

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y
NEUROCIROLOGÍA "MANUEL VELASCO SUAREZ"

**“Presencia de autoanticuerpos relacionados con otras enfermedades de tipo
autoinmune en pacientes con Esclerosis Múltiple”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

SUBESPECIALIDAD EN NEUROLOGÍA

P R E S E N T A:

DRA. SILVIA PATRICIA GONZÁLEZ CARMONA

TUTORES:

DRA. TERESA CORONA

DR. JOSE DE JESUS FLORES RIVERA



MÉXICO, D.F.

ENERO DE 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y
NEUROCIRUGÍA "MANUEL VELASCO SUAREZ"

**“Presencia de autoanticuerpos relacionados con otras enfermedades de tipo
autoinmune en pacientes con Esclerosis Múltiple”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

SUBESPECIALIDAD EN NEUROLOGÍA

P R E S E N T A:

DRA. SILVIA PATRICIA GONZÁLEZ CARMONA

TUTORES:

DRA. TERESA CORONA

DR. JOSE DE JESUS FLORES RIVERA



MÉXICO, D.F.

ENERO DE 2009

INDICE

CONTENIDO	No. Pág.
I. Resumen	2
II. Antecedentes	3
III. Planteamiento del problema	10
IV. Hipótesis	10
V. Objetivos	10
VI. Justificación	11
VII. Metodología	11
VIII. Consideraciones éticas	15
IX. Consideraciones Financieras	15
X. Resultados	15
XI. Discusión y Conclusiones	24
XII. Referencias	25



INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA
MANUEL VELASCO SUÁREZ
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACION CLINICA

Insurgentes Sur 3877
Col. La Fama, C.P. 14269
Mexico, D.F., Tel. 56-06-14-07
www.innn.edu.mx

TITULO

“Presencia de autoanticuerpos relacionados con otras enfermedades de tipo autoinmune en pacientes con Esclerosis Múltiple”

¿Un epifenómeno ó influyen en la progresión de la Enfermedad?

I. RESUMEN DE LA INVESTIGACION PROPUESTA

La esclerosis múltiple (EM) es la más frecuente de las enfermedades desmielinizantes en los adultos, se cree que es una enfermedad de tipo autoinmune. Los signos y síntomas observados en EM reflejan lesiones presentes principalmente en la sustancia blanca. El diagnóstico resulta difícil, pues la sintomatología tiene baja especificidad y no tenemos marcadores paraclínicos específicos de la enfermedad. Los criterios diagnósticos están basados en la diseminación de los signos clínicos en tiempo y espacio, potenciales evocados, estudios de resonancia magnética (IRM), resultados del examen de líquido cefalorraquídeo (LCR) y la exclusión de otros diagnósticos que puedan causar esta sintomatología. A pesar de esto no hay una “investigación clínica ó paraclínica” que pueda distinguir en ocasiones con certeza a la EM de otras enfermedades de tipo autoinmune o inflamatoria que predominantemente afectan el Sistema Nervioso Central (SNC), entre estos desórdenes podemos incluir a la Sarcoidosis, Lupus eritematoso sistémico (LES), Síndrome de Anticuerpos Antifosfolípidos primario o secundario (SAAF),

Enfermedad de Sjögren primaria o secundaria, Enfermedad Mixta de Tejido Conectivo, Vasculitis e incluso la enfermedad de Behcet. ^(1,2).

Reportes previos han mostrado la presencia de anticuerpos antinucleares (ANAs) y anticuerpos antifosfolípidos (aPLs) en pacientes con esclerosis múltiple. Se desconoce en qué difieren clínica y paraclínicamente los pacientes que tienen EM y que presentan estos autoanticuerpos ^(4,5,6,7,8).

El propósito de este estudio es describir las características clínicas de los pacientes con Esclerosis Múltiple definida que tienen autoanticuerpos relacionados con otras enfermedades autoinmunes y valorar su relación con la progresión de la enfermedad, o bien saber si esta elevación se debe sólo a un epifenómeno secundario a la disrregulación autoinmune acompañante de la EM, descartando obviamente que sea debido a la asociación de otra enfermedad sistémica ^(2,4,8,9).

II. ANTECEDENTES

Las enfermedades que afectan al sistema nervioso central (SNC) pueden clasificarse de acuerdo con la existencia de una anomalía bioquímica primaria de la mielina (o desmielinizante) de si algún otro proceso lesiona la mielina o célula oligodendroglial (desmielinización). En el presente estudio nos centramos en la Esclerosis Múltiple (EM) que es la enfermedad más común causada por un proceso “desmielinizante inflamatorio en el SNC”.

¿Qué es la Esclerosis Múltiple?

Es una enfermedad de tipo autoinmune, en donde hay lesión de la sustancia blanca a nivel del sistema nervioso central, secundario a la formación de autoanticuerpos contra la mielina, formando áreas de desmielinización multifocal, llamadas placas desmielinizantes que son macroscópicamente de color gris rosáceo, existiendo relativa preservación de los axones, pérdida de los oligodendrocitos y cicatrización astrogliar. Las placas suelen ser múltiples, localizadas en la sustancia blanca profunda, cerca de los ventrículos laterales, el cuerpo calloso, el piso del IV ventrículo, región periacueductal, nervios y vías ópticas y médula espinal cervical^(1,2,3,4).

La mielina compactada forma la membrana plasmática rica en lípidos de los oligodendrocitos que proporciona aislamiento para que los impulsos eléctricos viajen a través de los axones. Los axones mielinizados propagan los impulsos nerviosos rápidamente en forma de saltos con un alto factor de seguridad para la transmisión de cinco a siete veces por encima del umbral. La corriente está inducida por la apertura de canales de Na⁺ dependientes de voltaje que se encuentran en los nodos de Ranvier. El flujo de Na⁺ resultante crea una corriente que entonces se desplaza hacia el siguiente nodo de Ranvier, debido a que la corriente no puede fluir externamente en los segmentos internodales mielinizados. La apertura de los canales de potasio detiene el flujo de corriente y conduce a repolarización. Existen varios tipos de canales de K⁺ en el axón. Los canales de K⁺ rápidos sensibles a la 4-aminopiridina se localizan en la membrana axonal internodal y contribuyen a la repolarización de los axones desmielinizados. Los canales de K⁺ lentos se encuentran en los nodos de Ranvier y desempeñan un papel en la modulación de los estímulos repetitivos. El Na⁺ y K⁺-adenosintrifosfatasa (ATPasa) restauran en la membrana del axón el equilibrio iónico siguiendo los estímulos de alta frecuencia. Por lo tanto la desmielinización interrumpe el flujo de corriente eliminando el aislante del flujo de corriente del axón internodal. Para los segmentos cortos (uno o dos internodos), la desmielinización no es crítica debido al alto factor de seguridad de la transmisión. Sin embargo en los grandes segmentos de desmielinización pueden dar origen a la interrupción del flujo de corriente, ya que la corriente debe fluir por propagación continua. La baja densidad de los canales de Na⁺ internodales como mínimo en los primeros estadios de la desmielinización, inhibe el impulso de propagación. Si la conducción ocurre es a una velocidad muy reducida, 5 a 10% de lo normal. El periodo refractario de los axones desmielinizados es prolongado, y las descargas repetitivas pueden ser bloqueadas cuando se encuentran con un segmento de axón en periodo refractario. Los déficits neurológicos persistentes o los síntomas negativos de la EM son causados por regiones en las que persiste el bloqueo de la conducción, como son las regiones con grandes placas, mientras que el empeoramiento transitorio de la función refleja un descenso por debajo del umbral

de seguridad para la conducción a causa de cambios fisiológicos que afectan al axón parcialmente desmielinizado por ejemplo el fenómeno de Uhthoff^(1,2,3).

