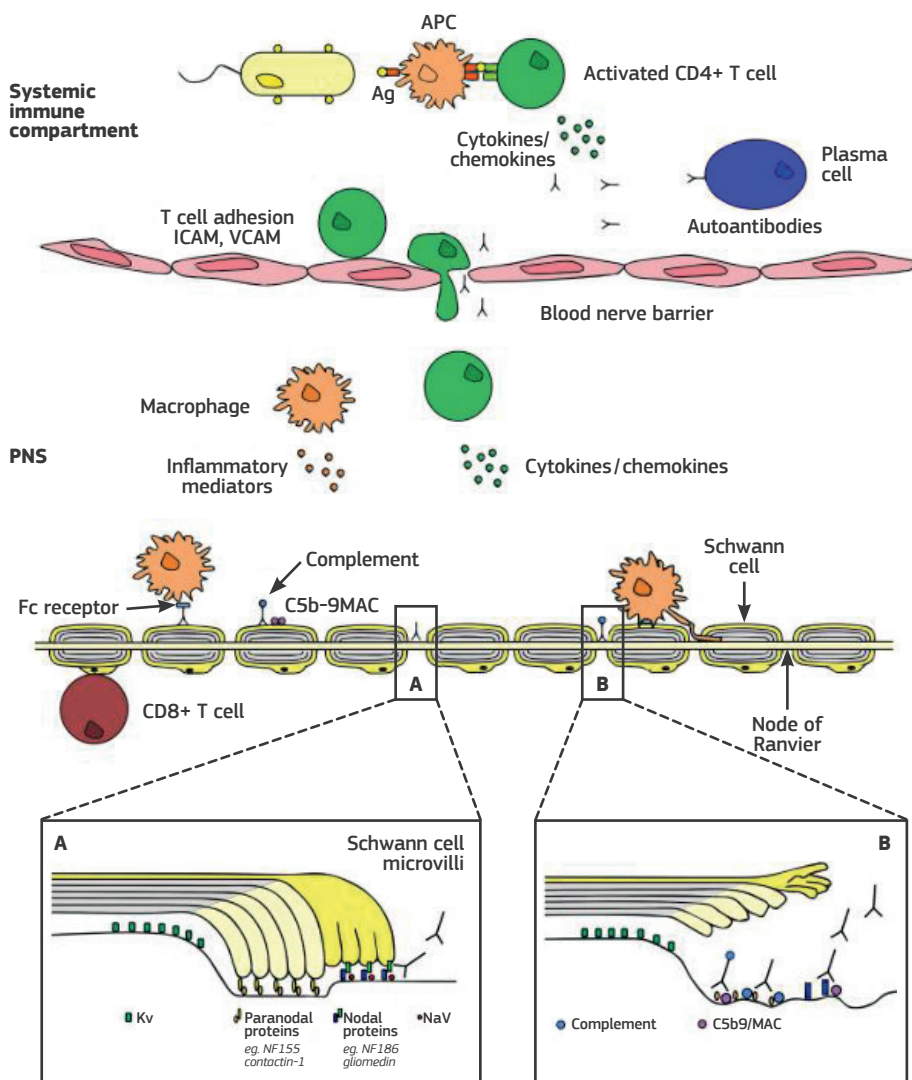
### **1.2.3.2.1. Histopatología**

La mayoría de los hallazgos patológicos de la CIDP se han descrito en las biopsias de nervios surales, debido a su mayor accesibilidad. El hallazgo patológico característico de la CIDP es la desmielinización segmentaria<sup>209</sup>. Los infiltrados inflamatorios son menos prominentes que en el SGB, pero es común la presencia de infiltrados de predominio monocítico y de linfocitos T CD4+ y CD8+ en el endoneuro y epineuro, así como macrófagos dispersos en pequeños grupos perivasculares en el endoneuro. La presencia de estos infiltrados puede acompañarse de edema endoneural o subperineural. Igual que en el SGB, la presencia de degeneración axonal es una característica relativamente frecuente, afectando hasta el 25% de los pacientes<sup>210</sup>. Además, en la biopsia de nervio sural se pueden observar depósitos de inmunoglobulinas y complemento, indicando la implicación de la inmunidad humoral en la CIDP<sup>57</sup>.

Se ha debatido el valor de la biopsia de nervio en el diagnóstico de pacientes con una posible CIDP. Sin embargo, la mayoría de expertos está de acuerdo en que debe realizarse en pacientes con hallazgos clínicos o neurofisiológicos atípicos, y podría considerarse en pacientes con mala respuesta al tratamiento para descartar diagnósticos alternativos. Más recientemente, la biopsia de piel está emergiendo como una herramienta útil y accesible en el estudio de fibras nerviosas intradérmicas<sup>211</sup>, particularmente en la neuropatía de fibra fina<sup>212</sup>. En algunos estudios de biopsias de piel de pacientes con CIDP se han descrito alteraciones en la región nodal de las fibras mielinizadas, con dispersión del patrón de tinción de Caspr1, presente en el paranodo<sup>213</sup> o una reducción del espacio internodal<sup>214</sup>. Sin embargo, algunas de estas alteraciones se han encontrado también en algunos pacientes con neuropatía diabética<sup>215</sup>, por lo que parece que estos cambios no sean específicos de una neuropatía inflamatoria.

### **1.2.3.2.2. Inmunidad celular**

La implicación de la inmunidad celular en la patogenia de la CIDP se basa en la presencia de infiltrados inflamatorios en las biopsias del nervio sural<sup>216</sup>, en los cambios en los niveles y función de las células T (hacia un aumento de los subtipos Th1 y Th17)<sup>217</sup>, y en la expresión alterada de citocinas<sup>218,219</sup> y mediadores inflamatorios en sangre y LCR de pacientes con CIDP<sup>190</sup>.



**Figura 11:** Immunopatogenia de la CIDP. *Extraída de Mathey et al, 2015*<sup>188</sup>.

El antígeno putativo es presentado por las CPAs a las células T autorreactivas en el compartimento inmunario periférico. Las células T se activan, experimentan una expansión clonal, liberan mediadores inflamatorios y atraviesan la BHN. La ruptura del BHN permite que los autoanticuerpos accedan al endoneuro. El daño adicional puede ser causado por desmielinización mediada por macrófagos, deposición de complemento, deposición de C5b-9 y del MAC, y posterior lisis celular. En el recuadro vemos los efectos de la unión del anticuerpo en el nodo de Ranvier. **A:** La unión de un autoanticuerpo al nodo de Ranvier podría bloquear la función de las moléculas nodales que interfieren con la conducción saltatoria. **B:** La unión de un anticuerpo seguida de fijación del complemento y deposición del MAC conduce a la interrupción o destrucción del nodo y las áreas circundantes.

Uno de los primeros pasos para la aparición de los infiltrados celulares en el nervio periférico es la disrupción de la BHN. Durante la enfermedad activa, las células T CD4+ periféricas regulan positivamente los marcadores de activación y secretan citocinas proinflamatorias (IL-2, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  e IL-17)<sup>218,220,221</sup>. Esto produce un aumento de la activación de los macrófagos e induce una regulación positiva de las CAMs<sup>190</sup> en las células endoteliales de la BHN, aumentando su permeabilidad y amplificando la respuesta inmune. La reactivación local de los linfocitos T infiltrantes se ve facilitada por la regulación positiva del MHC de clase II en macrófagos y células de Schwann<sup>37</sup>, que actúan como CPAs. Además, se ha observado una disfunción de las células T reguladoras, que favorecen aún más el microambiente inflamatorio local y mantienen el proceso de la enfermedad<sup>222</sup>. La **figura 11** resume los hallazgos de la inmunopatogenia en la CIDP.

Los macrófagos son la célula inflamatoria infiltrante predominante y forman agrupaciones alrededor de los vasos endoneurales<sup>223</sup>, constituyendo las células efectoras finales asociadas con el proceso de desmielinización<sup>224</sup>. Los macrófagos desempeñan un papel activo en muchos aspectos de la respuesta inmune, incluida la presentación de antígenos y la liberación de citocinas proinflamatorias o mediadores tóxicos.

#### **1.2.3.2.3. Inmunidad humoral y anticuerpos en la CIDP**

El efecto beneficioso de las IgeV y de la plasmaféresis sugiere que los factores humorales circulantes, junto con los anticuerpos y las células B activadas o las células plasmáticas, juegan un papel clave en patogenia de la CIDP. Además, se ha demostrado que el suero de pacientes con CIDP puede transferir pasivamente la desmielinización en animales de laboratorio<sup>225</sup>. En los estudios histopatológicos se han encontrado depósitos de IgG e IgM fijadoras del complemento en la vaina de mielina de los nervios de los pacientes con CIDP<sup>57</sup>, lo que sugiere que los anticuerpos patógenos pueden tener un papel en el reconocimiento de los antígenos de la mielina.

De acuerdo con esta hipótesis, los anticuerpos contra varios glicolípidos o contra la proteína de mielina PO se detectan con mayor frecuencia en el suero de pacientes con CIDP que



en controles<sup>225-227</sup>. Se desconoce el antígeno diana específico en la CIDP, pero debido la desmielinización observada en las secciones histopatológicas de los nervios de pacientes CIDP, se ha considerado que las proteínas ubicadas en la mielina compacta (PO, P2, PMP22, PBM) así como las proteínas ubicadas en el nodo de Ranvier o paranodo eran los autoantígenos candidatos más probables<sup>228</sup>.

### **1.2.3.2.3.1. Anticuerpos contra proteínas de la mielina y los gangliósidos**

La teoría de que el posible antígeno diana se encuentre en la mielina está respaldado por el modelo animal (EAN), ya que éste se induce utilizando proteínas de mielina purificadas<sup>44-47</sup>. Sin embargo, después de muchos años de investigación, hay poca evidencia de un papel patogénico de estos autoanticuerpos contra proteínas de mielina. Existen algunos estudios que han detectado respuestas de autoanticuerpos contra P2<sup>229</sup>, PO<sup>225,227,230</sup>, PMP22<sup>231</sup> y conexina<sup>232</sup> en suero de CIDP, pero sólo se ha demostrado su patogenicidad en los anticuerpos con especificidad para PO; in vivo mediante inyección intraneural<sup>227,233</sup> y mediante transferencia pasiva<sup>227</sup>.

Otra aproximación a los antígenos diana de la CIDP ha sido la de los antígenos glucolípidicos<sup>234-236</sup>. Sin embargo, la asociación de estos autoanticuerpos con la CIDP requiere la replicación en otras cohortes y una recopilación y análisis exhaustivos de las características clínicas asociadas.

### **1.2.3.2.3.2. Anticuerpos contra proteínas del nodo y paranodo de Ranvier**

Los estudios más recientes sobre la especificidad de los autoanticuerpos en CIDP se han centrado en las estructuras del nodo de Ranvier, paranodo y yuxtaparanodo. Las 'nodo-paranodopatías' son las enfermedades del nervio periférico en las que se evidencia una disrupción electrofisiológica del nodo de Ranvier<sup>19,24,25</sup>. Dentro de ellas, aquellas en las que se han descrito autoanticuerpos dirigidos contra proteínas del nodo/paranodo de Ranvier son conocidas como nodopatías autoinmunes.

Recientemente, diversos grupos, incluido el nuestro, han descrito la presencia de autoanticuerpos dirigidos contra proteínas del nodo y paranodo de Ranvier hasta en el 5-10% de los pacientes con CIDP. Estos antígenos son la neurofascina-155 (NF155)<sup>51</sup>, la contactina-1 (CNTN1)<sup>52</sup>, la neurofascina nodal (NF140/186)<sup>237</sup> y la proteína asociada a contactina-1 (Caspr1)<sup>238</sup>. Todos los autoanticuerpos descritos son predominantemente del isotipo IgG4<sup>239</sup>, lo que les confiere unas características únicas: no son capaces de activar complemento ni la citotoxicidad mediada por células y tienen una alta afinidad antigénica, por lo que interfieren en las interacciones entre los antígenos y sus ligandos<sup>240</sup>. Cada subgrupo de pacientes con un autoanticuerpo específico tiene un fenotipo clínico particular (**tabla 8**). En los pacientes con CIDP y autoanticuerpos IgG4 se ha reportado una respuesta pobre a las IgeV, mientras que la terapia anti-CD20 ha mostrado ser efectiva en estos subgrupos de pacientes<sup>187</sup>. Por tanto, la detección de estos autoanticuerpos no solo tiene implicaciones diagnósticas, sino también pronósticas y de elección de tratamiento.

Autoanticuerpo	Fenotipo clínico	Frecuencia
Anti-NF155	Déficit motor distal, inicio subagudo, temblor, ataxia cerebelosa, mala respuesta IgeV	5-10%
Anti-NF140/186	Inicio subagudo y agresivo, bloqueos de la conducción, síndrome nefrótico asociado	2%
Anti-CNTN-1	Inicio subagudo y agresivo motor, daño axonal temprano, mala respuesta IgeV, síndrome nefrótico asociado	5%
Anti-Caspr1	Inicio subagudo y agresivo motor, dolor neuropático intenso	<1%

**Tabla 8:** Autoanticuerpos nodales y paranodales en la CIDP

A continuación, nos centramos en explicar algo más detalladamente los pacientes con anticuerpos anti-neurofascina-155, objeto de la presente tesis.

#### **1.2.3.2.3.2.1. Anticuerpos anti-neurofascina-155 (NF155)**

Alrededor de un 5-10% de los pacientes con CIDP tiene anticuerpos anti-NF155<sup>187,241</sup>. Estos pacientes presentan un fenotipo singular diferente al de la CIDP típica, caracterizado ser más frecuente en pacientes jóvenes y presentar un inicio subagudo, con clínica motora

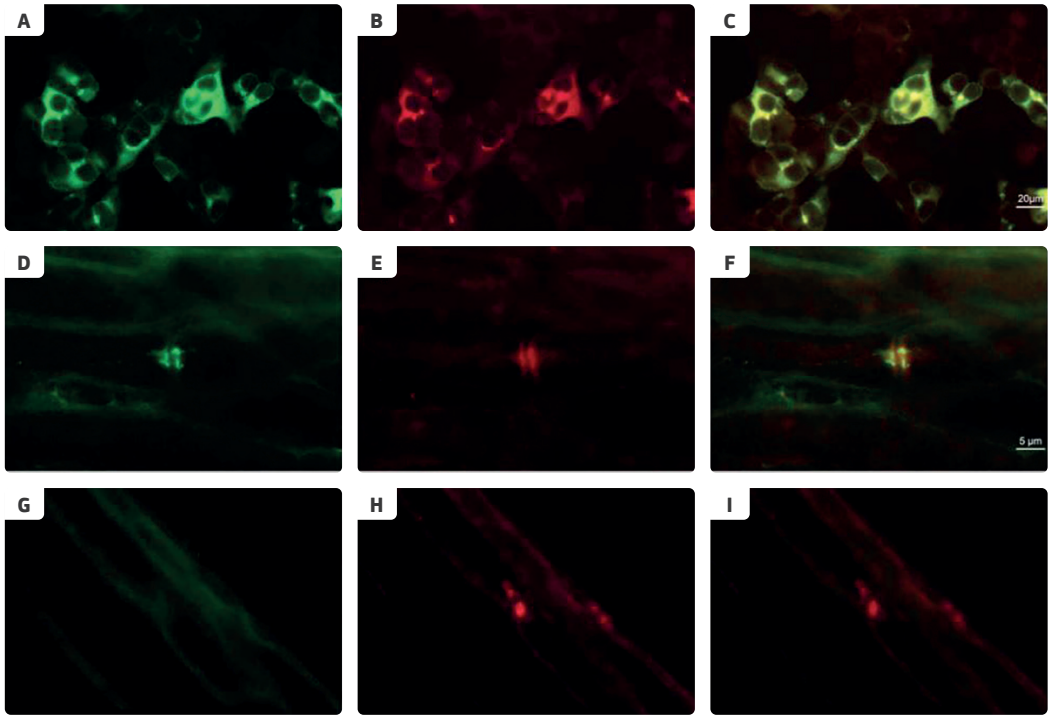
## 1 INTRODUCCIÓN

predominantemente distal, temblor de gran amplitud y ataxia con características cerebelosas<sup>51</sup>. Además, los pacientes con CIDP NF155+ son portadores con una alta frecuencia del alelo DRB1\*15 del HLA de clase II<sup>242,243</sup>. Las biopsias de nervio sural de estos pacientes se caracterizan por la desaparición de la unión entre los bucles paranodales de las células de Schwann y el axón en ausencia de infiltrados inflamatorios<sup>244</sup>. El análisis de fibras mielinizadas en las biopsias de piel de pacientes con IgG4 anti-NF155 muestra una elongación de los nodos de Ranvier y pérdida de tinción paranodal con NF155<sup>239</sup>. En algunos casos se ha mostrado una reactividad de los sueros de los pacientes frente a tejido cerebral de rata con un patrón específico; afectando al hipocampo y a las células de Purkinje y capas granulares del cerebelo<sup>241,245</sup>. Esto podría explicar parte de la sintomatología de los pacientes, que asocian temblor cerebeloso y ataxia importante. Además, en algunos casos se ha descrito su asociación con afectación concomitante del SNC, en lo que se denomina síndrome de desmielinización central y periférico combinado, de predominio en pacientes asiáticos<sup>246,247</sup>.

Los estudios electrofisiológicos muestran signos de desmielinización importantes, distribuidos de forma heterogénea en troncos y raíces nerviosas, de mayor gravedad que en las CIDP seronegativas<sup>248</sup>. En estudios de RM de plexos se objetiva una hipertrofia de las raíces de los plexos cervicales y lumbosacros<sup>244</sup>.

La patogenicidad de estos anticuerpos ha sido probada mediante experimentos de transferencia pasiva en modelos animales<sup>56</sup> y los estudios patológicos que detectan depósito de IgG4 y disección de la unión axo-glial en el paranodo (en ausencia de la desmielinización clásica mediada por macrófagos)<sup>249</sup>. No existen estudios que demuestren la relación entre los títulos de anticuerpos anti-NF155 y la gravedad de la clínica de los pacientes.

Finalmente, los pacientes no suelen responder al tratamiento a IgeV, mientras que sí pueden responder a corticoides y a terapias deplectoras de células B<sup>187</sup>; sin embargo, no existen estudios que muestren el pronóstico a largo plazo en este subgrupo de pacientes.



**Figura 12:** Inmunocitoquímica e inmunohistoquímica de pacientes con CIDP anti-NF155+.  
*Extraída de Querol et al. 2014<sup>245</sup>.*

**(A – C)** El anticuerpo comercial anti-NF155 **(A)** y el suero del paciente **(B)** colocalizan **(C)** en inmunocitoquímica usando células HEK293 transfectadas con NF155. **(D – F)** El anticuerpo comercial anti-NF155 **(D)** y el suero del paciente **(E)** colocalizan **(F)** en el paranodo en inmunohistoquímica de fibras nerviosas. **(G – I)** La reactividad del suero del paciente contra el paranodo **(G)** se anula cuando se preincuba con células HEK transfectadas con NF155.

### 1.2.3.3. Pronóstico

La CIDP es considerada una enfermedad grave. Estudios epidemiológicos más recientes han mostrado que más del 50% de los pacientes tienen al menos una discapacidad grave temporal durante el curso de la enfermedad, incluida la restricción temporal a una silla de ruedas o la incapacidad para caminar sin apoyo y aproximadamente el 10% eventualmente se incapacita persistentemente o muere debido a la enfermedad<sup>250,251</sup>. Sin embargo, también es conocido que un 30% de pacientes remite completamente a largo plazo o no presenta nuevos brotes de la enfermedad<sup>191,252,253</sup>.

El pronóstico a largo plazo de la CIDP es impredecible en las primeras etapas de la enfermedad. Una proporción variable de casos sigue un curso recidivante o progresivo crónico, y muchos pacientes comienzan con un curso recidivante seguido de un curso progresivo secundario. Se ha demostrado que la degeneración axonal es el principal factor pronóstico en la CIDP<sup>254</sup>, así como una buena respuesta al tratamiento a medio plazo<sup>191</sup>. No existen modelos pronósticos predictivos de la discapacidad a largo plazo.

### **1.3. BIOMARCADORES EN NEUROPATÍAS AUTOINMUNES**

Todos los autores y revisiones de expertos en neuropatías autoinmunes concluyen que son necesarios biomarcadores predictores de respuesta terapéutica, así como de pronóstico a largo plazo para los pacientes con neuropatías autoinmunes<sup>211,255-257</sup>.

Existen algunos marcadores pronósticos ya conocidos, como los estudios neurofisiológicos o la anatomía patológica, que ayudan a determinar el grado de afectación axonal. Sin embargo, éstos se realizan cuando la toma de decisiones terapéuticas ya ha sucedido con anterioridad. Recientemente, también ha aumentado la importancia de los biomarcadores de imagen, hasta llegar a ser un criterio de soporte para la CIDP<sup>185</sup>, ya que la RM de plexo puede mostrar hipertrofia o realce de contraste de las raíces nerviosas, plexos braquiales o lumbosacros y de la cola de caballo<sup>258,259</sup>. Asimismo, el uso de la ecografía nerviosa está creciendo en las unidades especializadas, como herramienta de soporte para distinguir las neuropatías inflamatorias de las neuropatías axonales y de la enfermedad de neuronas motoras<sup>260</sup>.

Los únicos biomarcadores sanguíneos descritos en la actualidad para las neuropatías autoinmunes son los autoanticuerpos que ya hemos comentado con anterioridad: los gangliósidos en el SGB y los anticuerpos nodales y paranodales en la CIDP. Sin embargo, existen resultados preliminares acerca de marcadores sanguíneos de daño axonal en el SGB y en CIDP, así como de marcadores de daño mielínico en la CIDP.

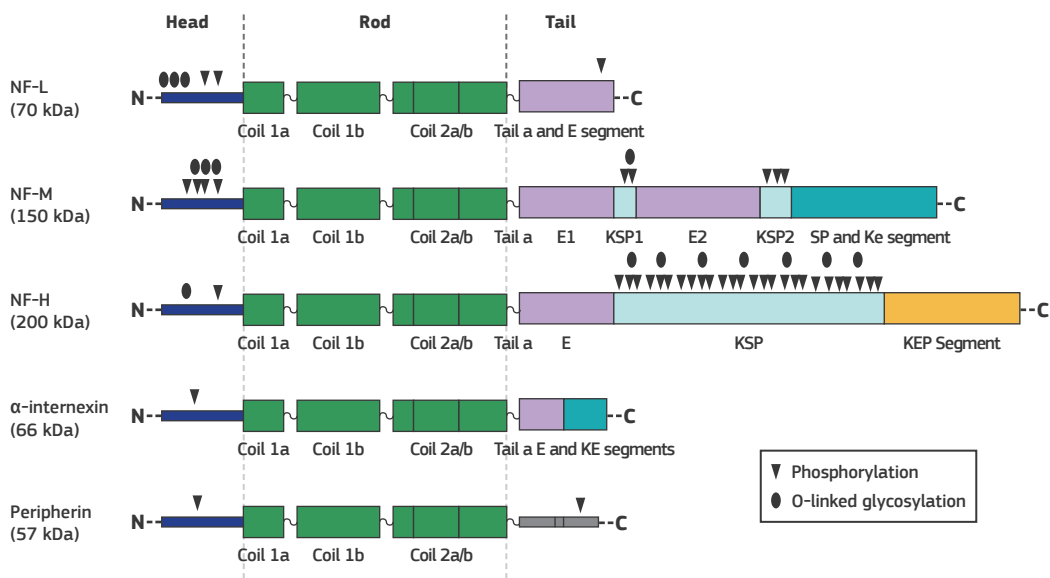
### 1.3.1. Marcadores de daño axonal

El daño axonal es el sustrato patológico de la discapacidad permanente en muchos trastornos neurológicos, entre los que se encuentran las neuropatías<sup>261</sup>. Además, tal y como hemos revisado, el daño axonal es un claro marcador de pronóstico en el SGB<sup>170,172,178,179</sup> y en la CIDP<sup>254</sup>. La cuantificación y el seguimiento longitudinal del daño axonal serían importantes para evaluar la actividad de la enfermedad, monitorizar la respuesta al tratamiento, así como facilitar el desarrollo de nuevos tratamientos y, finalmente, para determinar el pronóstico.

Los neurofilamentos son moléculas prometedoras en este contexto, ya que sus niveles aumentan con el daño axonal en LCR y sangre, indicando una lesión neuronal axonal, independientemente de las vías causales. Se clasifican como filamentos intermedios por su diámetro (~10 nm), que se encuentra entre el de los filamentos de actina (6 nm) y los filamentos de miosina (15 nm)<sup>1</sup>. La familia de los filamentos intermedios está formada por más de sesenta componentes, divididos en seis categorías, concordando con su homología de secuencia, estructura génica y propiedades de ensamblaje<sup>262</sup> (**tabla 9**). Los filamentos intermedios constituyen aproximadamente el 1% de la proteína total, aunque en algunas células, como los queratinocitos epidérmicos y las neuronas, representan hasta el 85% de la proteína total.

Filamentos intermedios
<b>Clase I:</b> Queratinas ácidas
<b>Clase II:</b> Queratinas básicas
<b>Clase III:</b> Vimentina, desmina, periferina y proteína ácida fibrilar glial (GFAP)
<b>Clase IV:</b> Neurofilamentos de cadena ligera (NFL), cadena media (NfM), cadena pesada (NfH) y $\alpha$ -internexina
<b>Clase V:</b> Láminas nucleares
<b>Clase VI:</b> Nestina

**Tabla 9:** Tipos de filamentos intermedios. *Adaptada de Fuchs et al, 1998*<sup>1</sup>.

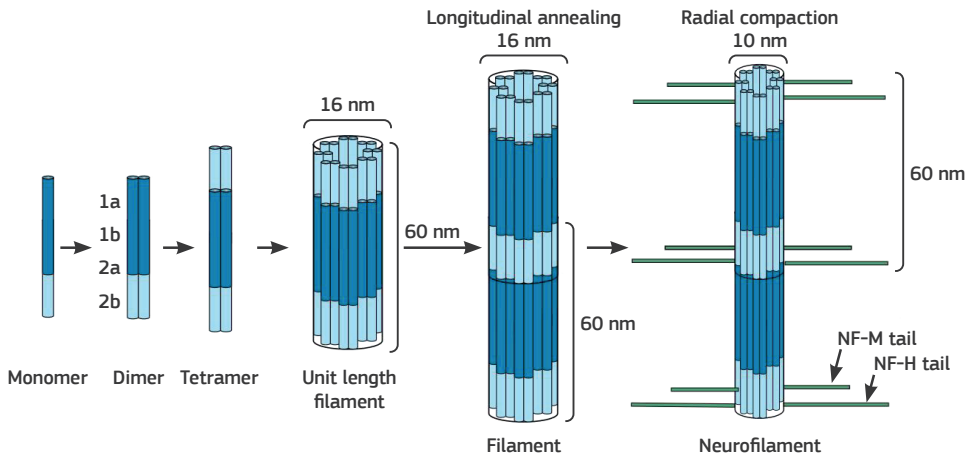


**Figura 13:** Estructura de los neurofilamentos. *Adaptada de Yuan et al. 2017*<sup>263</sup>.

Los neurofilamentos se distinguen de otros tipos de filamentos intermedios por la complejidad de su estructura y su composición en subunidades. Son heteropolímeros compuestos de cuatro subunidades: neurofilamento de cadena ligera (NFL), de cadena media (NFM) o de cadena pesada (NfH), y α-internexina (en el SNC) o periférica (en el SNP), cada una con diferentes estructuras y funciones de dominio. Las subunidades NfM y NfH contienen dominios carboxi-terminales largos con múltiples repeticiones Lys-Ser-Pro que están fuertemente fosforiladas<sup>261</sup> (**figura 13**). Los neurofilamentos se cruzan e interconectan con otros componentes del citoesqueleto, como los microtúbulos y los filamentos de actina. Esto permite el establecimiento de una red regionalmente especializada con un bajo *turnover* local y que sirve de plataforma de acoplamiento para organizar otros orgánulos y proteínas<sup>261</sup>.

La formación de dímeros proteicos de neurofilamentos es el primer paso en el ensamblaje de los heteropolímeros. La agregación antiparalela de estos dímeros conduce a la formación de tetrámeros, y ocho tetrámeros asociados lateralmente forman la estructura cilíndrica del filamento de longitud unitaria. El anillado de estas estructuras conduce a la elongación longitudinal de los neurofilamentos, que es seguida por la compactación radial para formar los neurofilamentos largos finales con diámetros de 10 nm. Los dominios de la cola de los

NfM y NfH irradian hacia afuera desde el núcleo del filamento debido a las extensas cargas negativas de los residuos de ácido glutámico y serina y treonina fosforilados (**figura 14**).



**Figura 14:** Ensamblado de los neurofilamentos. *Adaptada de Yuan et al. 2017*<sup>263</sup>

Las funciones precisas de los neurofilamentos no se conocen, pero se ha descrito su papel en el crecimiento radial y la estabilidad estructural de axones mielinizados, en el alcance de la velocidad de conducción óptima de los impulsos eléctricos, en la modulación de los canales iónicos en los axones mielinizados, así como en la organización de los microtúbulos y de la sinapsis, donde los neurofilamentos forman “andamios” celulares para el acoplamiento y la organización de vesículas sinápticas, endosomas y retículo endoplásmico<sup>263</sup>.

Así pues, los neurofilamentos son altamente específicos para el daño neuronal y la muerte celular neuronal, ofreciendo una ventaja clave sobre otros posibles biomarcadores. Hasta hace poco, la determinación de los neurofilamentos sólo se podía realizar en muestras de LCR, ya que la sensibilidad de las técnicas de ELISA era insuficiente para su cuantificación en sangre. Actualmente, con la técnica SiMoA (de sus siglas en inglés, *single-molecule array*) se puede detectar también en sangre, ya que ofrece una mejora importante de la sensibilidad (de hasta 1000 veces mayor), incluidos en controles sanos sin patología neurológica, donde los niveles son muy bajos<sup>264-266</sup>.



### **1.3.1.1. Neurofilamentos de cadena pesada (NfH)**

Estudios antiguos investigaron el rol de los NfH en LCR de los pacientes con SGB<sup>267,268</sup> y en pacientes con ELA<sup>269</sup>. Petzold y colaboradores realizaron un estudio retrospectivo de 23 pacientes con SGB en el que mostraron que los pacientes con afectación axonal tenían niveles de NfH en LCR más elevados que aquellos con estudios de conducción nerviosa desmielinizantes y que pacientes con niveles de NfH por encima de 0.73ng/ml tenían un peor pronóstico funcional motor en la última visita realizada (predicción de la incapacidad para caminar de forma independiente con una OR de 7.3)<sup>267,268</sup>. Un estudio posterior de los mismos autores comparó niveles de diferentes biomarcadores en LCR (NfH, Tau, S100B y GFAP) en 30 pacientes con SGB y los compararon con 38 pacientes con otras enfermedades neurológicas. Demostraron que los pacientes con SGB presentan un aumento de S100B y GFAP en comparación con otras enfermedades neurológicas, pero sin diferencias significativas en los niveles de NfH. Sin embargo, las proteínas gliales (GFAP o S100B) no demostraron tener valor pronóstico<sup>268</sup>.

### **1.3.1.2. Neurofilamentos de cadena ligera (NfL)**

Los NfL son uno de los biomarcadores más importantes en neurología<sup>261</sup>, ya que se expresan exclusivamente en neuronas y sus niveles son un marcador subrogado de daño axonal en enfermedades inflamatorias, neurodegenerativas y vasculares<sup>270</sup>. Se ha descrito su papel como biomarcador de actividad de enfermedad en otras enfermedades desmielinizantes como la esclerosis múltiple (EM)<sup>266,271</sup>; como marcador predictor de pronóstico en EM<sup>266</sup>, ELA<sup>272</sup> y ictus<sup>273,274</sup>; y como biomarcador de enfermedad presintomática en ELA<sup>275</sup> o demencia frontotemporal<sup>276</sup>. En el campo de las neuropatías, se han descrito niveles aumentados de NfL en suero (sNfL) en neuropatías autoinmunes como en el SGB<sup>277-279</sup> y la CIDP<sup>280</sup> y en neuropatías genéticas, como el Charcot-Marie-Tooth<sup>281,282</sup> y la polineuropatía amiloide familiar<sup>283,284</sup>.

En el caso del SGB, un pequeño estudio con 18 pacientes mostró que los pacientes con peor pronóstico (n=3) tenían niveles de NfL y GFAP en LCR más elevados que el resto de los pacientes. Los NfL en LCR se correlacionaron con mayor discapacidad y peor calidad de vida a largo plazo, mientras que los niveles de GFAP no mostraron correlación con el pronóstico<sup>277</sup>.

