





Universitat Autònoma de Barcelona

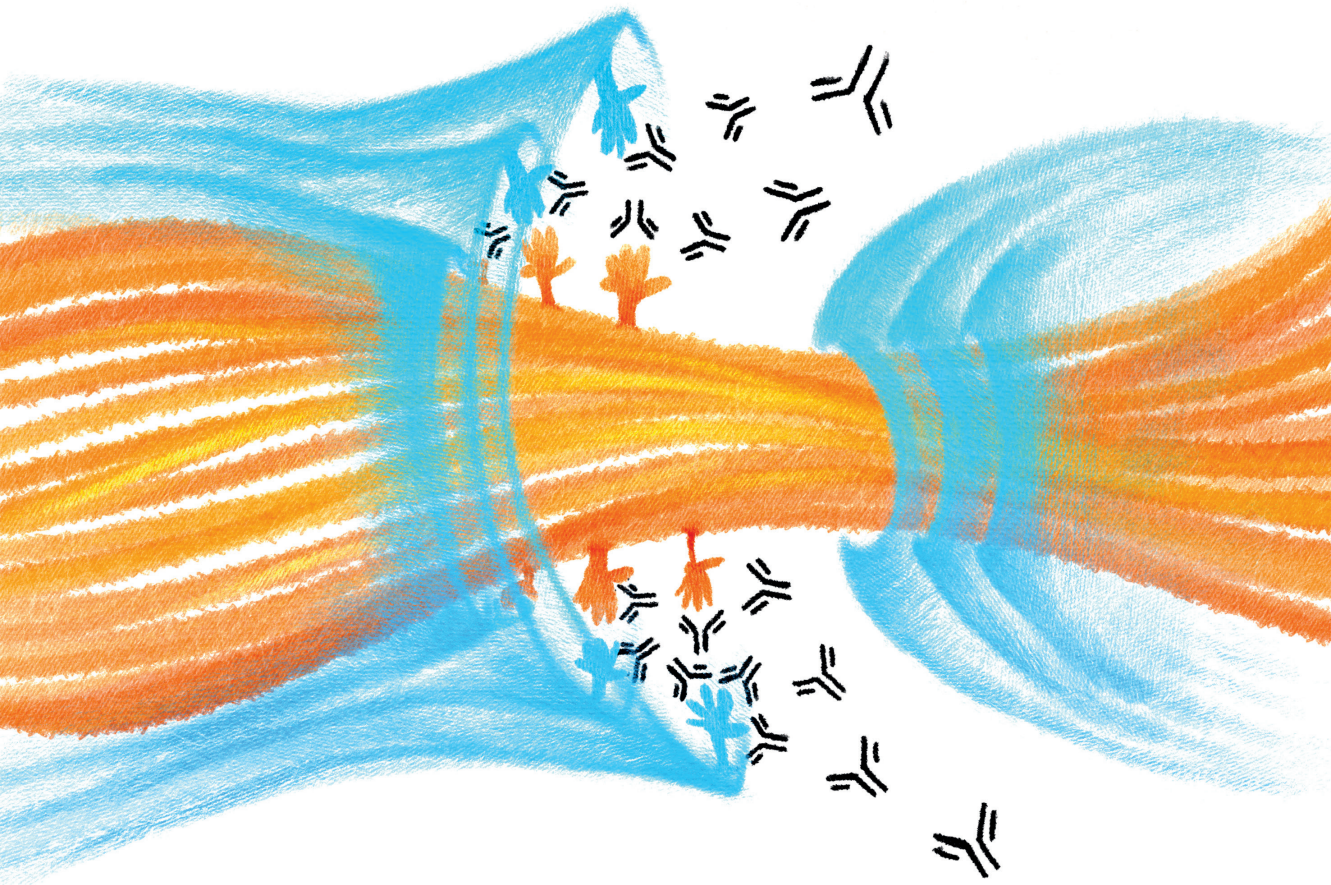
ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

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

**AUTOANTICUERPOS EN LAS
NEUROPATÍAS INMUNOMEDIADAS Y
CORRELACIONES CLINICOPATOLÓGICAS**



ELBA PASCUAL GOÑI

Barcelona 2021

UAB

Universitat Autònoma
de Barcelona

TESIS DOCTORAL

AUTOANTICUERPOS EN LAS NEUROPATÍAS INMUNOMEDIADAS Y CORRELACIONES CLINICOPATOLÓGICAS

Tesis presentada para optar al grado de Doctor

Doctoranda:

Elba Pascual Goñi

Director:

Dr. Luis Antonio Querol Gutiérrez

Tutora:

Dr. Isabel Illa Sendra

 **UNAB**

Universitat Autònoma
de Barcelona

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

Programa de Doctorado en Medicina
Departamento de Medicina

BARCELONA 2021

A mis padres, Pedro y Valentina

A Leyre

Esta tesis doctoral recoge el trabajo desarrollado durante tres años en la unidad de Neuromuscular de Sant Pau, donde he tenido la suerte de poder formarme y trabajar rodeada de expertos en neuromuscular, además de buenos compañeros y amigos. Me gustaría agradecer a todas las personas que han contribuido a la realización de esta tesis doctoral.

En primer lugar, gracias a Luis, por confiar en mí para formar parte de su equipo. Por haberme iniciado en la investigación, por haberme guiado durante estos años y por inspirarme para intentar llegar siempre hasta el final, en la clínica y en el laboratorio.

Gracias a Isabel por darme la oportunidad de formarme y realizar mi tesis doctoral en la unidad.

Gracias a Cinta, por enseñarme todo en el laboratorio. Gracias a Lorena, por hacer tan fácil compartir el trabajo en la clínica. Gracias a las dos por acompañarme en este camino, por apoyarme en los momentos difíciles y por enseñarme que lo más importante no es publicar, sino poder compartir un trabajo bien hecho entre compañeras y amigas.

Gracias a Nuria, por escucharme, ayudarme y enseñarme a entender mejor a los pacientes.

Gracias a Janina, Ricard, Jordi, Elena y Montse, por enseñarme y transmitirme vuestro entusiasmo por las enfermedades neuromusculares.

Gracias a Eduard, Noemí, Xavi y Fina, por vuestra ayuda desinteresada en el laboratorio.

I | AGRADECIMIENTOS

Gracias a Esther, Ana, Patricia, Sonia, David, Jorge y Rodrigo, por todos los buenos momentos dentro y fuera del laboratorio.