La fisiopatología es producto de una respuesta inmune anormal a uno o más antígenos de mielina después de que éstos han sido expuestos a un antígeno “disparador” el cual todavía no conocemos, pero se consideran algunos agentes virales como posibles candidatos.

Epidemiología

Tiene una Incidencia de 12/100,000 habitantes, con predominio de edad entre los 20 y 40 años en el 70% de los casos, en el 10% se puede manifestar antes de los 15 años, y en un 20% se ha visto después de los 60 años. Predomina en mujeres 2:1.

Kurtzke en la década de los 80's, demostró que la prevalencia de la EM se distribuía de la siguiente manera:

- Países al Norte del Ecuador: Prevalencia 80 por cada 100, 000 hab.
- Países Africanos y Asiáticos: 5 por cada 100, 000 hab.

De donde surgieron las siguientes teorías^(1,2,3):

- Teoría Ambiental: La prevalencia de la EM dependiendo de la distancia con el Ecuador, migración y raza principalmente.
- Teoría Genética: La EM es una enfermedad primariamente en caucásicos. Kurtzke propuso el origen genético-geográfico de la EM, ella sostiene que fueron los vikingos quienes dispersaron la enfermedad así como la carga genética para contraerla. Se presenta en el 30% en gemelos monocigotos y 5% en dicigotos y familiares de primer grado, el HLA DR2 confiere susceptibilidad para desarrollar EM.
- Teoría Viral: Relacionado con Herpes Humano tipo 6, C. Pneumoniae, Varicela Zoster y Epstein Barr.
- Teoría Inmunológica: Enfermedad mediada por el linfocito T CD4, existencia de autoanticuerpos dirigidos contra la glucoproteína de la mielina de los oligodendrocitos que interviene en la aparición de lesiones desmielinizantes. Citocinas Th1 (IL2, TNF alfa e INF gamma) que contribuyen al daño directo sobre la membrana de mielina.

Siendo está última de nuestro especial interés.

Fisiopatología

El SNC tiene un mecanismo inmunológicamente diferente del resto del organismo, pues además de la ausencia de un “sistema linfático”, la menor expresión de antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), está separado por la barrera hematoencefálica, estando también controlado por citocinas que son proteínas reguladoras secretadas por el sistema inmune, que influyen sobre las células del SNC y células inmunes, la sobre-expresión o disregulación de estas citocinas contribuye a las manifestaciones clínicas de enfermedades como la esclerosis múltiple.

Las citocinas como mencionamos son proteínas de bajo peso molecular involucradas en la regulación inmune, es decir iniciación, mantenimiento y resolución de la respuesta inflamatoria, producidas por células del sistema inmune y de otras células como las endoteliales, fibroblastos, astrocitos y neuronas. Tienen funciones autocrinas (en la misma célula) y parácrinas (células adyacentes), y efectos pleiotrópicos dependiendo de las células diana y la influencia del medio ambiente, varias citocinas pueden inducir la misma respuesta y funcionan en la célula de una manera específica, regulan la proliferación celular, diferenciación celular, activación celular, muerte celular, motilidad celular, la expresión de citocinas, la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad I y II, coestimulantes y la expresión de adhesión molecular, y finalmente sinergizan o antagonizan los efectos unas de otras.

Podemos dividir el paradigma de las citocinas en “células T “helper” 1 y 2” (Th1 y Th2 respectivamente). La respuesta de las Th1, es **celular**, están dirigidas contra los patógenos **intracelulares** como virus, y su célula T efectora es Th1 CD4+, secretan Interferon-gamma (INF α) e Interleucina 2 (IL-2), y linfotóxina-alfa (LT- α), activan a las células T citotóxicas y a los macrófagos, funciona destruyendo las células infectadas. La Th2 es una respuesta **humoral** que se desarrolla en contra de los patógenos **extracelulares** y está caracterizada por la secreción de IL-4, IL-5, IL-10, e IL-13, activando a las células B específicas para producir anticuerpos, y finalmente destruir al patógeno. La IL-12 es necesaria para diferenciar células T hacia Th1, mientras que la IL-4 es necesaria para que el fenotipo sea Th2. Las citocinas Th1 y Th2 se autorregulan, antagonizan, y dependen de variables genéticas, ambientales, la naturaleza del antígeno, cantidad del antígeno, y el tipo de célula presentadora de antígeno (APC), así como de las moléculas coestimulantes expresadas en APCs.

Las citocinas proinflamatorias que pertenecen a Th1 son: IL-1alfa y beta, IL-2, IL-3, IL-6, IL-12, TNF-alfa, IFN-gamma, LT-alfa, G-CSF, GM-CSF y las antiinflamatorias son IL-4, IL-6, IL-10, IL-13, IFN-B, TGF-B. Como podemos notar algunas citocinas tienen ambos efectos.

Aparentemente la EM es una enfermedad mediada por Th1 (proinflamatoria), se ha notado que antes y durante la exacerbación de la enfermedad predominan las citocinas como IL-12, IFN-gama, y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa), en los periodos de remisión tenemos elevación de citocinas Th2 como IL-4, IL-10, y el factor beta transformador de crecimiento (TGF-Beta) ^(3,4,5,6,7).

Se piensa que la formación de la placa desmielinizante inicia con el daño a la barrera hematoencefálica (BHE). La lesión aguda de la placa de EM consiste en la infiltración perivascular y parenquimatosa por células mononucleares y destrucción de mielina, que esta mediada por células infiltrantes.

En el caso de la degeneración axonal, presente únicamente en el 10% de los casos de lesiones agudas, se han postulado 3 hipótesis etiológicas:

- Presencia de infección viral persistente: Por lesión tisular y liberación de antígenos a la circulación periférica donde pueden encontrar las correspondientes células T autorreactivas.
- Un proceso autoinmune con pérdida de tolerancia hacia antígenos de mielina.

- Mímica molecular entre antígenos virales y proteínas de la mielina: Es una vía potencial en la que se rompe la tolerancia, por ejemplo: diversos péptidos víricos y bacterianos comparten similitudes estructurales con proteínas importantes de la mielina y algunos de ellos son capaces de activar clones de células T.

En individuos normales están presentes niveles reducidos de células B y células T autorreactivas, presumiblemente estas células han escapado de la depleción durante el proceso de desarrollo inmune y se encuentran, actualmente, en fase de tolerancia a sus antígenos. La autoinmunidad se desarrolla cuando estas células pierden la tolerancia y se inicia un complejo de reactividad inmune en tejidos diana. **Los linfocitos T** son los que mayor participación tienen en la EM y de hecho se cree que cualquiera que sea el agente antigénico que cause la EM, su blanco principal serán los linfocitos T. Las células T de pacientes con EM contienen un decremento en CD8.

La proteína básica de mielina (MBP) se ha considerado una de las principales candidatas para un ataque autoinmune. Las células T que responden a la MBP se encuentran en la sangre periférica en personas normales y aquellas con EM, pero en niveles superiores en pacientes con EM con enfermedad activa. La MBP representa el 30% de la proteína de mielina.

Muchas otras proteínas características de la mielina también son candidatas a un ataque autoinmune. La proteína proteolipídica representa el 50% de la proteína de mielina del SNC y es una proteína de membrana integral de las vainas de mielina. En el Sistema Nervioso Periférico (SNP) la proteína P0 cumple este papel. La glucoproteína asociada a la mielina, la glucoproteína oligodendrocito de mielina y la nucleotidofosfodiesterasa cíclica son proteínas que representan un bajo porcentaje de mielina. La glucoproteína oligodendrocito de mielina y la nucleotidofosfodiesterasa cíclica no se encuentran en la mielina del nervio periférico y, por tanto son de interés debido a que la EM es una enfermedad que solamente afecta a la mielina del SNC.