Altmann y colaboradores demostraron en un estudio retrospectivo reciente que niveles altos de sNfL se asocian a mal pronóstico a corto plazo en términos de mayor tiempo de hospitalización e ingreso en unidades de cuidados intensivos, pero sin estudiar posibles variables confusoras asociadas<sup>285</sup>. El rol de los niveles de NfL en suero como biomarcador de pronóstico a largo plazo en el SGB no se ha investigado hasta ahora.

En el caso de la CIDP, se ha descrito que un tercio de los pacientes tienen niveles de sNfL elevados antes de iniciar un tratamiento de inducción<sup>280</sup>. En este trabajo, Lieverloo y colaboradores estudian 3 cohortes de pacientes con CIDP (CIDP *naïve*, CIDP estables en tratamiento de mantenimiento y CIDP en remisión). Los resultados mostraron unos niveles de sNfL elevados en la cohorte de CIDP *naïve*, mientras que los pacientes estables y en remisión no tenían diferencias significativas con los controles sanos. Además, estudiaron muestras de seguimiento en algunos pacientes que les permitieron objetivar una disminución de los sNfL en 4 de los 6 pacientes respondedores con sNfL elevados al inicio. Recientemente se ha publicado un artículo que estudia el valor pronóstico de los sNfL en 76 pacientes con CIDP<sup>286</sup> y que muestra que los niveles de sNfL se asocian a la progresión de la enfermedad a un año (disminución de 4 o más puntos en el *MRC sum score*) y a la respuesta terapéutica.

Un estudio muy reciente ha mostrado que los niveles de sNfL en pacientes con CIDP con anticuerpos anti-neurofascina-155 (n=13) se encuentran más elevados que en aquellos pacientes con CIDP seronegativas (n=45) y que correlacionan con la amplitud de los potenciales motores de los nervios tibiales y con el grado de degeneración axonal en los hallazgos patológicos de las biopsias de nervios surales<sup>287</sup>. Establecieron también una correlación entre la escala modificada de Rankin (mRS) y los niveles de sNfL, así como con los niveles de proteínas en LCR<sup>287</sup>.

### **1.3.2. Marcadores de daño mielínico**

Aunque los componentes lipídicos de la vaina de mielina en el SNC y SNP son similares, la distribución y el tipo de proteínas de mielina en el SNP son diferentes. Las proteínas

específicas de mielina en el SNP incluyen las proteínas P0, P2, PMP22 y MAG. La importancia de encontrar un buen marcador de daño mielínico reside en la posibilidad de discriminar el daño mielínico del daño axonal primario en aquellos casos en los que las pruebas complementarias no aportan suficiente luz a la fisiopatología primaria de la neuropatía, pudiendo ayudar a decidir en qué casos se puede probar de iniciar un tratamiento inmunomodulador.

Durante la desmielinización, se liberan varios componentes de la mielina y el axón como resultado del daño de las células de Schwann. Estos componentes pueden detectarse en LCR, suero e incluso biopsias de nervios periféricos<sup>288</sup>, lo que potencialmente puede indicar el grado de desmielinización durante el progreso de la enfermedad y también la eficacia del tratamiento reflejada por el grado de remielinización. Algunos de los posibles biomarcadores se detallan en la **tabla 10**. Sin embargo, ninguno de ellos ha conseguido su sistematización para el uso en la práctica clínica, salvo los anticuerpos antigangliósidos y anticuerpos nodales y paranodales.

	Biomarcador	Enfermedad	Muestra
<b>Marcadores lipídicos de la vaina de mielina</b>	Gangliósidos	SGB	Suero
	Fosfolípidos	SGB	Suero
	Cardiolipina	SGB	Suero
	Esfingomielina	SGB, CIDP	LCR
<b>Marcadores proteicos de la vaina de mielina</b>	P0	SGB, CIDP	Suero
	P2	SGB, CIDP	Suero
	PMP22	SGB, CIDP, CMT, anti-MAG	Suero
<b>Marcadores de proteínas nodales</b>	NF186	SGB, CIDP	Suero
	Gliomedina	SGB, CIDP	Suero
	NCAM	SGB, CIDP	Suero
<b>Marcadores de proteínas paranodales</b>	NF155	CIDP	Suero
	CNTN1	CIDP	Suero
	Caspr1	CIDP	Suero, tejido

**Tabla 10:** Posibles biomarcadores asociados a mielina. *Adaptada de Kamil et al. 2019<sup>289</sup>*.

Una de las moléculas descritas recientemente como marcador de daño mielínico en neuropatías desmielinizantes es la esfingomielina, un lípido enriquecido con mielina<sup>290</sup>. Capodivento y

colaboradores han desarrollado una técnica para estudiar la esfingomielina en LCR en pacientes con neuropatías autoinmunes. En un estudio reciente confirmaron que los niveles de esfingomielina en LCR se encontraban elevados en pacientes con CIDP y AIDP en comparación con otras enfermedades neurológicas no desmielinizantes. Los niveles fueron mayores en las CIDP activas que en los pacientes con CIDP con estabilidad clínica y en AIDP en comparación con las variantes axonales<sup>291</sup>.

### **1.3.3. Biomarcadores genéticos**

Las bases genéticas del SGB y de la CIDP no son bien conocidas. Los biomarcadores genéticos más estudiados en las neuropatías autoinmunes han sido los polimorfismos del FcγR y del gen del complejo del antígeno leucocitario humano (HLA).

La mayoría de las células inmunitarias innatas expresan varios receptores específicos para anticuerpos, denominados receptores Fc (FcR). La relación de expresión de los receptores inhibidores y de activación de FcγR determina la respuesta inmune final; la sobreexpresión de FcγRI y FcγRIII favorece la activación, mientras que la sobreexpresión de FcγRII favorece la inhibición de la fagocitosis y la interrupción de la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos<sup>292</sup>. La relevancia de los FcγR en el SGB está implícita en algunos estudios clínicos que muestran que ciertos polimorfismos en la activación de los genes FcγR están asociados con el riesgo de desarrollar SGB y la gravedad de la enfermedad<sup>293-295</sup>. Además, la modulación de FcγR es uno de los mecanismos de acción de la IgeV<sup>292,296</sup>, tratamiento de primera línea para el SGB y la CIDP. El tratamiento con IgeV puede suprimir las respuestas inflamatorias mediante la regulación positiva del inhibidor FcγRIIB<sup>296</sup>. En particular, los pacientes con CIDP que responden a IgeV mostraron un aumento de expresión de FcγRIIB en células B y monocitos<sup>297</sup>. En conjunto, estas observaciones plantean la posibilidad de que las actividades proinflamatorias y antiinflamatorias mediadas por FcγR sean críticas en el desarrollo y el tratamiento de las neuropatías autoinmunes<sup>298</sup>.

También se han realizado estudios acerca de la relación entre los polimorfismos del gen HLA y el SGB o la CIDP. El SGB y la CIDP cumplen la mayoría de criterios de las enfermedades autoinmunes, excepto por la falta de asociación clara a un HLA específico, la ausencia de un

antígeno diana claro y su predominancia en hombres<sup>299</sup>. La falta de una asociación fuerte de un HLA de clase II con las neuropatías autoinmunes podría sugerir que la presentación de antígenos restringidos por MHC no tiene una importancia primordial en la susceptibilidad de desarrollar un GBS o una CIDP<sup>300</sup>. Sin embargo, algunos estudios han demostrado una asociación de diversos HLA en los subtipos AIDP y AMAN<sup>301,302</sup>, así como en la CIDP<sup>299</sup>; que no han sido replicados con posterioridad. En cambio, en el caso de la CIDP con anticuerpos anti-NF155, se ha descrito una asociación fuerte con el HLA DRB1\*15<sup>242,243</sup>. Esto apoya la teoría que la heterogeneidad clínica, patológica y genética de la CIDP desaparece cuando la enfermedad se divide en función de biomarcadores altamente específicos, como los anticuerpos nodales y paranodales.

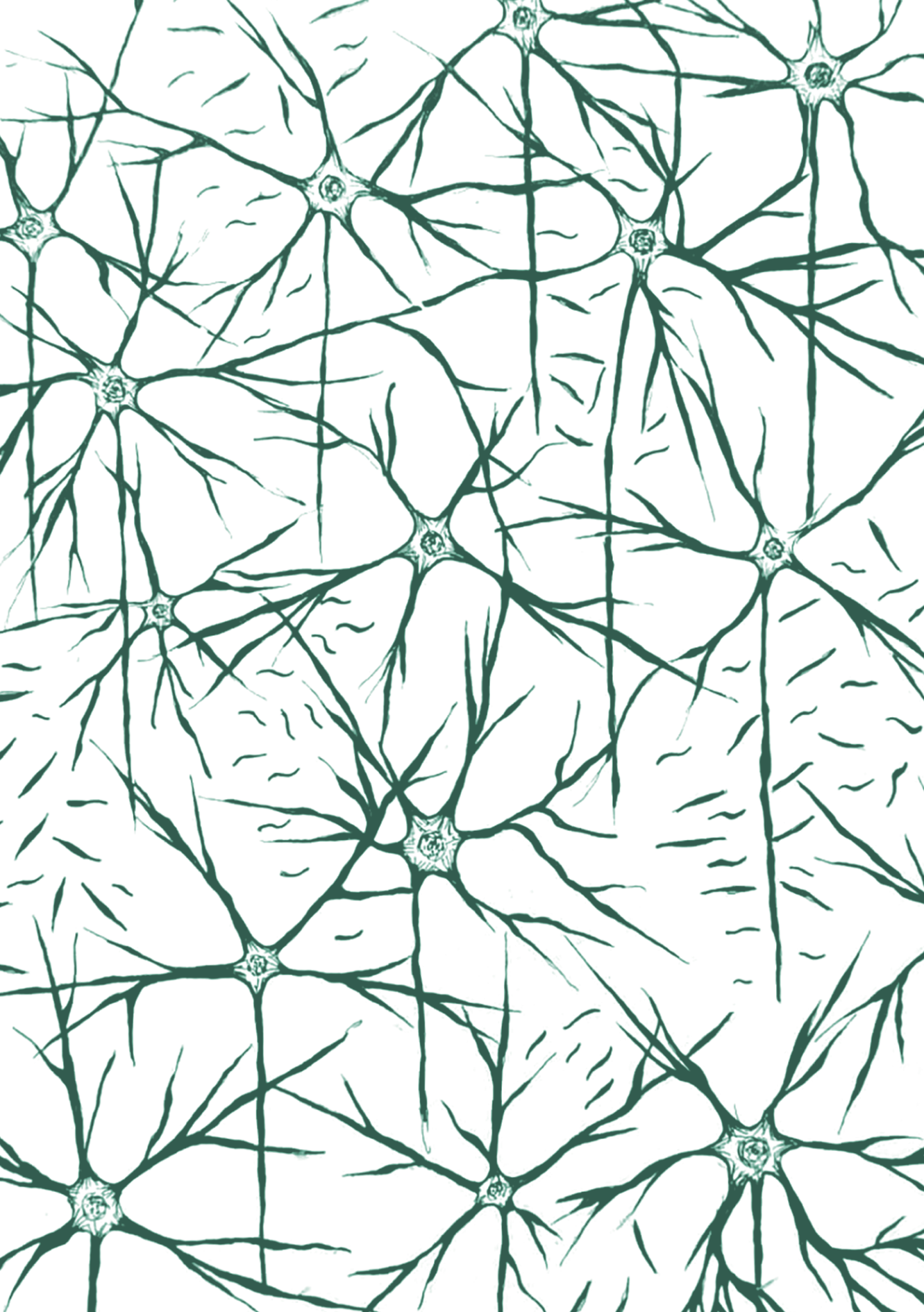
### **1.4. RELEVANCIA CLÍNICA DE LA DETECCIÓN DE AUTOANTICUERPOS Y NEUROFILAMENTOS EN PACIENTES CON NEUROPATÍAS AUTOINMUNES**

La descripción de autoanticuerpos dirigidos contra estructuras del nervio periférico como los gangliósidos, los anticuerpos dirigidos contra proteínas del nodo de Ranvier o la glicoproteína asociada a la mielina, ha permitido la identificación de subgrupos de pacientes con fenotipos clínicos específicos asociados a dichos autoanticuerpos<sup>303</sup>. La descripción de estos autoanticuerpos ha supuesto un impulso en el campo de las neuropatías inmunomediadas, ya que demuestran la existencia de distintos subtipos de enfermedad con dianas antigénicas y mecanismos inmunopatogénicos diferentes. En el caso de los anticuerpos nodales y paranodales en la CIDP su detección no solo tiene implicaciones diagnósticas, sino también de elección de tratamiento, ya que se ha descrito una pobre respuesta a las IgGv y una respuesta efectiva a la terapia anti-CD20<sup>187</sup>. Por este motivo, los autoanticuerpos nodo-paranodales son de gran utilidad en la práctica clínica.

En el caso concreto de la CIDP con anticuerpos anti-NF155, su fenotipo clínico está bien descrito en series de pacientes (debilidad de predominio distal, temblor cerebeloso y ataxia asociada)<sup>51,241,244</sup>, pero no se han descrito biomarcadores de respuesta terapéutica que

ayuden en el control y seguimiento de los pacientes, ni existen estudios de pronóstico a largo plazo, fuera de las series de casos publicadas.

Por otro lado, la cuantificación del daño axonal en las neuropatías autoinmunes puede suponer una mejora en la estratificación de la gravedad al inicio de los síntomas, una buena cuantificación de la actividad en términos de daño axonal, un mejor seguimiento de la respuesta terapéutica y una mejor predicción del pronóstico a largo plazo. La medición de NfL en suero es prometedora en estos objetivos<sup>261</sup>; ya que existen datos publicados en otras enfermedades neurológicas, incluidas algunas enfermedades que son primariamente desmielinizantes, como la Esclerosis Múltiple<sup>266</sup>, que nos muestran su potencial utilidad en todos estos campos, incluido su uso como biomarcador en ensayos clínicos fase II para el desarrollo de nuevas terapias. Además, existen datos preliminares que muestran que los NfL en suero se encuentran elevados en las neuropatías autoinmunes como el SGB y la CIDP y que, al ser un reflejo del daño axonal, podrían ser un buen biomarcador pronóstico<sup>285,286</sup>.



2

# HIPÓTESIS







## 2.1. HIPÓTESIS GENERAL

Las neuropatías desmielinizantes adquiridas autoinmunes son un grupo de enfermedades heterogéneas que comparten ciertos aspectos en su patogenia.

Los biomarcadores de daño axonal y los autoanticuerpos pueden ayudarnos a explicar parte de su heterogeneidad clínica y, por lo tanto, pueden mejorar la caracterización clínica de estas enfermedades, ayudando a crear subgrupos más homogéneos con inmunopatogenia similar.

Estos biomarcadores pueden ayudar en la evaluación del pronóstico a largo plazo de las neuropatías autoinmunes, así como en la evaluación de la actividad clínica y respuesta terapéutica.

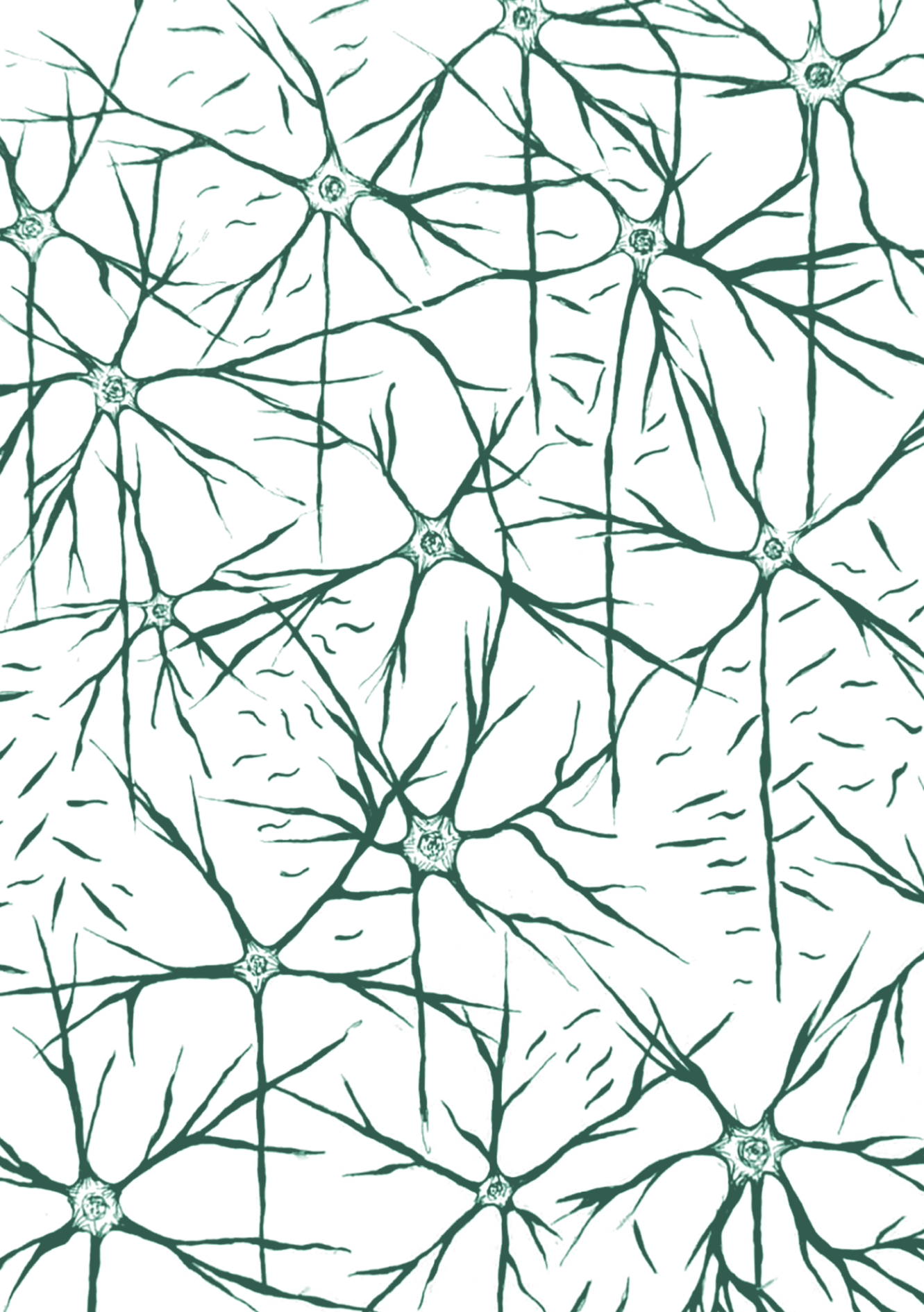
## 2.2. HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

### **2.2.1. Biomarcadores de daño axonal en el síndrome de Guillain-Barré (SGB)**

- Los neurofilamentos de cadena ligera en suero (sNFL) pueden ayudar a cuantificar el daño axonal y, por lo tanto, se correlacionan con la gravedad de la enfermedad en el SGB.
- Los sNFL pueden ayudar a predecir el pronóstico a largo plazo en pacientes con SGB.

### **2.2.2. Respuesta terapéutica, biomarcadores de daño axonal y autoanticuerpos anti-neurofascina-155 en la CIDP**

- Los sNFL y los autoanticuerpos anti-NF155 son biomarcadores útiles para monitorizar la actividad clínica y la respuesta terapéutica en los pacientes con CIDP anti-NF155+.
- El rituximab es un tratamiento efectivo para los pacientes con CIDP anti-NF155+ que no responden a tratamiento de primera línea con IgeV o corticosteroides.



3

# OBJETIVOS





### **3.1. OBJETIVO GENERAL**

Describir la utilidad de biomarcadores en neuropatías autoinmunes para mejorar su caracterización clínica, valoración de respuesta terapéutica y predicción del pronóstico a largo plazo.

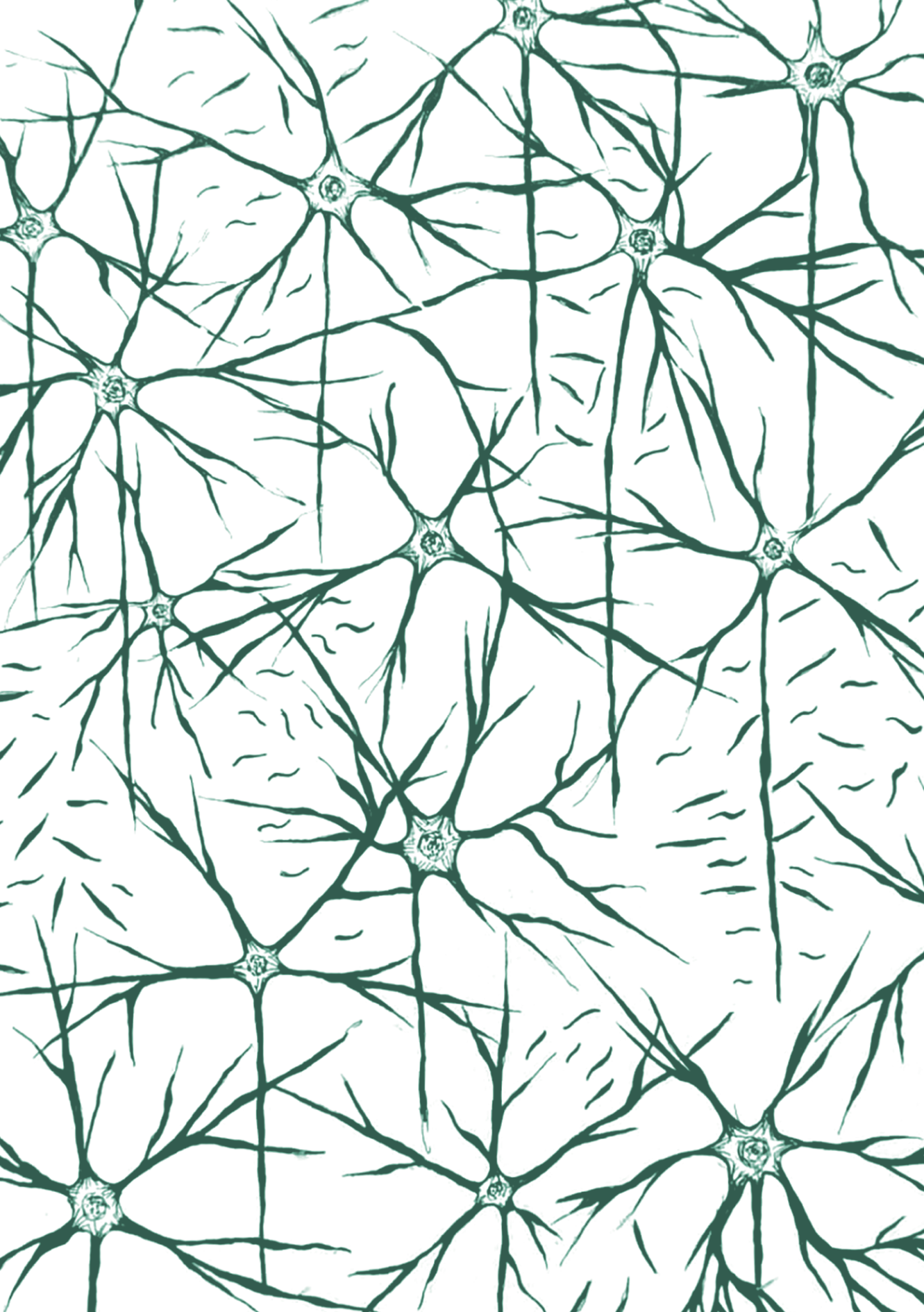
### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

#### ***3.2.1. Biomarcadores de daño axonal en el síndrome de Guillain-Barré (SGB)***

- Estudiar los neurofilamentos de cadena ligera en suero (sNfL) y su correlación con la gravedad clínica y las variantes de la enfermedad en el SGB.
- Estudiar los sNfL en el SGB como biomarcador de pronóstico a largo plazo.

#### ***3.2.2. Respuesta terapéutica, biomarcadores de daño axonal y autoanticuerpos anti-neurofascina-155 en la CIDP***

- Descripción de las características clínicas e inmunológicas de los pacientes con CIDP anti-NF155+ y su perfil de respuesta terapéutica, particularmente al tratamiento con rituximab.
- Estudiar los sNfL y los títulos de anticuerpos anti-NF155 en pacientes con CIDP anti-NF155+ para evaluar su posible papel como biomarcador de actividad clínica y de respuesta terapéutica.



4

# MATERIAL Y MÉTODOS







## 4.1. PACIENTES Y RECOGIDA DE DATOS

### 4.1.1. Pacientes con síndrome de Guillain-Barré

Los pacientes con Síndrome de Guillain-Barré (SGB) incluidos en el estudio son pacientes recogidos en la cohorte española del estudio *International Guillain-Barré Syndrome Outcome Study* (IGOS)<sup>304</sup>. El IGOS es un estudio de cohorte prospectivo y observacional que incluye a todos los pacientes dentro del espectro diagnóstico del SGB. Los pacientes que cumplían los criterios diagnósticos de SGB fueron incluidos en las dos semanas siguientes al inicio de la enfermedad. Los pacientes de la cohorte española se reclutaron entre febrero de 2013 y enero de 2019. Además, se incluyeron en el estudio 53 sueros de controles sanos (CS) emparejados por edad y 10 muestras de LCR de CS, también emparejados por edad. Las muestras de LCR de los CS se obtuvieron del Biobanco de la Unidad de Memoria de Sant Pau. Las muestras de suero y LCR se alicuotaron y se almacenaron a -80°C hasta que se necesitaron. El estudio fue aprobado por los Comités de Ética del Hospital de la Universidad Erasmus, Rotterdam, Países Bajos, el Comité de Ética del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau y los comités locales de los hospitales o universidades participantes. Todos los pacientes dieron su consentimiento informado por escrito para participar en el estudio.

Movimiento evaluado en cada lado	Puntuación para cada movimiento
Abducción del hombro	0 = sin movimiento
Flexión del codo	1 = contracción muscular visible sin movimiento
Extensión de la muñeca	2 = movimiento eliminada la gravedad
Flexión de la cadera	3 = movimiento parcial sólo contra gravedad, sin resistencia
Extensión de la rodilla	4 = movimiento contra resistencia
Dorsiflexión del tobillo	5 = normal

**Tabla 11:** MRC *sum score*. Las puntuaciones se calcularon utilizando la suma de la escala de MRC (0-5) para los grupos musculares indicados en la tabla de forma bilateral. Una puntuación de 60 indica la ausencia de debilidad.

Los datos se recogieron de forma prospectiva, incluyendo las características demográficas (edad y género) y las variables de la enfermedad: días desde el inicio de los síntomas, antecedente infeccioso, puntuación del *MRC sum score*<sup>305</sup> (**tabla 11**) basal y a 1 semana y puntuaciones de discapacidad, incluyendo la escala de discapacidad del

SGB<sup>151</sup> (GDS) y de la escala *Rasch-built Overall Disability Scale* (I-RODS)<sup>306</sup> (**tabla 12**) en diferentes puntos temporales.

<b>A</b>	
<b>GBS Disability Score (GDS)</b>	
<b>0</b>	Ausencia de síntomas
<b>1</b>	Síntomas leves, capaz de correr
<b>2</b>	Capaz de caminar 10m o más sin ayuda, pero incapaz de correr
<b>3</b>	Capaz de caminar 10m en un espacio abierto con ayuda
<b>4</b>	Encamado o restringido a silla de ruedas
<b>5</b>	Requerimiento de ventilación asistida
<b>6</b>	Muerte

<b>B</b>	
<b>Rasch-built Overall Disability Scale (I-RODS)</b>	
<b>¿Eres capaz de...?</b>	
<b>1</b>	Agacharse a coger algo
<b>2</b>	Permanecer de pie largo rato (horas)
<b>3</b>	Subir un tramo de escaleras
<b>4</b>	Correr
<b>5</b>	Caminar por la calle hasta 1 hora
<b>6</b>	Caminar evitando obstáculos
<b>7</b>	Bailar
<b>8</b>	Viajar en transporte público
<b>9</b>	Girar la llave en la puerta
<b>10</b>	Transportar y depositar un objeto pesado
<b>11</b>	Mover una silla
<b>12</b>	Atrapar un objeto (por ejemplo, una pelota)
<b>13</b>	Lavarse la parte de arriba del cuerpo
<b>14</b>	Lavarse la parte de abajo del cuerpo
<b>15</b>	Ducharse
<b>16</b>	Lavarse los dientes
<b>17</b>	Sentarse/Levantarse del WC
<b>18</b>	Vestirse la parte de arriba del cuerpo
<b>19</b>	Comer
<b>20</b>	Fregar los platos
<b>21</b>	Hacerse un bocadillo
<b>22</b>	Hacer la compra
<b>23</b>	Ir al medico
<b>24</b>	Leer un libro/periódico

**Tabla 12:** Escalas de discapacidad en el SGB.

**A:** *GBS Disability Score (GDS)* **B:** *Rasch-built Overall Disability Scale (I-RODS)*.

En el caso de la escala I-RODS se pregunta al paciente si es capaz de realizar las 24 actividades cotidianas descritas. Por cada actividad fácil de realizar suma 2 puntos, por cada actividad posible de realizar con esfuerzo suma 1 punto y si la tarea es imposible de realizar suma 0 puntos. La escala puntúa del 0 al 48, siendo 48 un paciente asintomático con capacidad para correr con facilidad.

También se recogieron los criterios diagnósticos de Brighton<sup>72,74</sup>, los resultados del examen rutinario del LCR, los estudios de conducción nerviosa (ECN) realizados y el tratamiento administrado. Se definió un nivel elevado de proteínas en LCR como superior a 0,45g/L. Las variantes clínicas se definieron como sensitivo-motoras, motoras puras, sensitivas puras, síndrome de Miller Fisher (SMF), atáxicas y variante faringo-cérvico-braquial<sup>75</sup>. Los ECN se clasificaron como polineuropatía inflamatoria desmielinizante aguda (AIDP), neuropatía axonal motora aguda (AMAN) y neuropatía axonal sensitivo-motora aguda (AMSAN), estudio equívoco (alteraciones leves que no llegan a cumplir criterios de desmielinización adquirida propuestos por la EFNS/PNS<sup>185</sup>) o normal. La puntuación GDS se registró al inicio y a las 4, 26 y 52 semanas. La escala I-RODS se evaluó a las 4, 26 y 52 semanas. La variable “capacidad de correr” se extrajo de la pregunta específica de la escala I-RODS, y la variable “capacidad de caminar de forma independiente” se extrajo de la puntuación GDS.

#### ***4.1.2. Pacientes con CIDP con anticuerpos anti-neurofascina-155 (CIDP anti-NF155+)***

Se incluyeron en el estudio todos los pacientes que reaccionaron contra células transfectadas con NF155 y que fueron identificados durante las pruebas rutinarias de anticuerpos paranodales/nodales en nuestro laboratorio. Se trata, por lo tanto, de un estudio observacional retrospectivo multicéntrico en el que participaron 24 centros diferentes. Las muestras se obtuvieron entre mayo de 2010 y diciembre de 2020. Estos pacientes fueron seleccionados para una mayor caracterización entre mayo de 2020 y diciembre de 2020. Además, se incluyeron en el estudio 62 sueros de CS emparejados por edad. Los datos demográficos y clínicos al inicio y durante el seguimiento se recogieron en una base de datos codificada. Este estudio se realizó según un protocolo aprobado por el Comité de Ética del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Todos los pacientes dieron su consentimiento informado por escrito para participar en el estudio. Se obtuvieron muestras de suero en diferentes momentos de la enfermedad para la detección rutinaria de autoanticuerpos y se almacenaron a -80°C hasta que se necesitaron.

Los datos se recogieron de forma retrospectiva mediante la revisión de las historias clínicas de los pacientes en 24 centros diferentes. Los datos recogidos incluyen características demográficas (edad y sexo) y clínicas (diagnóstico inicial, tiempo hasta el nadir, presencia de debilidad o déficits sensitivos, presencia de ataxia y temblor). La presentación clínica se definió como sensitivo-motora, motora pura o sensitiva/atáxica pura. También se recogieron los resultados del examen rutinario del LCR (considerándose un nivel elevado de proteínas en LCR superior a 0.45g/L) y los tratamientos administrados. Se evaluaron los criterios electrodiagnósticos EFNS/PNS para CIDP<sup>185</sup> y los pacientes se clasificaron como CIDP definitiva, probable o posible. Se recogieron las puntuaciones de escalas de discapacidad en el nadir y en el seguimiento, incluyendo la escala de Rankin modificada (mRS)<sup>307</sup> y las puntuaciones de la escala I-RODS, siempre que estuvieran disponibles. La respuesta al tratamiento se definió como una buena respuesta, respuesta parcial o sin respuesta, según sus neurólogos y tras la revisión de las exploraciones neurológicas recogidas en los cursos clínicos. En el caso de los pacientes tratados con rituximab, se recogió el mRS antes del tratamiento y al menos una vez después del mismo, así como el protocolo de infusión y los efectos adversos presentados (reacciones a la infusión e infecciones).