Gracias a Chema, por diseñar la ilustración de la portada de esta tesis.

Gracias a todas las personas que forman el servicio de Neurología de Sant Pau, al director del servicio, a los adjuntos, a los residentes y a las enfermeras, por formarme como neuróloga e inculcarme la búsqueda de la excelencia.

Gracias a mi familia, por su cariño y apoyo incondicional en este camino y siempre.

Gracias a los pacientes, por enseñarme tanto cada día, y porque sin ellos esta tesis no sería posible.

- B**
- BHN:** Barrera hemato-neural
- C**
- CAMs:** Moléculas de adhesión celular
- CANDA:** Neuropatía atáxica crónica con anticuerpos anti-disialosil
- CANOMAD:** Neuropatía atáxica crónica, oftalmoplejía, gammapatía monoclonal IgM, crioaglutininas y anticuerpos anti-disialosil.
- Caspr1:** Proteína asociada a Contactin 1
- CBA:** Ensayos basados en células
- CIDP:** Poliradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica
- CMAP:** Potencial de acción muscular compuesto
- CNTNAP1:** Gen que codifica Caspr1
- CNTN1:** Contactin 1
- CNTN2:** Contactin 2
- D**
- DADS:** Variante de CIDP desmielinizante adquirida distal simétrica
- DRG:** Ganglios raquídeos dorsales
- E**
- EAN:** Neuritis autoinmune experimental
- EFNS/PNS:** European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society
- ELISA:** Ensayo de inmunoabsorción asociado a enzima
- G**
- GM:** Gammapatía monoclonal
- GMSI:** Gammapatía monoclonal de significado incierto
- H**
- HEK:** Células embrionarias de riñón humano
- HNK1:** Human Natural Killer-1
- I**
- ICAM-1:** Molécula de adhesión intercelular-1
- IGEVS:** Inmunoglobulinas endovenosas
- L**
- LCR:** Líquido cefaloraquídeo
- M**
- MAC:** Complejo de ataque de membrana
- MADSAM:** Variante de CIDP multifocal adquirida desmielinizante sensitiva y motora
- MAG:** Glicoproteína asociada a la mielina
- MHC:** Complejo mayor de histocompatibilidad
- MMN:** Neuropatía motora multifocal
- mRs:** Escala modificada de Rankin
- N**
- NF140:** Neurofascina 140
- NF155:** Neurofascina 155
- NF186:** Neurofascina 186
- NOD:** Ratón diabético no obeso
- NrCAM:** Molécula de adhesión celular neuronal
- P**
- PMP22:** Proteína de la mielina periférica 22
- R**
- RM:** Resonancia magnética
- S**
- SC:** Célula de Schwann
- SGB:** Síndrome de Guillain-Barré
- SNC:** Sistema nervioso central
- SNP:** Sistema nervioso periférico

AGRADECIMIENTOS	5
ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS	9
RESUMEN	13
ABSTRACT	16
1. INTRODUCCIÓN	21
1.1. LOS NERVIOS PERIFÉRICOS	23
1.1.1. Anatomía de los nervios periféricos	23
1.1.2. Tipos de fibras nerviosas	24
1.1.3. Estructura de las fibras mielinizadas	25
1.1.3.1. Organización y función de los dominios axonales de las fibras mielinizadas	26
1.1.3.1.1. Nodos	26
1.1.3.1.2. Paranodos	28
1.1.3.1.3. Yuxtaparanodos	30
1.1.3.1.4. Internodos	31
1.1.4. La respuesta inmunitaria en el nervio periférico	31
1.1.4.1. La barrera hemato-neural (BHN)	32
1.1.4.2. Modelos animales en el estudio de la respuesta inmunitaria en el nervio periférico	33
1.1.4.3. Papel de las células de Schwann en la inflamación	37
1.2. LAS NEUROPATÍAS INMUNOMEDIADAS CRÓNICAS	38
1.2.1. Introducción y clasificación	38
1.2.2. Polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP)	39
1.2.2.1. Características clínicas de la CIDP	39
1.2.2.1.1. Variantes fenotípicas de la CIDP	39
1.2.2.1.2. Diagnóstico de la CIDP	41
1.2.2.2. Anatomopatología de la CIDP	43
1.2.2.3. Inmunopatogenia de la CIDP	45
1.2.2.3.1. Inmunidad celular en la CIDP	45
1.2.2.3.2. Inmunidad humoral y anticuerpos en la CIDP	47
1.2.2.3.2.1. Anticuerpos contra proteínas de la mielina y los gangliósidos	48
1.2.2.3.2.2. Anticuerpos contra proteínas del nodo de Ranvier	50
1.2.2.3.2.2.1. Anticuerpos anti-contactin1	50
1.2.2.3.2.2.2. Anticuerpos anti-neurofascin155	52
1.2.2.3.2.2.3. Anticuerpos anti-neurofascin nodal	54
1.2.2.3.2.2.4. Anticuerpos contra Caspr1 y contra el complejo Caspr1/CNTN1	55
1.2.2.3.2.2.5. Patogenicidad de los anticuerpos contra proteínas paranodales	57
1.2.3. Neuropatía asociada a gammapatía monoclonal (GM)-IgM	59
1.2.3.1. La GM en las neuropatías periféricas	59
1.2.3.2. Características clínicas de la neuropatía asociada a GM-IgM	61
1.2.3.3. Inmunopatogenia de la neuropatía asociada a GM-IgM	61
1.2.3.3.1. Anatomopatología de la neuropatía asociada a GM-IgM	61
1.2.3.3.2. Anticuerpos contra la glicoproteína asociada a la mielina (MAG)	62
1.2.3.3.2.1. Patogenicidad de los anticuerpos anti-MAG	64
1.2.4. Relevancia clínica de la detección de autoanticuerpos en los pacientes con neuropatías inmunomediadas crónicas	65

2. HIPÓTESIS	67
2.1. HIPÓTESIS GENERAL	69
2.2. HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	69
2.2.1. Anticuerpos anti-MAG	69
2.2.2. Anticuerpos anti-Caspr1/CNTN1	69
3. OBJETIVOS	71
3.1. OBJETIVO PRINCIPAL	73
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	73
3.2.1. Anticuerpos anti-MAG	73
3.2.2. Anticuerpos anti-Caspr1/CNTN1	73
4. COMPENDIO DE PUBLICACIONES	75
4.1. ARTÍCULO 1.	77
4.2. ARTÍCULO 2.	87
5. RESUMEN GLOBAL DE LOS RESULTADOS	113
6. RESUMEN GLOBAL DE LA DISCUSIÓN	121
7. CONCLUSIONES	127
8. LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN FUTURAS	131
9. BIBLIOGRAFÍA	135

La reciente descripción de autoanticuerpos patogénicos contra proteínas de la mielina y del nodo/paranodo de Ranvier en pacientes con polirradiculoneuropatía inflamatoria desmielinizante crónica (CIDP) ha revelado la existencia de distintos subtipos de enfermedad con mecanismos patogénicos diferentes que se traducen en fenotipos clínicos específicos y una respuesta selectiva a los tratamientos inmunomoduladores. A pesar de estos avances, solo se detectan autoanticuerpos en aproximadamente el 15% de los pacientes con CIDP.