En este estudio queremos saber si la aparición de otros autoanticuerpos que están presentes en la inflamación tienen alguna relación con el grado de disfunción o evolución de la enfermedad.

Los anticuerpos a considerar en nuestro estudio son:

Anticardiolipinas IgG e IgM: Inmunoglobulinas circulantes de la variedad IgG, IgA o IgM. los anticuerpos anticardiolipinas (ACLs) también están presentes en poblaciones sanas, así como posterior a un proceso infeccioso, pueden ser transitorios y desaparecer con el tiempo, se ha visto que no siempre la positividad en una persona asintomática tiene significado en cuanto a la asociación con un desorden del tejido conectivo. Se demostró que **la B2 glicoproteína I (B2GPI)** ha mostrado ser el real antígeno de las ACLs por lo que también mediremos estos autoanticuerpos. Son Anticoagulante natural que inhibe los pasos intrínsecos de la coagulación y la actividad protrombinasa de las plaquetas. La unión y alteración subsecuente del cofactor (B2 GPI) puede producir estados protrombóticos ^(6, 7, 8, 9,10, 11).

No se ha podido establecer claramente la asociación de los Anticuerpos Anticardiolipinas (ACL) con enfermedades neurológicas como migraña, epilepsia, mielitis, neuritis óptica, demencia vascular, así mismo se ha considerado la presencia de ACLs en la Esclerosis

múltiple, empero no debemos descartar el Síndrome de Anticuerpos Antifosfolípidos como diagnóstico diferencial ya que estas dos entidades son en ocasiones indistinguibles en cuanto a la clínica y los hallazgos de resonancia magnética.

Se han publicado asociación de lesiones desmielinizantes en pacientes con LES, particularmente aquellos que tienen anticuerpos antifosfolípidos. La psicosis y depresión se relaciona con la presencia de anticuerpos anti-P ribosomal en suero, se ha visto que es más útil la medición en LCR para el diagnóstico de Lupus Neuropsiquiátrico, pero este último no lo mediremos en este estudio. Se ha reportado que los pacientes con LES y con anticuerpos anticardiolipinas altos (ACL) persistentes por un periodo de 2 a 3 años contra los que tienen elevación ocasional, demuestran un mayor deterioro cognitivo. Por otro lado también consideramos a los anticuerpos **anti-DNA** pues tienen reacción cruzada con los receptores de N-Metil-D-aspartato siendo capaces de mediar muerte por excitotoxicidad lo que influye en el deterioro cognitivo. Lo que también pudiese estar involucrado en el deterioro cognitivo en EM. También consideramos que los anticuerpos son comunes simplemente por un epifenómeno de la inflamación al ver por ejemplo reportada una “conurrencia” entre Artritis Reumatoide y Esclerosis Múltiple del 1.8 al 2.2% ^(11,12,13).

Para esta tesis consideraremos los tipos clínicos para ver si existe alguna diferencia entre ellos en cuanto a los anticuerpos que expresan y son los siguientes ^(1,2,3):

1. Brote remisión (BR): Esta caracterizado por lapsos de síntomas claramente definidos con recuperación completa o una pequeña secuela. Los síntomas de la enfermedad que aparecen durante un periodo de una o dos semanas y se resuelven en el transcurso de 4 a 8 semanas. La recuperación funcional regresa a la basal previa al ataque los periodos entre cada recaída están caracterizados por una pequeña progresión de la enfermedad.
2. Secundariamente Progresiva (PS): Cuando inicia en forma de brote remisión y posteriormente presenta deterioro continuo sin periodos de estabilidad.
3. Primariamente Progresiva (PP): Es con deterioro progresivo desde el inicio de la enfermedad, sin periodos de estabilidad ni de recuperación parcial. Brotes incapacitantes con poca o nula respuesta al tratamiento.
4. Recurrente progresiva (PR): Exacerbaciones o agravamientos ocasionales tras un curso progresivo.

Diagnóstico

Para el diagnóstico en este estudio nos basamos en los criterios de Mc Donald ⁽¹⁴⁾. Ver anexo 2.

Para la medición de la discapacidad utilizamos:

Escala de Disfunción Neurológica (EDSS): Creada por Kurtzke, permite el seguimiento y el control de la enfermedad, así como la posibilidad de valorar en qué momento pasa a la forma progresiva. Sirve además para calcular el índice de progresión de la enfermedad, que se obtiene dividiendo la puntuación obtenida en la escala EDSS entre la duración en años del paciente, obteniéndose un índice cuya media está en torno a 0,40-0,50 puntos/año (Ver Anexo 3).

El índice de progresión: El índice de progresión esperado es de (EDSS / años de diagnóstico) es de 0.3 a 0.4 por año la tasa de recaídas es de 0.8 a 1.1 por año

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

La presencia de autoanticuerpos (ANAs, anticardiolipinas, anti B2 glicoproteína, anti-DNA) en sujetos con diagnóstico de esclerosis múltiple incrementa el índice de progresión.

IV. HÍPOTESIS

Hipótesis Nula

Los pacientes con EM y autoanticuerpos tienen una progresión igual a la esperada en los pacientes sin autoanticuerpos medida por EDSS, es decir de 0.3 a 0.4 por año.

V. OBJETIVOS

Objetivos específicos

1. Describir la presencia de autoanticuerpos relacionados con otras enfermedades de tipo autoinmune en la Esclerosis Múltiple definida por criterios de Mc Donald tipo Brote-Remisión, Primariamente Progresiva, Secundariamente Progresiva, y Recurrente Progresiva.

Objetivos secundarios

1. Establecer el impacto de la presencia de autoanticuerpos relacionados con otras enfermedades de tipo autoinmune en sujetos con diagnóstico de EM en la progresión de la enfermedad medido por el IP.

Hipótesis Alterna

Los pacientes con EM que tienen autoanticuerpos presentan un aumento en la progresión de la discapacidad medida por EDSS y el índice de progresión.

VI. JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades autoinmunes son un diverso grupo con diferentes fenotipos que representan un espectro de disregulación autoinmune, muchas de estas enfermedades causan desmielinización a nivel del Sistema Nervioso central, frecuentemente

diagnosticado como Esclerosis Múltiple. Se menciona que las enfermedades autoinmunes son más comunes en pacientes con Esclerosis Múltiple en sus familiares de primer grado, también se ha reportado una prevalencia de títulos elevados de anticuerpos antinucleares y otros en los pacientes con esclerosis múltiple comparado a los controles.

VII. METODOLOGÍA

Pacientes de 15 a 60 años que pertenecen a la clínica de Esclerosis Múltiple del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, en el Distrito Federal, México, desde 1996 hasta 2008 que han sido diagnosticados como Esclerosis Múltiple definida por los criterios de McDonald, con los siguientes tipos clínicos: Brote Remisión, Primariamente progresiva, Secundariamente progresiva, y Recurrente Progresiva. Tomando en cuenta la edad, el género, la edad de inicio de sintomatología, edad de diagnóstico, tiempo de evolución, evento índice, curso clínico.

Para la medición de la progresión se tomará en cuenta el EDSS de inicio, EDSS final, el índice de progresión, así como la tasa de recaídas por año, considerando como otras variables a las enfermedades asociadas y tratamiento (inmunosupresor o inmunomodulador).

Respecto a los estudios de laboratorio se incluyó la presencia de bandas oligoclonales en LCR; los anticuerpos antinucleares se detectaron por inmunofluorescencia en hígado de ratón. Se excluyen los pacientes que puedan presentar elevación de ANAs o ACLs inducidos por drogas.