### **4.2. DETERMINACIÓN DE NEUROFILAMENTOS DE CADENA LIGERA**

La medición de los niveles de neurofilamentos de cadena ligera (NfL) en suero y LCR se realizó utilizando el kit SIMOA Nf-light® en el analizador de inmunoensayo Simoa™ (Quanterix Corp, Boston, MA, USA), que ejecuta ensayos inmunoenzimáticos ultrasensibles basados en bolas paramagnéticas. Las muestras iniciales se analizaron por duplicado siguiendo las instrucciones del fabricante. Todos los valores de NfL estaban dentro de los rangos lineales de los ensayos. Los coeficientes de variación intra e inter-ensayo en el nivel intermedio (15.80pg/ml) fueron del 5.4% y 6.8%, respectivamente.

### **4.3. DETECCIÓN Y TITULACIÓN DE LOS ANTICUERPOS ANTI-NF155**

#### **4.3.1. Inmunocitoquímica (ICC)**

Los anticuerpos séricos contra la NF155 se detectaron mediante un ensayo basado en células (CBA) utilizando células HEK293 transfectadas con NF155 humana. El plásmido

de neurofascina-155 utilizado para la detección de anti-NF155 fue RC228652 (Origene, Rockville, EE. UU.) y el plásmido de neurofascina-155 utilizado para la confirmación de los falsos positivos encontrados (sin el tag DDK-myc) fue EX-Z7183-M02 (GeneCopoeia, Rockville, EE. UU.). Los vectores de expresión de mamíferos que codifican para NF155 humana se transfectaron en células HEK293 con Lipofectamina 2000 (Invitrogen, CA, EE. UU.). A continuación, las células se fijaron con paraformaldehído al 4% (Affymetrix Inc, CA, EE. UU.) y se congelaron a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta que se necesitaron. Posteriormente, las células se bloquearon con suero de cabra diluido al 5% en PBS durante 1 hora a temperatura ambiente (TA), fueron incubadas con el suero del paciente diluido 1:100 durante 1 hora a TA y, posteriormente, incubadas con el anticuerpo primario anti-NF155 (AF-3235, R&D Systems) (1:1000) y con los anticuerpos secundarios AlexaFluor® (A11039, Invitrogen, CA, EE. UU. y 98621, Abcam, Cambridge, UK) (1:1000), ambas durante 1 hora a TA. Finalmente, los portaobjetos se montaron con Fluoromount™ (Sigma-Aldrich). Las imágenes fueron revisadas en un microscopio de fluorescencia (Olympus DX51).

#### **4.3.2. Titulación y subclases de anticuerpos IgG anti-NF155**

Para la identificación y valoración del isotipo de los autoanticuerpos se utilizó el ensayo inmunoenzimático ELISA.

Las placas de 96 pocillos Maxisorb (Thermo Fisher Scientific NUNC, Dinamarca) se recubrieron con neurofascina-155 humana (proteína recombinante de neurofascina humana, Origene Technologies, Rockville, EE. UU.) diluida a una concentración de  $1\mu\text{g}/\text{mL}$  en tampón carbonato 0,1 M (pH 9,6) y se incubaron a  $4^{\circ}\text{C}$  durante la noche. Todos los pocillos se lavaron con PBS/0,1%-Tween-20 y se bloquearon con solución de bloqueo (PBS, 5% de leche, 0,1% Tween20) durante 1 hora a TA. Todos los pocillos se incubaron con los sueros de pacientes diluidos 1:100 (1 hora a TA). Se utilizaron sueros de pacientes con CIDP anti-NF155 como controles positivos y sueros de controles sanos como controles negativos. Tras el lavado con PBS/0,1% Tween-20, la placa se incubó con el anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa (anti-IgG humana, Dako, Glostrup, Dinamarca, diluida a 1:2000). Tras el lavado con PBS/0,1% de Tween-20,

se añadieron 100  $\mu$ l de solución de TMB (BioLegend, San Diego, CA, EE. UU.) a cada pocillo y la reacción se detuvo tras 10 minutos, añadiendo 50  $\mu$ l de ácido sulfúrico al 25%.

Para el estudio de subclases, se realizó el mismo procedimiento utilizando los anticuerpos secundarios anti-IgG1 (A10648, Invitrogen), IgG2 (MH1722, Invitrogen), IgG3 (MH1732, Invitrogen) o IgG4 (A10654, Invitrogen) (1:1000). La titulación de los autoanticuerpos se realizó con el anticuerpo secundario anti-IgG4.

La densidad óptica se midió a 450 nm con el lector Multiscan ELISA. Los resultados se representaron como la diferencia de la densidad óptica ( $\Delta$ DO). Las muestras se consideraron positivas por ELISA cuando tenían una  $\Delta$ OD superior a la media de los controles sanos más dos desviaciones estándar. Todas las muestras se analizaron en las mismas condiciones. La variación del título dentro del mismo paciente se expresó como el porcentaje de cambio del título en comparación con los niveles previos al tratamiento.

#### **4.4. GENOTIPADO DEL ANTÍGENO LEUCOCITARIO HUMANO (HLA)**

Para realizar el genotipado HLA-DRB1 y HLA-DQB1 se partió de ADN genómico extraído de sangre periférica mediante protocolos estándar. Para el tipaje HLA-DRB1 se utilizó la técnica de secuenciación (SBT Excellerator GenDx HLA-DRB1, GenDx, Utrecht, Países Bajos) y para el HLA-DQB1 la metodología SSP (All Set Gold SSP, One Lambda, California, EE. UU.). En ambos casos se obtuvieron resultados de alta resolución (4 dígitos). Además, se calcularon las frecuencias de los alelos HLA-DRB1\*15 para la CIDP anti-NF155+ y se compararon con su frecuencia en la población española normal previamente publicada y disponible en bases de datos públicas ([allelfrequencies.net](http://allelfrequencies.net))

#### **4.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Las estadísticas descriptivas se muestran como media (+/- desviación estándar - DE) o mediana (rango intercuartílico - RIC) en las variables continuas y como frecuencias (porcentajes) en las variables categóricas. Las comparaciones entre los pacientes con SGB o CIDP

anti-NF155+ y los CS se realizaron mediante la prueba de suma de rangos Wilcoxon. La prueba de Kruskal-Wallis se utilizó para comparar grupos. La prueba de suma de rangos para datos emparejados de Wilcoxon se utilizó para comparar los niveles de títulos anti-NF155 y los sNfL en diferentes puntos temporales. El coeficiente de Spearman se utilizó para evaluar la correlación entre las variables.

Los niveles de sNfL no se distribuyeron siguiendo la normalidad según la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk. Por lo tanto, en el caso del estudio en pacientes con SGB se realizó una transformación logarítmica de la variable para acercarse a la distribución normal (logNfL) y poder realizar un análisis multivariado. En esos casos, se resumieron los niveles de NfL utilizando las medias geométricas (Geomeia), el intervalo de confianza (IC) del 95% de la Geomeia y el coeficiente de variación (CV).

A continuación, detallamos el análisis estadístico específico realizado para investigar la asociación entre los sNfL y el pronóstico en los pacientes con SGB, en el que realizamos dos tipos de análisis de regresión multivariable. En primer lugar, realizamos un análisis de regresión logística multivariable para predecir la capacidad de correr al año de seguimiento. En segundo lugar, realizamos un análisis de regresión lineal multivariable para investigar la asociación entre logNfL y la escala I-RODS a 1 año. En ambos análisis se realizó un modelo de regresión paso a paso y eliminación hacia atrás (*stepwise backward regression modeling*) para seleccionar las variables asociadas de forma independiente con el resultado. Los análisis estadísticos realizados y las variables introducidas en nuestros modelos multivariables fueron predefinidos en base a factores pronósticos conocidos (edad, GDS, diarrea, MRC *sum score* a 1 semana y AMAN). Presentamos dos modelos diferentes para evitar la colinealidad entre las variables AMAN y MRC *sum score* a 1 semana. Para realizar el análisis multivariable excluimos a los pacientes con SMF, ya que ésta se considera una enfermedad diferente, con una fisiopatología diferente, una presentación clínica diferente (no se presenta con debilidad) y un pronóstico diferente (se considera autolimitado y benigno), que a menudo no requiere de tratamiento. Los modelos finales se ajustaron por posibles

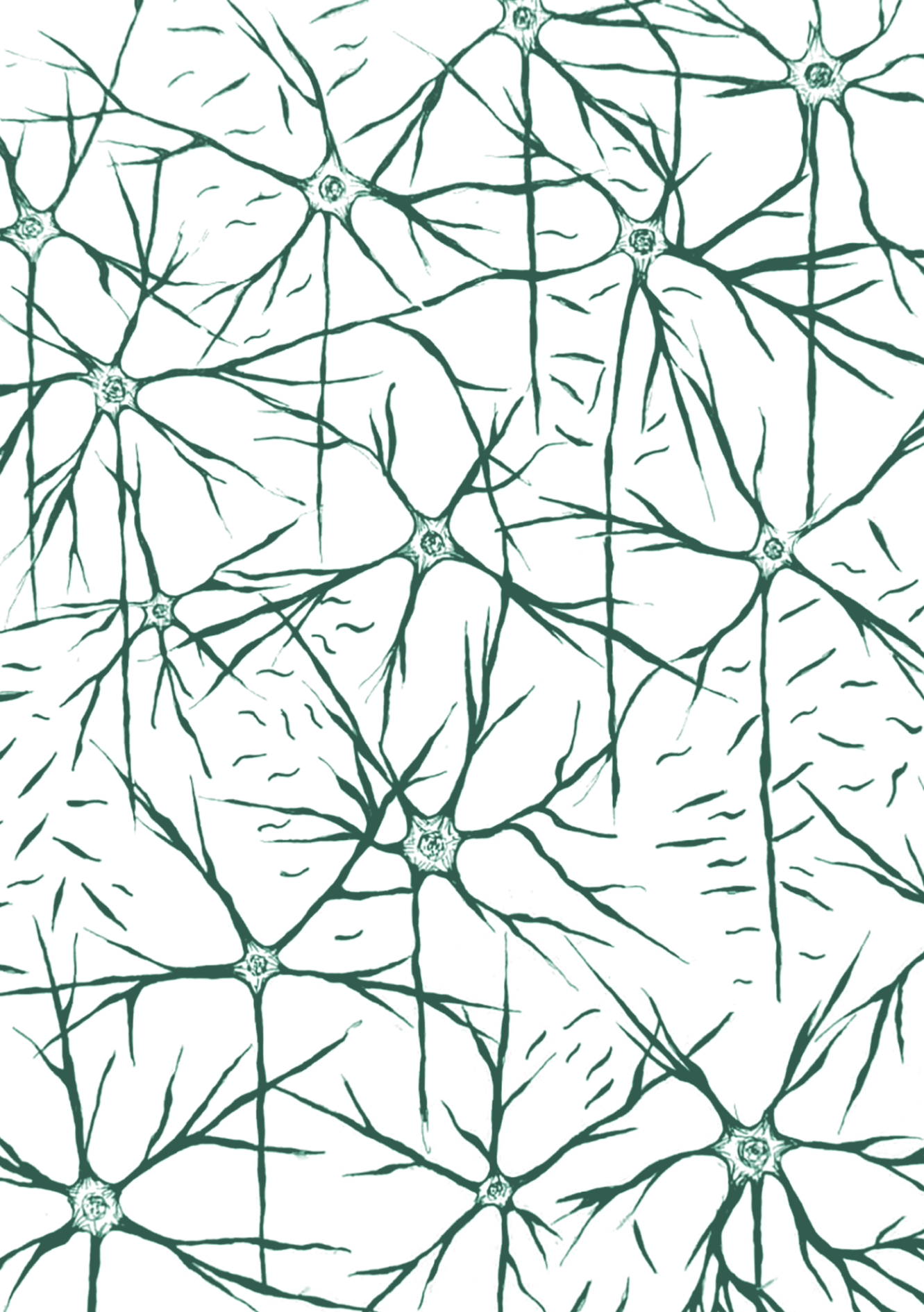


factores de confusión. Un efecto de confusión significativo se definió como un cambio absoluto >10% en los coeficientes de regresión al introducir la variable en el modelo. Se reportan los odds-ratios (OR) para el análisis de regresión logística y los coeficientes beta ( $\beta$ ) para el análisis de regresión lineal con intervalos de confianza del 95% y valores p.

Además, se evaluó la capacidad predictiva de los niveles de NfL en la fase aguda y al año (discapacidad residual) para 5 *endpoints* finales diferentes clínicamente relevantes, establecidos antes del análisis: (1) capacidad de correr a 1 año, (2) incapacidad de correr a 1 año, (3) incapacidad de caminar independientemente a 1 año, (4) ventilación y (5) muerte. En primer lugar, se realizó un análisis de regresión logística univariante para cada criterio de valoración utilizando los niveles de NfL como variable de exposición. A continuación, realizamos un análisis ROC (*Receiver Operating Characteristic*) comparando las predicciones con el criterio de valoración y, finalmente, seleccionamos los puntos de corte de sNfL que mejor predecían ese criterio, buscando la mayor especificidad. Por último, comprobamos la capacidad predictiva de cada punto de corte mediante análisis de regresión logística multivariable ajustando por edad y AMAN como posibles factores de confusión. Se reportan la OR con un IC del 95%, el área bajo la curva (AUC), la sensibilidad, la especificidad, el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) para cada punto de corte.

La significación estadística se fijó en 0.05 (a dos bandas) para todos los análisis. El análisis se llevó a cabo en *Graphpad Prism* versión 8, *Stata* versión 15 (Texas, EE. UU.) y *SPSS Statistics* versión 23 (IBM Corp., USA).





5

# RESULTADOS





## 5.1. SÍNDROME DE GUILLAIN-BARRÉ

### 5.1.1. Características basales de los pacientes

Se reclutaron 98 participantes de 11 centros españoles diferentes. Los pacientes con SGB tenían una media de 57.4 años y eran predominantemente hombres (57%). El 68.4% de los pacientes presentaron un antecedente infeccioso, principalmente infecciones de las vías respiratorias superiores (43.9%) y diarrea (24.5%). La mediana de tiempo desde el inicio de los síntomas hasta la inclusión fue de 4 días (RIC 3-6). La mayoría de los pacientes tenían un GDS inicial entre 2 y 4 (93.9%). Se examinó el LCR en 90 (91.8%) pacientes dentro de una mediana de tiempo de 3 días (RIC 2-6) desde el inicio de la enfermedad. Se detectaron niveles elevados de proteínas en el LCR en el 68.9% de los pacientes. La mayoría de los pacientes fueron clasificados en el nivel 1 de certeza diagnóstica de SGB siguiendo los criterios de Brighton (65.9%), el 33% de los pacientes fueron clasificados en el nivel 2 y un paciente en el nivel 3. El 66% de los pacientes presentaron la variante sensitivo-motora típica, el 18.4% presentaban una variante motora, el 10.2% un SMF, el 4.1% presentó una variante sensitiva pura y un paciente presentó una variante atáxica. La mayoría de los pacientes fueron clasificados como AIDP (59.2%), el 14.3% presentó un estudio de conducción nerviosa equívoco, un 12.2% fue clasificado como AMAN y un 7.1% como AMSAN. La mayoría de los pacientes fueron tratados con IgeV (77.6%) o IgeV más plasmaféresis (10.2%). El 5% de los pacientes recibió un segundo ciclo de IgeV y seis pacientes (6.12%) no recibieron tratamiento.

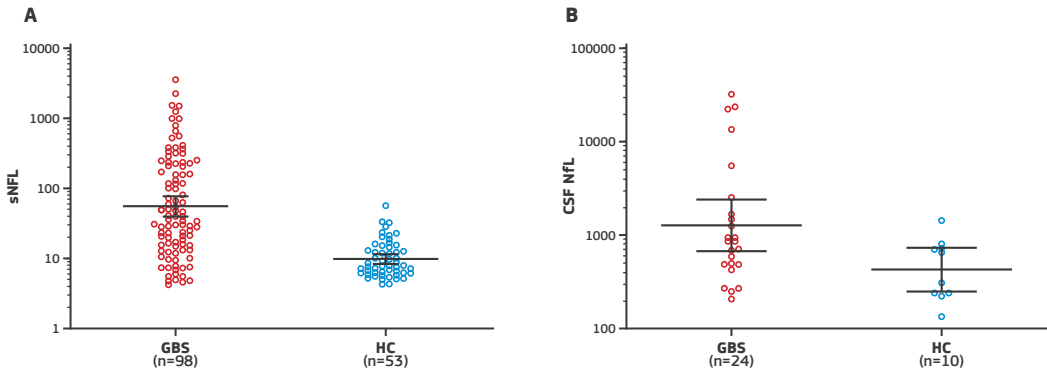
### 5.1.2. Asociación de los niveles basales de sNfL con las características de la enfermedad

Los pacientes con SGB tenían niveles de sNfL significativamente más altos que los controles sanos (CS) (55.49pg/mL vs 9.83pg/mL,  $p < 0.001$ , **tabla 13, figura 15A**). Esta diferencia también se observó en el LCR (1308.5pg/mL vs 440.24pg/mL,  $p = 0.034$ , **figura 15B**) y encontramos una correlación entre los niveles de sNfL y los niveles de NfL del LCR ( $r = 0.62$ ,  $p < 0.001$ , **figura 16A**). Los niveles de sNfL se correlacionaron con la edad en los CS ( $r = 0.64$ ,  $p < 0.001$ ) pero no en los pacientes con SGB ( $r = 0.18$ ,  $p = 0.07$ ) (**figura 16B**).

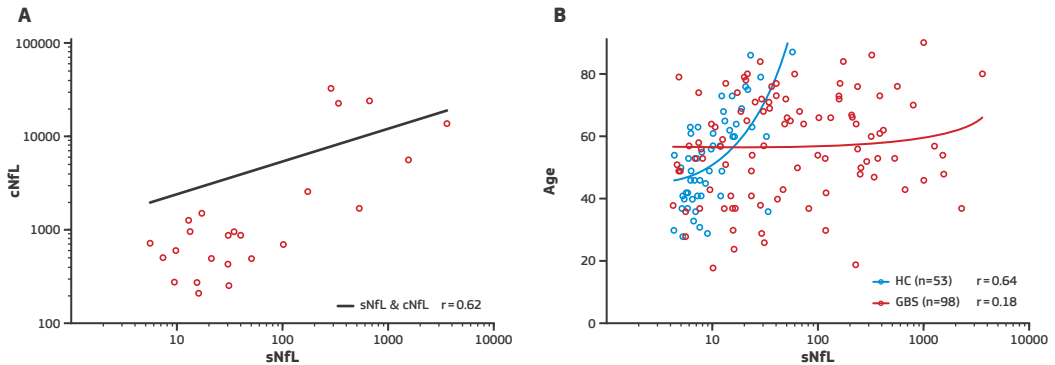
		SGB	CS	p
<b>Edad</b>	<i>media +/- DE</i>	57.4 +/- 16.6	53.1 +/- 14.8	0.072
<b>Sexo</b>	<i>n, % hombres</i>	56 (57.1%)	23 (43.4%)	0.51
<b>sNFL (pg/mL)</b>	<i>n</i>	98	53	<0.001
	<i>Geomedia</i>	55.49	9.83	
	<i>Mediana</i>	40.00	7.93	
	<i>Max</i>	3573.03	56.82	
	<i>Min</i>	4.22	4.30	
<b>NfL en LCR (pg/mL)</b>	<i>n</i>	24	10	0.034
	<i>GeoMedia</i>	1308.50	440.24	
	<i>Mediana</i>	883.57	493.79	
	<i>Max</i>	32915.47	1469.97	
	<i>Min</i>	212.74	139.42	

**Tabla 13:** Niveles de NfL en suero y en LCR en pacientes con síndrome de Guillain-Barré (**SGB**) y controles sanos (**CS**).

**SGB:** Síndrome de Guillain-Barré; **CS:** Controles sanos; **NfL:** neurofilamentos de cadena ligera; **LCR:** líquido cefalorraquídeo; **Max:** máximo; **Min:** mínimo; **DE:** Desviación estándar.



**Figura 15:** NfL basales en pacientes con Guillain-Barré (**GBS**) y en controles sanos (**CS**) en suero (**A**) y en LCR (**B**). La línea central representa el valor de la media geométrica y los bigotes indican el intervalo de confianza del 95%. **GBS:** Síndrome de Guillain-Barré; **HC:** Controles sanos; **sNFL:** neurofilamentos de cadena ligera en suero.



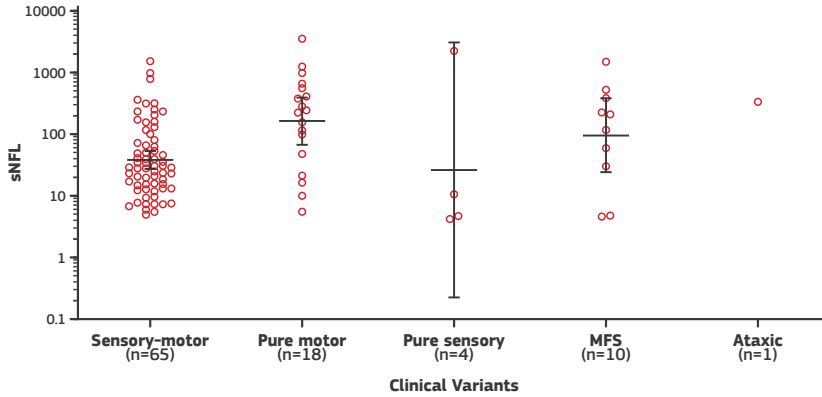
**Figura 16: A:** Correlación entre sNfL y NfL en LCR. **B:** Correlación entre sNfL y la edad.

Los puntos en rojo representan los pacientes con síndrome de Guillain-Barré, los puntos en azul representan los controles sanos. Las líneas representan la correlación entre NfL en suero y NfL en LCR o entre la edad y sNfL. **sNfL:** neurofilamentos de cadena ligera en suero; **cNfL:** neurofilamentos de cadena ligera en LCR.

Los pacientes con antecedente de diarrea tuvieron niveles de sNfL más altos que los pacientes sin ningún antecedente infeccioso o con síntomas respiratorios (134.9pg/ml vs 38.02pg/ml vs 47.86pg/mL;  $p=0.016$ ). Sesenta y una de las muestras basales analizadas (62.2%) se recogieron antes de iniciar el tratamiento. Los pacientes con muestras recogidas después de iniciar el tratamiento tuvieron niveles de sNfL basales más elevados (134.90pg/mL vs 32.36pg/mL,  $p<0.001$ ), probablemente debido a un sesgo de gravedad, ya que los pacientes que fueron incluidos después de iniciar el tratamiento tuvieron una gravedad inicial mayor (mediana de GDS inicial 4[3-4] vs 3[2-4],  $p=0.001$ ). Los niveles de sNfL y NfL en LCR no se correlacionaron con el nivel de proteínas en LCR ni con el tiempo transcurrido desde el inicio de los síntomas.

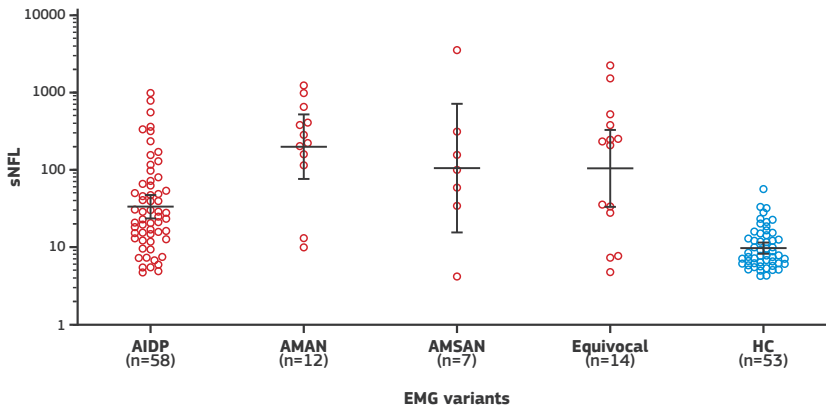
Los pacientes con una variante motora pura o SMF mostraron niveles de sNfL más altos que los pacientes con un SGB típico (162.18pg/mL vs 95.5pg/mL vs 38.02pg/mL, respectivamente;  $p=0.025$ ; **figura 17**). 3 de los 4 pacientes con la variante sensitiva pura tuvieron niveles de sNfL bajos.





**Figura 17:** Niveles de sNfL en las variantes clínicas.

La línea central representa el valor de la media geométrica y los bigotes indican el intervalo de confianza del 95%. **sNfL**: neurofilamentos de cadena ligera en suero; **MFS**: Síndrome de Miller Fisher.



**Figura 18:** Clasificación de sNfL y estudios de conducción nerviosa.

La línea central representa el valor de la media geométrica y los bigotes indican el intervalo de confianza del 95%. **sNfL**: neurofilamentos de cadena ligera en suero; **AIDP**: Polineuropatía desmielinizante inflamatoria aguda; **AMAN**: Neuropatía axonal motora aguda; **AMSAN**: Neuropatía axonal sensitivo-motora aguda, **HC**: controles sanos.

Cuando estratificamos a los pacientes según los estudios de conducción nerviosa (ECN), los pacientes con AMAN tenían niveles de sNfL más altos que otros pacientes (199.53pg/mL vs 46.77pg/mL,  $p=0.006$ ) y los pacientes con ECN equívocos y AMSAN tenían niveles de sNfL más altos que AIDP (**figura 18**). Los siete pacientes con ECN normales mostraron niveles de sNfL más altos que los pacientes con AIDP (53.7pg/mL vs 35.48pg/mL, **tabla 14**). De los pacientes con un ECN normal, cinco eran pacientes con SMF, uno tenía una variante sensitiva pura y un paciente era un SGB típico (89.13pg/mL vs 10.47pg/mL

vs 23.44pg/mL, respectivamente). Los pacientes que no recibieron tratamiento por presentar sintomatología leve tuvieron unos niveles normales de sNfL. En la **tabla 14** se detalla más información sobre los niveles de sNfL y las características de la enfermedad.

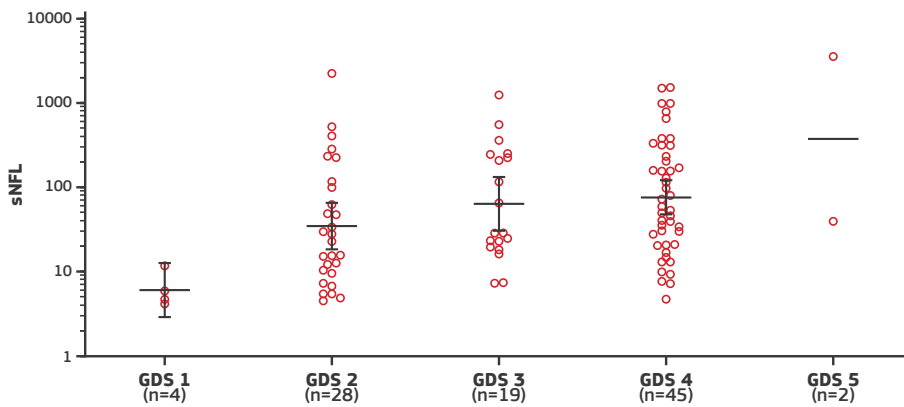
CARACTERÍSTICAS BASALES (n=98)		sNfL (pg/ml; GeoMedia, IC 95%, CV%)	P
Edad (media +/- DE)	57.35 +/-16.6	-	0.071
<b>Sexo (n, %)</b>			
Hombres	56 (57.1%)	52.48 (31.62; 79.43), 41.5%	0.625
Mujeres	42 (42.9%)	60.26 (39.81; 100), 41.8%	
<b>Antecedente infeccioso (n, %)</b>			
Diarrea	24 (24.5%)	134.90 (63.10; 251.19), 36.6%	0.016
Infección respiratoria	43 (43.9%)	38.02 (25.12; 63.10), 42.6%	
Ninguno	31 (31.6%)	47.86 (28.35; 81.50), 39.3%	
Tiempo de evolución (días, mediana, RIC)	4 (3-6)	-	0.413
<b>GDS inicial (mediana; RIC)</b>			
1 (n, %)	4 (4.1%)	6.17 (3.98; 10), 25.4%	0.005
2 (n, %)	28 (28.6%)	35.48 (19.95; 63.10), 46.1%	
3 (n, %)	19 (19.4%)	64.56 (31.62; 125.89), 36.5%	
4 (n, %)	45 (25.9%)	77.62 (59.12; 125.89), 35.7%	
5 (n, %)	2 (2%)	375.83; 53.5%	
<b>MRC sum score (mediana, RIC)</b>			
Basal	50 (42-56)	-	<0.001
A 1 semana	51 (39-58)	-	0.043
<b>Variantes clínicas (n, %)</b>			
Sensitivo-motora	65 (66.3%)	38.02 (25.12; 50.12); 37%	0.009
Motora pura	18 (18.4%)	162.18 (79.43; 398.11); 34.7%	
Sensitiva pura	4 (4.1%)	26.30 (1.26; 501.19); 91.6%	
SMF	10 (10.2%)	95.50 (31.62; 316.23); 42.3%	
Atáxica	1 (1%)	338.84	
<b>Clasificación ECN (n, %)</b>			
AIDP	58 (59.2%)	33.88 (25.12; 50.12), 37.7%	0.008
AMAN	12 (12.2%)	199.53 (79.43; 501.19), 28.5%	
AMSAN	7 (7.1%)	107.15 (25.12; 501.19), 44%	
Equívoco	14 (14.3%)	104.7 (39.81; 316.22), 43%	
Normal	7 (7.1%)	53.70 (12.59; 251.19), 50%	
<b>Tratamiento (n, %)</b>			
No	6 (6.1%)	7.59 (3.98; 12.59), 37.5%	0.009
Igev	76 (77.6%)	72.44 (50.12; 100.43), 39.1%	
Igev x2	5 (5.1%)	32.36 (15.85; 79.43), 27%	
Igev + PLEX	10 (10.2%)	30.90 (12.59; 79.43), 41.8%	
PLEX	1 (1%)	117.49	

**Tabla 14:** Relación entre los sNfL y las características basales.

**sNfL:** neurofilamentos de cadena ligera en suero; **IC:** intervalo de confianza; **CV:** coeficiente de variación; **GeoMedia:** media geométrica; **GDS:** Guillain-Barré Syndrome Disability Score; **SMF:** Síndrome de Miller-Fisher; **AIDP:** Polineuropatía desmielinizante inflamatoria aguda; **AMAN:** Neuropatía axonal motora aguda; **AMSAN:** Neuropatía axonal sensitivo-motora aguda; **Igev:** Inmunoglobulinas endovenosas; **PLEX:** plasmaféresis; **ECN:** estudios de conducción nerviosa.

**5.1.3. Asociación de los sNFL basales con las escalas clínicas de gravedad**

Los niveles de sNFL se correlacionaron con las puntuaciones de la escala GDS y I-RODS. Los niveles de sNFL tienden a ser más altos con cada aumento de la escala GDS en el momento inicial ( $r=0.313$ ,  $p=0.002$ ; **tabla 14, figura 19**). Encontramos una correlación de los sNFL con la puntuación de la escala GDS en cada punto temporal y con el GDS máximo alcanzado ( $r=0.251$ ,  $p=0.013$ ) (**tabla 15**). Los niveles iniciales de sNFL mostraron una correlación negativa con la escala I-RODS a las 4, 26 y 52 semanas (**tabla 15**) y con el MRC *sum score* basal ( $r=-0.35$ ,  $p<0.001$ ) y a la semana ( $r=-0.21$ ,  $p=0.04$ ) (**tabla 14**).



**Figura 19:** Correlación entre la escala GDS inicial y los niveles de sNFL basales.

La línea en el centro representa la media geométrica y los bigotes indican el intervalo de confianza al 95%. **sNFL:** neurofilamentos de cadena ligera en suero; **GDS:** Guillain-Barré Syndrome Disability Score

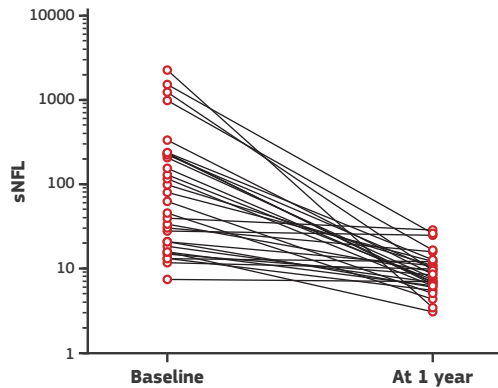
ESCALAS CLÍNICAS		r	p
<b>GDS (mediana; RIC)</b>			
GDS inicial (n=98)	3 (2-4)	0.313	0.002
GDS máximo (n=98)	4 (2-4)	0.251	0.013
GDS en la semana 4 (n=96)	2 (1-4)	0.235	0.021
GDS en la semana 26 (n=89)	1 (0-2)	0.341	0.001
GDS en la semana 52 (n=87)	1 (0-2)	0.332	0.002
<b>I-RODS (mediana; RIC)</b>			
En la semana 4 (n=87)	33 (13-45)	-0.342	0.001
En la semana 26 (n=85)	45 (32-48)	-0.362	0.001
En la semana 52 (n=81)	47 (35-48)	-0.344	0.002

**Tabla 15:** Correlación entre las escalas GDS y I-RODS en diferentes tiempos y los niveles de sNFL basales.

**sNFL:** neurofilamentos de cadena ligera en suero; **GDS:** Guillain-Barré Syndrome Disability Score; **I-RODS:** Rasch-built Overall Disability Scale; **r:** coeficiente Rho de Spearman; **RIC:** rango intercuartílico.