Clinical and laboratory features of anti-MAG neuropathy without monoclonal gammopathy.

Elba Pascual-Goñi, Lorena Martín-Aguilar, Cinta Lleixà, Laura Martínez-Martínez, Manuel J. Simón-Talero, Jordi Díaz-Manera, Elena Cortés-Vicente, Ricard Rojas-García, Esther Moga, Cándido Juárez, Isabel Illa & Luis Querol.

Los anticuerpos contra la glicoproteína asociada a la mielina (MAG) aparecen casi invariablemente en el contexto de una neuropatía asociada a gammapatía monoclonal IgM. Se han reportado muy pocos casos de neuropatía anti-MAG sin gammapatía monoclonal IgM asociada. La detección de anticuerpos anti-MAG en pacientes que cumplen criterios diagnósticos de CIDP puede tener implicaciones diagnósticas, terapéuticas y pronósticas.

En este estudio investigamos la presencia de anticuerpos anti-MAG en 69 pacientes que cumplían los criterios diagnósticos EFNS/PNS de CIDP y que no tenían gammapatía monoclonal IgM detectable en el momento del diagnóstico. Los anticuerpos anti-MAG se testaron mediante ELISA y se confirmaron mediante inmunohistoquímica. Recopilamos datos clínicos, neurofisiológicos y de laboratorio de los pacientes anti-MAG positivos.

Identificamos cuatro (5,8%) pacientes con anticuerpos anti-MAG sin gammapatía monoclonal IgM detectable. Todos presentaron un cuadro progresivo con síntomas predominantemente sensitivos, ataxia y/o temblor. En dos de ellos se detectó gammapatía monoclonal IgM a los 3 y 4 años de seguimiento coincidiendo con un aumento de los títulos de anticuerpos anti-MAG.

Conclusión: El estudio de anticuerpos anti-MAG debe considerarse en pacientes con neuropatía desmielinizante crónica, incluso en ausencia de gammapatía monoclonal IgM detectable, pues su detección puede tener implicaciones en el pronóstico y manejo terapéutico de estos pacientes.

Antibodies to the Caspr1/contactin-1 complex in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy

Elba Pascual-Goñi, Janev Fehmi, Cinta Lleixà, Lorena Martín-Aguilar, Jérôme Devaux, Romana Höftberger, Emilien Delmont, Kathrin Doppler, Claudia Sommer, Aleksandar Radunovic, Alejandra Carvajal, Shane Smyth, Laura Williams, Radim Mazanec, Veronika Potočková, Nigel Hinds, Julien Cassereau, Karine Viala, Mathilde Lefilliatre, Guillaume Nicolas, Peter Foley, Frank Leypoldt, Stephen Keddie, Michael P. Lunn, Fritz Zimprich, Vharoon Sharma Nunkoo, Wolfgang N. Löscher, Laura Martínez-Martínez, Jordi Díaz-Manera, Ricard Rojas-Garcia, Isabel Illa, Simon Rinaldi & Luis Querol.

Estudios previos han descrito las características clínico-patológicas de pacientes con CIDP y anticuerpos contra las proteínas paranodales neurofascina-155, contactina-1 (CNTN1), proteína asociada a contactina-1 (Caspr1). Estos anticuerpos son útiles para el diagnóstico y manejo terapéutico de estos pacientes. Los anticuerpos contra Caspr1 o contra el complejo Caspr1/CNTN1 se han descrito en muy pocos pacientes con CIDP.

Mediante ensayos basados en células (CBA) utilizados en rutina asistencial identificamos sueros de 15 pacientes con CIDP que mostraban una fuerte reactividad

de membrana cuando tanto CNTN1 y Caspr1 se co-transfectaban (pero no cuando CNTN1 se transfectaba de forma aislada).

La prevalencia de anticuerpos anti-Caspr1/CNTN1 fue del 1,9% (1/52) en la cohorte de CIDP de Sant Pau y del 4,3% (1/23) en una cohorte alemana de CIDP de inicio agudo. Todos los pacientes cumplieron con los criterios diagnósticos EFNS/PNS definitivos de CIDP. Siete (47%) fueron diagnosticados inicialmente de síndrome de Guillain-Barré debido a un inicio agudo-subagudo. Seis (40%) pacientes tenían afectación de pares craneales, ocho (53%) dolor neuropático y 12 (80%) ataxia. Los estudios electrofisiológicos mostraron afectación axonal temprana. No se observó una respuesta completa a los tratamientos de primera línea, mientras que la mayoría (90%) respondió bien al rituximab. El ELISA y la inmunohistoquímica de preparaciones de fibras nerviosas confirmaron la reactividad contra el complejo paranodal Caspr1/CNTN1. También se detectó una reactividad más débil contra células transfectadas solo con Caspr1 en 10 de 15 (67%). Los sueros de 13 de estos pacientes fueron testados mediante ELISA. Las 13 muestras reaccionaron contra Caspr1 por ELISA y esta reactividad aumentó cuando al ELISA de Caspr1 se le añadía CNTN1. En el estudio de subclases de IgG mediante ELISA la subclase predominante fue IgG4 en 10 pacientes, mientras que IgG3 fue predominante en otros tres pacientes.

Conclusión: Los pacientes con anticuerpos contra el complejo Caspr1/CNTN1 presentan características serológicas y clínicas similares y constituyen un subgrupo definido dentro del síndrome de la CIDP. Es probable que estos anticuerpos se dirijan principalmente contra Caspr1 ya que se detectan mediante el ELISA realizado con Caspr1 como sustrato, pero la reactividad es óptima cuando se añada CNTN1 a Caspr1 tanto en CBA como en ELISA. En los laboratorios diagnósticos debería realizarse rutinariamente una confirmación con Caspr1/CNTN1 CBA o inmunohistoquímica.