Los anticuerpos anti DNA doble cadena se midieron usando un “enzyme-linked immunosorbent assay”.

Los títulos de anticuerpos anticardiolipinas (aCLs) medidas usando “solid-phase immunoassay” y los resultados se consideraron positivos según el laboratorio de Inmunología y Reumatología del Instituto Nacional de Nutrición y Ciencias Médicas “Dr. Salvador Zubirán” cuando rebasaron los títulos referidos en la tabla 1, considerando los valores más altos en los pacientes que tenían varias tomas.

Tabla (1)

Valores de referencia de autoanticuerpos según el laboratorio de Inmunología y Reumatología del INNCMSZ:

Anticuerpos	Valor de Referencia
Anti DNA doble cadena	< ó = 9.6 U/ml

Anti-Cardiolipinas isotipo IgG	< ó = 11.5U/ml
Anti- CL isotipo IgM	< ó = 4.4 U/ml
Anti B2GP-I isotipo IgG	< ó = 2.5 U/ml
Anti B2GP-I isotipo IgM	< ó = 3.4 U/ml
Anticardiolipina libre de B2GP-I IgG	< ó = 1.9 UA
Anticardiolipina libre de B2GP-I IgM	< ó = 2.4 UA
Anticuerpos antinucleares	1:40

El análisis del LCR incluyó medición de bandas oligoclonales.

Se llevó a cabo el registro y correlación con apoyo del programa estadístico SPSS 11.0 for windows.

DISEÑO

Estudio ambiepectivo, transversal, descriptivo, observacional, analítico sobre pacientes que pertenecen a la clínica de Esclerosis Múltiple del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía y que cuentan con al menos una medición de autoanticuerpos.

POBLACIÓN Y MUESTRA

Se incluyeron todos los casos de Esclerosis Múltiple identificados en la Clínica de Enfermedades desmielinizantes del INNN en el periodo de tiempo convenido.

Saber la proporción de pacientes con Esclerosis Múltiple que tienen títulos altos de anticuerpos relacionados con otras enfermedades de tipo autoinmune. Aceptando como nivel de significación, es decir la probabilidad para rechazar la hipótesis nula (Ho) como falsa y aceptar la hipótesis alterna (H1) como verdadera con un alto índice de seguridad. Aceptando como nivel máximo de significación 0.05, es decir que existe un 5% de probabilidad de equivocación, coeficiente de confianza de 0.95.

Criterios de inclusión

- a. Pacientes mayores de 15 años y menores de 60.
- b. Género masculino y femenino.
- c. Con Esclerosis Múltiple tipo BR, PP, SP, RR diagnosticados por los criterios de Mc Donald, que tengan una determinación de anticuerpos.
- d. Pacientes con una valoración clínica neurológica que incluya EDSS e Índice de Progresión
- e. Proporcionen consentimiento informado por escrito

Criterios de exclusión

- a. Pacientes con diagnóstico probable de EM, síndrome clínico aislado o en protocolo de estudio para otras enfermedades asociadas de tipo autoinmune, como LES, AR, Sjogren, Behcet.
- b. Pacientes con uso de medicamentos que eleven autoanticuerpos.
- c. Embarazo o lactancia. Las mujeres en edad reproductiva deberán estar utilizando un método confiable de anticoncepción.
- d. Antecedentes de abuso drogas o alcohol.

Criterios de eliminación

- a. Pacientes con datos incompletos, en quienes se integraron otras patologías como causantes de su sintomatología actual.
- b. Otras enfermedades desmielinizantes como Esclerosis concéntrica de Baló, Enfermedad de Marburg, Esclerosis difusa mielinoclástica ó monofásicas.

Variables

- a. Dependiente: Progresión de la enfermedad
- b. Independiente: Elevación de anticuerpos
- c. Variables posibles confusoras

Se considerarán variables confusoras el tratamiento con inmunosupresores que modifiquen los resultados de los autoanticuerpos, generalmente disminución de los valores mientras

que pudiese existir elevación de autoanticuerpos con la terapia inmunomoduladora. Todas estas se trataran de controlar en el análisis estadístico.

Procedimientos

Se tomaron datos de los expedientes de 1996 y los que se diagnosticaron hasta el 2008.

Selección

Pacientes diagnosticados desde 1996 a 2008 En la revisión del expediente registraremos el número de folio, nombre, edad, género, evento índice, edad de inicio de la sintomatología, edad de diagnóstico de la enfermedad, número de recaídas, tasa de recaídas por año, EDSS inicial y actual y el tratamiento utilizado y se consideraran la presencia o no de Bandas oligoclonales en LCR, ANA patrón nuclear, ANA patrón citoplasmático, Anti DNA doble cadena U/ml, Anticardiolipina IgG UGPL/ml, Anticardiolipina IgM UMPL/ml, Anti beta 2 GP-1 IgG U/ml, Anti beta 2 GP-1 IgM U/ml.

No se considerarán los valores que se hayan tomado junto con medicamentos que aumenten autoanticuerpos ni las mujeres gestantes. A los pacientes recientemente diagnosticados se les hizo la valoración clínica previamente mencionada y se solicitó un perfil Reumatológico acorde a sus posibilidades económicas.

Análisis estadístico

Se analizarán los resultados obtenidos mediante el paquete estadístico SPSS-11 para Windows, utilizando las siguientes bases:

Se realizó la descripción de los datos utilizando medidas de tendencia central (media, mediana y moda), medidas de dispersión (desviación estándar, desviación media), y coeficiente de correlación aplicadas a cada variable según sus características. En el caso de datos cuantitativos de los anticuerpos buscamos el coeficiente de correlación lineal de Pearson para conocer si los valores del índice de progresión aumentaban al ser mayor los

anticuerpos, o si no tienen nada que ver entre sí. El coeficiente de Pearson mide el grado de asociación lineal entre dos variables cualesquiera, y puede calcularse dividiendo la covarianza de ambas entre el producto de las desviaciones típicas de las dos variables. Para un conjunto de datos, el valor r de este coeficiente puede tomar cualquier valor entre -1 y $+1$. El valor de “ r ” será positivo si existe una relación directa entre ambas variables, esto es, si las dos aumentan al mismo tiempo. Será negativo si la relación es inversa, es decir, cuando una variable disminuye a medida que la otra aumenta. Un valor de $+1$ ó -1 indicará una relación lineal perfecta entre ambas variables, mientras que un valor 0 indicará que no existe relación lineal entre ellas. Determinaremos la distribución de los resultados para dichas variables mediante pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas. Dependiendo se evaluará la aplicación de métodos de transformación de datos para lograr el cumplimiento de los supuestos del análisis paramétrico.

Se tomarán datos de los expedientes de 1996 y los que se diagnostiquen hasta el 2008.

VIII. CONSIDERACIONES ÉTICAS

El presente estudio representa la búsqueda de nuevos parámetros que marquen la progresión de la enfermedad, que podría representar una opción nueva de pronóstico. De confirmarse su utilidad representaría un beneficio para una gran población de pacientes. No se modificara tratamiento actual de los pacientes. Se mantuvo la identidad y datos del expediente bajo estricta confidencialidad ajustándose estrictamente a las normas e instructivos institucionales en materia de investigación científica.

IX. CONSIDERACIONES FINANCIERAS

Este proyecto fue autofinanciado con los recursos propios de la unidad y del paciente.