#### 5.1.4. Niveles de sNfL al año

Analizamos los niveles de sNfL en 33 pacientes al inicio y en la semana 52. Los niveles de sNfL disminuyeron hasta alcanzar los niveles normales de los controles a las 52 semanas en todos los pacientes que tuvieron unos niveles de NfL altos al inicio; los niveles de sNfL no cambiaron en los pacientes que tenían unos niveles normales al inicio (**figura 20**).



**Figura 20:** Cinética de los sNfL

#### 5.1.5. Asociación de los niveles basales de sNfL y el pronóstico

Aproximadamente, el 71% y el 74.5% de los pacientes podían caminar de forma independiente a los 6 meses y al año respectivamente, y el 60% y el 67% de los pacientes podían correr a los 6 meses y al año, respectivamente. Diez pacientes necesitaron ventilación mecánica durante una mediana de 11 días (RIC 8-33) y 4 pacientes murieron. Dos pacientes murieron por insuficiencia respiratoria, un paciente por neumonía y otro paciente por progresión de cáncer. Los niveles basales de sNfL se asociaron con la capacidad de correr a 1 año (33.11pg/mL vs 123.03pg/mL;  $p < 0.001$ ). Los niveles iniciales de sNfL fueron mayores en los pacientes que murieron (53.70pg/mL vs 229.09 pg/mL,  $p = 0.11$ ) o necesitaron ventilación mecánica (52.48pg/mL vs 83.17pg/mL,  $p = 0.446$ ), pero estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Análisis univariado para la capacidad de correr a 1 año				
Variable	OR	95% IC	p	
logNfL	1.90	1.34-2.69	<0.001	
AMAN	6.53	1.57-27.17	0.010	
Diarrea	2.33	0.83-6.57	0.109	
Edad	1.04	1.01-1.07	0.023	
GDS inicial	1.81	1.08-3.04	0.025	
Análisis univariado para la escala I-RODS a 1 año				
Variable	$\beta$	95% IC	Std $\beta$	p
logNfL	-3.67	-5.65-(-1.69)	-0.40	<0.001
AMAN	-6.14	-16.48-4.19	-0.14	0.240
Diarrea	-6.03	-14.41-2.34	-0.17	0.155
Edad	-0.27	-0.47-(-0.08)	-0.31	0.007
GDS inicial	-5.54	-8.63-(-2.44)	-0.39	0.001
Análisis logístico multivariable para la capacidad de correr a 1 año*				
Variable	OR	95% IC	p	
logNfL	1.65	1.14-2.40	0.009	
AMAN	6.19	1.01-38.02	0.049	
Edad	1.05	1.01-1.09	0.022	
Análisis lineal multivariable para la escala I-RODS a 1 año**				
Variable	$\beta$	95% IC	Std $\beta$	p
logNfL	-2.60	-4.66-(-0.54)	-0.29	0.014

**Tabla 16:** Asociación entre los niveles de sNfL basales y el pronóstico

\*Resultados de la regresión logística multivariable y \*\*resultados de la regresión lineal multivariable después de realizar un modelo de regresión paso a paso y eliminación hacia atrás (*backward stepwise selection modelling*). Las variables incluidas en el modelo inicial fueron edad, GDS inicial, AMAN y diarrea para todas las condiciones. **logNfL:** neurofilamentos de cadena ligera log-transformados; **AMAN:** Neuropatía axonal motora aguda; **GDS:** Guillain-Barré Syndrome Disability Score; **I-RODS:** Rasch-built Overall Disability Scale; **OR:** Odds ratio; **IC:** intervalo de confianza;  **$\beta$ :** coeficiente beta; **Std  $\beta$ :** coeficiente beta estandarizado.

En el análisis univariante, las variables logNfL, AMAN, la edad y el GDS inicial se asociaron con la capacidad de correr a 1 año y las variables logNfL, la edad y el GDS inicial se asociaron con el I-RODS a 1 año (**tabla 16**). En el análisis de regresión logística multivariable, que incluyeron 4 variables potencialmente confusoras en el modelo inicial (edad, GDS inicial, AMAN y diarrea), los niveles más altos de NfL al inicio se asociaron de forma independiente con la incapacidad para correr a 1 año después de un modelo de regresión paso a paso y eliminación hacia atrás (*backward stepwise selection modelling*) (OR=1.65, IC 95% 1.14-2.40, p=0.009; **tabla 16**). Deshaciendo la transformación logarítmica de la variable, este incremento representa una OR=1.019; IC 95% 1.037-1.002; por cada 10pg/mL de sNfL. En el análisis de regresión lineal

multivariable para predecir el I-RODS, niveles basales más altos de NFL también se asociaron con menos I-RODS a 1 año ( $\beta=-2.60$ ; IC 95%  $-4.66-(-0.54)$ ;  $p=0.014$ ) (**tabla 16**).

Adicionalmente, repetimos los dos análisis multivariados (logístico y lineal) con y sin pacientes con SMF. Nos centramos en los pacientes con SGB porque el SMF se considera una enfermedad diferente (fisiopatológicamente, en sus características clínicas y en su pronóstico) y el objetivo del estudio era evaluar los sNFL basales como variable predictora del pronóstico en los pacientes con SGB. No obstante, la inclusión del SMF en los modelos de análisis multivariable no cambió los resultados de forma significativa (**tabla 17**).

Análisis univariado para la capacidad de correr a 1 año				
Variable	OR	95% IC	p	
logNFL	1.67	1.23-2.27	0.001	
AMAN	7.23	1.75-29.89	0.006	
Diarrea	2.34	0.86-6.41	0.097	
Edad	1.04	1.01-1.07	0.019	
GDS inicial	1.95	1.17-3.25	0.010	
Análisis univariado para la escala I-RODS a 1 año				
Variable	$\beta$	95% IC	Std $\beta$	p
logNFL	-3.27	-5.19-(-1.35)	-0.36	0.001
AMAN	-6.42	-16.17-3.93	-0.14	0.220
Diarrea	-5.25	-13.42-2.92	-0.14	0.205
Edad	-0.29	-0.48-(-0.09)	-0.32	0.004
GDS inicial	-5.99	-8.93-(-3.04)	-0.42	<0.001
Análisis logístico multivariable para la capacidad de correr a 1 año*				
Variable	OR	95% IC	p	
logNFL	1.49	1.07-2.09	0.019	
AMAN	8.91	1.49-53.14	0.016	
Edad	1.05	1.01-1.09	0.010	
Análisis lineal multivariable para la escala I-RODS a 1 año**				
Variable	$\beta$	95% IC	Std $\beta$	p
logNFL	-2.22	-4.12-(-0.33)	-0.24	0.022
GDS inicial	-3.91	-7.06-(-0.76)	-0.27	0.016

**Tabla 17:** Asociación entre los niveles de sNFL basales y el pronóstico, incluyendo a los pacientes con SMF

\*Resultados de la regresión logística multivariable y \*\*resultados de la regresión lineal multivariable después de realizar un modelo de regresión paso a paso y eliminación hacia atrás (*backward stepwise selection modelling*). Las variables incluidas en el modelo inicial fueron edad, GDS inicial, AMAN y diarrea para todas las condiciones. **logNFL:** neurofilamentos de cadena ligera log-transformados; **AMAN:** Neuropatía axonal motora aguda; **GDS:** Guillain-Barré Syndrome Disability Score; **I-RODS:** Rasch-built Overall Disability Scale; **OR:** Odds ratio; **IC:** intervalo de confianza,  **$\beta$ :** coeficiente beta;

**Std  $\beta$ :** coeficiente beta estandarizado.

También realizamos el análisis de regresión logística multivariable incluyendo el MRC *sum score* a la semana como factor de confusión, mostrando que los sNfL basales se mantienen como factor predictor de pronóstico independiente para la incapacidad para correr a 1 año (OR=1.89; IC del 95%: 1.27-2.80; p=0.001) y para puntuaciones I-RODS más bajas a 1 año ( $\beta$ =-2.30; IC del 95%: -3.95-(-0.67); p=0.006) (**tabla 18**).

Análisis univariado para la capacidad de correr a 1 año				
Variable	OR	95% IC	p	
logNFL	1.67	1.23-2.27	0.001	
Diarrea	2.34	0.86-6.41	0.097	
Edad	1.04	1.01-1.07	0.019	
GDS inicial	1.95	1.17-3.25	0.010	
MRC <i>sum score</i> a 1 semana	0.94	0.91-0.97	0.001	
Análisis univariado para la escala I-RODS a 1 año				
Variable	$\beta$	95% IC	Std $\beta$	p
logNFL	-3.27	-5.19-(-1.35)	-0.36	0.001
Diarrea	-5.25	-13.42-2.92	-0.14	0.205
Edad	-0.29	-0.48-(-0.09)	-0.32	0.004
GDS inicial	-5.99	-8.93-(-3.04)	-0.42	<0.001
MRC <i>sum score</i> a 1 semana	0.56	0.40-0.72	0.64	<0.001
Análisis logístico multivariable para la capacidad de correr a 1 año*				
Variable	OR	95% IC	p	
logNFL	1.89	1.27-2.80	0.001	
MRC <i>sum score</i> a 1 semana	0.94	0.91-0.98	0.003	
Análisis lineal multivariable para la escala I-RODS a 1 año**				
Variable	$\beta$	95% IC	Std $\beta$	p
logNFL	-2.30	-3.95-(-0.67)	-0.25	0.006
MRC <i>sum score</i> a 1 semana	0.51	0.35-0.367	0.58	<0.001

**Tabla 18:** Asociación entre los niveles de sNfL basales y el pronóstico, incluyendo la escala MRC *sum score* a 1 semana

\* Resultados de la regresión logística multivariable y \*\* resultados de la regresión lineal multivariable después de realizar un modelo de regresión paso a paso y eliminación hacia atrás (*backward stepwise selection modelling*). Las variables incluidas en el modelo inicial fueron edad, GDS inicial, MRC *sum score* a 1 semana y diarrea para todas las condiciones. **logNFL**: neurofilamentos de cadena ligera log-transformados; **GDS**: Guillain-Barré Syndrome Disability Score; **I-RODS**: Rasch-built Overall Disability Scale; **OR**: Odds ratio; **IC**: intervalo de confianza,  **$\beta$** : coeficiente beta; **Std  $\beta$** : coeficiente beta estandarizado.

### 5.1.6. Capacidad de los niveles de sNfL para predecir endpoints clínicamente relevantes

Por último, se evaluó la capacidad de los niveles de sNfL basales para predecir el pronóstico en 5 *endpoints* finales clínicamente relevantes: **(1)** capacidad de correr a 1 año, **(2)** incapacidad de correr a 1 año, **(3)** incapacidad de caminar sin ayuda a 1 año, **(4)** ventilación y **(5)** muerte. Se realizó un análisis ROC para cada endpoint seleccionando los puntos de corte con mayor especificidad (véase la sección de Métodos). Niveles de sNfL superiores a 319pg/mL discriminaron a los pacientes incapaces de caminar de forma independiente al año (OR=5.20, IC del 95%: 1.02-26.34, p=0.047, especificidad 89.4%, sensibilidad 33.3%); niveles de sNfL superiores a 248pg/mL discriminaron a los pacientes incapaces de correr a 1 año (OR=6.81, IC 95% 1.64-28.21, p=0.008, especificidad 94.2%, sensibilidad 39.3%) y niveles de sNfL inferiores a 34pg/mL predijeron una recuperación completa, definida como la capacidad de correr a 1 año (OR=6.59, IC 95% 2.02-21.46, p=0.002, especificidad 82.1%, sensibilidad 69.2%). No pudimos definir puntos de corte óptimos de los niveles de sNfL para la ventilación y la muerte debido al bajo número de pacientes. El área bajo la curva (AUC), el VPP y el VPN para cada punto de corte se detallan en la **tabla 19**. Los 3 puntos de corte mantienen su significación evaluando la puntuación en la escala I-RODS a 1 año mediante regresión lineal (**tabla 20**).

Endpoint clínico	Punto de corte (pg/ml)	Regresión logística multivariable*			Análisis ROC			
		OR (95% IC)	p	AUC	Especificidad	Sensibilidad	VPP	NPV
Incapacidad de caminar sin ayuda a 1 año	319	5.20 (1.02-26.34)	0.047	0.714	89.4%	33.3%	100%	84.6%
Incapacidad de correr a 1 año	248	6.81 (1.64-28.21)	0.008	0.803	94.2%	39.3%	73.3%	73.9%
Capacidad para correr a 1 año	34	6.59 (2.02-21.46)	0.002	0.834	82.1%	69.2%	87.5%	57.5%

**Tabla 19:** Puntos de corte de sNfL para los endpoints clínicos.

\*Modelo ajustado para logNfL, AMAN y edad. **OR:** Odds ratio; **AUC:** área bajo la curva; **VPP:** valor predictivo positivo; **VPN:** valor predictivo negativo; **I-RODS:** Rasch-built Overall Disability Scale; **IC:** Intervalo de confianza.



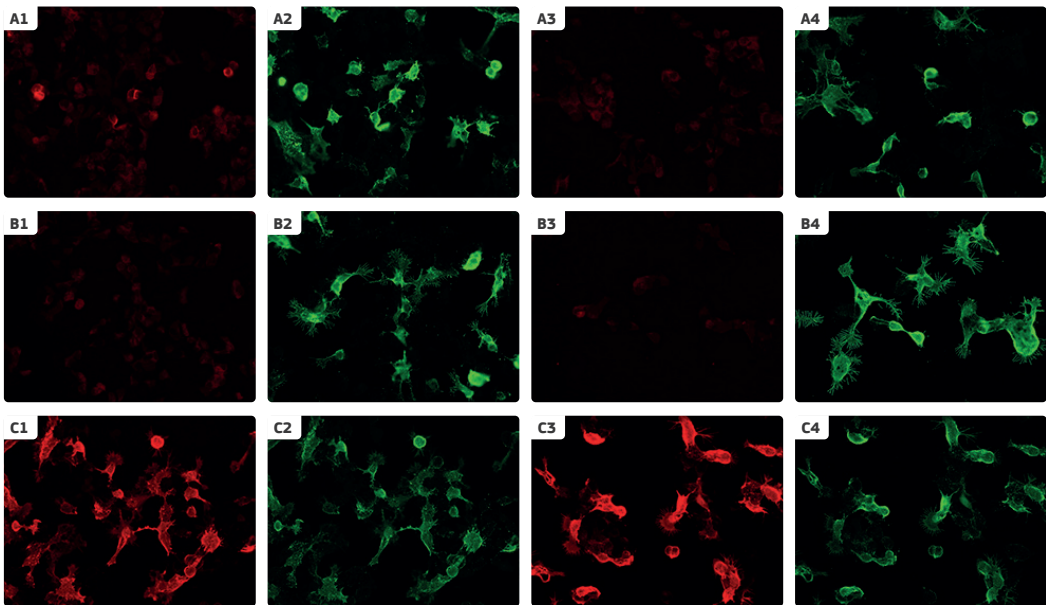
Endpoint clínico	Punto de corte (pg/ml)	Regresión logística multivariable*		
		$\beta$ (95% IC)	Std $\beta$	p
Incapacidad de caminar sin ayuda a 1 año	319	-15.53 (-24.80 - (-6.26))	-0.37	0.001
Incapacidad de correr a 1 año	248	-12.25 (-21.04 - (-3.46))	-0.32	0.007
Capacidad para correr a 1 año	34	11.13 (4.75 - 17.50)	0.38	0.001

**Tabla 20:** Puntos de corte de sNfL para los endpoints clínicos y relación con el I-RODS a 1 año

\*Modelo ajustado para logNfL; *I-RODS*: Rasch-built Overall Disability Scale; *IC*: Intervalo de confianza; *Std*: estandarizado

## 5.2. PACIENTES CON CIDP ANTI-NF155+

### 5.2.1. Screening de autoanticuerpos anti-NF155 mediante ensayos basados en células (CBA)



**Figura 21:** Inmunocitoquímica de los pacientes falsos positivos para NF155.

La primera fila (**A**) corresponde a paciente con un resultado falso positivo, la segunda (**B**) corresponde a un control negativo y la tercera (**C**) a un paciente con CIDP anti-NF155+. En rojo observamos la reactividad del suero y en verde observamos las células HEK293 transfectadas con NF155. Los números 1 y 2 corresponden a células transfectadas con el plásmido de NF155 que contiene el tag DDK-myc y los números 3 y 4 a células transfectadas con el plásmido sin tag. En el caso del paciente falso positivo, observamos una reactividad cruzada (**A1**) que colocaliza parcialmente con la NF155 (**A2**) y que desaparece en las células transfectadas con el plásmido que no contiene el tag DDK-myc (**A3**), mientras que se mantiene el marcaje en el resultado positivo (**C3**).

Detectamos 44 sueros con una tinción positiva en los ensayos basados en células (CBA) para NF155 y una tinción negativa para NF140/NF186. Después de realizar un estudio de confirmación con ELISA anti-NF155, 40 pacientes fueron confirmados como verdaderos positivos con ELISA y fueron seleccionados para una mayor caracterización. Los otros cuatro pacientes fueron clasificados como falsos positivos en los CBA (9.1%). Existen datos publicados recientemente por nuestro grupo que muestran la existencia de resultados falsos positivos debido a una reacción cruzada contra el tag DDK-Myc del plásmido de la neurofascina-155<sup>308</sup>. Por este motivo, diseñamos un nuevo CBA transfectando las células con un plásmido de neurofascina-155 humana diferente que no contuviera ese tag, y que muestra la desaparición de los resultados falsos positivos, en los 4 casos (**figura 21**).

### **5.2.2. Características clínicas de los pacientes con CIDP anti-NF155+**

Treinta y nueve pacientes con anticuerpos anti-NF155+ cumplían criterios diagnósticos definidos para la CIDP y en un paciente los anticuerpos se detectaron post-mortem. El diagnóstico inicial fue de CIDP en la mayoría de los pacientes (80%), pero cinco pacientes fueron diagnosticados inicialmente como SGB. Los pacientes con CIDP anti-NF155+ tenían una edad media de inicio de 42.4 años y eran predominantemente hombres (72.5%). La presentación clínica más frecuente fue la sensitivo-motora (87.5%), y la mayoría de los pacientes tuvieron un curso clínico progresivo (75%) y crónico (67.5%). La mayoría de los pacientes tenían una debilidad simétrica con predominio distal en las extremidades superiores (97.2%) e inferiores (94.5%). El déficit sensitivo fue simétrico y más frecuente en las extremidades inferiores (97.5%) que en las superiores (67.5%). El 75% de los pacientes tenían temblor y ataxia, y el 30% de los pacientes tenían afectación de los nervios craneales, siendo la parálisis facial bilateral la afectación más frecuente (70%). Dos pacientes tuvieron una neuritis óptica bilateral confirmada mediante potenciales evocados, con RM cerebral y medular normal y anticuerpos anti-NMO y anti-MOG negativos<sup>309</sup>. En la **tabla 21** se detalla más información sobre las características de la enfermedad.

CARACTERÍSTICAS BASALES	
Edad de inicio (media +/- DE)	42.40 +/- 19.48
Edad al diagnóstico (media +/- DE)	43.25 +/- 19.30
Sexo (hombres; n, %)	29 (72.5%)
<b>Diagnóstico inicial (n, %)</b>	
CIDP	32 (80%)
SGB	5 (12.5%)
Neuropatía sensitiva	1 (2.5%)
Neuropatía desmielinizante	1 (2.5%)
Mielopatía cervical	1 (2.5%)
<b>Curso clínico de la CIDP (n, %)</b>	
Progresiva	30 (75%)
Remitente-recurrente	10 (25%)
<b>Tiempo hasta el nadir (n, %)</b>	
Agudo (<1 mes)	2 (5%)
Subagudo (1-2 meses)	11 (27.5%)
Crónico (>2 meses)	27 (67.5%)
<b>Presentación clínica (n, %)</b>	
Sensitivo-motora	35 (87.5%)
Sensitiva pura/ atáxica	4 (10%)
Motora pura	1 (2.5%)
<b>Debilidad (n, %)</b>	
Debilidad en extremidades superiores	35 (87.5%)
<i>Simétrica</i>	33 (94.3%)
<i>Proximal y distal</i>	15 (42.9%)
<i>Distal</i>	19 (54.3%)
<i>Proximal</i>	1 (2.9%)
Debilidad en extremidades inferiores	37 (92.5%)
<i>Simétrica</i>	34 (91.9%)
<i>Proximal y distal</i>	17 (45.9%)
<i>Distal</i>	18 (48.6%)
<i>Proximal</i>	2 (5.4%)
<b>Déficit sensitivo (n, %)</b>	
En extremidades superiores	27 (67.5%)
Simétrico	26 (96.3%)
Modalidad:	
<i>Vibración</i>	16 (59.3%)
<i>Pinprick</i>	16 (59.3%)
<i>Superficial</i>	22 (81.5%)
En extremidades inferiores	39 (97.5%)
Simétrico	38 (95%)
Modalidad:	
<i>Vibración</i>	37 (92.5%)
<i>Pinprick</i>	32 (80%)
<i>Superficial</i>	31 (77.5%)
<b>Reflejos (n, %)</b>	
Ausentes	30 (75%)
Disminuidos	10 (25%)
<b>Ataxia (n, %)</b>	30 (75%)
<b>Temblor (n, %)</b>	30 (75%)
<b>Afectación de PPCC (n, %)</b>	
Debilidad facial bilateral	7
Oftalmoparesia	3
Neuritis óptica	2

**Tabla 21:** Características clínicas y demográficas de los pacientes con CIDP anti-NF155+  
**CIDP:** Polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica; **DADS:** variante simétrica distal desmielinizante de la CIDP; **DE:** desviación estándar; **I-RODS:** Inflammatory Rasch-built Overall Disability Scale; **PPCC:** Pares craneales; **SGB:** Síndrome de Guillain-Barré

En cuanto a los estudios de conducción nerviosa (ECN), 38 pacientes cumplían los criterios electrodiagnósticos del EFNS/PNS para CIDP, un paciente fue definido como posible CIDP y a un paciente no se le realizaron los ECN, ya que el diagnóstico se confirmó post-mortem. Se examinó el LCR en 37 (92.5%) pacientes; la mayoría de los pacientes tenían menos de 5 células en el LCR (72.2%) y todos los pacientes tuvieron niveles elevados de proteínas en el LCR, con una mediana de 2 g/L [0.95-3.67].

### 5.2.3. Respuesta al tratamiento y seguimiento clínico

La mediana del número de tratamientos recibidos fue de 3 [2-4]. La mayoría de los pacientes fueron tratados con Igev (95%) y/o corticosteroides (90%) y aproximadamente la mitad de los pacientes (46.2%) fueron tratados con recambio plasmático con una mediana de 6 sesiones [5-9]. Veintitrés pacientes (57.5%) fueron tratados con rituximab y un paciente fue incluido en un ensayo clínico ciego de rituximab frente a placebo. De los pacientes tratados con rituximab (n=23), 13 fueron tratados también con plasmaféresis antes de iniciar el tratamiento con rituximab y diez pacientes fueron tratados sólo con rituximab. Nueve pacientes fueron tratados con azatioprina y 8 pacientes recibieron otros tratamientos (micofenolato, metotrexato, ciclosporina o interferón beta1a). Las escalas clínicas al inicio, en el nadir y después del tratamiento se describen en la **tabla 22**. Los pacientes con paresia facial bilateral (n=7) tuvieron una gravedad máxima y final mayor que aquellos pacientes que no presentaron afectación facial (**tabla 23**).

ESCALAS CLÍNICAS DE GRAVEDAD	
<b>mRS (mediana, RIC)</b>	
En el momento de la analítica (n=27)	3 [2-4]
Máximo (n=37)	4 [2-4]
Final (n=37)	2 [1-3]
<b>I-RODS (mediana, RIC)</b>	
En el momento de la analítica (n=14)	27.5 [18.5-39]
Máximo (n=18)	20.5 [11.75-33]
Final (n=22)	34.5 [30.75-46]

**Tabla 22:** Escalas clínicas de gravedad en pacientes CIDP anti-NF155+.

**I-RODS:** Inflammatory Rasch-built Overall Disability Scale; **mRS:** escala modificada de Rankin; **RIC:** rango intercuartílico.

	Pacientes con diplejía facial (n=7)	Pacientes sin diplejía facial (n=33)	p
mRS máximo (n=39) (mediana, RIC)	4 [3-4]	3 [2-4]	0.12
mRS final (n=39) (mediana, RIC)	3 [2-3]	2 [1-2]	0.022
I-RODS máximo (n=17) (mediana, RIC)	22 [4-30]	47 [38-57]	0.003
I-RODS final (n=22) (mediana, RIC)	43	61 [55-88]	0.035

**Tabla 23:** Pacientes con diplejía facial y gravedad clínica.

*I-RODS:* Inflammatory Rasch-built Overall Disability Scale; *mRS:* escala modificada de Rankin;  
*RIC:* rango intercuartílico.

Tratamientos	Número de pacientes (n, %)	Respuesta (n, %)	Dosis/Protocolo
Igev	38 (95%)	Sí: 5 (13.1%) Parcial: 9 (23.7%) No: 24 (63.2%)	2g/Kg por curso
Corticosteroides	36 (90%)	Sí: 10 (27.8%) Parcial: 16 (44.4%) No: 10 (27.8%)	1mg/kg/d: 23 (63.9%) Pulsos de MP ev: 4 (11.1%) MP ev + mg/Kg/d: 5 (13.9%) Otros: 4 (11.1%)
PLEX	18 (46.2%)	Sí: 7 (38.9%) Parcial: 6 (33.3%) No: 5 (27.8%)	Número de sesiones (mediana, RIC): 6 [5-9]
Rituximab*	23 (57.5%)	Sí: 17 (77.3%) Parcial: 3 (13.6%) No: 2 (9.1%)	4+2: 8 (38.1%) 4: 6 (23.8%) 1+1: 6 (28.6%) Otros: 2 (9.5%)
Azatioprina	9 (22.5%)	Sí: 1 (11.1%) Parcial: 4 (44.4%) No: 4 (44.4%)	-
Micofenolato	3 (7.5%)	Parcial: 1 (33.3%) No: 2 (66.7%)	-
Metotrexato	3 (7.5%)	Parcial: 1 (33.3%) No: 2 (66.7%)	-
Ciclosporina	1 (2.5%)	No: 1 (100%)	-
Interferón beta 1a	1 (2.5%)	No: 1 (100%)	-

**Tabla 24:** Tratamientos y respuesta terapéutica

\* Un paciente incluido en un estudio clínico doble ciego de rituximab vs placebo. La respuesta clínica al tratamiento con rituximab en función de la escala mRS se detalla en la **tabla 25**.

*Igev:* Inmunoglobulinas endovenosas; *MP:* metilprednisolona; *PLEX:* plasmaféresis;  
*RIC:* rango intercuartílico; **4+2:** 375 mg/m<sup>2</sup> cada semana durante 4 semanas consecutivas y posteriormente mensual durante los siguientes 2 meses; **1+1:** Dos dosis de 1g separadas 2 semanas;  
**4:** 375 mg/m<sup>2</sup> cada semana durante 4 semanas consecutivas.

Sólo 5 pacientes de 38 (13.1%) tuvieron una buena respuesta a las IgeV y 10 pacientes de 36 (27.8%) tuvieron una buena respuesta a los corticoesteroides. Por el contrario, 17 de 23 (77.3%) tuvieron una buena respuesta a rituximab y 13 de 23 (56.5%) presentaron una mejora de  $\geq 2$  puntos en la escala mRS tras el tratamiento con rituximab. Las frecuencias de tratamiento, las dosis y las respuestas al tratamiento se detallan en la **tabla 24**.

Los pacientes tratados con rituximab sin cambio en el mRS tuvieron una mediana de tiempo de seguimiento menor tras el inicio del tratamiento, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas (**tabla 25**). De los 4 pacientes tratados con rituximab sin una mejora detectable en la puntuación de mRS, dos pacientes fueron clasificados como no respondedores por sus neurólogos (mediana de tiempo de seguimiento de 37 meses) y dos pacientes fueron clasificados como respondedores parciales (mediana de tiempo de seguimiento de 6 meses). El protocolo de infusión más frecuente (38.1%) fue el de 4 dosis semanales + 2 mensuales de 375mg/m<sup>2</sup>, seguido de 1+1 dosis (separadas 2 semanas) de 1000mg (28.6%) y 4 dosis semanales de 375mg/m<sup>2</sup> (23.8%). Cinco pacientes (21.7%) presentaron una recaída, tras una mediana de 21 [4.5-59.5] meses después de la inducción con rituximab y 11 pacientes (47.8%) recibieron reinfusiones de rituximab. Sólo 3 pacientes (13%) tuvieron efectos adversos relacionados con el rituximab: dos reacciones de infusión leves y una neumonía.

Mejoría de la escala mRS después del tratamiento con rituximab	Número de pacientes (n, %)	Tiempo de seguimiento (meses; mediana, RIC)	p
Sin cambios	4 (17.4%)	9.5 [6-39.25]	0.43
1 punto	6 (26%)	20.5 [7.25-31.5]	
2 puntos	8 (34.8%)	23.5 [17.25-65.5]	
3 puntos	5 (21.7%)	26.5 [12.5-46.5]	

**Tabla 25:** Relación entre el tiempo de seguimiento y la mejoría clínica en los pacientes tratados con rituximab.

**mRS:** escala modificada de Rankin; **RIC:** rango intercuartílico.

La mediana del tiempo de seguimiento en total fue de 46 [20-81] meses. Tres pacientes fallecieron durante el seguimiento: uno debido a la evolución de la CIDP, otro por una

neumonía broncoaspirativa y otro paciente por causa desconocida. Los pacientes que recibieron rituximab tuvieron una mediana en la escala mRS más alta y una I-RODS más baja en el nadir, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas (4 [3-4] vs 3 [2-4],  $p=0.5$ ; 20 [11-25] vs 33 [9-40],  $p=0.33$ ; **tabla 26**). Los pacientes tratados con rituximab fueron tratados previamente con un mayor número de tratamientos previos que los pacientes que no lo recibieron (4 [3-5] vs 2 [2-3],  $p=0.03$ ), incluida la plasmaféresis; sin embargo, los pacientes no difirieron en la escala mRS final o en el I-RODS final, a pesar de ser más fármaco-resistentes (**tabla 26**). No hubo diferencias entre los pacientes tratados con plasmaféresis y rituximab ( $n=13$ ) o sólo con rituximab ( $n=10$ ), en cuanto a respuesta terapéutica, recaídas o necesidad de reinfusiones.

	Pacientes tratados con rituximab (n=23)	Pacientes no tratados con rituximab (n=16)	P
Edad de inicio (media+/- DE)	44.1+/-20.7	39.25+/-18.6	0.51
Edad al diagnóstico (media+/- DE)	45.2+/-20.7	39.8+/-18.12	0.44
Sexo (hombres; n, %)	17 (77.3%)	11 (68.8%)	0.41
Niveles de sNFL basales (mediana, RIC) (n=36)	47.69 [18.87-154.29]	14.43 [7.58-64.68]	0.08
Títulos de NF155 (mediana, RIC)	1/24300 [1/8100-1/24300]	1/8100 [1/2700-1/24300]	0.19
Número de tratamientos previos (mediana, RIC)	4 [3-5]	2 [2-3]	0.03
PLEX (n, %)	14 (63.6%)	4 (25%)	0.02
<b>mRS (mediana, RIC)</b>			
Basal (n=27)	3 [2-4]	3 [1-4]	0.94
Máximo (n=37)	4 [3-4]	3 [2-4]	0.53
Final (n=37)	2 [1-2]	2 [1-3]	0.62
<b>R-ODS (mediana, RIC)</b>			
Basal (n=14)	24 [20-35]	36 [9-46]	0.83
Máximo (n=18)	20 [11-25]	33 [9-40]	0.33
Final (n=22)	32 [28-45]	37 [33-47]	0.27

**Tabla 26:** Tratamiento con rituximab.

Excluimos un paciente incluido en un ensayo clínico doble ciego de rituximab vs placebo.