The recent description of pathogenic autoantibodies against myelin and nodal/paranodal proteins in patients with chronic demyelinating inflammatory polyradiculoneuropathy (CIDP) has revealed the existence of disease subtypes with diverse pathogenic mechanisms leading to specific clinical phenotypes and a selective response to immunomodulatory treatments. Despite these advances, autoantibodies are only detected in approximately 15% of patients with CIDP.

Clinical and laboratory features of anti-MAG neuropathy without monoclonal gammopathy.

Elba Pascual-Goñi, Lorena Martín-Aguilar, Cinta Lleixà, Laura Martínez-Martínez, Manuel J. Simón-Talero, Jordi Díaz-Manera, Elena Cortés-Vicente, Ricard Rojas-García, Esther Moga, Cándido Juárez, Isabel Illa & Luis Querol.

Antibodies against myelin-associated glycoprotein (MAG) almost invariably appear in the context of an IgM monoclonal gammopathy associated neuropathy. Very few cases of anti-MAG neuropathy lacking IgM-monoclonal gammopathy have been reported. Detection of anti-MAG antibodies in patients fulfilling CIDP diagnostic criteria may have diagnostic, therapeutic and prognostic implications.

In this study we investigated the presence of anti-MAG antibodies in 69 patients fulfilling diagnostic criteria for chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP). Anti-MAG antibodies were tested by ELISA and confirmed by immunohistochemistry. We collected clinical, neurophysiological and laboratory data of anti-MAG positive patients.

We identified four (5.8%) anti-MAG positive patients without detectable IgM-monoclonal gammopathy. All patients presented with progressive sensory disturbances, ataxia and/or tremor. In two of them, IgM-monoclonal gammopathy was detected at 3 and 4-year follow-up coinciding with an increase in anti-MAG antibodies titers.

Conclusion: Anti-MAG antibody testing should be considered in patients with chronic demyelinating neuropathy, even if IgM-monoclonal gammopathy is not detectable, since its detection may have implications in the prognosis and therapeutic management of these patients

Antibodies to the Caspr1/contactin-1 complex in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy

Elba Pascual-Goñi, Janev Fehmi, Cinta Lleixà, Lorena Martín-Aguilar, Jérôme Devaux, Romana Höftberger, Emilien Delmont, Kathrin Doppler, Claudia Sommer, Aleksandar Radunovic, Alejandra Carvajal, Shane Smyth, Laura Williams, Radim Mazanec, Veronika Potočková, Nigel Hinds, Julien Cassereau, Karine Viala, Mathilde Lefilliatre, Guillaume Nicolas, Peter Foley, Frank Leypoldt, Stephen Keddie, Michael P. Lunn, Fritz Zimprich, Vharoon Sharma Nunkoo, Wolfgang N. Löscher, Laura Martínez-Martínez, Jordi Díaz-Manera, Ricard Rojas-Garcia, Isabel Illa, Simon Rinaldi & Luis Querol.

Previous studies have described the clinical, serological and pathological features of patients with CIDP and antibodies directed against the paranodal proteins neurofascin-155, contactin-1 (CNTN1), contactin-associated protein-1 (Caspr1). Such antibodies are useful for diagnosis and, potentially, for treatment selection. However, antibodies targeting Caspr1-only or the Caspr1/CNTN1 complex have been reported in very few CIDP patients.

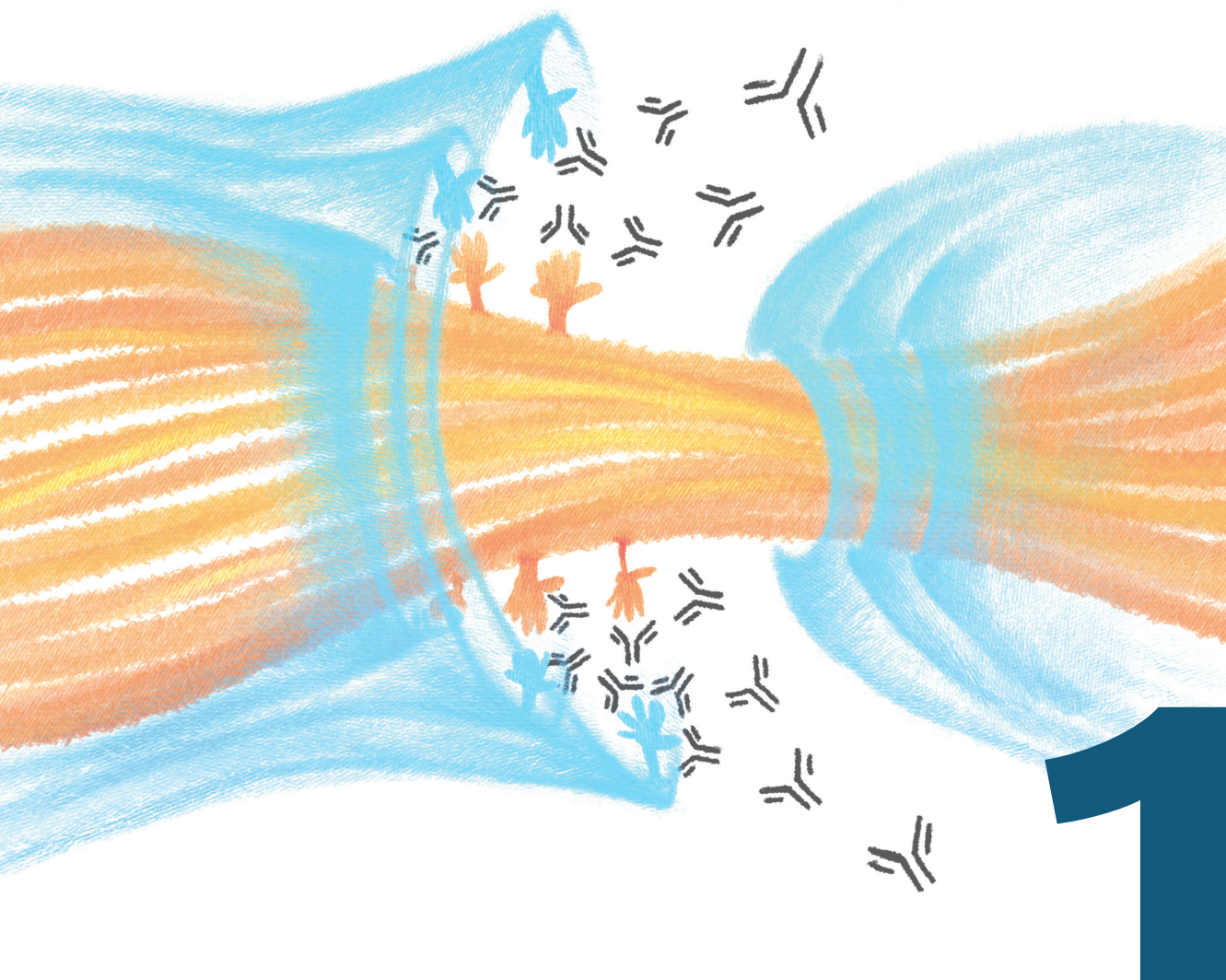
Using cell-based assays (CBAs) in routine clinical testing, we identified sera from 15 CIDP patients showing strong membrane reactivity when both CNTN1 and Caspr1 were co-transfected (but not when CNTN1 was transfected alone).