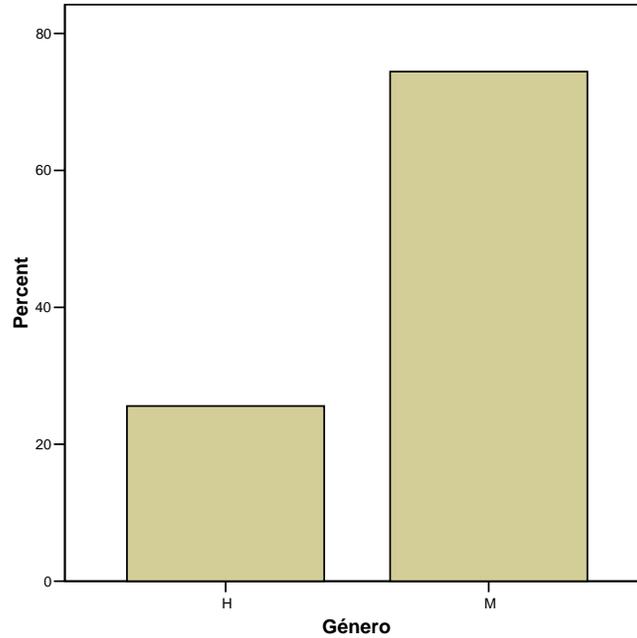
X. RESULTADOS

De 94 expedientes revisados de pacientes con EM clínicamente definida, encontramos que sólo 43 tuvieron perfil reumatológico completo (ANAs, ACLs IgG e IgM, Anti-BGPI IgG e IgM).

La distribución por género fue: 32 mujeres (74.4%) y 11 hombres (25.6%) Tabla 1.

Tabla 1. Distribución por género

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje Válido	Porcentaje Acumulatvo
Género	Hombres	11	22.4	25.6	25.6
	Mujeres	32	65.3	74.4	100.0
	Total	43	87.8	100.0	
Faltantes	Sistema	6	12.2		
Total		49	100.0		

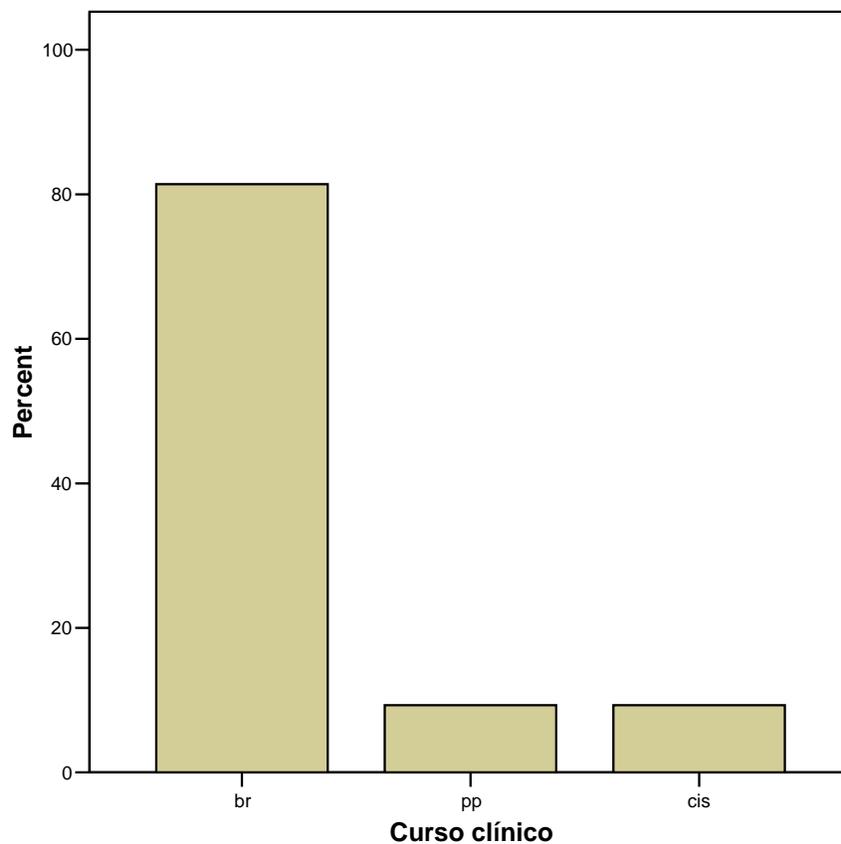


La edad promedio actual es de 35 años. La media de edad de aparición del primer síntoma atribuible a la enfermedad fue a los 28 años y la media de edad al momento del diagnóstico fue a los 29.76 años.

El tipo clínico más frecuente fue Brote Remisión (81%) Tabla 2.

Tabla 2. Curso clínico

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje Válido	Porcentaje Acumulativo
Valores	Br	35	71.4	81.4	81.4
	Pp	4	8.2	9.3	90.7
	Cis	4	8.2	9.3	100.0
	Total	43	87.8	100.0	
Faltantes	Sistema	6	12.2		
Total		49	100.0		

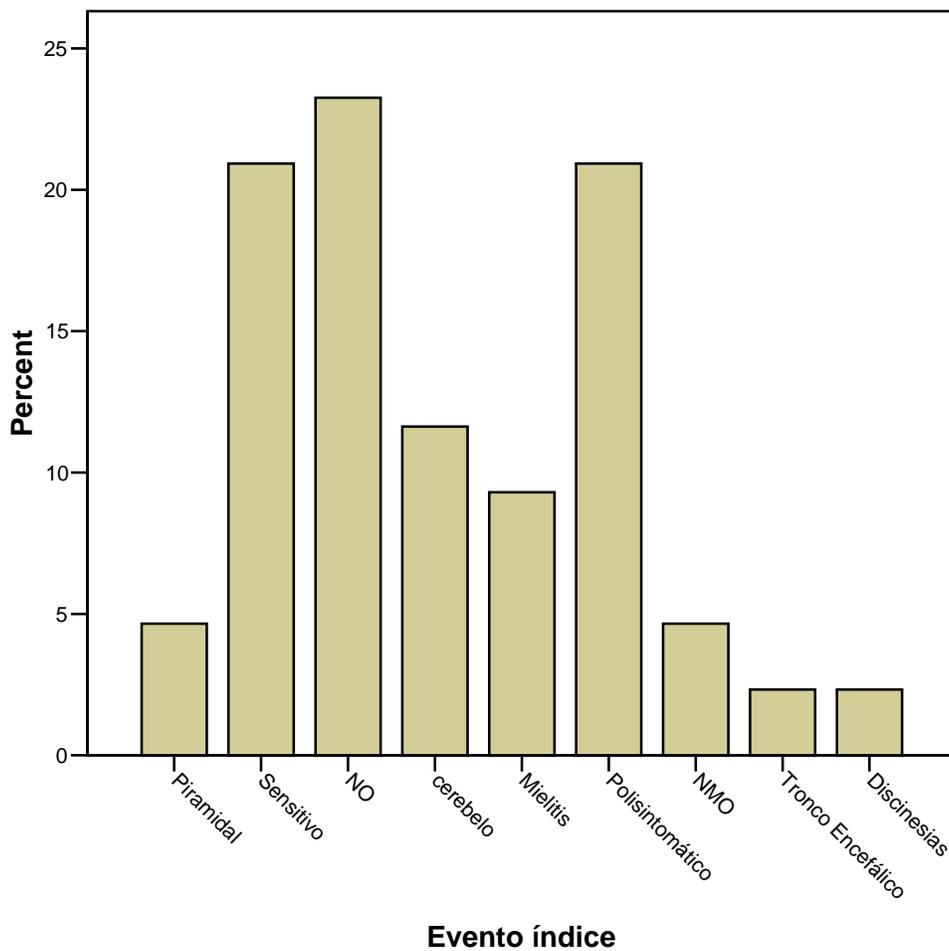


La Neuritis Óptica fue el evento índice más común, tabla 3.