**DE:** desviación estándar; **I-RODS:** Inflammatory Rasch-built Overall Disability Scale;

**mRS:** escala modificada de Rankin; **NF155:** neurofascina-155; **PLEX:** Recambio plasmático;

**RIC:** rango intercuartílico; **sNFL:** neurofilamentos de cadena ligera en suero.

#### **5.2.4. Características inmunológicas basales**

Todos los sueros analizados de los pacientes con CIDP anti-NF155+ fueron positivos por ELISA y sus títulos oscilaron entre 1:300 y 1:72300. Los autoanticuerpos fueron predominantemente de la subclase IgG4 en todos los pacientes. Además, evaluamos la positividad de los anticuerpos en 4 LCR de pacientes con CIDP anti-NF155+ y tres de ellos resultaron positivos. Pudimos realizar el análisis de subclases y la titulación en 2 LCR, siendo ambos del isotipo IgG4 y sus títulos más bajos que en los títulos en suero (1:160 en ambas muestras de LCR y 1:24300 y 1:72300 en los sueros).

El genotipado HLA se realizó en todas las muestras disponibles (23/40). Los alelos DRB1\*15 (DRB1\*15:01 o DRB1\*15:02) estaban presentes en 21 de los 23 pacientes con CIDP anti-NF155+ testados (91.3%). El alelo HLA más frecuente fue el DRB1\*15:01 (n=13; 72.2%). No se observaron diferencias clínicas entre los pacientes con DRB1\*15:01 y DRB1\*15:02, excepto una tendencia de edad más joven en los pacientes con DRB1\*15:02 (45.2+/-20.5 vs 30.6+/-14.6, p=0.14). El HLA-DRB1\*15 se encuentra en el 17% de la población española, el 12% de la población del norte de Italia, el 25% de la población del sur de Francia y el 20% de la población inglesa ([www.allelefreqencies.net](http://www.allelefreqencies.net)).

#### **5.2.5. Niveles séricos de NfL basales**

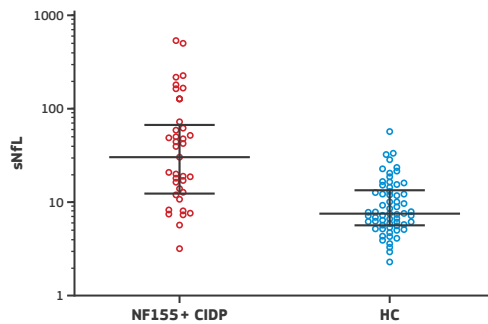
Los niveles de NfL se determinaron en todas las muestras disponibles (36/40) al inicio del estudio. Los pacientes con CIDP anti-NF155+ tenían niveles de sNfL significativamente más altos que los controles sanos (CS) (36.47pg/mL vs 7.56pg/mL, p<0.001, **figura 22, tabla 27**) al inicio. Los niveles de sNfL se correlacionaron con la edad en los CS (r=0.75, p<0.001) pero no en los pacientes con CIDP anti-NF155+ (r=0.26, p=0.12). Las muestras recogidas antes del tratamiento (n=12) tenían niveles de sNfL más altos que las recogidas una vez iniciado el tratamiento (n=24) (65.84pg/ml vs 18.41pg/ml; p=0.002).



		NF155+ CIDP	CS	p
<b>Edad (media+/- DE)</b>		52.9 +/-25	49.7+/- 17.1	0.78
<b>Sexo (n, % hombres)</b>		28 (71.8%)	24 (38.7%)	0.002
<b>sNfL (pg/mL)</b>	n	36	62	<0.001
	Mediana	36.47	7.56	
	Max	536.64	56.82	
	Min	3.44	2.30	

**Tabla 27:** Niveles de sNfL basales en pacientes con CIDP anti-NF155+ y controles sanos (CS).

**CIDP:** Polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica; **CS:** controles sanos; **DE:** desviación estándar; **NF155:** neurofascina-155; **sNfL:** niveles de neurofilamentos de cadena ligera en suero.

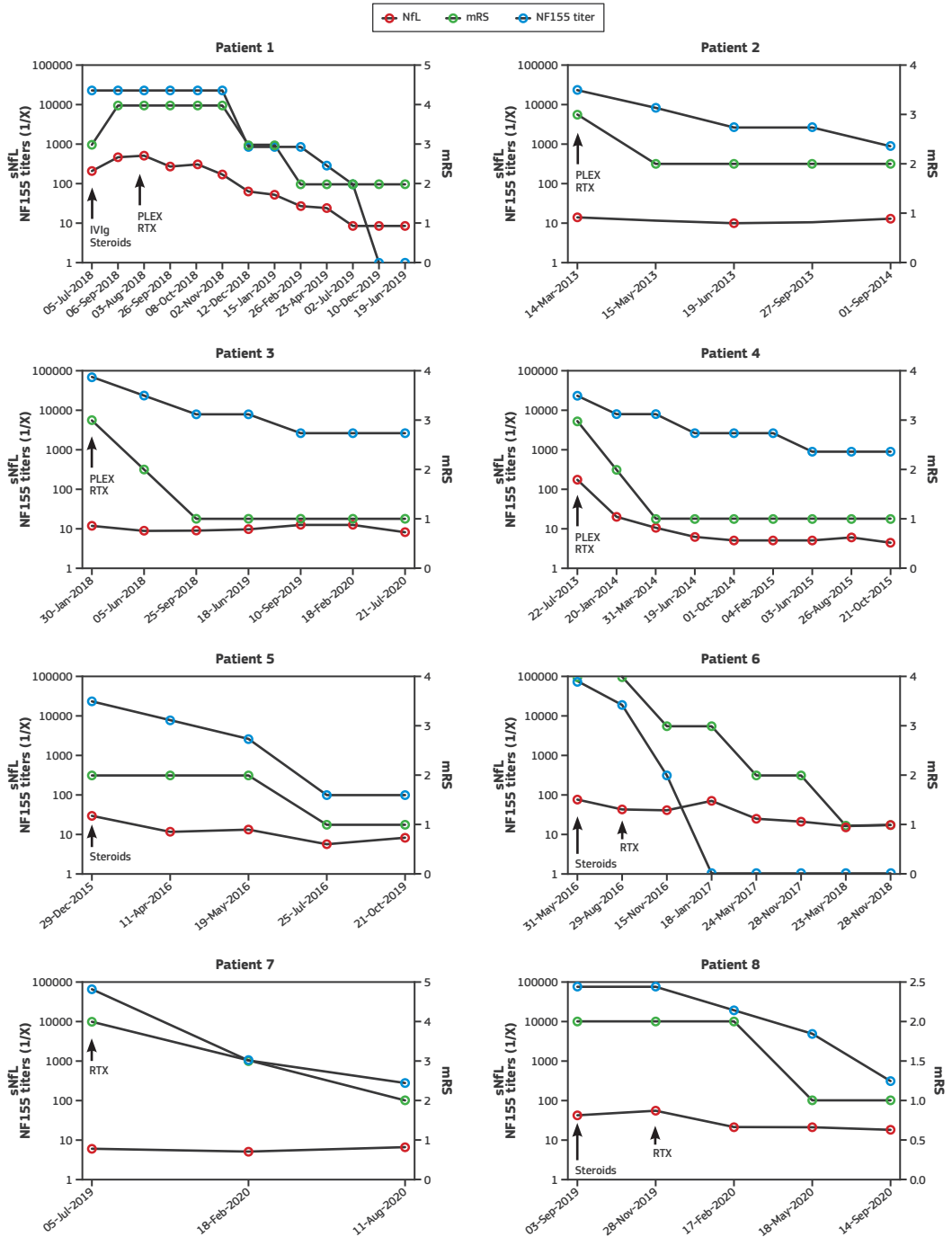


**Figura 22:** sNfL basales en pacientes con CIDP anti-NF155+ y controles sanos (CS).

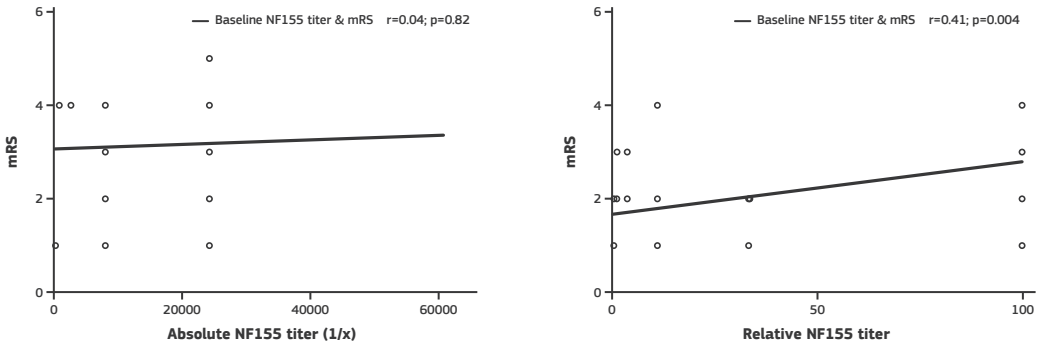
La línea en el centro representa el valor de la mediana y los bigotes indican el rango intercuartílico. **CIDP:** Polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica; **HC:** controles sanos; **NF155:** neurofascina-155; **sNfL:** niveles de neurofilamentos de cadena ligera en suero.

### 5.2.6. Relación entre los títulos de NF155, niveles de sNfL y el estado clínico

Los títulos absolutos de anticuerpos anti-NF155 no se correlacionaron con el estado clínico de los pacientes, pero sí lo hicieron cuando evaluamos los títulos de NF155 de seguimiento tras normalizar sus valores en relación con los títulos basales ( $r=0.41$ ,  $p=0.004$ ; **figura 23** y **figura 24**). Los niveles basales de sNfL mostraron una correlación negativa con la puntuación de I-RODS en el momento de la analítica ( $r=-0.88$ ,  $p<0.001$ ), así como con el máximo I-RODS alcanzado ( $r=-0.58$ ,  $p=0.01$ , **figura 25**). Encontramos una tendencia en la correlación entre los niveles de sNfL y el I-RODS final ( $r=-0.356$ ;  $p=0.1$ ) pero sin llegar a la significancia estadística. Los niveles de sNfL se correlacionaron con los títulos de anti-NF155 al inicio ( $n=36$ ;  $r=0.43$ ,  $p=0.001$ ) y en todos los tiempos evaluados disponibles ( $n=105$ ;  $r=0.34$ ,  $p<0.001$ ).

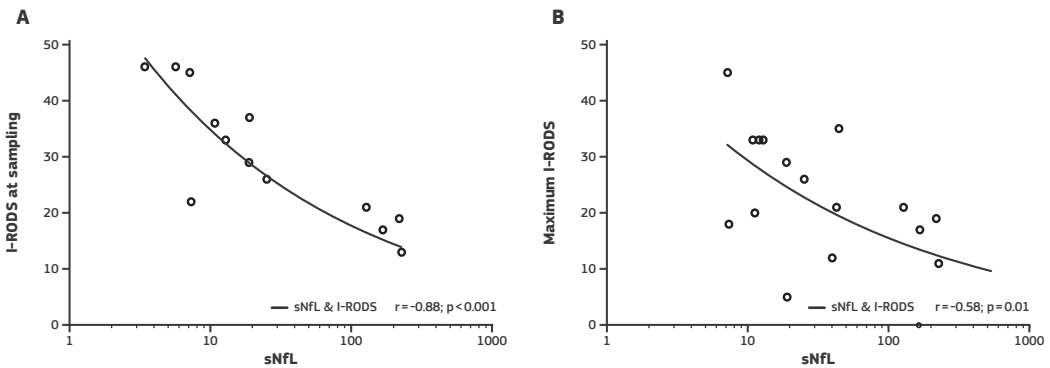


**Figura 23:** Estado clínico, sNFL y títulos de autoanticuerpos anti-NF155 en pacientes con CIDP anti-NF155+. En cada paciente se indica con una flecha el momento en el que se inicia el tratamiento. **IVIg**: inmunoglobulinas endovenosas; **mRS**: escala de Rankin modificada; **NF155**: neurofascina-155; **NfL**: niveles de neurofilamentos de cadena ligera en suero; **PLEX**: recambio plasmático, **RTX**: rituximab.



Las líneas representan la correlación entre los títulos de NF155 y la escala mRS.

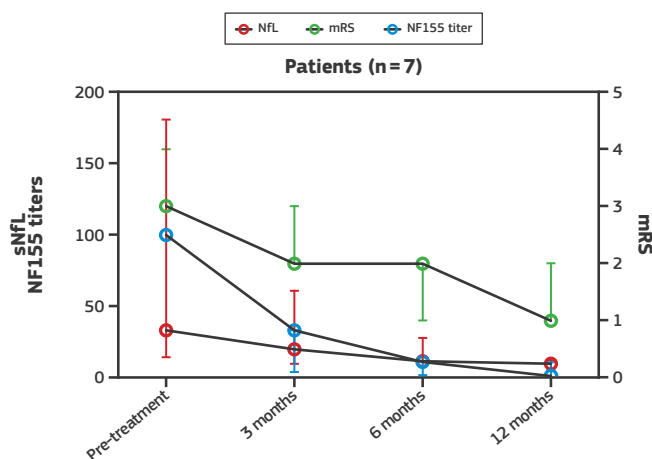
**mRS:** escala de Rankin modificada, **NF155:** neurofascina-155



Las líneas representan la correlación entre los niveles de sNfL y los I-RODS; **I-RODS:** Rasch-built Overall Disability Scale; **sNfL:** niveles de neurofilamentos de cadena ligera en suero.

### 5.2.7. Relación entre los títulos de NF155, niveles de sNfL y respuesta al tratamiento con rituximab: Cinética.

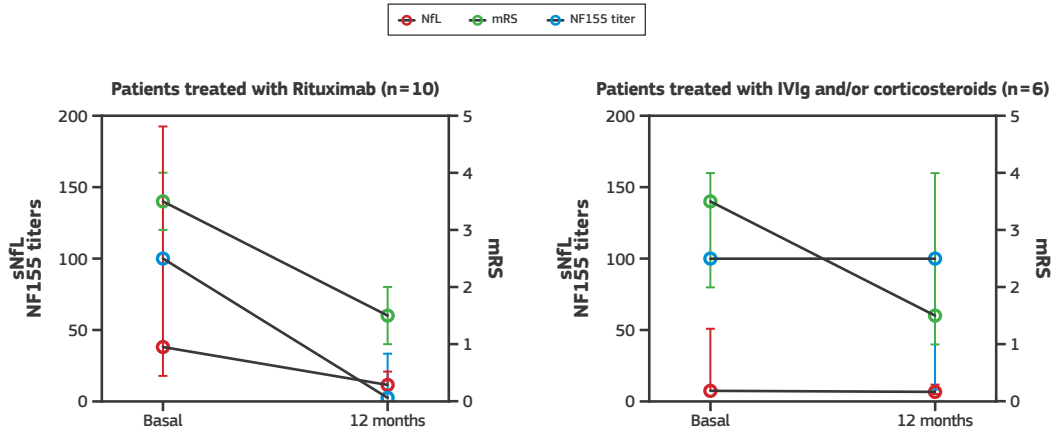
En los pacientes con CIDP anti-NF155+ tratados con rituximab en los que se disponía de muestras de seguimiento en diferentes puntos temporales (n=7), los títulos de anticuerpos disminuyeron durante el seguimiento. Esta disminución fue significativa a los 3 meses de la administración de rituximab (disminución media del 66.7%, **figura 26**). Al año, se alcanzó una reducción media de los títulos del 98.6% en los pacientes tratados con rituximab.



**Figura 26:** Estado clínico, títulos de anti-NF155 y niveles de sNFL tras la inducción del tratamiento con rituximab: cinética.

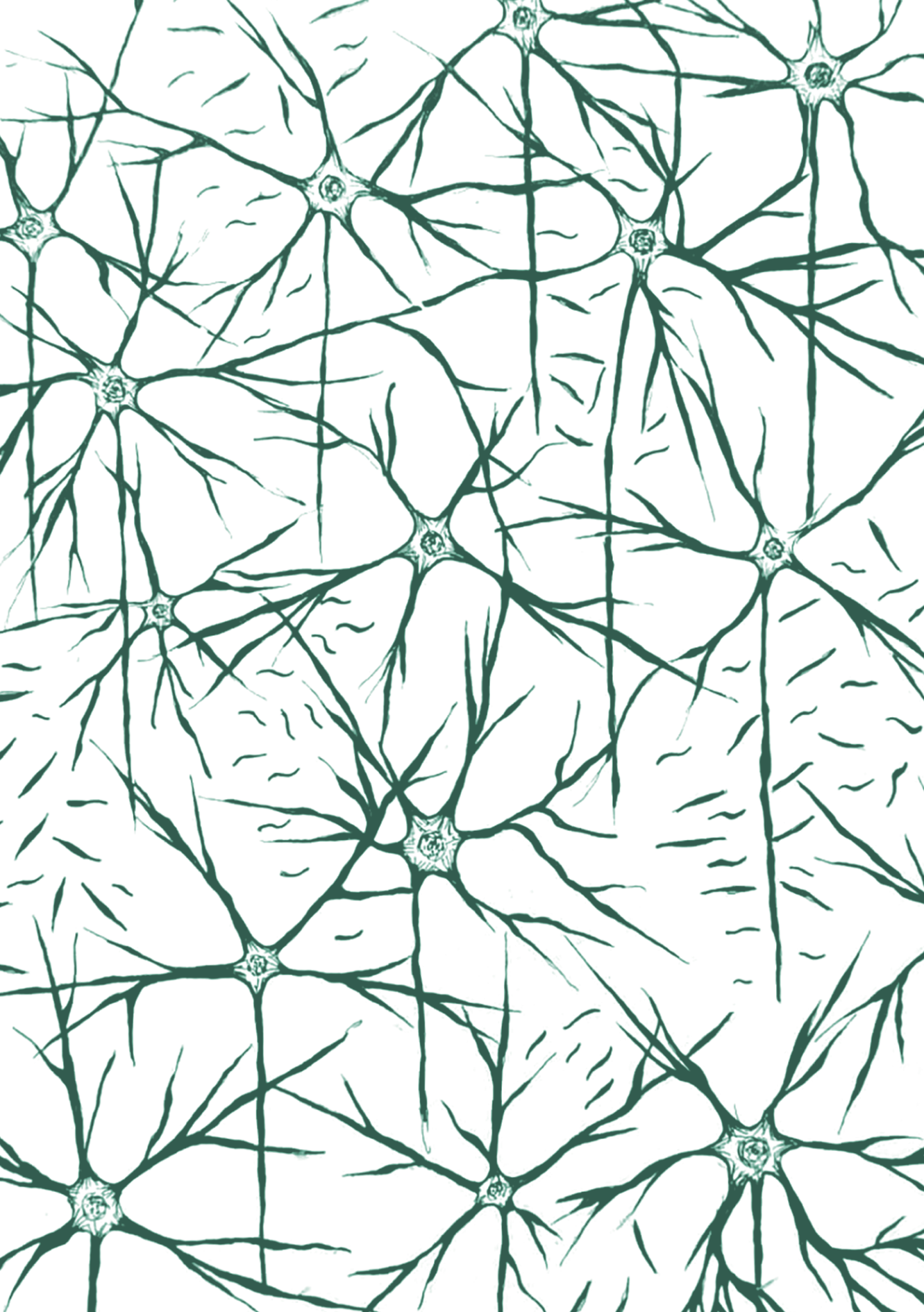
Los puntos representan la mediana y los bigotes indican el rango intercuartílico. **NF155**: neurofascina-155; **mRS**: escala de Rankin modificada; **sNFL**: niveles de neurofilamentos de cadena ligera en suero.

Si estratificamos a los pacientes según si han recibido rituximab solo (n=2) o plasmaféresis y rituximab (n=5), no se observan diferencias en la reducción del título de anti-NF155. En los pacientes no tratados con rituximab con muestra de seguimiento al año (n=6), no se observó una disminución significativa de los anticuerpos durante el seguimiento (dos pacientes tuvieron una disminución de los títulos de NF155, dos pacientes permanecieron estables y dos pacientes aumentaron sus títulos de NF155) (**figura 27**). Los niveles de sNFL fueron claramente superiores en los pacientes tratados con rituximab en comparación con los pacientes no tratados con rituximab (47.69pg/mL vs 14.43pg/mL,  $p=0.08$ , **tabla 26**), pero las diferencias no alcanzaron significación estadística debido al bajo número de muestras disponibles. Los niveles de sNFL disminuyeron al año en los pacientes tratados con rituximab (mediana de 37.98pg/ml al inicio vs 11.72pg/ml al año,  $p=0.04$ ). En los pacientes no tratados con rituximab, la mediana de los niveles basales de sNFL fue normal y no se observaron cambios al año (7.62pg/ml vs 6.95pg/ml,  $p=0.16$ ). El estado clínico mejoró al año en ambos grupos, pero sólo el grupo tratado con rituximab mejoró significativamente (mediana de mRS 4 [3-4] al inicio vs 2 [1-2] al año de seguimiento,  $p=0.004$ , en los pacientes tratados con rituximab y 3 [2-4] al inicio vs 2 [1-4] al año,  $p=0.25$ , en los pacientes no tratados con rituximab).



**Figura 27:** Respuesta al tratamiento con rituximab: Estado clínico, títulos de NF155 y niveles de sNFL. La línea del centro representa el valor de la mediana y los bigotes indican el rango intercuartílico. **IVIg:** inmunoglobulinas endovenosas; **NF155:** neurofascina-155; **mRS:** escala de Rankin modificada; **sNFL:** niveles de neurofilamentos de cadena ligera en suero.





6

# DISCUSIÓN







En la presente tesis hemos estudiado la utilidad de los biomarcadores en las neuropatías autoinmunes; principalmente los neurofilamentos de cadena ligera en suero (sNfL) en el caso de los pacientes con SGB y de los títulos de neurofascina-155 y los sNfL en los pacientes con CIDP anti-NF155+, así como su relación con las características clínicas de ambas enfermedades, la gravedad clínica y su pronóstico a largo plazo.

El primer estudio realizado en pacientes con SGB muestra que los niveles de sNfL se correlacionan con diversas características clínicas (gravedad clínica, variantes clínicas axonales y SMF), epidemiológicas (antecedente de diarrea) y electrofisiológicas (variantes axonales) y que se asocian con los resultados clínicos independientemente de otras variables pronósticas conocidas. Además, el estudio demuestra que los niveles de sNfL pueden utilizarse para establecer diferentes puntos de corte que discriminan a los pacientes con riesgo de desarrollar una discapacidad leve (incapacidad para correr) o moderada (capacidad para caminar de forma independiente), así como a los que se recuperan completamente (capacidad para correr) al cabo de 1 año. Como era de esperar, y debido a la naturaleza monofásica del SGB y a la capacidad de los sNfL de detectar el daño axonal activo, todos los pacientes con niveles elevados de sNfL al inicio volvieron a niveles normales al año.

Las características basales de los pacientes con SGB y los valores pronósticos (capacidad de caminar a los 6 meses y 1 año) en nuestra cohorte son similares a otros estudios, y similares al conjunto de datos globales del estudio IGOS<sup>60</sup>, excepto por una mayor proporción de pacientes con AMAN (12.2%) y de pacientes con SMF (10.2%). Esto podría ser un sesgo de selección debido a la mayor gravedad de los pacientes con AMAN o la rareza de la variante SMF.

Encontramos una correlación entre los niveles basales de sNfL y la gravedad de la enfermedad, de acuerdo con los hallazgos reportados previamente en otras neuropatías periféricas; como la CIDP<sup>280</sup>, la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth<sup>281,282</sup> (CMT) o la polineuropatía amiloidosis familiar<sup>283,284</sup>. Los niveles basales de sNfL en los pacientes con SGB fueron más altos que los niveles de sNfL reportados en otras neuropatías periféricas, pero

existe una gran variabilidad entre ellos, que va desde niveles normales hasta niveles 100 veces superiores a los de los controles sanos. Esta variabilidad se explica en parte por las diferentes variantes clínicas y de ECN: los niveles de sNfL son más altos en las variantes axonales (AMAN, AMSAN); pero otros factores, no considerados en este estudio, podrían haber influido en la heterogeneidad de los niveles de sNfL (tratamiento utilizado, comorbilidades, regímenes de fisioterapia) y deberán ser evaluados en cohortes más amplias. En este primer estudio de pacientes con SGB no hemos evaluado el posible efecto del tratamiento en los niveles de sNfL, ya que algunas de las muestras se recogieron después de iniciar el tratamiento con Igev o plasmaféresis.

También encontramos niveles elevados de sNfL en pacientes con SMF a pesar de su pronóstico benigno (el 87.5% pudo correr a los 6 meses y su mediana de I-RODS fue de 48). Cuando analizamos los ECN de los pacientes con SMF encontramos cinco pacientes con un ECN normal, cuatro pacientes con un ECN equívoco y un paciente con AMSAN, clasificado como un SMF-*overlap*. El mecanismo subyacente implicado en la elevación de los sNfL en los pacientes con SMF a pesar de que las alteraciones electrofisiológicas de los nervios periféricos no son destacables no está claro: una posible explicación podría ser que el daño en las raíces nerviosas preganglionares (difíciles de evaluar con la electrofisiología rutinaria) o en cerebelo estén produciendo este aumento de los sNfL en lugar del daño de los nervios periféricos<sup>106-108</sup>, pero se necesitan cohortes más grandes de pacientes con SMF (incluyendo la evaluación del LCR), ya que un sesgo no aparente podría estar impulsando estos resultados inesperados.

Estudios más pequeños han estudiado previamente los niveles de NfL en suero y LCR<sup>267,268,277-279</sup> y algunos de ellos encontraron una asociación entre ellos y la gravedad clínica o el pronóstico a corto plazo<sup>285</sup>. Sin embargo, nosotros proporcionamos el primer gran estudio prospectivo que evalúa la relación entre los niveles de sNfL (analizados con SiMoA), las características del SGB y su pronóstico a largo plazo. Encontramos una clara relación entre la sNfL y el pronóstico: unos niveles de sNfL basales elevados se asociaron con la incapacidad para correr y con las puntuaciones I-RODS a 1 año en un modelo de

regresión logística y lineal múltiple, ajustado por factores pronósticos conocidos. También nos propusimos establecer puntos de corte para predecir resultados clínicamente relevantes con alta especificidad. Estos tres puntos de corte nos permitieron predecir en nuestra muestra que (1) un paciente con sNfL basales  $>319$  pg/ml no va a ser capaz de caminar de forma independiente a 1 año con casi un 90% de especificidad; (2) un paciente con sNfL basales  $>248$  pg/ml no va a ser capaz de correr a 1 año con un 94.2% de especificidad; y (3) un paciente con sNfL basales  $<34$  pg/ml va a ser capaz de correr a 1 año con un 82.1% de especificidad. Teniendo en cuenta que la mayoría de los pacientes con SGB van a caminar de forma independiente al año de todos modos, el reconocimiento temprano de los pacientes con mal pronóstico, así como aquellos con pronóstico excelente podría ayudar a los médicos a guiar las opciones de tratamiento en el futuro y proporcionar una mejor información de pronóstico para los pacientes en la fase de recuperación.

En nuestro estudio hemos realizado todos los análisis utilizando los niveles de sNfL basales. Sin embargo, los niveles de sNfL pueden aumentar durante el ingreso hospitalario y es posible que los niveles de sNfL medidos en la primera o segunda semana fueran más altos<sup>310</sup> y capaces de predecir mejor el pronóstico a largo plazo. Sin embargo, realizamos los niveles de sNfL al inicio porque nuestro objetivo fue evaluar la capacidad predictiva de los sNfL cuando el paciente ingresa, para hacer inferencias pronósticas e informar de las opciones terapéuticas y de cuidado lo antes posible.

En la actualidad, la determinación de los sNfL no está disponible en la práctica clínica diaria (aunque cada vez están más disponibles para las pruebas de rutina en las enfermedades neurodegenerativas), pero la incorporación de los niveles de sNfL en los modelos de pronóstico existentes para el SGB<sup>160,161,176</sup> podría ser una opción para mejorar la predicción del pronóstico del SGB en el futuro. Nuestro estudio proporciona uno de los mayores estudios de pronóstico en el SGB; aun así, se deben realizar estudios más amplios para confirmar nuestros hallazgos y establecer puntos de corte de sNfL optimizados para los *endpoints* clínicamente relevantes en poblaciones más diversas.

A diferencia de otras enfermedades, como la esclerosis múltiple<sup>266</sup>, las diferencias en los niveles de NfL entre los pacientes con SGB y los controles sanos, son relativamente menores en el LCR que en el suero. Estos resultados son sorprendentes, ya que la afectación de las raíces nerviosas (detectada por imágenes de resonancia magnética o estudios neurofisiológicos) es prominente en el SGB. La respuesta inmunitaria en el SGB también se dirige a los nervios periféricos y la cantidad de axones afectados puede ser mucho mayor en la periferia. Además, algunos autores proponen que la inflamación de la raíz preforaminal puede dar lugar a un menor daño axonal que en las raíces postforaminales, ya que la ausencia de epi-perineurio permite una mayor distensión del tejido en los segmentos nerviosos intratecales<sup>134,135</sup>. Sin embargo, debido al bajo número de pacientes en los que hemos determinado los niveles de NfL en LCR, estas son hipótesis que deben interpretarse con precaución.

Una cuestión importante en el SGB y otras neuropatías autoinmunes es la falta de biomarcadores que puedan utilizarse como marcadores sustitutos de la actividad de la enfermedad y como *endpoints* secundarios en los ensayos clínicos. Los ensayos clínicos en neuropatías inflamatorias, entre las que se incluye el SGB, suelen utilizar escalas clínicas como criterios de valoración primarios y secundarios. Además, el *endpoint* primario clásico (capacidad de caminar sin ayuda a los 6 meses) puede no ser lo suficientemente sensible para detectar el efecto del tratamiento en los ensayos de SGB<sup>180</sup>. La relación de los sNfL con la gravedad de la enfermedad, el daño axonal y el pronóstico sugieren que los niveles de sNfL podrían ser un predictor informativo del efecto del tratamiento en la práctica clínica y en los ensayos clínicos, como ocurre en otras enfermedades, como la esclerosis múltiple<sup>311</sup>.

Una de las limitaciones de nuestro estudio es la falta de criterios de exclusión en el estudio IGOS: todos los pacientes con SGB están incluidos en el estudio y no se registraron datos sobre enfermedades neurológicas previas que influyeran en los niveles de NfL o en los resultados clínicos. En nuestra muestra, siete pacientes incluidos tienen comorbilidades que afectan a la movilidad, pero no excluimos a esos pacientes de los análisis multivariados con tal de seguir de una forma estricta los criterios de inclusión y exclusión del estudio

IGOS. Otro punto para estudiar sería el tiempo de recuperación de los pacientes con niveles de sNfL altos frente a los pacientes con niveles bajos. Para evaluar esto, sería necesario realizar visitas más frecuentes o autorregistradas informando sobre los resultados relevantes, ya que en el estudio no había visitas programadas entre los puntos de tiempo de 26 y 52 semanas. Además, es importante recalcar que los puntos de corte que establecemos para los *endpoints* clínicamente relevantes sólo son válidos para nuestra muestra de pacientes. Estudios futuros más amplios, con muestreos repetidos, y que aborden la dinámica de los niveles de sNfL a corto plazo podrían estudiar la relación de los niveles de sNfL con la respuesta al tratamiento, y establecer mejores puntos temporales para analizar los sNfL con fines pronósticos, así como puntos de corte más representativos. Sin embargo, nuestro estudio proporciona la prueba de concepto para apoyar el uso de los puntos de corte de sNfL como predictores pronósticos en el SGB en el futuro.

En resumen, nuestro estudio en pacientes con SGB demuestra que los sNfL se correlacionan con la gravedad de la enfermedad y el daño axonal y que podrían utilizarse como un biomarcador pronóstico informativo en los pacientes con SGB.

El segundo estudio realizado en pacientes con CIDP con anticuerpos anti-neurofascina-155 (CIDP anti-NF155+) describe las características clínicas, inmunológicas, de biomarcadores, de respuesta al tratamiento y de pronóstico de la mayor cohorte de CIDP anti-NF155+ publicada hasta ahora.