The prevalence of anti-Caspr1/CNTN1 antibodies was 1.9% (1/52) in the Sant Pau CIDP cohort, and 4.3% (1/23) in a German cohort of acute-onset CIDP. All patients fulfilled EFNS/PNS definite diagnostic criteria for CIDP. Seven (47%) were initially

diagnosed with GBS due to an acute-subacute onset. Six (40%) patients had cranial nerve involvement, eight (53%) reported neuropathic pain and 12 (80%) ataxia. Early axonal involvement was frequent in electrophysiological studies. Complete response to first line treatments was not observed, while most (90%) responded well to rituximab. ELISA and teased-nerve fibre immunohistochemistry confirmed reactivity against the paranodal Caspr1/CNTN1 complex. Weaker reactivity against Caspr1 transfected alone was also detected in 10/15 (67%). Sera from 13 of these patients were available for testing by ELISA. All 13 samples reacted against Caspr1 by ELISA and this reactivity was enhanced when CNTN1 was added to the Caspr1 ELISA. IgG subclasses were also investigated by ELISA. IgG4 was the predominant subclass in 10 patients, while IgG3 was predominant in other three patients.

Conclusion: Patients with antibodies to the Caspr1/CNTN1 complex display similar serological and clinical features and constitute a single subgroup within the CIDP syndrome. These antibodies likely target Caspr1 primarily and are detected with Caspr1-only ELISA, but reactivity is optimal when CNTN1 is added to Caspr1 in CBA and ELISA. Confirmation with the Caspr1/CNTN1 CBA or immunohistochemistry should be routine in diagnostic laboratories.

Introducción



1.1. LOS NERVIOS PERIFÉRICOS

Los nervios periféricos forman el sistema nervioso periférico (SNP), junto con los ganglios raquídeos dorsales (que contienen somas neuronales), los pares craneales, las raíces nerviosas, los nervios raquídeos, y las terminaciones nerviosas especializadas. Desde el punto de vista funcional el sistema nervioso se clasifica en somático y autónomo. El SNP conduce los impulsos nerviosos entre el sistema nervioso central (SNC) (formado por el cerebro y la médula espinal) y los tejidos y órganos. El sistema nervioso somático incluye vías eferentes motoras y aferentes sensitivas para la inervación de todo el organismo excepto de las vísceras, el músculo liso y las glándulas. El sistema nervioso autónomo o vegetativo incluye vías eferentes involuntarias (al músculo liso, al corazón y a las glándulas) y vías aferentes que conducen el dolor y los reflejos autónomos (desde las vísceras).

1.1.1. Anatomía de los nervios periféricos

Los nervios periféricos están compuestos por fibras nerviosas formadas por la asociación de axones y células de Schwann (SC). Los axones son prolongaciones neuronales especializadas en la conducción de impulsos eléctricos. Éstos contienen microtúbulos, neurofilamentos, mitocondrias y orgánulos implicados en el transporte axonal. Las SC son las células gliales del SNP. Éstas envuelven los axones y tiene funciones de protección y soporte metabólico del axón, y además contribuyen en los procesos de conducción nerviosa. Existen dos tipos de SC, las amielínicas (también llamadas células de Remak) que se asocian a los axones de pequeño diámetro (fibras no mielinizadas o amielínicas) y las SC mielinizantes que forman la mielina que rodea a los axones de mayor diámetro (formando las fibras mielinizadas).

Las fibras nerviosas están protegidas por varias capas de tejido conectivo: endoneuro, perineuro y epineuro. El endoneuro es un tejido conectivo rico en colágeno

1 | INTRODUCCIÓN

y matriz extracelular que rodea cada fibra nerviosa individual y contiene fibroblastos, macrófagos, linfocitos y pequeños vasos sanguíneos. A su vez, varias fibras nerviosas forman un fascículo que está rodeado por perineuro. Éste es un tejido conectivo especializado que forma una barrera hemato-neural (BHN) que mantiene el medio iónico de las fibras nerviosas, realiza el intercambio metabólico entre los vasos sanguíneos y el endoneuro, y tiene funciones protectoras impidiendo el paso de células de sistema inmunitario. Por último, varios fascículos forman un nervio periférico que está rodeado por el epineuro, un tejido conectivo denso que alberga los capilares que irrigan los nervios (vasa nervorum).

1.1.2. Tipos de fibras nerviosas

Tipo de fibra	Función	Diámetro (μm)	Mielina	Velocidad (m/s)
A α	Propiocepción (huso muscular, órgano tendinoso de Golgi) Motora eferente (extrafusal)	12-20	Sí	70-120
A β	Tacto, presión, vibración	5-12	Sí	30-70
A γ	Motora eferente (intrafusal)	3-6	Sí	15-30
A δ	Dolor (rápido), temperatura, tacto	2-5	Sí	5-30
B	Autonómica (preganglionar)	<3	Sí	3-15
C	Dolor (lento), temperatura, mecanoreceptores, autonómica (postganglionar)	0.2-1.5	No	1-2

Tabla 1: Clasificación Erlanger y Gasser de los tipos de fibras nerviosas.
Adaptado de Marani¹.