Tabla 3. Evento índice

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje Válido	Porcentaje Acumulativo
Piramidal	2	4.1	4.7	4.7
Sensitivo	9	18.4	20.9	25.6
NO	10	20.4	23.3	48.8
cerebelo	5	10.2	11.6	60.5
Mielitis	4	8.2	9.3	69.8
Polisintomático	9	18.4	20.9	90.7
NMO	2	4.1	4.7	95.3

	Tronco	1	2.0	2.3	97.7
	Encefálico				
	Discinesias	1	2.0	2.3	100.0
	Total	43	87.8	100.0	
Faltantes	Sistema	6	12.2		
Total		49	100.0		

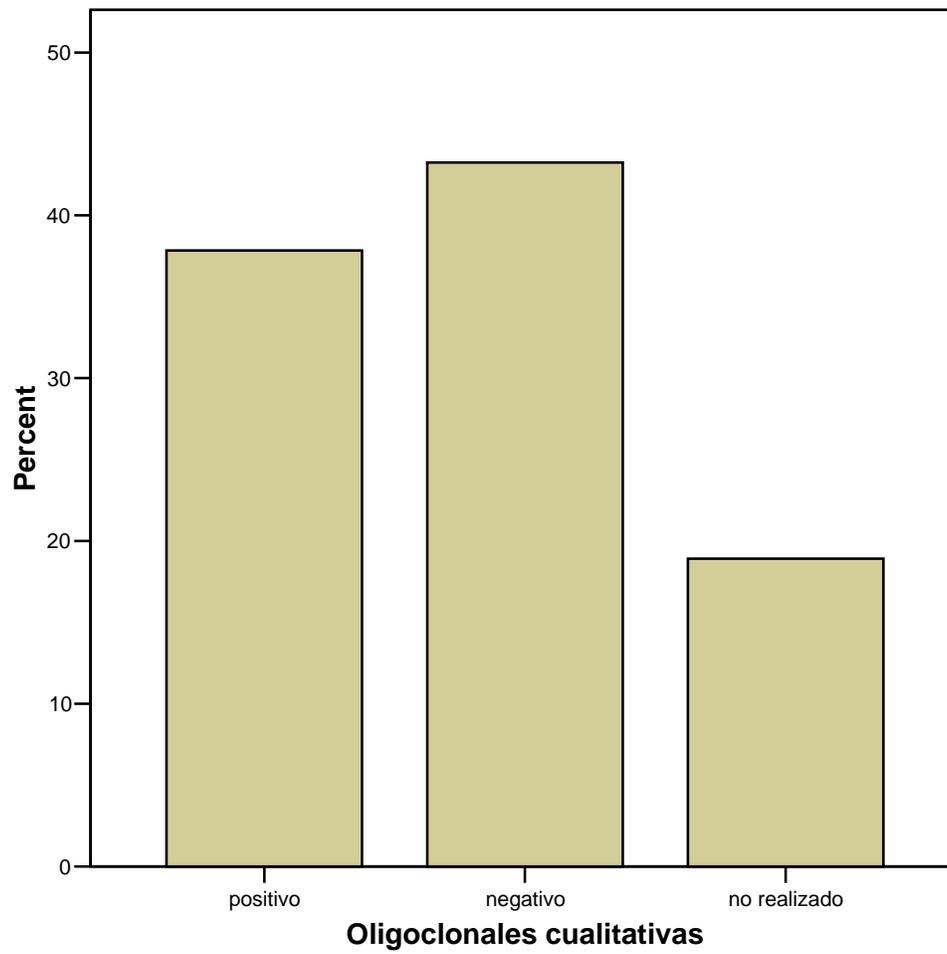


El promedio del tiempo de evolución de nuestros pacientes fue de 7.4 años desde el primer síntoma referido.

El 28% tuvieron Bandas oligoclonales presentes, tabla 4.

Tabla 4. Oligoclonales cualitativas

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje Válido	Porcentaje Acumulativo
Valid	positivo	14	28.6	37.8	37.8
	negativo	16	32.7	43.2	81.1
	no realizado	7	14.3	18.9	100.0
	Total	37	75.5	100.0	
Missing	System	12	24.5		
Total		49	100.0		



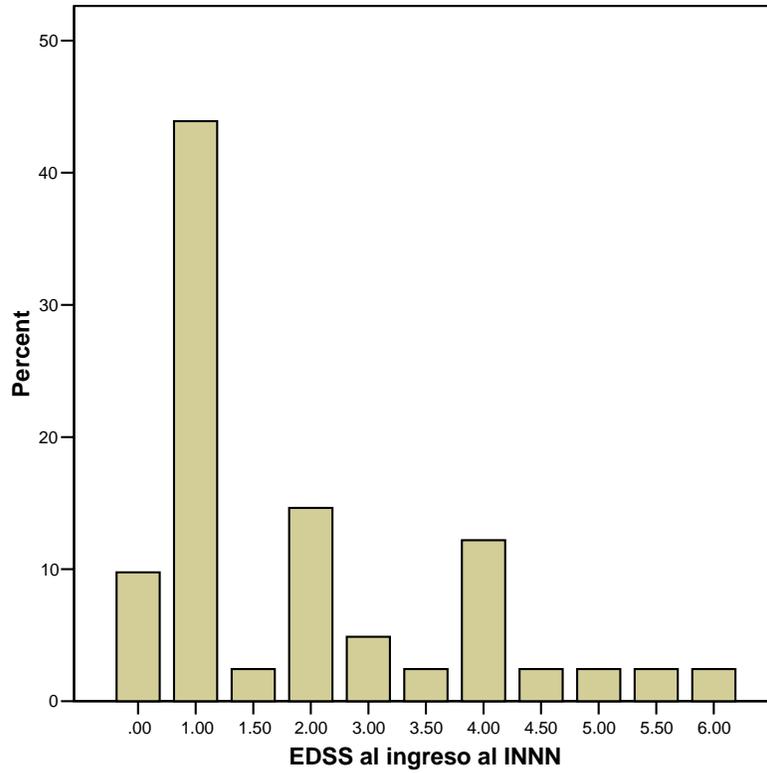
La media de EDSS al momento del diagnóstico fue de 2.0, tabla 5.

Tabla 5. Estadísticas descriptivas

	N	Mínimo	Maximo	Media	Desviación Estándar
EDSS al ingreso al INNN	41	.00	6.00	2.0000	1.59687
N	41				

EDSS al ingreso al INNN

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje Válido	Porcentaje Acumulativo
EDSS .00	4	8.2	9.8	9.8
1.00	18	36.7	43.9	53.7
1.50	1	2.0	2.4	56.1
2.00	6	12.2	14.6	70.7
3.00	2	4.1	4.9	75.6
3.50	1	2.0	2.4	78.0
4.00	5	10.2	12.2	90.2
4.50	1	2.0	2.4	92.7
5.00	1	2.0	2.4	95.1
5.50	1	2.0	2.4	97.6
6.00	1	2.0	2.4	100.0
Total	41	83.7	100.0	
Faltantes Sistema	8	16.3		
Total	49	100.0		



La mayoría de nuestros pacientes tiene un EDSS promedio final de 2, tabla 6.