Nuestro estudio corrobora que los pacientes con CIDP anti-NF155+ tienen un fenotipo clínico específico con debilidad distal, temblor y ataxia y detalla sus características inmunológicas, confirmando que, al contrario de lo que ocurre con otros anticuerpos nodo/paranodales<sup>312,313</sup>, los anticuerpos anti-NF155 aparecen casi exclusivamente como isotipo IgG4 y que se asocian fuertemente con el HLA-DRB1\*15. Además, el estudio describe que los niveles de sNfL en pacientes con CIDP anti-NF155+ son más elevados que en los controles sanos y que tanto los niveles de sNfL como los títulos de autoanticuerpos son biomarcadores útiles para monitorizar la actividad

de la enfermedad y el daño axonal en pacientes con CIDP anti-NF155+. Por último, nuestro estudio muestra que los pacientes con CIDP anti-NF155+ responden con menor frecuencia y de forma parcial a las IgeV y a los corticosteroides, y apoya el uso de rituximab, especialmente en aquellos pacientes resistentes a las terapias convencionales.

Las características clínicas de nuestra cohorte de pacientes con CIDP anti-NF155+ son similares a las descritas anteriormente<sup>51,239,241,314</sup>, incluyendo la debilidad distal predominante, el temblor incapacitante, la ataxia sensorial y la mala respuesta a las IgeV. Nuestra cohorte también confirma que los pacientes con CIDP anti-NF155+ tienden a ser más jóvenes que los pacientes con CIDP seronegativas<sup>52</sup> (incluyendo 12 pacientes menores de 30 años). Además, el curso clínico predominante en nuestra cohorte fue crónico (>2 meses, 67.5%) pero 13 pacientes tuvieron un inicio agudo (5%) o subagudo (27.5%). El porcentaje de ataxia y temblor en nuestra serie es mayor que en otras series publicadas y concuerda con nuestras descripciones originales en un entorno más amplio y multicéntrico<sup>241,245</sup>. El 30% de los pacientes tenían afectación de los pares craneales, siendo la parálisis facial bilateral la más frecuente. Los pacientes con afectación facial bilateral tuvieron una gravedad clínica mayor que aquellos que no la presentaron. Curiosamente, dos pacientes de origen asiático presentaron una afectación bilateral del nervio óptico con RM cerebral y medular normales. Se han descrito anticuerpos anti-NF155 en pacientes con desmielinización central y periférica combinada en Japón<sup>246,315</sup>. La combinación de desmielinización central y periférica en pacientes con anticuerpos anti-NF155 parece ser menos frecuente en pacientes no asiáticos<sup>247,316</sup> pero estos 2 pacientes apoyan un riesgo dependiente de la ascendencia para la aparición de rasgos desmielinizantes centrales. Por último, todos nuestros pacientes presentaron una disociación albúmina-citológica con un nivel elevado de proteínas en el LCR, como se ha descrito previamente<sup>244,314</sup>. Algunos de los rasgos clínicos y epidemiológicos frecuentes y característicos descritos (edad joven, temblor, afectación distal, mala respuesta a las terapias convencionales) pueden ser útiles para seleccionar a los pacientes candidatos a testar los anticuerpos anti-NF155 en el contexto de un paciente que cumpla los criterios diagnósticos de CIDP.

Las descripciones y revisiones sistemáticas anteriores han sugerido que los pacientes con CIDP anti-NF155+ no responden a Igev o responden de forma subóptima<sup>241,245,317</sup>. Nuestro estudio lo confirma y muestra que la mayoría de los pacientes responden a rituximab incluso cuando son refractarios al tratamiento con Igev y a corticosteroides. Más del 50% de los pacientes de nuestra cohorte fueron tratados con rituximab tras una mala respuesta a otras terapias; y más del 75% tuvieron una buena respuesta clínica. La mejoría clínica reportada por sus neurólogos tras el tratamiento con rituximab concuerda con las puntuaciones en la escala mRS de seguimiento, que muestran que la mayoría de los pacientes mejoraron al menos un punto (82.6%), y una proporción significativa (56.5%) mejoró 2 o más puntos, a pesar de ser resistentes a otras terapias. Además, es importante recalcar que a pesar de que los pacientes tratados con rituximab presentaban niveles de discapacidad y sNfL significativamente mayores, su pronóstico final no difirió del de los pacientes que respondieron a las terapias de primera línea. Aproximadamente el 50% de los pacientes tratados con rituximab fueron tratados previamente con plasmaféresis, pero nuestro estudio no mostró diferencias en la respuesta al tratamiento, recaídas o la necesidad de reinfusiones entre ambos grupos. Sin embargo, deben realizarse estudios prospectivos más amplios para aclarar si el tratamiento combinado con plasmaféresis inicial y rituximab posterior puede inducir una respuesta más rápida que el rituximab solo.

Como los anticuerpos anti-NF155 son patogénicos según modelos *in vitro* e *in vivo*<sup>56</sup>, una de nuestras hipótesis fue que sus títulos deberían correlacionarse con la gravedad de la enfermedad. En nuestro estudio encontramos que los títulos de anticuerpos IgG4 anti-NF155 se correlacionan con el estado clínico dentro del mismo paciente, pero no entre pacientes. Esto es algo que se ha descrito en otras enfermedades autoinmunes IgG4 tratadas con rituximab, como la miastenia gravis anti-MUSK<sup>318,319</sup>. Varios factores pueden explicar por qué los títulos de autoanticuerpos no se correlacionan con la actividad clínica en los distintos pacientes: la diversa afinidad de los autoanticuerpos por su antígeno diana y los sesgos derivados de la naturaleza retrospectiva del estudio (diferentes puntos de tiempo, diferentes



regímenes de tratamiento, incluida la plasmaféresis temprana, y diferentes gravedades y edades basales) pueden ser los más importantes. Sin embargo, nuestro estudio demuestra que los títulos de anticuerpos anti-NF155 pueden ser un buen biomarcador de la actividad de la enfermedad y de la respuesta al tratamiento cuando se evalúan en pacientes individuales y se representan como cambios relativos a los niveles basales.

Además, hemos identificado anticuerpos IgG4 anti-NF155 en tres de los 4 pacientes con muestras de LCR disponibles. La presencia de anticuerpos anti-NF155 en el LCR no se había descrito previamente. La presencia de estos autoanticuerpos en el LCR podría ayudar a explicar las características cerebelosas del temblor y la ataxia en los pacientes con CIDP anti-NF155+, aunque se necesitan cohortes más grandes que incluyan pacientes con y sin temblor en los que se analice el LCR.

A pesar de que la NF155 se expresa en la célula de Schwann y de que los anticuerpos IgG4 no tienen la capacidad de activar la citotoxicidad celular o mediada por el complemento, los niveles de sNfL fueron mayores en los pacientes con CIDP anti-NF155+ que en los controles sanos. Recientemente se ha publicado un artículo que describe que los niveles de sNfL en CIDP anti-NF155+ son más elevados que en las CIDP seronegativas<sup>287</sup>. Esto, además de la importante persistencia de la discapacidad residual, concuerda con la atrofia muscular distal debida al daño axonal secundario que presentan algunos de estos pacientes, y apoyaría el uso de un tratamiento eficaz y temprano que pudiera prevenir la aparición de este daño. De hecho, encontramos una correlación entre los niveles basales de sNfL y la I-RODS en el momento de la extracción sanguínea, así como con la máxima I-RODS alcanzada, lo que indica que los niveles de sNfL son un buen biomarcador de la gravedad de la enfermedad, tal y como se hemos descrito previamente con el SGB y otras neuropatías<sup>281,283</sup>. Por otro lado, encontramos una tendencia en la correlación entre los niveles basales de sNfL y la puntuación I-RODS final, sin llegar a la significancia estadística, en probable relación a un problema de potencia estadística, que indica un potencial uso como biomarcador pronóstico, como ha sido demostrado recientemente en la CIDP seronegativa<sup>286</sup>. Además, los niveles

de sNFL disminuyeron hasta alcanzar niveles normales tras el tratamiento con rituximab, lo que sugiere que podrían utilizarse para identificar respuestas terapéuticas subóptimas y monitorizar la respuesta al tratamiento o la aparición de recaídas en estos pacientes.

Los loci del antígeno leucocitario humano (HLA) son el grupo de factores genéticos que se ha asociado con mayor frecuencia a las enfermedades autoinmunes, incluyendo fuertes asociaciones con otras enfermedades mediadas por IgG4<sup>240,320-322</sup>. Estudios anteriores han demostrado una fuerte asociación entre un alelo específico de clase II, HLA-DRB1\*15 (ya sea 15:01 o 15:02) y los pacientes con CIDP anti-NF155+<sup>242,243</sup>. Nuestro estudio muestra una asociación más fuerte que la reportada previamente (91.3%), confirmando que este alelo HLA es un factor de riesgo constitutivo que, asociado a factores ambientales desconocidos, puede estar impulsando la aparición de los autoanticuerpos anti-NF155.

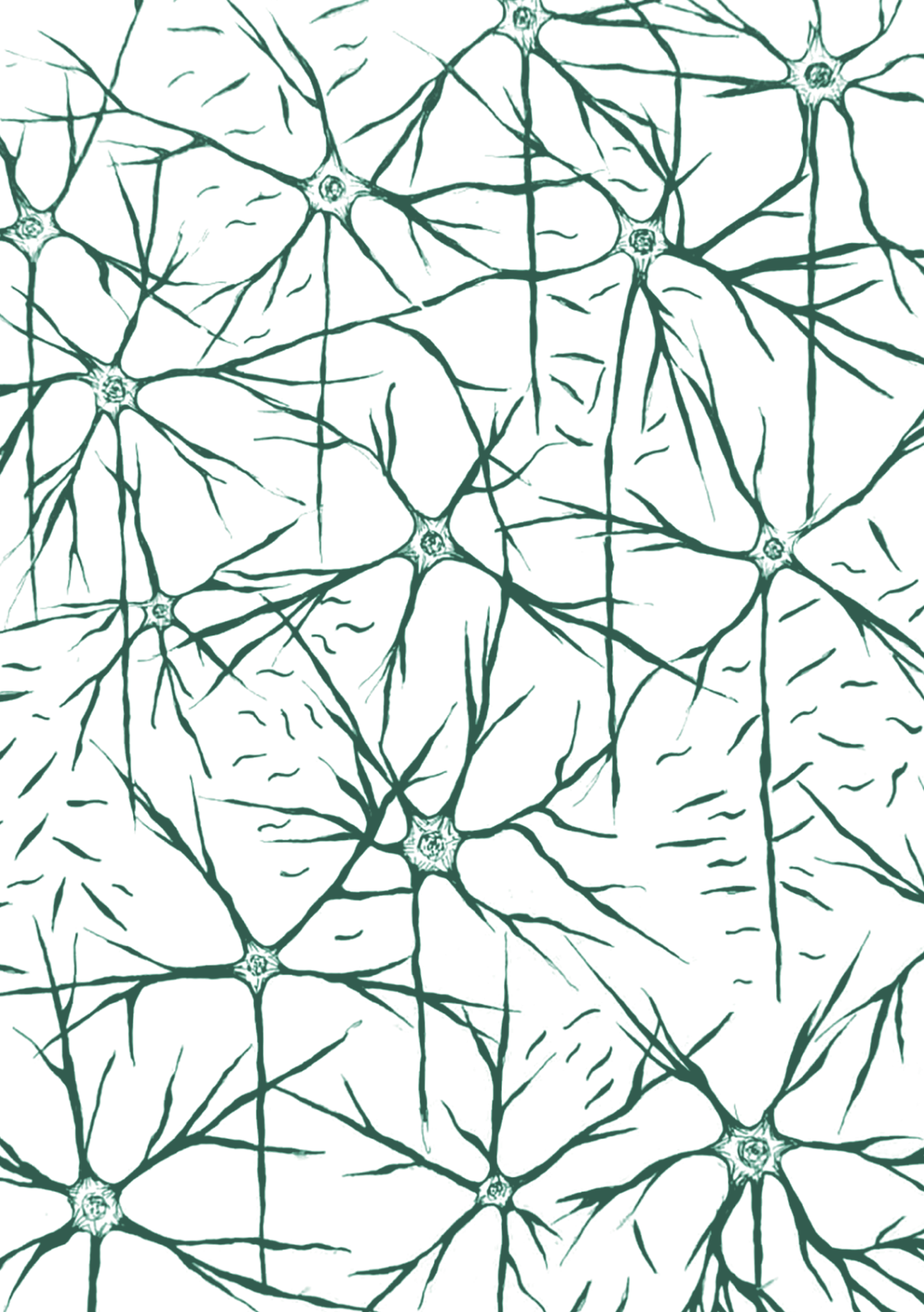
Las principales limitaciones de este estudio se derivan del reducido número de pacientes y de su carácter retrospectivo. Algunas de las correlaciones y asociaciones clínicas podrían ser más fuertes si se incluyera un mayor número de pacientes. Sin embargo, dado que la CIDP anti-NF155+ representa, aproximadamente, el 5% de todos los pacientes con CIDP, con cuarenta pacientes, nuestra cohorte proporciona la mayor cohorte en la que se ha realizado un análisis integral clínico, de biomarcadores y de respuesta al tratamiento. Este estudio proporciona información importante para la atención clínica de estos pacientes y para el diseño exitoso de futuros estudios de cohorte prospectivos de mayor tamaño.

En resumen, nuestro estudio confirma que la CIDP anti-NF155+ constituye un subgrupo definido de pacientes con rasgos clínicos, epidemiológicos e inmunológicos característicos, que la respuesta a las Igev y a los corticosteroides suele ser pobre, mientras que el rituximab es una terapia eficaz para la mayoría de los pacientes, y que los títulos de anticuerpos anti-NF155 y los niveles de sNFL podrían utilizarse en combinación para monitorizar la actividad clínica, el daño axonal y la respuesta al tratamiento.

## 6 DISCUSIÓN

Así pues, los dos estudios reportados en la presente tesis demuestran que los biomarcadores son útiles en el manejo clínico de los pacientes con neuropatías autoinmunes, ya sea como biomarcadores de pronóstico a largo plazo, como demuestra el estudio de sNfL en el SGB, o como biomarcadores de actividad clínica y respuesta terapéutica, como demuestra el estudio de sNfL y títulos de anticuerpos anti-NF155 en los pacientes con CIDP anti-NF155+.





7

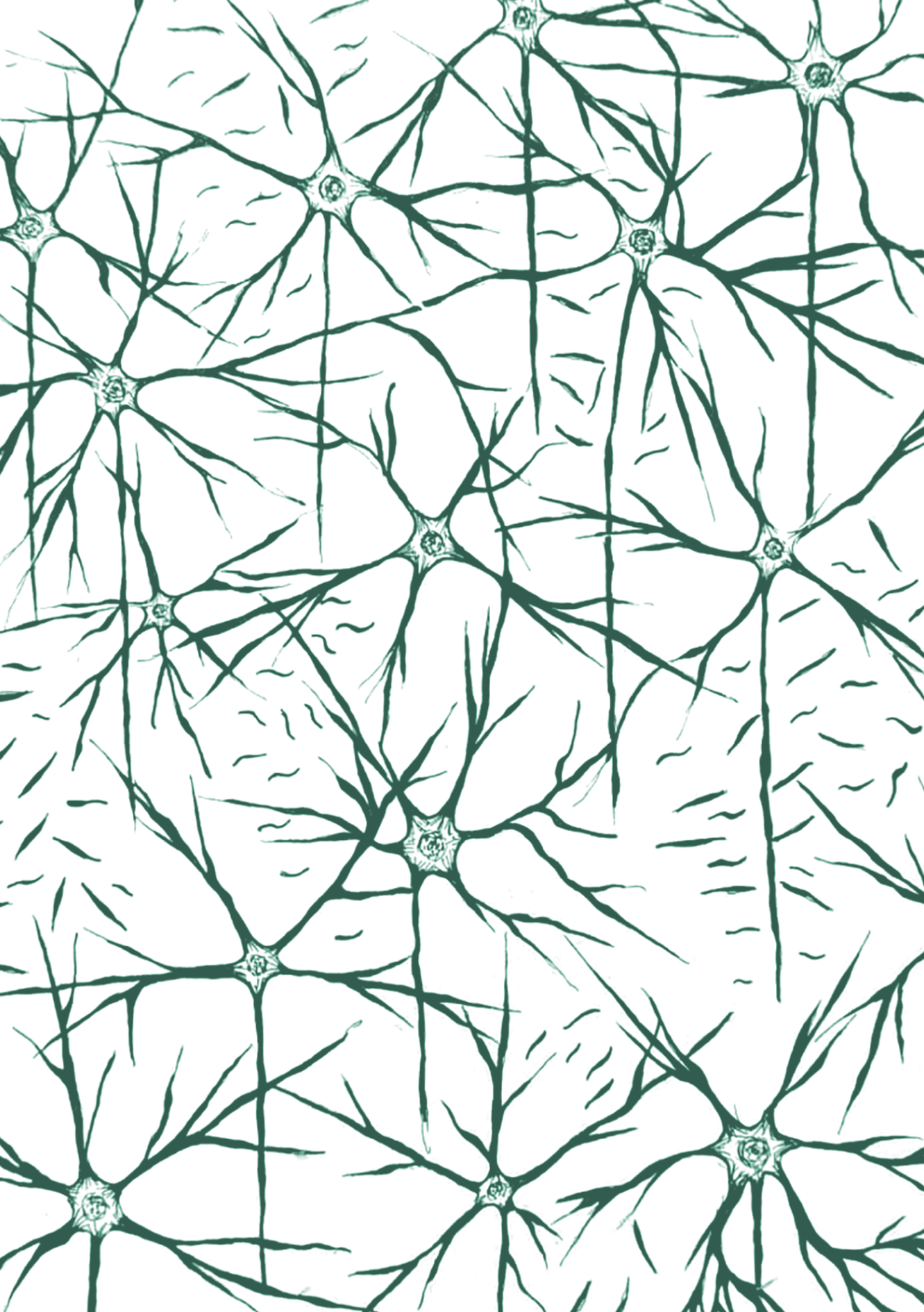
# CONCLUSIONES





- Los niveles de neurofilamentos de cadena ligera en suero (sNfL) se correlacionan con la gravedad de la enfermedad y con el daño axonal (variantes axonales) en pacientes con SGB.
- Los niveles de sNfL predicen la presencia de discapacidad residual a largo plazo en el SGB, independientemente de otras variables pronósticas conocidas.
- Los pacientes con CIDP anti-NF155+ constituyen un subgrupo de pacientes con un fenotipo clínico e inmunológico específico asociado a debilidad distal, ataxia y temblor. El tratamiento con rituximab es una terapia efectiva para la mayoría de los pacientes con CIDP anti-NF155+ que no responden a terapias de primera línea.
- Los títulos de los anticuerpos anti-NF155 y los niveles de sNfL son buenos marcadores de los componentes inmunológicos y del daño axonal de la enfermedad en la CIDP anti-NF155+, por lo que pueden utilizarse en combinación para la monitorización de la actividad de la enfermedad y la evaluación de la respuesta terapéutica.





8

# LÍNEAS DE FUTURO





Nuestro estudio pone de manifiesto la utilidad de los niveles de sNfL como biomarcador pronóstico a largo plazo en los pacientes con SGB y la utilidad de los niveles de autoanticuerpos anti-NF155 y de los sNfL en pacientes con CIDP anti-NF155 como biomarcadores de actividad clínica y de respuesta terapéutica.

Los estudios futuros deben ir encaminados a estudiar la cinética de los sNfL en el SGB para determinar en qué momento se produce el pico máximo de concentración en suero y estudiar si existe un mejor punto temporal para predecir el pronóstico a largo plazo. Además, se debería realizar un estudio de validación con un número mayor de muestras representativas con el objetivo de optimizar los puntos de corte para los *endpoints* clínicamente relevantes establecidos en nuestra cohorte y estudiar la posible inclusión de los sNfL en los modelos pronósticos conocidos del SGB. Asimismo, la determinación de los sNfL antes y durante el tratamiento del SGB ayudaría a estudiar el efecto del tratamiento en los mismos y a valorar su posible inclusión como biomarcador de respuesta terapéutica en ensayos clínicos de fase II.

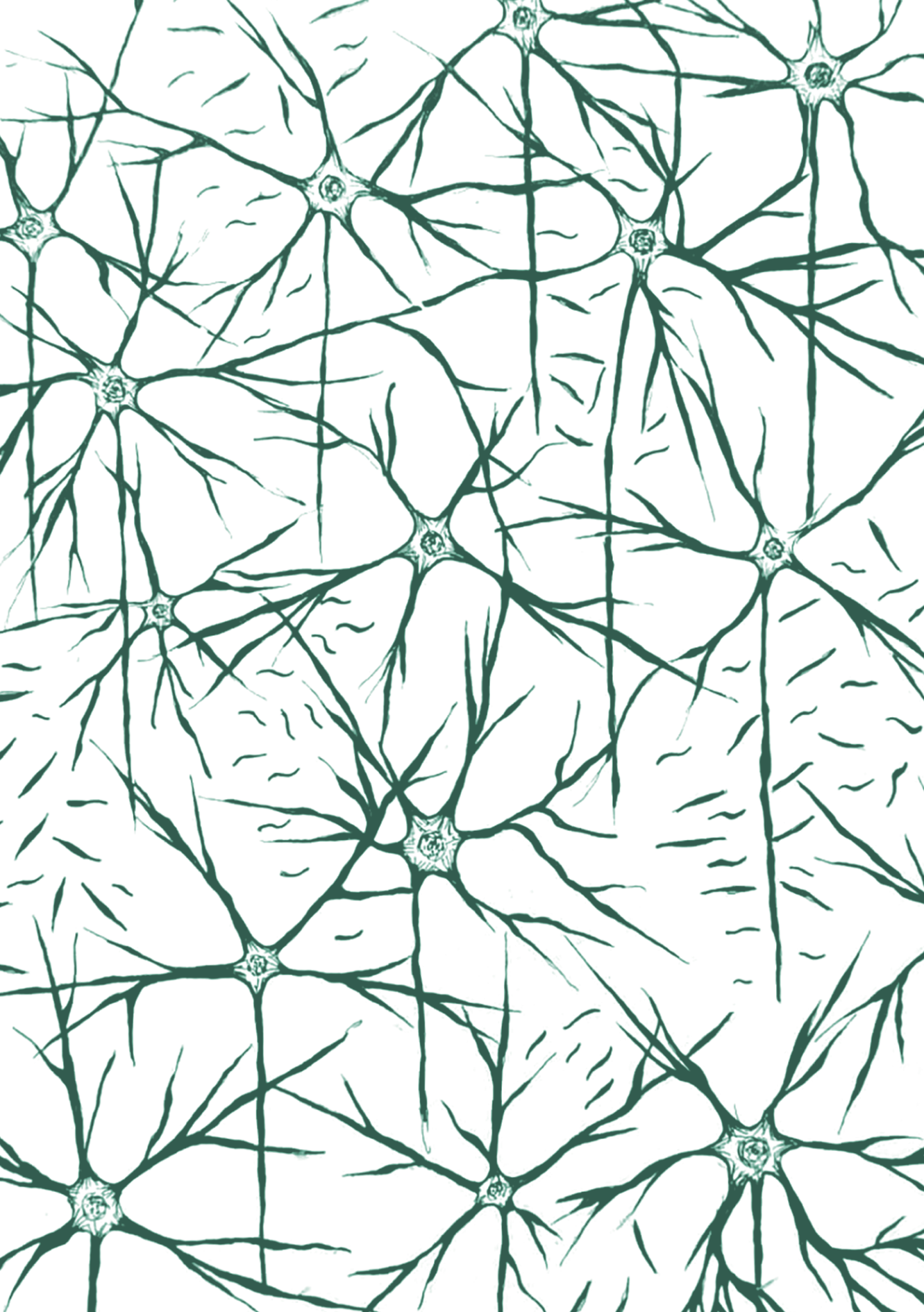
Por otro lado, en la CIDP anti-NF155 es necesario realizar un estudio prospectivo de pacientes para evaluar la cinética de los sNfL y de los títulos anti-NF155, ya que nuestra cohorte de pacientes es retrospectiva y el estudio tiene todas las limitaciones derivadas de ello. Pese a esto, determinamos un potencial en los sNfL para determinar posibles respuestas terapéuticas subóptimas, así como de los títulos de autoanticuerpos para realizar un correcto seguimiento de actividad clínica de los pacientes. Así pues, los sNfL en la CIDP pueden tener un valor añadido en la evaluación de las recaídas y en la detección del *wearing-off* del efecto de las Igev en las CIDP seronegativas. Otra cuestión sin resolver es si la plasmaféresis añadida al rituximab puede conseguir una mejoría clínica más rápida que la del rituximab sólo.

Finalmente, sería de especial interés la descripción de un biomarcador de daño axonal específico para el SNP, ya que los sNfL son un biomarcador muy sensible pero poco específico, que se pueden ver aumentados en muchas enfermedades neurológicas, así como la descripción

de un marcador de daño mielínico, con tal de ayudar a diferenciar las neuropatías axonales de las desmielinizantes en aquellos casos en los que los estudios de conducción nerviosa no son totalmente esclarecedores.

Además, este estudio supone la prueba de concepto de la utilidad de los marcadores de daño axonal como marcadores pronósticos en enfermedades neuroinmunes monofásicas y, por lo tanto, sugiere que aproximaciones similares podrían ayudar a realizar estudios de biomarcadores en otras enfermedades neurológicas agudas en las que la toma de decisiones terapéuticas al inicio es importante y condicionan el pronóstico. Esto podría ser así en el ámbito de enfermedades neurológicas no-inmunes como enfermedades infecciosas (encefalitis víricas, meningitis), vasculares o tóxico-metabólicas, dónde ya existe alguna evidencia apoyando su utilidad, y en el caso de las enfermedades neuroinmunes agudas, como las encefalitis autoinmunes, mielitis transversas o encefalomiелitis agudas diseminadas, en las que no existen aún estudios utilizando estas estrategias de monitorización. Los pacientes con encefalitis o encefalomiелitis autoinmunes presentan síntomas neurológicos graves, precisando en muchos casos de intubación orotraqueal, sedación, ventilación mecánica e ingreso en UCI. En estos casos, carecemos de marcadores evolutivos y pronósticos, y el seguimiento clínico y la exploración neurológica no aportan información que permita estimar el nivel de daño neurológico y modificar la terapia si es preciso. Por este motivo, estudiar los niveles de sNfL en estos pacientes aportaría un nuevo biomarcador para poder optimizar las decisiones terapéuticas en el momento agudo.





# 9

# BIBLIOGRAFÍA







1. Fuchs E. A Structural Scaffolding of Intermediate Filaments in Health and Disease. *Science* 1998; **279**: 514–519.
2. Ross, M. H. Pawlina W. Histología: Texto y Atlas Color con Biología Celular y Molecular. *Ed Panam 6ª ed* 2013.
3. Marani E, Lakke EAJF. Peripheral Nervous System Topics. In: *The Human Nervous System*. Elsevier, 2012, pp 82–140.
4. Preston DC, Shapiro BE. Electromyography and Neuromuscular Disorders. *Elsevier Saunders* 2013.
5. Salzer JL, Brophy PJ, Peles E. Molecular domains of myelinated axons in the peripheral nervous system. *Glia* 2008; **56**: 1532–1540.
6. Salzer JL. Polarized domains of myelinated axons. *Neuron*. 2003; **40**: 297–318.
7. Lubetzki C, Sol-Foulon N, Desmazières A. Nodes of Ranvier during development and repair in the CNS. *Nat Rev Neurol* 2020; **16**: 426–439.
8. Caldwell JH, Schaller KL, Lasher RS, Peles E, Levinson SR. Sodium channel Nav1.6 is localized at nodes of Ranvier, dendrites, and synapses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; **97**: 5616–5620.
9. Tzoumaka E, Tischler AC, Sangameswaran L, Eglen RM, Hunter JC, Novakovic SD. Differential distribution of the tetrodotoxin-sensitive rPN4/NaCh6/Scn8a sodium channel in the nervous system. *J Neurosci Res* 2000; **60**: 37–44.
10. Carroll SL. The molecular and morphologic structures that make saltatory conduction possible in peripheral nerve. *J Neuropathol Exp Neurol* 2017; **76**: 255–257.
11. Davis JQ, Lambert S, Bennett V. Molecular composition of the node of Ranvier: Identification of ankyrin- binding cell adhesion molecules neurofascin (mucin+/third FNIII domain-) and NrCAM at nodal axon segments. *J Cell Biol* 1996; **135**: 1355–1367.
12. Eshed Y, Feinberg K, Poliak S, Sabanay H, Sarig-Nadir O, Spiegel I *et al*. Gliomedin mediates Schwann cell-axon interaction and the molecular assembly of the nodes of Ranvier. *Neuron* 2005; **47**: 215–229.
13. Rasband MN, Peles E. Mechanisms of node of Ranvier assembly. *Nat Rev Neurosci* 2021; **22**: 7–20.
14. Querol L, Devaux J, Rojas-Garcia R, Illa I. Autoantibodies in chronic inflammatory neuropathies: Diagnostic and therapeutic implications. *Nat. Rev. Neurol*. 2017. doi:10.1038/nrneurol.2017.84.
15. Nelson AD, Jenkins PM. Axonal membranes and their domains: Assembly and function of the axon initial segment and node of Ranvier. *Front Cell Neurosci* 2017; **11**: 1–17.
16. Faivre-Sarrailh C, Devaux JJ. Neuro-glial interactions at the nodes of Ranvier: Implication in health and diseases. *Front Cell Neurosci* 2013; **7**: 1–13.
17. Pedraza L, Huang JK, Colman DR. Polarized domains of the Axoglial Apparatus. *Neuron* 2001; **30**: 335–344.
18. Kearney JA, Buchner DA, De Haan G, Adamska M, Levin SI, Furay AR *et al*. Molecular and pathological effects of a modifier gene on deficiency of the sodium channel Scn8a (Nav1.6). *Hum Mol Genet* 2002; **11**: 2765–2775.

19. Uncini A, Kuwabara S. Nodopathies of the peripheral nerve: an emerging concept. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2015; **86**: 1186–1195.
20. Waller. XX. Experiments on the section of the glossopharyngeal and hypoglossal nerves of the frog, and observations of the alterations produced thereby in the structure of their primitive fibres. *Philos Trans R Soc London* 1850; **140**: 423–429.
21. Spencer PS, Sabri MI, Schaumburg HH, Moore CL. Does a defect of energy metabolism in the nerve fiber underlie axonal degeneration in polyneuropathies? *Ann Neurol* 1979; **5**: 501–507.
22. Asbury AK, Arnason BG, Adams RD. The inflammatory lesion in idiopathic polyneuritis: Its role in pathogenesis. *Med (United States)* 1969; **48**: 173–215.
23. Gombault P. Contribution a l'étude anatomique de la névrite parenchymateuse subaigue et chronique-névrite segmentaire péri-axile. *Arch Neurol* 1880; **1**: 11–38.
24. Fehmi J, Scherer SS, Willison HJ, Rinaldi S. Nodes, paranodes and neuropathies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2018; **89**. doi:10.1136/jnnp-2016-315480.
25. Uncini A, Susuki K, Yuki N. Nodo-paranodopathy: Beyond the demyelinating and axonal classification in anti-ganglioside antibody-mediated neuropathies. *Clin Neurophysiol* 2013; **124**: 1928–1934.
26. Uncini A, Kuwabara S. Nodopathies of the peripheral nerve: An emerging concept. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2015; **86**: 1186–1195.
27. Arvidson B. Cellular uptake of exogenous horseradish peroxidase in mouse peripheral nerve. *Acta Neuropathol* 1977; **37**: 35–41.
28. Poduslo JF, Curran GL, Berg CT. Macromolecular permeability across the blood-nerve and blood-brain barriers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; **91**: 5705–5709.
29. Mizisin AP, Weerasuriya A. Homeostatic regulation of the endoneurial microenvironment during development, aging and in response to trauma, disease and toxic insult. *Acta Neuropathol* 2011; **121**: 291–312.
30. Kanda T. Biology of the blood-nerve barrier and its alteration in immune mediated neuropathies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2013; **84**: 208–212.
31. Richner M, Ferreira N, Dudele A, Jensen TS, Vaegter CB, Gonçalves NP. Functional and structural changes of the blood-nerve-barrier in diabetic neuropathy. *Front Neurosci* 2019; **13**: 1–9.
32. Kieseier BC, Hartung HP, Wiendl H. Immune circuitry in the peripheral nervous system. *Curr Opin Neurol* 2006; **19**: 437–445.
33. Hörste GMZ, Hu W, Hartung HP, Lehmann HC, Kieseier BC. The immunocompetence of Schwann cells. *Muscle and Nerve* 2008; **37**: 3–13.
34. Meyer Zu Horste G, Heidenreich H, Lehmann HC, Ferrone S, Hartung HP, Wiendl H *et al.* Expression of antigen processing and presenting molecules by Schwann cells in inflammatory neuropathies. *Glia* 2010; **58**: 80–92.
35. Mathey EK, Pollard JD, Armati PJ. TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , and IL-2 mRNA expression in CIDP sural nerve biopsies. *J Neurol Sci* 1999; **163**: 47–52.
36. Goethals S, Ydens E, Timmerman V, Janssens S. Toll-like receptor expression in the peripheral nerve. *Glia* 2010; **58**: 1701–1709.