Existen diferentes tipos de fibras nerviosas con características morfológicas y funcionales propias. Éstas se pueden clasificar en base a diferentes: **1:** mielinizadas o no mielinizadas, **2:** somáticas o autonómicas, **3:** motoras o sensitivas, **4:** diámetro (**Tabla 1**). Existe una relación directa entre el diámetro de las fibras y la velocidad de conducción: a mayor diámetro, mayor velocidad de conducción. Las fibras mielinizadas gruesas (A α) y medianas (A β , A γ) conducen información somática motora, de presión, propiocepción y tacto. Las fibras mielinizadas finas (A δ , B) y las fibras no mielinizadas (C) se encargan de la transmisión de la temperatura, el dolor y la información autonómica aferente y eferente.

Las fibras amielínicas son cuatro veces más frecuentes que las mielinizadas². Su diámetro está comprendido entre 0.1-3 μm . Pueden localizarse a través de todo el fascículo nervioso pero se sitúan preferentemente contiguas a las fibras mielinizadas finas. Los axones de las fibras no mielinizadas están englobados en el citoplasma de las SC no mielinizadas (células de Remak) formando los haces de Remak (Remak bundles en inglés). Las fibras mielinizadas están formadas por axones rodeados por las vainas de mielina de las SC. El grosor de la vaina de mielina es proporcional al diámetro del axón. Según su diámetro las fibras se clasifican en gruesas (diámetro 8-20 μm) y finas (diámetro 2-6 μm)².

1.1.3. Estructura de las fibras mielinizadas

A diferencia del SNC, en el SNP cada SC proporciona la mielina a un único axón. La mielina es una sustancia multilaminar producida por modificaciones estructurales y bioquímicas de la membrana plasmática de las SC. Ésta contiene fosfolípidos, glicolípidos (cerebrósidos, sulfátidos y gangliósidos) y colesterol. Las proteínas de la mielina más importantes a nivel fisiológico y clínico son: las glicoproteínas P0 (principal componente de la mielina compacta), P1, P2, la proteína de la mielina periférica (PMP)-22, y la glicoproteína asociada a la mielina (MAG)². Cada segmento formado por el axón y la vaina de mielina compacta de una SC se denomina internodo. La longitud de los internodos varía entre 20 y 2.000 μm ; los de las fibras gruesas son 3 veces más largos que los de las finas². Las interrupciones periódicas de la vaina de mielina en pequeñas regiones donde empalman dos internodos adyacentes se denominan nodos de Ranvier (**Figura 1**)³.

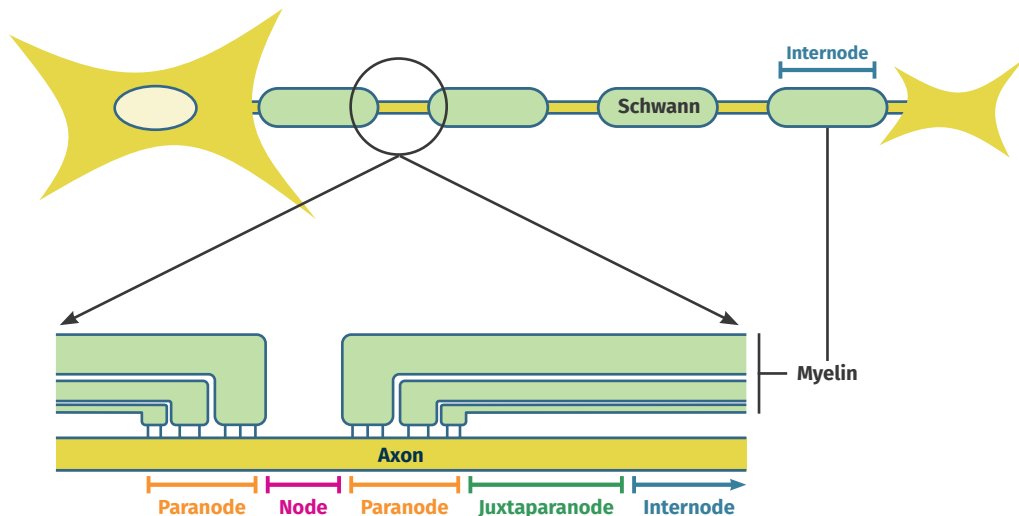


Figura 1: Representación de las regiones nodales especializadas en una fibra nerviosa mielinizada. *Adaptada de Fehmi et al*⁴.

1.1.3.1. Organización y función de los dominios axonales de las fibras mielinizadas

Los axones mielinizados se organizan en una serie de dominios formados por interacciones axogliales complejas que configuran nodo y a sus regiones adyacentes: los paranodos y yuxtaparanodos (**Figura 1**). Esta organización es fundamental para la capacidad de estas fibras de conducir los impulsos nerviosos de forma saltatoria. Los potenciales de acción generados en el segmento inicial del axón se propagan gracias a los nodos de Ranvier, lo que resulta en un mecanismo de propagación de impulsos mucho más rápido y energéticamente eficiente que el observado en fibras no mielinizadas⁵.

1.1.3.1.1. Nodos

Los nodos de Ranvier (**Figura 2**) son pequeños dominios axonales (de 1µm de largo) en los que, en contraste con los segmentos internodales, la membrana axonal no está envuelta por mielina⁶. En el SNP las microvellosidades de las SC cubren estos dominios nodales⁵.

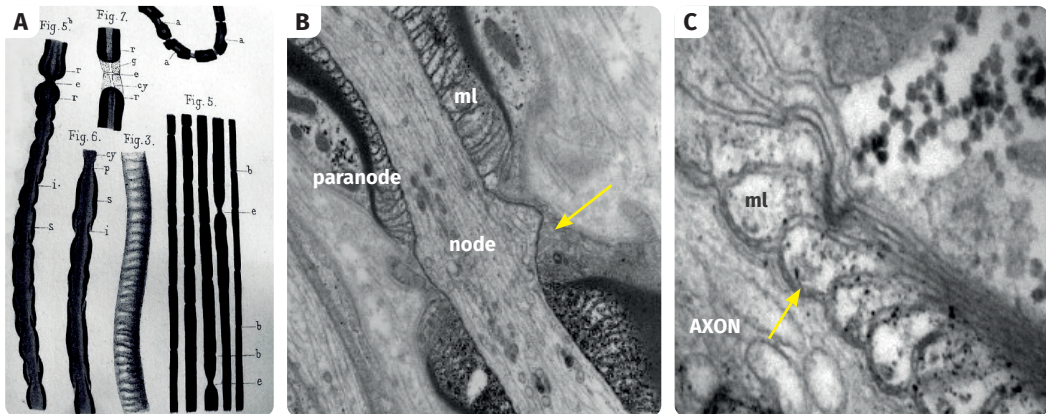


Figura 2: Nodo de Ranvier.