Tabla 6. Estadísticas Descriptivas

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación Estándar
EDSS en la última visita	40	.00	8.50	2.1875	2.03712
Valid N	40				

EDSS en la última visita

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje Válido	Pocentaje Acumulativo
EDSS	.00	5	10.2	12.5	12.5
	1.00	12	24.5	30.0	42.5
	1.50	6	12.2	15.0	57.5
	2.00	3	6.1	7.5	65.0
	2.50	3	6.1	7.5	72.5
	3.00	1	2.0	2.5	75.0
	3.50	4	8.2	10.0	85.0
	4.00	2	4.1	5.0	90.0
	4.50	1	2.0	2.5	92.5
	6.50	1	2.0	2.5	95.0
	8.50	2	4.1	5.0	100.0
	Total	40	81.6	100.0	
Faltantes	Sistema	9	18.4		
Total		49	100.0		

Mediante el análisis estadístico bivariado, Correlación de Pearson. Considerando que los valores que se acercan a 1 significan una correlación positiva, es decir que entre mayor es el valor del anticuerpo mayor es el índice de progresión y los valores que se acercan a -1 refieren una correlación negativa, es decir que no hay relación entre el aumento del IP y los valores de los anticuerpos. Ninguno de los valores es significativo. Hallando sólo una tendencia positiva con los anticuerpos Anti Beta 2 GP-1 IgG tabla 7.

Tabla 7. Correlaciones

		Indice de Progresión	Anti DNA doble cadena U/ml	ANA patrón nuclear	ANA patrón citoplasmático	Anticardiolipina IgG UGPL/ml	Anticardiolipina IgM UMPL/ml	Anti beta 2 GP-1 IgG U/ml	Anti beta 2 GP-1 IgM U/ml
Indice de Progresión	Pearson Correlation	1	-.084	-.098	-.253	-.086	-.129	.079	.020
	Sig. (2-tailed)	.	.654	.601	.327	.630	.468	.695	.920
	N	39	31	31	17	34	34	27	27

* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Para corroborar nuestras correlaciones aplicamos Chi cuadrada.

	OCB >2	Anti DNAs <9.	AC IgG <11.5	AC IgM <4.4	Antiβ2 GP1 IgG <2.5	Antiβ2 GP1 IgM <3.4
RR / No RR	0.60	0.59	0.90	0.30	0.56	0.42
Mejor/ Peor	0.56	0.42	0.70	0.70	0.13	0.72

XI. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Mediante este análisis no encontramos variaciones significativas, sin embargo cabe mencionar que el 75% de los pacientes con Esclerosis Múltiple, a los cuales se les tomo Perfil Reumatológico, presentó mínimo 1 Anticuerpo positivo. El género más frecuente fue el femenino, como está descrito en la literatura, sin relación entre el género y la presencia de los anticuerpos. Notamos una tendencia de los anticuerpos anti beta 2 glicoproteína IgG a estar presentes en los pacientes con mayor EDSS, sin ser significativo.

Por lo que concluimos que la elevación de estos anticuerpos no tiene relación con la progresión de la enfermedad, podemos considerarlo un epifenómeno y así mismo consideramos que el pronóstico de la evolución de la enfermedad sigue siendo clínico.

ANEXO 1



INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA
MANUEL VELASCO SUÁREZ
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACION CLINICA

Insurgentes Sur 3877
Col. La Fama, C.P. 14269
Mexico, D.F., Tel. 56-06-14-07
www.innn.edu.mx
México D. F. a del 2007

DRA. ESPERANZA GARCÍA MENDOZA
DIRECTORA DE INVESTIGACIÓN
P R E S E N T E .

A fin de cumplir con lo que exige la **Ley General de Salud de México**, y el **Reglamento para Investigación Clínica del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez**, envío a usted en el formato oficial del INN y N, debidamente llenado, y firmado por los participantes el protocolo: Básico () Clínico (X) titulado:

Presencia de autoanticuerpos relacionados con otras enfermedades de tipo autoinmune en pacientes con Esclerosis Múltiple

¿Un epifenómeno ó influyen en la progresión de la Enfermedad?

Para ser evaluado de acuerdo con los **Principios Básicos Científicos** aceptados en las **Declaraciones sobre Investigación Biomédica en seres humanos**, de **Helsinki II en 1975**, **Venecia en 1983**, **Hong Kong en 1989**, **Sudáfrica 1996**, **Edimburgo 2000**, que señalan textualmente “el protocolo se remitirá a un comité independiente del investigador y de la entidad patrocinadora, para consideración, comentarios y asesoramiento”, en lo cual se basará la aprobación, en cuyo caso debe **informar trimestralmente del avance del estudio.**

A T E N T A M E N T E

Nombre y firma del Investigador Principal

ANEXO 2

CRITERIOS DE MCDONALD

Table 14.1. International Diagnostic Criteria for MS (McDONALD et al. 2001) (RRMS relapsing-remitting MS; CIS mono-symptomatic, clinically isolated syndrome consistent with demyelination; PPMS primary progressive MS)

Clinical evidence		MRI evidence required to support diagnosis of MS	
Clinical attacks ^a	Physical signs ^b	Dissemination in space ^c	Dissemination in time ^d
Two or more (RRMS)	Two or more	Not needed (but recommended)	Not needed
Two or more (RRMS)	One	Required	Not needed
One (CIS)	Two or more	Not needed	Required
One (CIS)	One	Required	Required
None (PPMS)	One	Required ^e (and positive CSF)	Not needed (but helpful)

^a Clinical attacks must be documented.

^b Positive visual evoked potentials (delayed but well-preserved wave form) can substitute for one abnormal physical sign.

^c MRI criteria for dissemination in space criteria in RRMS requires one of:

A. Two MRI lesions and positive CSF (oligoclonal IgG bands or elevated IgG index)
OR

B. Positive MRI by modified Barkhof criteria requires three of the following four criteria (one spinal cord lesion can substitute for one brain lesion, but a spinal cord lesion does not count as an infratentorial lesion):

One or more gadolinium-enhancing lesions OR nine or more T2 lesions

One or more infratentorial lesions

One or more juxtacortical lesions

Three or more periventricular lesions

^d MRI criteria for dissemination in time (Table 2).

^e Dissemination in space criteria for MRI in primary progressive MS (PPMS) requires positive CSF and one of:

Two or more spinal cord lesions

Three or more brain lesions and one spinal cord lesion and positive visual evoked potentials

Four or more brain lesions and one spinal cord lesion

Four or more brain lesions and positive VEPs

Nine or more T2 lesions (brain) only

McDonald W. Et al, Recommended Diagnostic Criteria for Multiple Sclerosis: Ann Neurol 2001; 50:121-7.

ANEXO 3 ESCALA DE KURTZKE

Tabla de EDSS (Escala Ampliada)

- 0.0=Exploración neurológica normal (todos grado 0 en los SF)
- 1.0=Sin discapacidad, signos mínimos en 1 SF (grado 1)
- 1.5=Sin discapacidad, signos mínimos en más de 1 SF (más de 1 SF grado 1)
- 2.0=Discapacidad mínima en 1 SF (un SF grado 2, otros 0 ó 1)
- 2.5=Discapacidad mínima en 2 SF (2 SF grado 2, otros 1 ó 0)
- 3.0=Discapacidad moderada en 1 SF (un SF grado 3, otros 0 ó 1) o discapacidad leve en tres o cuatro SF (tres o cuatro SF grado 2, otros 0 ó 1), aunque completamente ambulatorio
- 3.5=Completamente ambulatorio pero con discapacidad moderada en 1 SF (un SF grado 3) y uno o dos SF grado 2, o dos SF grado 3, o 5 SF grado 2 (otros 0 ó 1)
- 4.0=Ambulatorio, capaz de caminar sin ayuda o descanso unos 500 m.
- 4.5=Ambulatorio, capaz de caminar sin ayuda o descanso unos 300 m.
- 5.0=Ambulatorio, capaz de caminar sin ayuda o descanso unos 200 m.
- 5.5=Ambulatorio, capaz de caminar sin ayuda o descanso unos 100 m.
- 6.0=Necesidad de apoyo unilateral de forma constante o intermitente para caminar 100 con o sin descanso.
- 6.5=Necesidad de apoyo bilateral para caminar 20 m sin descanso.
- 7.0=Incapacidad de caminar más de 5 m aun con ayuda; esencialmente restringido a silla de ruedas, se autopropulsa y traslada solo.
- 7.5=Puede dar solamente unos pasos; restringido a silla de ruedas, precisa ayuda para desplazarse.
- 8.0=Esencialmente restringido a una cama o silla de ruedas. Puede estar levantado la mayor parte del día, retiene muchas funciones de autocuidado, generalmente mantiene uso efectivo de los miembros superiores.
- 8.5=Esencialmente restringido a una cama la mayor parte del día; mantiene parcialmente el uso de los miembros superiores, retiene algunas funciones de autocuidado.
- 9.0=Paciente encamado, puede comunicarse y comer.
- 9.5=Paciente encamado, incapaz de comunicarse y comer.
- 10=Fallecimiento debido a EM.