37. Pollard JD, McCombe PA, Baverstock J, Gatenby PA, McLeod JG. Class II antigen expression and T lymphocyte subsets in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *J Neuroimmunol* 1986; **13**: 123–134.
38. Pollard JD, Baverstock J, McLeod JG. Class II antigen expression and inflammatory cells in the guillain-barré syndrome. *Ann Neurol* 1987; **21**: 337–341.
39. Sharief MK, Ingram DA, Swash M, Thompson EJ. IV immunoglobulin reduces circulating proinflammatory cytokines in Guillain-Barre syndrome. *Neurology* 1999; **52**: 1833–1838.
40. Orlikowski D, Chazaud B, Plonquet A, Poron F, Sharshar T, Maison P *et al.* Monocyte chemoattractant protein 1 and chemokine receptor CCR2 productions in Guillain-Barré syndrome and experimental autoimmune neuritis. *J Neuroimmunol* 2003; **134**: 118–127.
41. Shen A, Yang J, Gu Y, Zhou D, Sun L, Qin Y *et al.* Lipopolysaccharide-evoked activation of p38 and JNK leads to an increase in ICAM-1 expression in Schwann cells of sciatic nerves. *FEBS J* 2008; **275**: 4343–4353.
42. Taskinen HS, Olsson T, Bucht A, Khademi M, Svelander L, Røyttä M. Peripheral nerve injury induces endoneurial expression of IFN- $\gamma$ , IL-10 and TNF- $\alpha$  mRNA. *J Neuroimmunol* 2000; **102**: 17–25.
43. Bonetti B, Valdo P, Ossi G, De Toni L, Masotto B, Marconi S *et al.* T-cell cytotoxicity of human Schwann cells: TNF $\alpha$  promotes fasL-mediated apoptosis and IFN $\gamma$  perforin-mediated lysis. *Glia* 2003; **43**: 141–148.
44. Brostoff S, Burnett P, Lampert P, Eylar EH. Isolation and characterization of a protein from sciatic nerve myelin responsible for experimental allergic neuritis. *Nat New Biol* 1972; **235**: 210–212.
45. Kadlubowski M, Hughes RAC. Identification of the neuritogen for experimental allergic neuritis. *Nature*. 1979; **277**: 140–142.
46. Milner P, Lovelidge CA, Taylor WA, Hughes RAC. P0 myelin protein produces experimental allergic neuritis in Lewis rats. *J Neurol Sci* 1987; **79**: 275–285.
47. Saida T, Saida K, Dorfman SH, Silberberg DH, Sumner AJ, Manning MC *et al.* Experimental allergic neuritis induced by sensitization with galactocerebroside. *Science* 1979; **204**: 1103–1106.
48. Hartung HP, Willison HJ, Kieseier BC. Acute immunoinflammatory neuropathy: Update on Guillain-Barré syndrome. *Curr Opin Neurol* 2002; **15**: 571–577.
49. Willison HJ. Peripheral neuropathies and anti-glycolipid antibodies. *Brain* 2002; **125**: 2591–2625.
50. Braun PE, Frail DE, Latov N. Myelin-Associated Glycoprotein Is the Antigen for a Monoclonal IgM in Polyneuropathy. *J Neurochem* 1982; **39**: 1261–1265.
51. Querol L, Nogales-Gadea G, Rojas-García R, Diaz-Manera J, Pardo J, Ortega-Moreno A *et al.* Neurofascin IgG4 antibodies in CIDP associate with disabling tremor and poor response to IVIg. *Neurology* 2014; **82**: 879–886.
52. Querol L, Nogales-Gadea G, Rojas-García R, Martínez-Hernández E, Diaz-Manera J, Suárez-Calvet X *et al.* Antibodies to contactin-1 in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Ann Neurol* 2013; **73**: 370–380.

53. Kusunoki S, Hitoshi S, Kaida KI, Murayama S, Kanazawa I. Degeneration of rabbit sensory neurons induced by passive transfer of anti-GD1b antiserum. *Neurosci Lett* 1999; **273**: 33–36.
54. Plomp JJ, Molenaar PC, O’Hanlon GM, Jacobs BC, Veitch J, Daha MR *et al.* Miller fisher anti-GQ1b antibodies:  $\alpha$ -Latrotoxin - Like effects on motor end plates. *Ann Neurol* 1999; **45**: 189–199.
55. Manso C, Querol L, Mekaouche M, Illa I, Devaux JJ. Contactin-1 IgG4 antibodies cause paranode dismantling and conduction defects. *Brain* 2016; **139**: 1700–12.
56. Manso C, Querol L, Lleixà C, Poncelet M, Mekaouche M, Vallat J-M *et al.* Anti-neurofascin-155 IgG4 antibodies prevent paranodal complex formation in vivo. *J Clin Invest* 2019; **129**: 2222–2236.
57. Dalakas MC, Engel WK. Immunoglobulin and Complement Deposits in Nerves of Patients With Chronic Relapsing Polyneuropathy. *Arch Neurol* 1980; **37**: 637–640.
58. Dalakas MC. Advances in the diagnosis, pathogenesis and treatment of CIDP. *Nat Rev Neurol* 2011; **7**: 507–517.
59. Sejvar JJ, Baughman AL, Wise M, Morgan OW. Population Incidence of Guillain-Barré Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Neuroepidemiology* 2011; **36**: 123–133.
60. Doets AY, Verboon C, Van Den Berg B, Harbo T, Cornblath DR, Willison HJ *et al.* Regional variation of Guillain-Barré syndrome. *Brain* 2018; **141**: 2866–2877.
61. Hughes RAC, Cornblath DR, Willison HJ. Guillain-Barré syndrome in the 100 years since its description by Guillain, Barré and Strohl. doi:10.1093/brain/aww247.
62. Rees JH, Soudain SE, Gregson NA, Hughes RAC. Campylobacter jejuni Infection and Guillain-Barré Syndrome. *N Engl J Med* 1995; **333**: 1374–1379.
63. Visser LH, Van Der Meché FGA, Meulstee J, Rothbarth PP, Jacobs BC, Schmitz PIM *et al.* Cytomegalovirus infection and Guillain-Barre syndrome: The clinical, electrophysiologic, and prognostic features. *Neurology* 1996; **47**: 668–673.
64. Brasil P, Sequeira PC, Freitas AD, Zogbi HE, Calvet GA, de Souza RV *et al.* Guillain-Barré syndrome associated with Zika virus infection. *Lancet* 2016; **387**: 1482.
65. van den Berg B, van der Eijk A a, Pas SD, Hunter JG, Madden RG, Tio-Gillen AP *et al.* Guillain-Barre syndrome associated with preceding hepatitis E virus infection. *Neurology* 2014; **82(6)**: 491–7.
66. Langmuir AD, Bregman DJ, Kurland LT, Nathanson N, Victor M. An epidemiologic and clinical evaluation of guillain-barré syndrome reported in association with the administration of swine influenza vaccines. *Am J Epidemiol* 1984; **119**: 841–879.
67. Lunn MP, Cornblath DR, Jacobs BC, Querol L, van Doorn PA, Hughes RA *et al.* COVID-19 vaccine and Guillain-Barré syndrome: let’s not leap to associations. *Brain* 2021; **144**: 357–360.
68. Yuki N, Hartung H-P. Guillain-Barré Syndrome. *N Engl J Med* 2012; **366**: 2294–2304.
69. Zochodne DW. Autonomic involvement in Guillain-Barre syndrome: A review. *Muscle Nerve* 1994; **17**: 1145–1155.
70. Ruts L, Drenthen J, Jongen JLM, Hop WCJ, Visser GH, Jacobs BC *et al.* Pain in Guillain-Barré syndrome: A long-term follow-up study. *Neurology* 2010; **75**: 1439–1447.

71. Asbury AK, Cornblath DR. Assessment of current diagnostic criteria for Guillain-Barré syndrome. *Ann Neurol* 1990; **27 Suppl**: S21-4.
72. Sejvar JJ, Kohl KS, Gidudu J, Amato A, Bakshi N, Baxter R *et al.* Guillain-Barré syndrome and Fisher syndrome: Case definitions and guidelines for collection, analysis, and presentation of immunization safety data. *Vaccine* 2011; **29**: 599-612.
73. Asbury AK, Cornblath DR. Assessment of current diagnostic criteria for Guillain-Barré syndrome. *Ann Neurol* 1990; **27**: S21-S24.
74. Fokke C, Van Den Berg B, Drenthen J, Walgaard C, Van Doorn PA, Jacobs BC. Diagnosis of Guillain-Barré syndrome and validation of Brighton criteria. *Brain* 2014; **137**: 33-43.
75. Willison HJ, Jacobs BC, Van Doorn PA. Seminar Guillain-Barré syndrome. *Lancet* 2016; **388**: 717-727.
76. Raphaël JC, Chevret S, Hughes RA, Annane D. Plasma exchange for Guillain-Barré syndrome. In: Annane D (ed). *Cochrane Database of Systematic Reviews*. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, UK, UK, 2012 doi:10.1002/14651858.CD001798.pub2.
77. Hughes RA, Swan A V, van Doorn PA. Intravenous immunoglobulin for Guillain-Barré syndrome. *Cochrane Database Syst Rev* 2010. doi:10.1002/14651858.cd002063.pub4.
78. The Guillain-Barré Syndrome Group. Plasmapheresis and acute Guillain-Barre syndrome. *Neurology* 1985; **35**: 1096-1096.
79. van der Meché FGA, Schmitz PIM. A Randomized Trial Comparing Intravenous Immune Globulin and Plasma Exchange in Guillain-Barré Syndrome. *N Engl J Med* 1992; **326**: 1123-1129.
80. Walgaard C, Jacobs BC, Lingsma HF, Steyerberg EW, Van den Berg B, Doets AY *et al.* Second intravenous immunoglobulin dose in patients with Guillain-Barré syndrome with poor prognosis (SID-GBS): a double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol* 2021; **20**: 275-283.
81. Hughes RA, van Doorn PA. Corticosteroids for Guillain-Barré syndrome. In: Hughes RA (ed). *Cochrane Database of Systematic Reviews*. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, UK, 2012 doi:10.1002/14651858.CD001446.pub4.
82. Blanchard O GA. Treatment of severe AIDPN with methylprednisolone, a series of 8 cases. *Am Acad Neurol Annu Meet San Diego, CA*.
83. Berciano J, Sedano MJ, Pelayo-Negro AL, García A, Orizaola P, Gallardo E *et al.* Proximal nerve lesions in early Guillain-Barré syndrome: implications for pathogenesis and disease classification. *J Neurol* 2017; **264**: 221-236.
84. Chen X, Haggiagi A, Tzatha E, DeAngelis LM, Santomaso B. Electrophysiological findings in immune checkpoint inhibitor-related peripheral neuropathy. *Clin Neurophysiol* 2019; **130**: 1440-1445.
85. Supakornnumporn S, Katirji B. Guillain-Barré Syndrome Triggered by Immune Checkpoint Inhibitors: A Case Report and Literature Review. *J Clin Neuromuscul Dis* 2017; **19**: 80-83.
86. Hadden RDM, Cornblath DR, Hughes RAC, Zielasek J, Hartung HP, Toyka K V. *et al.* Electrophysiological classification of Guillain-Barre syndrome: Clinical associations and outcome. *Ann Neurol* 1998; **44**: 780-788.

87. Hiraga A, Mori M, Ogawara K, Hattori T, Kuwabara S. Differences in patterns of progression in demyelinating and axonal Guillain-Barré syndromes. *Neurology* 2003; **61**: 471–474.
88. Ho TW, Mishu B, Li CY, Gao CY, Cornblath DR, Griffin JW *et al.* Guillain-barré syndrome in Northern China relationship to Campylobacter jejuni infection and anti-glycolipid antibodies. *Brain* 1995; **118**: 597–605.
89. Islam Z, Jacobs BC, Van Belkum A, Mohammad QD, Islam MB, Herbrink P *et al.* Axonal variant of Guillain-Barré syndrome associated with Campylobacter infection in Bangladesh. *Neurology* 2010; **74**: 581–587.
90. Guillain G, Barré JA, Strohl A. [Radiculoneuritis syndrome with hyperalbuminosis of cerebrospinal fluid without cellular reaction. Notes on clinical features and graphs of tendon reflexes. 1916]. *Ann Med Interne (Paris)* 1999; **150**: 24–32.
91. McKhann GM, Cornblath DR, Ho T, Griffin JW, Li CY, Bai AY *et al.* Clinical and electrophysiological aspects of acute paralytic disease of children and young adults in northern China. *Lancet* 1991; **338**: 593–597.
92. McKhann GM, Cornblath DR, Griffin JW, Ho TW, Li CY, Jiang Z *et al.* Acute motor axonal neuropathy: A frequent cause of acute flaccid paralysis in China. *Ann Neurol* 1993; **33**: 333–342.
93. Griffin JW, Li CY, Ho TW, Xue P, Macko C, Gao CY *et al.* Guillain-Barré syndrome in northern China: The spectrum of neuropathological changes in clinically defined cases. *Brain* 1995; **118**: 577–595.
94. Kuwabara S, Yuki N. Axonal Guillain-Barré syndrome: Concepts and controversies. *Lancet Neurol* 2013; **12**: 1180–1188.
95. Hiraga A, Kuwabara S, Ogawara K, Misawa S, Kanesaka T, Koga M *et al.* Patterns and serial changes in electrodiagnostic abnormalities of axonal Guillain-Barré syndrome. *Neurology* 2005; **64**: 856–860.
96. BC J, PI S, FGvan der M. Campylobacter jejuni Infection and Treatment for Guillain-Barré Syndrome . *N Engl J Med* 1996; **335**: 208–209.
97. Rees JH, Gregson NA, Hughes RAC. Anti-ganglioside GM1 antibodies in guillain-barré syndrome and their relationship to Campylobacter jejuni infection. *Ann Neurol* 1995; **38**: 809–816.
98. Hughes RA, Cornblath DR. Guillain-Barré syndrome. *Lancet* 2005; **366**: 1653–1666.
99. Griffin JW, Li CY, Ho TW, Tian M, Gao CY, Xue P *et al.* Pathology of the motor-sensory axonal Guillain-Barré syndrome. *Ann Neurol* 1996; **39**: 17–28.
100. Yuki N, Kuwabara S, Koga M, Hirata K. Acute motor axonal neuropathy and acute motor-sensory axonal neuropathy share a common immunological profile. *J Neurol Sci* 1999; **168**: 121–126.
101. Yuki N, Yoshino H, Sato S, Miyatake T. Acute axonal polyneuropathy associated with anti-GM1 antibodies following Campylobacter enteritis. *Neurology* 1990; **40**: 1900–2.
102. Gregson NA, Jones D, Thomas PK, Willison HJ. Acute motor neuropathy with antibodies to GM1 ganglioside. *J Neurol* 1991; **238**: 447–451.
103. Capasso M, Notturmo F, Manzoli C, Uncini A. Involvement of sensory fibres in axonal subtypes of Guillain-Barré syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2011; **82**: 664–670.

104. Mori M, Kuwabara S. Fisher Syndrome. *Curr Treat Options Neurol* 2011; **13**: 71–78.
105. Lyu RK, Tang LM, Cheng SY, Hsu WC, Chen ST. Guillain-Barré syndrome in Taiwan: A clinical study of 167 patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997; **63**: 494–500.
106. Berlit P, Rakicky J. The miller fisher syndrome: Review of the literature. *J Clin Neuroophthalmol* 1992; **12**: 57–63.
107. Kim YK, Kim JS, Jeong SH, Park KS, Kim SE, Park SH. Cerebral glucose metabolism in Fisher syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2009; **80**: 512–517.
108. Sandler RD, Hoggard N, Hadjivassiliou M. Miller-Fisher Syndrome: Is the ataxia central or peripheral? *Cerebellum & Ataxias* 2015; **2**. doi:10.1186/s40673-015-0021-3.
109. Yuki N. Fisher syndrome and Bickerstaff brainstem encephalitis (Fisher-Bickerstaff syndrome). *J Neuroimmunol* 2009; **215**: 1–9.
110. Al-din AN, Anderson M, Bickerstaff ER, Harvey I. Brainstem encephalitis and the syndrome of miller fisher a clinical study. *Brain* 1982; **105**: 481–495.
111. Bickerstaff ER. Brain-Stem Encephalitis Further Observations On A Grave Syndrome With Benign Prognosis. *Br Med J* 1957; **1**: 1384.
112. Odaka M, Yuki N, Yamada M, Koga M, Takemi T, Hirata K *et al.* Bickerstaff's brainstem encephalitis: Clinical features of 62 cases and a subgroup associated with Guillain-Barré syndrome. *Brain* 2003; **126**: 2279–2290.
113. Oh SJ, Laganke C, Claussen GC. Sensory Guillain – Barré syndrome. 2001; : 82–87.
114. Miralles F, Montero J, Rene R, Martinez Matos JA. Pure sensory Guillain-Barre syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1992; **55**: 411–412.
115. Lee SS, Lee SH. Does sensory Guillain-Barré syndrome exist without any abnormalities in motor nerve conduction? *Neurology* 2006; **66**: 947–948.
116. Mori M, Kuwabara S, Koga M, Asahina M, Ogawara K, Hattori T *et al.* IgG anti-GQ1b positive acute ataxia without ophthalmoplegia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999; **67**: 668–670.
117. Uncini A, Yuki N. Sensory Guillain-Barré syndrome and related disorders: An attempt at systematization. *Muscle and Nerve* 2012; **45**: 464–470.
118. Rojas-García R, Querol L, Gallardo E, Salva NDL, Juárez C, Garces M *et al.* Clinical and serological features of acute sensory ataxic neuropathy with antiganglioside antibodies. *J Peripher Nerv Syst* 2012; **17**: 158–168.
119. Ropper AH. Unusual Clinical Variants and Signs in Guillain-Barré Syndrome. *Arch Neurol* 1986; **43**: 1150–1152.
120. Koga M, Yuki N, Ariga T, Morimatsu M, Hirata K. Is IgG anti-GT1a antibody associated with pharyngeal-cervical-brachial weakness or oropharyngeal palsy in Guillain-Barré syndrome? *J Neuroimmunol* 1998; **86**: 74–9.
121. Nagashima T, Koga M, Odaka M, Hirata K, Yuki N. Continuous spectrum of pharyngeal-cervical-brachial variant of Guillain-Barré syndrome. *Arch Neurol* 2007; **64**: 1519–1523.



- 122.** Hartung H-P, Toyka K, Pollard J, Harvey G. Immunopathogenesis and treatment of the Guillain-Barré syndrome - part I. *Muscle Nerve* 1995; **18**: 137-153.
- 123.** Haymaker WE, Kernohan JW. The Landry-Guillain-Barré syndrome; a clinicopathologic report of 50 fatal cases and a critique of the literature. *Medicine (Baltimore)* 1949; **28**: 59-141.
- 124.** Koski CL, Sanders ME, Swoveland PT, Lawley TJ, Shin ML, Frank MM *et al.* Activation of terminal components of complement in patients with Guillain-Barre syndrome and other demyelinating neuropathies. *J Clin Invest* 1987; **80**: 1492-1497.
- 125.** Hafer-Macko CE, Sheikh KA, Li CY, Ho TW, Cornblath DR, McKhann GM *et al.* Immune attack on the Schwann cell surface in acute inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Ann Neurol* 1996; **39**: 625-635.
- 126.** Honavar M, Tharakan JKJ, Hughes RAC, Leibowitz S, Winer JB. A Clinicopathological study of the Guillain-Barré syndrome: nine cases and literature review. *Brain* 1991; **114**: 1245-1269.
- 127.** Hartung HP, Hughes RAC, Taylor WA, Heininger K, Reiners K, Toyka K V. T cell activation in Guillain-Barré syndrome and in MS: Elevated serum levels of soluble IL-2 receptors. *Neurology* 1990; **40**: 215-218.
- 128.** Zhu J, Mix E, Link H. Cytokine production and the pathogenesis of experimental autoimmune neuritis and Gulllain-Barre syndrome. *J Neuroimmunol* 1998; **84**: 40-52.
- 129.** Prineas JW. Pathology of the Guillain-Barre syndrome. *Ann Neurol* 1981; **9 Suppl**: 6-19.
- 130.** Hafer-Macko C, Hsieh S-T, Ho TW, Sheikh K, Cornblath DR, Li CY *et al.* Acute motor axonal neuropathy: An antibody-mediated attack on axolemma. *Ann Neurol* 1996; **40**: 635-644.
- 131.** Griffin JW, Li CY, Macko C, Ho TW, Hsieh ST, Xue P *et al.* Early nodal changes in the acute motor axonal neuropathy pattern of the Guillain-Barré syndrome. *J Neurocytol* 1996; **25**: 33-51.
- 132.** Susuki K, Rasband MN, Tohyama K, Koibuchi K, Okamoto S, Funakoshi K *et al.* Anti-GM1 Antibodies Cause Complement-Mediated Disruption of Sodium Channel Clusters in Peripheral Motor Nerve Fibers. 2007; **27**: 3956-3967.
- 133.** Van Den Berg B, Walgaard C, Drenthen J, Fokke C, Jacobs BC, Van Doorn PA. Guillain-Barré syndrome: Pathogenesis, diagnosis, treatment and prognosis. *Nat Rev Neurol* 2014; **10**: 469-482.
- 134.** Gallardo E, Sedano MJ, Orizaola P, Sánchez-Juan P, González-Suárez A, García A *et al.* Spinal nerve involvement in early Guillain-Barré syndrome: A clinico-electrophysiological, ultrasonographic and pathological study. *Clin Neurophysiol* 2015; **126**: 810-819.
- 135.** Berciano J, García A, Figols J, Muñoz R, Berciano MT, Lafarga M. Perineurium contributes to axonal damage in acute inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Neurology* 2000; **55**: 552-559.
- 136.** Nobuhiro Yuki, Takao Taki, Fu Inagaki, Takeshi Kasama, S Masaki Takahashi, Saito, Shizuo Handaand TM. A Bacterium Lipopolysaccharide That Elicits Guillain-Barré Syndrome Has a GM1 Ganglioside-like Structure By. *J Exp Med* 1993; **178**: 1771-1775.
- 137.** Wim Ang C, Jacobs BC, Laman JD. The Guillain-Barré syndrome: A true case of molecular mimicry. *Trends Immunol* 2004; **25**: 61-66.

138. Yuki N. Carbohydrate mimicry: A new paradigm of autoimmune diseases. *Curr Opin Immunol* 2005; **17**: 577–582.
139. Ledeen RW, Yu RK. Gangliosides: Structure, isolation, and analysis. In: *Methods in Enzymology*. 1982, pp 139–191.
140. Ledeen R. Gangliosides of the neuron. *Trends Neurosci* 1985; **8**: 169–174.
141. Paparounas K, O’Hanlon GM, O’Leary CP, Rowan EG, Willison HJ. Anti-ganglioside antibodies can bind peripheral nerve nodes of Ranvier and activate the complement cascade without inducing acute conduction block in vitro. *Brain* 1999; **122 ( Pt 5)**: 807–16.
142. Illa I, Ortiz N, Gallard E, Juarez C, Grau JM, Dalakas MC. Acute axonal Guillain-Barré syndrome with IgG antibodies against motor axons following parenteral gangliosides. *Ann Neurol* 1995; **38**: 218–24.
143. Ogawa-Goto K, Funamoto N, Ohta Y, Abe T, Nagashima K. Myelin Gangliosides of Human Peripheral Nervous System: An Enrichment of GM1 in the Motor Nerve Myelin Isolated from Cauda Equina. *J Neurochem* 1992; **59**: 1844–1849.
144. Gong Y, Tagawa Y, Lunn MPT, Laroy W, Heffer-Laue M, Li CY *et al*. Localization of major gangliosides in the PNS: Implications for immune neuropathies. *Brain* 2002; **125**: 2491–2506.
145. Chiba A, Kusunoki S, Obata H, Machinami R, Kanazawa I. Ganglioside composition of the human cranial nerves, with special reference to pathophysiology of Miller Fisher syndrome. *Brain Res* 1997; **745**: 32–36.
146. Winer J., Greenwood R., Hughes RA., Perkin G., Healy MJ. Prognosis in Guillain-Barré syndrome. *Lancet* 1985; **325**: 1202–1203.
147. Beghi E. The prognosis and main prognostic indicators of Guillain-Barré syndrome: A multi-centre prospective study of 297 patients. *Brain* 1996; **119**: 2053–2061.
148. Feasby TE, Gilbert JJ, Brown WF, Bolton CF, Hahn AF, Koopman WF *et al*. An acute axonal form of guillain-barrée polyneuropathy. *Brain* 1986; **109**: 1115–1126.
149. Dyck PJ. Is there an axonal variety of GBS? *Neurology*. 1993; **43**: 1277–1280.
150. van Doorn PA, Ruts L, Jacobs BC. Clinical features, pathogenesis, and treatment of Guillain-Barré syndrome. *Lancet Neurol* 2008; **7**: 939–950.
151. Hughes RAC, Newsom-Davis JM, Perkin GD, Pierce JM. Controlled Trial of Prednisolone in Acute Polyneuropathy. *Lancet* 1978; **312**: 750–753.
152. Bernsen RAJAM, De Jager AEJ, Schmitz PIM, Van Der Meché FGA. Residual physical outcome and daily living 3 to 6 years after Guillain-Barré syndrome. *Neurology* 1999; **53**: 409–410.
153. Bersano A, Carpo M, Allaria S, Franciotta D, Citterio A, Nobile-Orazio E. Long term disability and social status change after Guillain-Barré syndrome. *J Neurol* 2006; **253**: 214–218.
154. Dornonville De La Cour C, Jakobsen J. Residual neuropathy in long-term population-based follow-up of Guillain-Barré syndrome. *Neurology* 2005; **64**: 246–253.
155. Garssen MPJ, Bussmann JBJ, Schmitz PIM, Zandbergen A, Welter TG, Merkies ISJ *et al*. Physical training and fatigue, fitness, and quality of life in Guillain-Barré syndrome and CIDP. *Neurology* 2004; **63**: 2393–2395.

- 156.** Bernsen RAJAM, Jacobs HM, De Jager AEJ, Van Der Meché FGA. Residual health status after Guillain-Barré syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997; **62**: 637–640.
- 157.** Merckies IS, Schmitz PI, Samijn JP, van der Meché FG, van Doorn PA. Fatigue in immune-mediated polyneuropathies. European Inflammatory Neuropathy Cause and Treatment (INCAT) Group. *Neurology* 1999; **53**: 1648–54.
- 158.** Sharshar T, Chevret S, Bourdain F, Raphaël JC. Early predictors of mechanical ventilation in Guillain-Barré syndrome. *Crit Care Med* 2003; **31**: 278–283.
- 159.** Orlikowski D, Porcher R, Sivadon-Tardy V, Quincampoix JC, Raphaël JC, Durand MC *et al.* Guillain-barré syndrome following primary cytomegalovirus infection: A prospective cohort study. *Clin Infect Dis* 2011; **52**: 837–844.
- 160.** Walgaard C, Lingsma HF, Ruts L, Drenthen J, Van Koningsveld R, Garssen MJP *et al.* Prediction of respiratory insufficiency in Guillain-Barré syndrome. *Ann Neurol* 2010; **67**: 781–787.
- 161.** Walgaard C, Lingsma HF, Ruts L, Van Doorn PA, Steyerberg EW, Jacobs BC. Early recognition of poor prognosis in Guillain-Barré syndrome. *Neurology* 2011; **76**: 968–975.
- 162.** Ning P, Yang B, Yang X, Zhao Q, Huang H, Shen Q *et al.* A nomogram to predict mechanical ventilation in Guillain-Barré syndrome patients. *Acta Neurol Scand* 2020; **142**: 466–474.
- 163.** Fokkink WJR, Walgaard C, Kuitwaard K, Tio-Gillen AP, Van Doorn PA, Jacobs BC. Association of albumin levels with outcome in intravenous immunoglobulin-treated guillain-Barré syndrome. *JAMA Neurol* 2017; **74**: 189–196.
- 164.** H. R. The Landry-Guillain-Barré syndrome. A survey and a clinical report of 127 cases. *Acta Neurol Scand* 1967; **Suppl 30:1**.
- 165.** Haymaker W KJ. The Landry Guillain-Barré syndrome; a clinicopathologic study of 50 fatal cases. *Trans Am Neurol Assoc* 1948.
- 166.** Dhar R, Stitt L, Hahn AF. The morbidity and outcome of patients with Guillain-Barré syndrome admitted to the intensive care unit. *J Neurol Sci* 2008; **264**: 121–128.
- 167.** Alsheklee A, Hussain Z, Sultan B, Katirji B. Guillain-Barre syndrome: Incidence and mortality rates in US hospitals. *Neurology* 2008; **70**: 1608–1613.
- 168.** Berg B Van Den, Bunschoten C, Doorn PA Van. Mortality in Guillain-Barré syndrome. 2013; : 6–11.
- 169.** Hughes R. The Italian Guillain-Barre Study Group. The prognosis and main prognostic indicators of Guillain-Barre syndrome: a multicentre prospective study of 297 patients. *Brain* 1998; **121**: 767–769.
- 170.** Emilia-Romagna Study Group on Clinical and Epidemiological Problems in Neurology. Guillain-Barré syndrome variants in Emilia-Romagna, Italy, 1992-3: incidence, clinical features, and prognosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998; **65**: 218–224.
- 171.** Hadden RDM, Karch H, Hartung HP, Zielasek J, Weissbrich B, Schubert J *et al.* Preceding infections, immune factors, and outcome in Guillain-Barré syndrome. *Neurology* 2001; **56**: 758–765.
- 172.** McKhann GM, Griffin JW, Cornblath DR, Mellits ED, Fisher RS, Quaskey SA. Plasmapheresis and guillain-barré syndrome: Analysis of prognostic factors and the effect of plasmapheresis. *Ann Neurol* 1988; **23**: 347–353.

- 173.** Visser LH, Schmitz PIM, Meulstee J, Van Doorn PA, Van Der Meché FGA. Prognostic factors of Guillain-Barré syndrome after intravenous immunoglobulin or plasma exchange. *Neurology* 1999; **53**: 598–604.
- 174.** Kalita J, Misra UK, Goyal G, Das M. Guillain-Barré syndrome: Subtypes and predictors of outcome from India. *J Peripher Nerv Syst* 2014; **19**: 36–43.
- 175.** Barzegar M, Toopchizadeh V, Maher MHK, Sadeghi P, Jahanjoo F, Pishgahi A. Predictive factors for achieving independent walking in children with Guillain-Barré syndrome. *Pediatr Res* 2017; **82**: 333–339.
- 176.** van Koningsveld R, Steyerberg EW, Hughes RA, Swan A V., van Doorn PA, Jacobs BC. A clinical prognostic scoring system for Guillain-Barré syndrome. *Lancet Neurol* 2007; **6**: 589–594.
- 177.** Verma R, Chaudhari TS, Raut TP, Garg RK. Clinico-electrophysiological profile and predictors of functional outcome in Guillain-Barré syndrome (GBS). *J Neurol Sci* 2013; **335**: 105–111.
- 178.** Cornblath DR, Mellits ED, Griffin JW, McKhann GM, Albers JW, Miller RG *et al.* Motor conduction studies in guillain-barré syndrome: Description and prognostic value. *Ann Neurol* 1988; **23**: 354–359.
- 179.** Meulstee J, van der Meché FGA, Kleyweg RP, Schmitz PIM. Prognostic value of electrodiagnosis in the Dutch Guillain-Barré study. *Eur J Neurol* 1995; **2**: 558–565.
- 180.** Misawa S, Kuwabara S, Sato Y, Yamaguchi N, Nagashima K, Katayama K *et al.* Safety and efficacy of eculizumab in Guillain-Barré syndrome: a multicentre, double-blind, randomised phase 2 trial. *Lancet Neurol* 2018; **17**: 519–529.
- 181.** Mahdi-Rogers M, Hughes RAC. Epidemiology of chronic inflammatory neuropathies in south-east England. *Eur J Neurol* 2014; **21**: 28–33.
- 182.** Rajabally YA, Simpson BS, Beri S, Bankart J, Gosalakkal JA. Epidemiologic variability of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy with different diagnostic criteria: Study of a UK population. *Muscle and Nerve* 2009; **39**: 432–438.
- 183.** Hattori N, Misu K, Koike H, Ichimura M, Nagamatsu M, Hirayama M *et al.* Age of onset influences clinical features of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *J Neurol Sci* 2001; **184**: 57–63.
- 184.** Mori K, Hattori N, Yamamoto M, Sobue G. Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy presenting with features of GBS. *Neurology* 2002; **59**: 1824.
- 185.** Van den Bergh PYK, Hadden RDM, Bouche P, Cornblath DR, Hahn A, Illa I *et al.* European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society Guideline on management of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: Report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripher. *J Peripher Nerv Syst* 2010; **15**: 1–9.
- 186.** Mahdi-Rogers M, Brassington R, Gunn AA, van Doorn PA, Hughes RAC. Immunomodulatory treatment other than corticosteroids, immunoglobulin and plasma exchange for chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Cochrane Database Syst Rev* 2017; **2017**. doi:10.1002/14651858.CD003280.pub5.
- 187.** Querol L, Rojas-García R, Díaz-Manera J, Barcena J, Pardo J, Ortega-Moreno A *et al.* Rituximab in treatment-resistant CIDP with antibodies against paranodal proteins. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflammation* 2015; **2**: e149.