A: Dibujos originales de nervio ciático teñidos con nitrato de plata por Louis-Antoine Ranvier en su descripción de las “constricciones anulares” en las fibras mielinizadas que hoy denominamos nodos de Ranvier. *Leçons sur l’Histologie du Système Nerveux* (1878)³.
B, C: Vista longitudinal obtenida con microscopía electrónica de un nodo de Ranvier de un nervio sural humano normal. **B:** A nivel del nodo se observan microvellosidades señaladas con una flecha, mientras que el paranodo se caracteriza por bucles de mielina (ml). **C:** En el paranodo a mayor aumento se observan las bandas transversales (señaladas con una la flecha) localizadas en la unión axo-glial entre el axón y la mielina paranodal. *Adaptada de Vallat*⁷.

El principal componente de los nodos de Ranvier son los canales de sodio voltaje dependientes (Nav1.6), responsables de la propagación saltatoria rápida de los potenciales de acción a lo largo de las fibras mielinizadas⁸. En la superficie axonal también se expresan canales de potasio voltaje dependientes (Kv7.2/7.3) que estabilizan el potencial de reposo evitando las descargas repetitivas⁹. Estos canales están anclados al axón a través de la proteína ankirina G que a su vez se une a la proteína del citoesqueleto β IV espectrina⁵. Además, se expresan moléculas de adhesión celular (CAMs) que actúan como puente entre las SC y el citoesqueleto axonal para estabilizar el dominio nodal. Éstas son la molécula de adhesión celular neuronal (NrCAM) y la isoforma de neurofascina de 186 kDa (NF186), que se unen a la gliomedina, una proteína de matriz extracelular expresada por las microvellosidades de las SC (**Figura 2 B**)⁵.

1.1.3.1.2. Paranodos

Los nodos de Ranvier están flanqueados por las regiones paranodales que están formadas por una serie de bucles de mielina que contactan con el axolema (**Figura 2B**). Los paranodos contienen uniones axo-gliales especializadas que, mediante microscopía electrónica, tienen la apariencia de regiones densas (denominadas “bandas transversales”) (**Figura 2 C**) y que se localizan en el espacio entre la membrana de los bucles paranodales y la membrana axonal¹⁰. Estas uniones estrechas aíslan el nodo de Ranvier (rico en canales de sodio) del yuxtaparanodo (rico en canales de potasio) y son clave para la propagación saltatoria del impulso nervioso¹¹.

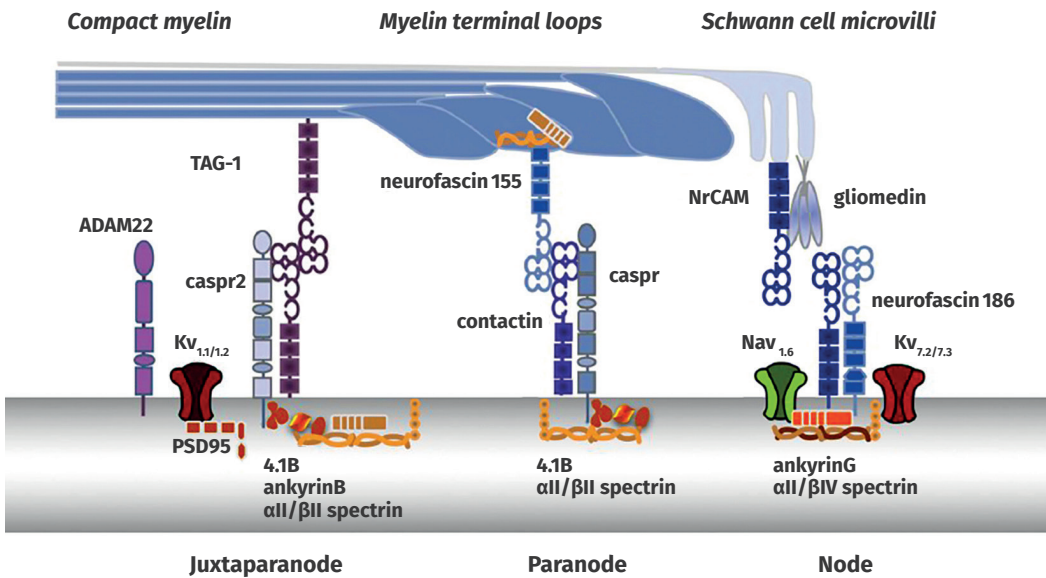


Figura 3: Composición molecular del nodo de Ranvier en el SNP.

La figura muestra la estructura y los componentes moleculares clave del nodo de Ranvier. Las moléculas de adhesión celular (CAMs) nodales (NF186 y NrCAM), paranodales (NF155, contactin1 y caspr1) y yuxtaparanodales (contactin2 o TAG1 y Caspr2) median las uniones axogliales. Los canales iónicos Nav_{1.6}, Kv_{7.2/7.3} y Kv_{1.1/1.2} median la propagación del potencial de acción. Las CAMs y los canales iónicos están anclados al citoesqueleto mediante proteínas como las ankirinas y espectrinas, que difieren en el nodo y paranodo. *Imagen adaptada de Favre-Sarrailh et al. 2020*¹².