Se basa en una puntuación cuantitativa de 0 (normal) a 10 (fallecido) con intervalos de 0,50 de los llamados nueve sistemas funcionales.(3)

Tabla de EDSS (criterios)

1. Función piramidal

0 = Normal

1 = Signos anormales, sin discapacidad

2 = Discapacidad mínima

3 = Paraparesia leve o moderada, hemiparesia o monoparesia grave.

4 = Paraparesia o hemiparesia marcadas, cuadriparesia moderada o monoplejía

5 = Paraplejía, hemiplejía o cuadriparesia marcada

6 = Cuadriplejía

2. Función cerebelosa

0 = Normal

1 = Signos anormales, sin discapacidad

2 = Ataxia leve 2 = Dudas urinarias moderadas

3 = Ataxia moderada de tronco o miembros

4 = Ataxia grave en todos los miembros

5 = Incapaz de realizar movimientos coordinados debido a la ataxia

3. Función tronco cerebral

0 = Normal

1 = Sólo signos

2 = Nistagmo moderado u otra discapacidad leve

3 = Nistagmo grave, debilidad extraocular marcada o discapacidad moderada de otros pares craneales

4 = Disartria marcada

5 = Incapacidad para deglutir o hablar

4. Función sensitiva

0 = Normal

1 = Disminución de sensibilidad vibratorio o grafestésica en uno o dos miembros

2 = Disminución leve de sensibilidad táctil o dolorosa o posicional y/o disminución moderada de sensibilidad vibratorio en uno o dos miembros o disminución de sensibilidad vibratorio (o grafestesia) aisladas en tres o cuatro miembros

3 = Disminución moderada de sensibilidad táctil o dolorosa o posicional y/o disminución moderada de sensibilidad vibratorio en uno o dos miembros o disminución en tres o cuatro miembros o disminución leve de sensibilidad táctil o dolorosa y/o disminución moderada de todas las sensibilidades propioceptivas en tres o cuatro miembros

4 = Disminución marcada de sensibilidad táctil o dolorosa o propioceptiva, aislada o combinada en uno o dos miembros o disminución moderada de sensibilidad táctil o dolorosa y/o disminución grave de la sensibilidad propioceptiva en uno o más de dos miembros

5 = Pérdida (esencialmente) de sensibilidad en uno o dos miembros o disminución moderada de la sensibilidad táctil y dolorosa y/o pérdida de la sensibilidad propioceptiva en la mayor parte del cuerpo por debajo de la cabeza.

6 = Esencialmente pérdida de la sensibilidad por debajo de la cabeza.

5. Función intestino-vejiga

0 = Normal

1 = Leves dudas urinarias, urgencia o retención

2 = Dudas urinarias moderadas, urgencia, retención de heces u orina, incontinencia urinaria rara (autosondaje intermitente, compresión manual para evacuar la vejiga, evacuación digital de las heces)

3 = Incontinencia urinaria frecuente

4 = Necesidad de sondaje vesical prácticamente constante (y medidas constantes para evacuar las heces)

5 = Pérdida de la función vesical

6 = Pérdida de la función vesical e intestinal.

6. Función visual

0 = Normal

1 = Escotoma con agudeza visual (corregida) mejor de 20/30

2 = El ojo peor con escotoma con agudeza visual máxima (corregida) entre 20/30 y 20/59

3 = El ojo peor con un escotoma grande, o disminución moderada del campo visual, pero con agudeza visual máxima (corregida) entre 20/60 y 20/99

4 = El peor ojo con reducción marcada del campo visual y agudeza visual máxima (corregida) entre 20/100 y 20/200; grado 3 más agudeza visual máxima del mejor ojo de 20/60 o menor

5 = El peor ojo con agudeza visual máxima (corregida) menor de 20/200; grado 4 más agudeza visual máxima del mejor ojo de 20/60 o menor

6 = Grado 5 más agudeza visual máxima del mejor ojo de 20/60 o menor

7. Función mental

0 = Normal

1 = Alteración del estado de ánimo aislado (no afecta a la puntuación EDSS)

2 = Deterioro mental leve

3 = Deterioro mental moderado. Disminución

4 = Deterioro mental marcado

5 = Demencia o síndrome cerebral crónico

REFERENCIAS

1. Hafler D.A. et al, "Multiple Sclerosis", The journal of Clinical Investigation, 2004, Vol. 113; No 6, pp 788-794.
2. Ferreira S. Et al, "Multiple sclerosis, neuropsychiatric lupus and antiphospholipid syndrome:where do we stand?, Rheumatology 2005; 44: 434 - 442.
3. Mutiple Sclerosis 2006; 12: 24 – 38
4. Pittock SJ et al. "Myelin oligodendrocyte glycoprotein antibodies in pathologically proven multiple sclerosis: frecuency, stabilily an clinicopathologic correlations", Multiple Sclerosis, 2007; 13: 7-16.
5. Grigoriadis N. Et al. "Neuroinflammation in multiple sclerosis: Evidence for autoimmune dysregulation, not simple autoimmune reaction", Clinical Neurology and Neurosurgery, 2006;108: 241-244.
6. Chen Y, et al. "Regulatory T cell clones induced by oral tolerance: supression of autoimmune encephalomyelitis. Science 1994; 265: 1237-1240.
7. Reske D, et al. "Difficulties in the differentiation of chronic inflammatory diseases of the central nervous system – value of cerebrospinal fluid analysis and immunological abnormalities in the diagnosis", Acta Neurol Scand 2005: 112: 207-213.
8. Wandstrat A. E. Et al. "Autoantibody profiling to identity individuals at risk for systemic lupus erythematosus", Journal of Autoimmunity, 2006, 27: 153 -160.
9. Tourbah A. Et al. " Systemic Autoimmune Features and Multiple Sclerosis", Archives of Neurology, 1998; vol. 55: 517-521.
10. Sastre-Garriga J. Et al. " Anticardiolipin Antibodies Are Not a Useful Screening Tool in a Nonselected Large Group of Patients with Multiple Sclerosis", Annals of Neurology, 2001, volumen 49, No. 3: pp 408-411.
11. Sofat N. Et al. "Neurological involvement in patients with rheumatic diease", Q J Med 2006; 99: 69-79.
12. Brinar V.V. et al. "CNS demyelination in autoimmune disease", Clinical Neurology and Neurosurgery, 2006; 108: 318-326.
13. Cikes N. Et al. "Central nervous system involvement in systemic connective tissue diseases", Clinical Neurology and Neurosurgery 2006; 108: 311-317.
14. McDonald W. Et al, Recommended Diagnostic Criteria for Multiple Sclerosis: Ann Neurol 2001; 50:121-7.