188. Vallat JM, Sommer C, Magy L. Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: diagnostic and therapeutic challenges for a treatable condition. *Lancet Neurol* 2010; **9**: 402–412.
189. Said G, Krarup C. Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Handb Clin Neurol* 2013; **115**: 403–413.
190. Mathey EK, Park SB, Hughes RAC, Pollard JD, Armati PJ, Barnett MH *et al*. Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: from pathology to phenotype. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2015. doi:10.1136/jnnp-2014-309697.
191. Querol L, Rojas-Garcia R, Casanovas C, Sedano MJ, Muñoz-Blanco JL, Alberti MA *et al*. Long-term outcome in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy patients treated with intravenous immunoglobulin: a retrospective study. *Muscle Nerve* 2013; **48**: 870–876.
192. Katz JS, Saperstein DS, Gronseth G, Amato AA, Barohn RJ. Distal acquired demyelinating symmetric neuropathy. *Neurology* 2000; **54**: 615–620.
193. Lewis RA, Sumner AJ, Brown MJ, Asbury AK. Multifocal demyelinating neuropathy with persistent conduction block. *Neurology* 1982; **32**: 958–964.
194. Saperstein D, Amato A, Wolfe G, Al E. Multifocal acquired demyelinating sensory and motor neuropathy: The Lewis-Sumner syndrome. *Muscle Nerve* 1999; **22**: 560–6.
195. Thomas PK, Claus D, Jaspert A, Workman JM, King RHM, Larner AJ *et al*. Focal upper limb demyelinating neuropathy. *Brain* 1996; **119**: 765–774.
196. Oh SJ, Joy JL, Kuruoglu R. ‘Chronic sensory demyelinating neuropathy’: Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy presenting as a pure sensory neuropathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1992; **55**: 677–680.
197. Sinnreich M, Klein CJ, Daube JR, Engelstad J, Spinner RJ, Dyck PJB. Chronic immune sensory polyradiculopathy: A possibly treatable sensory ataxia. *Neurology* 2004; **63**: 1662–1669.
198. Sabatelli M, Madia F, Mignogna T, Lippi G, Quaranta L, Tonali P. Pure motor chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *J Neural Transm* 2001; **108**: 772–777.
199. Saperstein DS, Katz JS, Amato AA, Barohn RJ. Clinical spectrum of chronic acquired demyelinating polyneuropathies. *Muscle Nerve* 2001; **24**: 311–324.
200. Rajabally YA, Chavada G. Lewis-Sumner syndrome of pure upper-limb onset: Diagnostic, prognostic, and therapeutic features. *Muscle and Nerve* 2009; **39**: 206–220.
201. Viala K, Renié L, Maisonobe T, Béhin A, Neil J, Léger JM *et al*. Follow-up study and response to treatment in 23 patients with Lewis-Sumner syndrome. *Brain* 2004; **127**: 2010–2017.
202. Viala K, Maisonobe T, Stojkovic T, Koutlidis R, Ayrignac X, Musset L *et al*. A current view of the diagnosis, clinical variants, response to treatment and prognosis of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *J Peripher Nerv Syst* 2010; **15**: 50–56.
203. Ayrignac X, Viala K, Koutlidis RM, Taïeb G, Stojkovic T, Musset L *et al*. Sensory chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: An under-recognized entity? *Muscle and Nerve* 2013; **48**: 727–732.

- 204.** Van Dijk GW, Notermans NC, Franssen H, Wokke JHJ. Development of weakness in patients with chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy and only sensory symptoms at presentation: A long-term follow-up study. *J Neurol* 1999; **246**: 1134–1139.
- 205.** Ohkoshi N, Harada K, Nagata H, Yato M, Shoji S. Ataxic form of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: Clinical features and pathological study of the sural nerves. *Eur Neurol* 2001; **45**: 241–248.
- 206.** Nobile-Orazio E. Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy and variants: where we are and where we should go. *J Peripher Nerv Syst* 2014; **19**: 2–13.
- 207.** Bird SJ, Brown MJ, Shy ME, Scherer SS. Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy associated with malignant melanoma. *Neurology* 1996; **46**: 822–824.
- 208.** Weiss MD, Luciano CA, Semino-Mora C, Dalakas MC, Quarles RH. Molecular mimicry in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy and melanoma. *Neurology* 1998; **51**: 1738–1741.
- 209.** Dyck PJ, Lais AC, Ohta M, Bastron JA, Okazaki H, Groover R V. Chronic inflammatory polyradiculoneuropathy. *Mayo Clin Proc* 1975; **50**: 621–37.
- 210.** Li F, Jia JP. Diagnostic value of sural nerve biopsy in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Chinese J Neurol* 2005; **38**: 732–736.
- 211.** Dalakas MC. Pathogenesis of immune-mediated neuropathies. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis* 2015; **1852**: 658–666.
- 212.** Sommer C. Nerve and skin biopsy in neuropathies. *Curr Opin Neurol* 2018; **31**: 534–540.
- 213.** Doppler K, Werner C, Sommer C. Disruption of nodal architecture in skin biopsies of patients with demyelinating neuropathies. *J Peripher Nerv Syst* 2013; **18**: 168–176.
- 214.** Saporta MA, Katona I, Lewis RA, Masse S, Shy ME, Li J. Shortened internodal length of dermal myelinated nerve fibres in Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. *Brain* 2009; **132**: 3263–3273.
- 215.** Doppler K, Frank F, Koschker A-C, Reiners K, Sommer C. Nodes of Ranvier in skin biopsies of patients with diabetes mellitus. *J Peripher Nerv Syst* 2017; **22**: 182–190.
- 216.** Schmidt B, Toyka K V., Kiefer R, Full J, Hartung HP, Pollard J. Inflammatory infiltrates in sural nerve biopsies in Guillain-Barré syndrome and chronic inflammatory demyelinating neuropathy. *Muscle and Nerve* 1996; **19**: 474–487.
- 217.** Chi LJ, Xu WH, Zhang ZW, Huang HT, Zhang LM, Zhou J. Distribution of Th17 cells and Th1 cells in peripheral blood and cerebrospinal fluid in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *J Peripher Nerv Syst* 2010; **15**: 345–356.
- 218.** Hartung H-P, Reiners K, Schmidt B, Stoll G, Toyka K V. Serum interleukin-2 concentrations in Guillain-Barré syndrome and chronic idiopathic demyelinating polyradiculoneuropathy: Comparison with other neurological diseases of presumed immunopathogenesis. *Ann Neurol* 1991; **30**: 48–53.
- 219.** Rentzos M, Angeli A V., Rombos A, Kyrozis A, Nikolaou C, Zouvelou V *et al.* Proinflammatory cytokines in serum and cerebrospinal fluid of CIDP patients. *Neurol Res* 2012; **34**: 842–846.
- 220.** Madia F, Frisullo G, Nociti V, Conte A, Luigetti M, Grande A Del *et al.* pSTAT1, pSTAT3, and T-bet as markers of disease activity in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *J Peripher Nerv Syst* 2009; **14**: 107–117.

- 221.** Van den Berg LH, Mollee I, Wokke JHJ, Logtenberg T. Increased frequencies of HPRT mutant T lymphocytes in patients with Guillain-Barré syndrome and chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: further evidence for a role of T cells in the etiopathogenesis of peripheral demyelinating diseases. *J Neuroimmunol* 1995; **58**: 37–42.
- 222.** Chi LJ, Wang HB, Wang WZ. Impairment of circulating CD4+CD25+ regulatory T cells in patients with chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *J Peripher Nerv Syst* 2008; **13**: 54–63.
- 223.** Sommer C, Koch S, Lammens M, Gabreels-Festen A, Stoll G, Toyka K.V. Macrophage clustering as a diagnostic marker in sural nerve biopsies of patients with CIDP. *Neurology* 2005; **65**: 1924–1929.
- 224.** Kiefer R, Kieseier BC, Stoll G, Hartung HP. The role of macrophages in immune-mediated damage to the peripheral nervous system. *Prog Neurobiol* 2001; **64**: 109–127.
- 225.** Wei Xing Yan, Jude Taylor, Susan Andrias-Kaubaand JDP. Passive transfer of demyelination by serum or IgG from chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy patients - PubMed. *Ann Neurol* 2000; **47**: 765–775.
- 226.** Ilyas AA, Mithen FA, Dalakas MC, Chen ZW, Cook SD. Antibodies to acidic glycolipids in Guillain-Barré syndrome and chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *J Neurol Sci* 1992; **107**: 111–121.
- 227.** Yan WX, Archelos JJ, Hartung HP, Pollard JD. P0 protein is a target antigen in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Ann Neurol* 2001; **50**: 286–292.
- 228.** Mathey EK, Park SB, Hughes RAC, Pollard JD, Armati PJ, Barnett MH *et al.* Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: from pathology to phenotype. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2015; **86**: 973–985.
- 229.** Inglis HR, Csurhes PA, McCombe PA. Antibody responses to peptides of peripheral nerve myelin proteins P0 and P2 in patients with inflammatory demyelinating neuropathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2007; **78**: 419–422.
- 230.** Allen D, Giannopoulos K, Gray I, Gregson N, Makowska A, Pritchard J *et al.* Antibodies to peripheral nerve myelin proteins in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *J Peripher Nerv Syst* 2005; **10**: 174–180.
- 231.** Gabriel CM, Gregson NA, Hughes RAC. Anti-PMP22 antibodies in patients with inflammatory neuropathy. *J Neuroimmunol* 2000; **104**: 139–146.
- 232.** Kwa MSG, Van Schaik IN, Brand A, Baas F, Vermeulen M. Investigation of serum response to PMP22, connexin 32 and P0 in inflammatory neuropathies. *J Neuroimmunol* 2001; **116**: 220–225.
- 233.** Hughes RAC, Powell HC, Braheny SL, Brostoff S. Endoneurial injection of antisera to myelin antigens. *Muscle Nerve* 1985; **8**: 516–522.
- 234.** Yuki N, Tagawa Y, Handa S. Autoantibodies to peripheral nerve glycosphingolipids SPG, SLPG, and SGPG in Guillain-Barre syndrome and chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *J Neuroimmunol* 1996; **70**: 1–6.
- 235.** van Schaik IN, Vermeulen M, van Doorn PA, Brand A. Anti-GM1 antibodies in patients with chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP) treated with intravenous immunoglobulin (IVIg). *J Neuroimmunol* 1994; **54**: 109–115.

- 236.** Querol L, Siles AM, Alba-Rovira R, Jáuregui A, Devaux J, Faivre-Sarrailh C *et al.* Antibodies against peripheral nerve antigens in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Sci Rep* 2017; **7**: 14411.
- 237.** Delmont E, Manso C, Querol L, Cortese A, Berardinelli A, Lozza A *et al.* Autoantibodies to nodal isoforms of neurofascin in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Brain* 2017; **140**: 1851–1858.
- 238.** Doppler K, Appeltshauer L, Villmann C, Martin C, Peles E, Krämer HH *et al.* Auto-antibodies to contactin-associated protein 1 (Caspr) in two patients with painful inflammatory neuropathy. *Brain* 2016; **139**: 2617–2630.
- 239.** Cortese A, Lombardi R, Briani C, Callegari I, Benedetti L, Manganelli F *et al.* Antibodies to neurofascin, contactin-1, and contactin-associated protein 1 in CIDP: Clinical relevance of IgG isotype. *Neurol Neuroimmunol neuroinflammation* 2020; **7**. doi:10.1212/NXI.0000000000000639.
- 240.** Huijbers MG, Querol LA, Niks EH, Plomp JJ, van der Maarel SM, Graus F *et al.* The expanding field of IgG4-mediated neurological autoimmune disorders. *Eur. J. Neurol.* 2015; **22**. doi:10.1111/ene.12758.
- 241.** Devaux JJ, Miura Y, Fukami Y, Inoue T, Manso C, Belghazi M *et al.* Neurofascin-155 IgG4 in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Neurology* 2016; **86**: 800–807.
- 242.** Martinez-Martinez L, Lleixà MC, Boera-Carnicero G, Cortese A, Devaux J, Siles A *et al.* Anti-NF155 chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy strongly associates to HLA-DRB15. *J Neuroinflammation* 2017; **14**: 1–6.
- 243.** Ogata H, Isobe N, Zhang X, Yamasaki R, Fujii T, Machida A *et al.* Unique HLA haplotype associations in IgG4 anti-neurofascin 155 antibody-positive chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *J Neuroimmunol* 2020; **339**: 577139.
- 244.** Ogata H, Yamasaki R, Hiwatashi A, Oka N, Kawamura N, Matsuse D *et al.* Characterization of IgG4 anti-neurofascin 155 antibody-positive polyneuropathy. *Ann Clin Transl Neurol* 2015; **2**: 960–71.
- 245.** Querol L, Nogales-Gadea G, Rojas-García R, Diaz-Manera J, Pardo J, Ortega-Moreno A *et al.* Neurofascin IgG4 antibodies in CIDP associate with disabling tremor and poor response to IVIg. *Neurology* 2014. doi:10.1212/WNL0000000000000205.
- 246.** Ogata H, Matsuse D, Yamasaki R, Kawamura N, Matsushita T, Yonekawa T *et al.* A nationwide survey of combined central and peripheral demyelination in Japan. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2016; **87**: 29–36.
- 247.** Cortese A, Devaux JJ, Zardini E, Manso C, Taieb G, Dallièrè CC *et al.* Neurofascin-155 as a putative antigen in combined central and peripheral demyelination. *Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflammation.* 2016; **3**. doi:10.1212/NXI.0000000000000238.
- 248.** Kouton L, Boucraut J, Devaux J, Rajabally YA, Adams D, Antoine JC *et al.* Electrophysiological features of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy associated with IgG4 antibodies targeting neurofascin 155 or contactin 1 glycoproteins. *Clin Neurophysiol* 2020; **131**: 921–927.
- 249.** Koike H, Kadoya M, Kaida KI, Ikeda S, Kawagashira Y, Iijima M *et al.* Paranodal dissection in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy with anti-neurofascin-155 and anti-contactin-1 antibodies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2017; **88**: 465–473.



- 250.** Lunn MPT, Manji H, Choudhary PP, Hughes RAC, Thomas PK. Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: A prevalence study in south east England. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999; **66**: 677–680.
- 251.** Chiò A, Cocito D, Bottacchi E, Buffa C, Leone M, Plano F *et al.* Idiopathic chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: An epidemiological study in Italy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2007; **78**: 1349–1353.
- 252.** Gorson KC, Van Schaik IN, Merkies ISJ, Lewis RA, Barohn RJ, Koski CL *et al.* Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy disease activity status: Recommendations for clinical research standards and use in clinical practice. *J Peripher Nerv Syst* 2010; **15**: 326–333.
- 253.** Choudhary PP, Hughes RA. Long-term treatment of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy with plasma exchange or intravenous immunoglobulin. *QJM* 1995; **88**: 493–502.
- 254.** Bouchard C, Lacroix C, Planté V, Adams D, Chedru F, Guglielmi JM *et al.* Clinicopathologic findings and prognosis of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Neurology* 1999; **52**: 498–503.
- 255.** Dalakas MC. Potential biomarkers for monitoring therapeutic response in patients with CIDP. *J Peripher Nerv Syst* 2011; **16**: 63–67.
- 256.** Dalakas MC. Advances in the diagnosis, pathogenesis and treatment of CIDP. *Nat Rev Neurol* 2011; **7**: 507–517.
- 257.** Yi Wong AH, Yuki N. Autoimmune inflammatory neuropathies: Updates in pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Curr Opin Neurol* 2015; **28**: 468–473.
- 258.** Lozeron P, Lacour MC, Vandendries C, Théaudin M, Cauquil C, Denier C *et al.* Contribution of plexus MRI in the diagnosis of atypical chronic inflammatory demyelinating polyneuropathies. *J Neurol Sci* 2016; **360**: 170–175.
- 259.** Kronlage M, Bäumer P, Pitarokoili K, Schwarz D, Schwehr V, Godel T *et al.* Large coverage MR neurography in CIDP: diagnostic accuracy and electrophysiological correlation. *J Neurol* 2017; **264**: 1434–1443.
- 260.** Goedee HS, Van Der Pol WL, Van Asseldonk JTH, Franssen H, Notermans NC, Vrancken AJFE *et al.* Diagnostic value of sonography in treatment-naive chronic inflammatory neuropathies. *Neurology* 2017; **88**: 143–151.
- 261.** Khalil M, Teunissen CE, Otto M, Piehl F, Sormani MP, Gattringer T *et al.* Neurofilaments as biomarkers in neurological disorders. *Nat Rev Neurol* 2018; **14**: 577–589.
- 262.** Herrmann H, Aebi U. Intermediate filaments: Structure and assembly. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2016; **8**: 1–22.
- 263.** Yuan A, Rao M V., Veeranna, Nixon RA. Neurofilaments and neurofilament proteins in health and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2017; **9**. doi:10.1101/cshperspect.a018309.
- 264.** Gisslén M, Price RW, Andreasson U, Norgren N, Nilsson S, Hagberg L *et al.* Plasma Concentration of the Neurofilament Light Protein (NFL) is a Biomarker of CNS Injury in HIV Infection: A Cross-Sectional Study. *EBioMedicine* 2016; **3**: 135–140.
- 265.** Kuhle J, Barro C, Andreasson U, Derfuss T, Lindberg R, Sandelius Å *et al.* Comparison of three analytical platforms for quantification of the neurofilament light chain in blood samples: ELISA, electrochemiluminescence immunoassay and Simoa. *Clin Chem Lab Med* 2016; **54**: 1655–1661.

- 266.** Disanto G, Barro C, Benkert P, Naegelin Y, Schädelin S, Giardiello A *et al.* Serum Neurofilament light: A biomarker of neuronal damage in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2017; **81**: 857–870.
- 267.** Petzold A, Hinds N, Murray NMF, Hirsch NP, Grant D, Keir G *et al.* CSF neurofilament levels: A potential prognostic marker in Guillain-Barré syndrome. *Neurology* 2006; **67**: 1071–1073.
- 268.** Petzold A, Brettschneider J, Jin K, Keir G, Murray NMF, Hirsch NP *et al.* CSF protein biomarkers for proximal axonal damage improve prognostic accuracy in the acute phase of Guillain-Barré syndrome. *Muscle and Nerve* 2009; **40**: 42–49.
- 269.** Feneberg E, Oeckl P, Steinacker P, Verde F, Barro C, Van Damme P *et al.* Multicenter evaluation of neurofilaments in early symptom onset amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology* 2018; **90**: e22–e30.
- 270.** Gaetani L, Blennow K, Calabresi P, Di Filippo M, Parnetti L, Zetterberg H. Neurofilament light chain as a biomarker in neurological disorders. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2019; : 1–12.
- 271.** Martin SJ, McGlasson S, Hunt D, Overell J. Cerebrospinal fluid neurofilament light chain in multiple sclerosis and its subtypes: A meta-analysis of case-control studies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2019; **90**: 1059–1067.
- 272.** Gaiani A, Martinelli I, Bello L, Querin G, Puthenparampil M, Ruggiero S *et al.* Diagnostic and prognostic biomarkers in amyotrophic lateral sclerosis: Neurofilament light chain levels in definite subtypes of disease. *JAMA Neurol* 2017; **74**: 525–532.
- 273.** Uphaus T, Bittner S, Gröschel S, Steffen F, Muthuraman M, Wasser K *et al.* NfL (Neurofilament Light Chain) Levels as a Predictive Marker for Long-Term Outcome After Ischemic Stroke. *Stroke* 2019; **50**: 3077–3084.
- 274.** Gendron TF, Badi MK, Heckman MG, Jansen-West KR, Vilanilam GK, Johnson PW *et al.* Plasma neurofilament light predicts mortality in patients with stroke. *Sci Transl Med* 2020; **12**: 19–26.
- 275.** Weydt P, Oeckl P, Huss A, Müller K, Volk AE, Kuhle J *et al.* Neurofilament levels as biomarkers in asymptomatic and symptomatic familial amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 2016; **79**: 152–158.
- 276.** van der Ende EL, Meeter LH, Poos JM, Panman JL, Jiskoot LC, Dopfer EGP *et al.* Serum neurofilament light chain in genetic frontotemporal dementia: a longitudinal, multicentre cohort study. *Lancet Neurol* 2019; **18**: 1103–1111.
- 277.** Axelsson M, Sjögren M, Andersen O, Blennow K, Zetterberg H, Lycke J. Neurofilament light protein levels in cerebrospinal fluid predict long-term disability of Guillain-Barré syndrome: A pilot study. *Acta Neurol Scand* 2018; **138**: 143–150.
- 278.** Mariotto S, Farinazzo A, Magliozzi R, Alberti D, Monaco S, Ferrari S. Serum and cerebrospinal neurofilament light chain levels in patients with acquired peripheral neuropathies. *J Peripher Nerv Syst* 2018; **23**: 174–177.
- 279.** Gaiottino J, Norgren N, Dobson R, Topping J, Nissim A, Malaspina A *et al.* Increased Neurofilament Light Chain Blood Levels in Neurodegenerative Neurological Diseases. *PLoS One* 2013; **8**: 1–9.
- 280.** Lieverloo GGA, Wieske L, Verhamme C, Vrancken AFJ, Doorn PA, Michalak Z *et al.* Serum neurofilament light chain in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *J Peripher Nerv Syst* 2019; : jns.12319.

- 281.** Sandelius Å, Zetterberg H, Blennow K, Aditya R, Malaspina A, Laura M *et al.* Plasma neurofilament light chain concentration in the inherited peripheral neuropathies. *Neurology* 2018; **90**: e518–e524.
- 282.** Millere E, Rots D, Simrén J, Ashton NJ, Kupats E, Micule I *et al.* Plasma neurofilament light chain as a potential biomarker in Charcot-Marie-Tooth disease. *Eur J Neurol* 2021; : ene.14689.
- 283.** Kapoor M, Foiani M, Heslegrave A, Zetterberg H, Lunn MP, Malaspina A *et al.* Plasma neurofilament light chain concentration is increased and correlates with the severity of neuropathy in hereditary transthyretin amyloidosis. *J Peripher Nerv Syst* 2019. doi:10.1111/jns.12350.
- 284.** Ticau S, Sridharan G V, Tsour S, Cantley WL, Chan A, Gilbert JA *et al.* Neurofilament Light Chain as a Biomarker of Hereditary Transthyretin-Mediated Amyloidosis. *Neurology* 2021; **96**: e412–e422.
- 285.** Altmann P, De Simoni D, Kaider A, Ludwig B, Rath J, Leutmezer F *et al.* Increased serum neurofilament light chain concentration indicates poor outcome in Guillain-Barré syndrome. *J Neuroinflammation* 2020; **17**: 86.
- 286.** Godelaine J, De Schaepdryver M, Bossuyt X, Van Damme P, Claeys KG, Poesen K. Prognostic value of neurofilament light chain in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Brain Commun* 2021; : 1–10.
- 287.** Fukami Y, Iijima M, Koike H, Yamada S, Hashizume A, Katsuno M. Association of serum neurofilament light chain levels with clinicopathology of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy, including NF155 reactive patients. *J Neurol* 2021. doi:10.1007/s00415-021-10537-2.
- 288.** Wang Y, Sun S, Zhu J, Cui L, Zhang HL. Biomarkers of Guillain-Barré Syndrome: Some Recent Progress, More Still to Be Explored. *Mediators Inflamm* 2015; **2015**. doi:10.1155/2015/564098.
- 289.** Kamil K, Yazid MD, Idrus RBH, Das S, Kumar J. Peripheral Demyelinating Diseases: From Biology to Translational Medicine. *Front Neurol* 2019; **10**: 1–12.
- 290.** Capodivento G, Visigalli D, Garnerio M, Fancellu R, Ferrara MD, Basit A *et al.* Sphingomyelin as a myelin biomarker in CSF of acquired demyelinating neuropathies. *Sci Rep* 2017; **7**: 1–9.
- 291.** Capodivento G, de Michelis C, Carpo M, Fancellu R, Schirinzi E, Severi D *et al.* CSF sphingomyelin: A new biomarker of demyelination in the diagnosis and management of CIDP and GBS. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2020; : 1–8.
- 292.** Dalakas MC. Mechanisms of action of IVIg and therapeutic considerations in the treatment of acute and chronic demyelinating neuropathies. *Neurology*. 2002; **59**. doi:10.1212/wnl.59.12\_suppl\_6.s13.
- 293.** Sinha S, Prasad KN, Jain D, Nyati KK, Pradhan S, Agrawal S. Immunoglobulin IgG Fc-receptor polymorphisms and HLA class II molecules in Guillain-Barré syndrome. *Acta Neurol Scand* 2010; **122**: 21–26.
- 294.** van der Pol W-L, van den Berg LH, Scheepers RHM, van der Bom JG, van Doorn PA, van Koningsveld R *et al.* IgG receptor IIa alleles determine susceptibility and severity of Guillain-Barre syndrome. *Neurology* 2000; **54**: 1661–1665.
- 295.** Van Sorge NM, Van Der Pol WL, Jansen MD, Geleijns KPW, Kalmijn S, Hughes RAC *et al.* Severity of Guillain-Barré syndrome is associated with Fcγ Receptor III polymorphisms. *J Neuroimmunol* 2005; **162**: 157–164.
- 296.** Hogarth PM. Fc receptors are major mediators of antibody based inflammation in autoimmunity. *Curr Opin Immunol* 2002; **14**: 798–802.

- 297.** Tackenberg B, Jelčić I, Baerenwaldt A, Oertel WH, Sommer N, Nimmerjahn F *et al.* Impaired inhibitory Fcγ receptor IIB expression on B cells in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; **106**: 4788–4792.
- 298.** Zhang G, Sheikh KA. Role of Fcγ Receptor Mediated Inflammation in Immune Neuropathies. *J Clin Cell Immunol* 2017; **08**: 139–148.
- 299.** Blum S, McCombe PA. Genetics of Guillain-Barré syndrome (GBS) and chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy (CIDP): current knowledge and future directions. *J Peripher Nerv Syst* 2014; **19**: 88–103.
- 300.** van Doorn PA, Schreuder GMT, Vermeulen M, d’Amaro J, Brand A. HLA antigens in patients with chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *J Neuroimmunol* 1991; **32**: 133–139.
- 301.** Magira EE, Papaioakim M, Nachamkin I, Asbury AK, Li CY, Ho TW *et al.* Differential Distribution of HLA-DQB/DRβ Epitopes in the Two Forms of Guillain-Barré Syndrome, Acute Motor Axonal Neuropathy and Acute Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy (AIDP): Identification of DQB Epitopes Associated with Susceptibility to and P. *J Immunol* 2003; **170**: 3074–3080.
- 302.** Monos DS, Papaioakim M, Ho TW, Li CY, McKhann GM. Differential distribution of HLA alleles in two forms of Guillain-Barre syndrome. *J Infect Dis* 1997; **176**: 180–182.
- 303.** Pascual-Goñi E, Martín-Aguilar L, Querol L. Autoantibodies in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Curr Opin Neurol* 2019; **32**: 651–657.
- 304.** Jacobs BC, van den Berg B, Verboon C, Chavada G, Cornblath DR, Gorson KC *et al.* International Guillain-Barré Syndrome Outcome Study: protocol of a prospective observational cohort study on clinical and biological predictors of disease course and outcome in Guillain-Barré syndrome. *J Peripher Nerv Syst* 2017; **22**: 68–76.
- 305.** Ruud PK, Frans G, Meche M, Paul S. Interobserver Agreement in the Assessment of Muscle Strength Guillain- Barre Syndrome. *Muscle Nerv* 1991; **14**: 1103–1109.
- 306.** Van Nes SI, Vanhoutte EK, Van Doorn PA, Hermans M, Bakkers M, Kuitwaard K *et al.* Rasch-built Overall Disability Scale (R-ODS) for immune-mediated peripheral neuropathies. *Neurology* 2011; **76**: 337–345.
- 307.** Quinn TJ, Dawson J, Walters MR, Lees KR. Functional Outcome Measures in Contemporary Stroke Trials. *Int J Stroke* 2009; **4**: 200–205.
- 308.** Martín-Aguilar L, Pascual-Goñi E, Lleixà C, Frasquet M, Argente H, Cano-Abascal A *et al.* Antibodies against nodo-paranodal proteins are not present in genetic neuropathies. *Neurology* 2020; **95**: e427–e433.
- 309.** Vergheze A, Hiew FL, Chia YK, Querol L. Visual pathway demyelination in neurofascin-155 IGG4-positive combined central and peripheral demyelination. *J Neurol Sci* 2019; **405**: 196–197.
- 310.** Nowshin Papri, Zahirul Islam, Israt Jahan H-AK, Eric Humphriss, Sethu Sankaranarayanan, Dean Artis T, Yednock, Sanjay Keswani, Khan Abul Kalam Azad QD, Mohammad. ANX005, a C1q inhibitor, for treatment of Guillain-Barré Syndrome: Phase 1b study results - 2020 Peripheral Nerve Society Virtual Event. *J Peripher Nerv Syst* 2020; **25**: 438–576.
- 311.** Sormani MP, Haering DA, Kropshofer H, Leppert D, Kundu U, Barro C *et al.* Blood neurofilament light as a potential endpoint in Phase 2 studies in MS. *Ann Clin Transl Neurol* 2019. doi:10.1002/acn3.795.

- 312.** Stengel H, Vural A, Brunder AM, Heinius A, Appeltshauser L, Fiebig B *et al.* Anti-pan-neurofascin IgG3 as a marker of fulminant autoimmune neuropathy. *Neurol Neuroimmunol NeuroInflammation* 2019; **6**: 1–11.
- 313.** Appeltshauser L, Brunder AM, Heinius A, Körtvélyessy P, Wandinger KP, Junker R *et al.* Anti-paranodal antibodies and IgG subclasses in acute autoimmune neuropathy. *Neurol Neuroimmunol neuroinflammation* 2020; **7**: 1–11.
- 314.** Kadoya M, Kaida K, Koike H, Takazaki H, Ogata H, Moriguchi K *et al.* IgG4 anti-neurofascin155 antibodies in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: Clinical significance and diagnostic utility of a conventional assay. *J Neuroimmunol* 2016; **301**: 16–22.
- 315.** Kawamura N, Yamasaki R, Yonekawa T, Matsushita T, Kusunoki S, Nagayama S *et al.* Anti-neurofascin antibody in patients with combined central and peripheral demyelination. *Neurology* 2013; **81**: 714–722.
- 316.** Vural A, Doppler K, Meinel E. Autoantibodies against the node of ranvier in seropositive chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: Diagnostic, pathogenic, and therapeutic relevance. *Front Immunol* 2018; **9**. doi:10.3389/fimmu.2018.01029.
- 317.** Hu W, Xin Y, He Z, Zhao Y. Association of neurofascin IgG4 and atypical chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: A systematic review and meta-analysis. *Brain Behav* 2018; **8**: e01115.
- 318.** Marino M, Basile U, Spagni G, Napodano C, Iorio R, Gulli F *et al.* Long-Lasting Rituximab-Induced Reduction of Specific—But Not Total—IgG4 in MuSK-Positive Myasthenia Gravis. *Front Immunol* 2020; **11**: 1–9.
- 319.** Díaz-Manera J, Martínez-Hernández E, Querol L, Klooster R, Rojas-García R, Suárez-Calvet X *et al.* Long-lasting treatment effect of rituximab in MuSK myasthenia. *Neurology* 2012; **78**: 189–193.
- 320.** Ballieux BEPB, Baets MH De, Vincent A, Verschuuren JJGM. Strong association of MuSK antibody – positive myasthenia gravis and polymorphisms in white Dutch patients with MuSK. ; **8**: 6–8.
- 321.** Gaig C, Brüggemann N, Giordana C, Heidbreder A, Kotschet K, Lewerenz J *et al.* Clinical manifestations of the anti-IgLON5 disease. *Neurology* 2017; **88**: 1736–1743.
- 322.** Kim TJ, Lee ST, Moon J, Sunwoo JS, Byun JI, Lim JA *et al.* Anti-LGI1 encephalitis is associated with unique HLA subtypes. *Ann Neurol* 2017; **81**: 183–192.