Las uniones axo-gliales paranodales están constituidas por el complejo axonal formado por contactin 1 (CNTN1) y la proteína asociada a la contactin 1 (Caspr1) en el lado axonal y la isoforma de 155 kDa de neurofascina (NF155) en el lado glial ¹³⁻¹⁵ (**Figura 3**). CNTN1 es una CAM de la superfamilia de inmunoglobulinas que se une a la membrana neuronal por un anclaje GPI. Caspr1 es una glicoproteína transmembrana relacionada con las neurexinas. Caspr1 y CNTN1 forman un complejo que se une a la proteína citoesquelética axonal 4.1B a través de Caspr1 ¹⁴⁻¹⁸. El transporte de Caspr1 a la membrana axonal depende de su co-expresión con CNTN1 ^{16,17,19}. Por otro lado, la glicosilación de CNTN1 (con N-glicanos ricos en manosa) se produce en presencia de Caspr1, lo que determina que el complejo Caspr1/CNTN1 se pueda unir a NF155 ¹⁹. Los dominios Ig5-6 de NF155 son necesarios para su unión con CNTN1 y, a la inversa, los sitios de N-glicosilación en el dominio Ig5 de CNTN1 están implicados en la interacción con NF155 ¹². De hecho, la ablación de genes que codifican las proteínas CNTN1, Caspr1 o NF155 en modelos animales provoca la desorganización de las uniones paranodales y enlentecimiento de las velocidades de conducción nerviosa periférica ^{14,17,20}. Mutaciones en el gen CNTN1 causan una miopatía congénita letal ²¹, mientras que las mutaciones en el gen NFASC causan un trastorno de neurodesarrollo y neuropatía desmielinizante ²². Mutaciones del gen que codifica Caspr1 (CNTNAP1) son causantes de neuropatía hipomielinizante congénita con artrogriposis letal ²³. Estos pacientes presentan una marcada reducción en la velocidad de conducción en las neurografías motoras. En la biopsia de nervio se aprecia una pérdida moderada de fibras mielinizadas y la microscopía electrónica muestra una ausencia de bandas transversales paranodales; y presencia de procesos citoplasmáticos elongados que penetran y disocian las uniones axogliales paranodales (**Figura 4**) ²⁴.

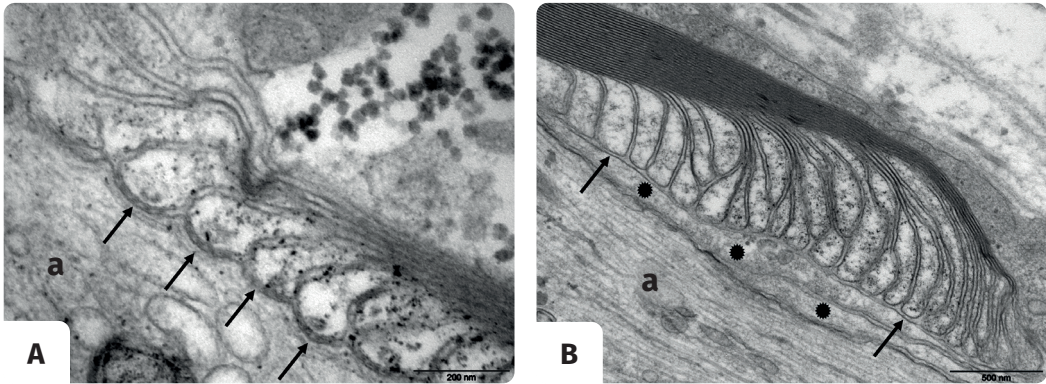


Figura 4: Biopsia del nervio sural de un paciente con mutación en CNTNAP1 (microscopía electrónica, corte longitudinal).

A: Región paranodal de un nervio normal en el que se observan las bandas transversales (**flechas**) y el axón (**a**). **B:** Ausencia de bandas transversales (**flechas**) en un paciente con mutación en CNTNAP1 lo que da como resultado un ensanchamiento del espacio de unión paranodal; y aparición de procesos citoplasmáticos elongados (*) que disocian y penetran la unión axo-glial entre el axón (**a**) y los bucles de mielina paranodales. *Adaptada de Vallat*²⁴.

Por último, MAG, una molécula de adhesión de la superfamilia de inmunoglobulinas, también se expresa en la membrana de los bucles paranodales de las SC (además de en el internodo) y regula su espaciado²⁵.

1.1.3.1.3. Yuxtaparanodos

Adyacentes a los paranodos, en la interfaz entre el internodo y el paranodo, en el espacio entre la vaina de “mielina compacta” y el axón, se encuentran los yuxtaparanodos. En la membrana axonal yuxtaparanodal se agrupan los canales de potasio rectificadores tardíos (principalmente Kv1.1/1.2), que se encargan de la repolarización. Éstos se asocian a Caspr2, una proteína neuronal que es estructuralmente similar a Caspr1¹². En la membrana axonal Caspr2 forma un complejo con contactin 2 (CNTN2) (también conocida como glicoproteína axonal transitoria-1: TAG1) que, a su vez, se une a la CNTN2 glial expresada en la membrana de las SC conformando una unión axón-glial²⁶ (**Figura 3**).

1.1.3.1.4. Internodos

Los internodos están principalmente formados por la vaina de “mielina compacta”, que está rodeada por el citoplasma y las membranas de las SC²⁷. La membrana interior (o periaxonal, que se opone a la superficie del axón) se denomina adaxonal y la exterior (en contacto con el espacio extracelular endoneural) abaxonal. En el interior de la mielina compacta aparecen regiones de “mielina no compacta”, llamadas incisuras de Schmidt-Lanterman, que contienen citoplasma de las SC que conecta mediante canales las regiones adaxonales y abaxonales. El núcleo de la SC se encuentra englobado y dispuesto en paralelo al eje de la fibra. Un conjunto distinto de moléculas de adhesión media las interacciones entre el axón y las SC a lo largo del internodo. Entre éstas se encuentran las moléculas de adhesión celular similares a nectina (Necl) y las moléculas de adhesión celular sináptica (SynCAM)⁵. MAG también se expresa a nivel del internodo, en concreto en la membrana periaxonal, en el mesaxón exterior y, a mayor concentración, en las incisuras de Schmidt-Lanterman²⁵. MAG participa en las interacciones entre las SC y el axón, y se ha relacionado con el inicio de la mielinización²⁸.

La integridad estructural y funcional de los diferentes dominios axonales y sus estructuras relacionadas es clave para la correcta transmisión del impulso nervioso. Su alteración puede provocar una disfunción patológica de los nervios periféricos.

1.1.4. La respuesta inmunitaria en el nervio periférico

En el SNP tiene lugar una respuesta inmunitaria especializada que ofrece protección y es capaz de eliminar la inflamación en el tejido. En ella intervienen varios elementos: la BHN, las SC y las células de sistema inmunitario entre las que se incluyen los linfocitos y los macrófagos²⁹. Sin embargo, si los mecanismos de tolerancia inmunológica fallan, las células del sistema inmunitario pueden activarse contra autoantígenos expresados por el nervio periférico dando lugar a una neuropatía inmunomediada³⁰.

1.1.4.1. La barrera hemato-neural (BHN)

El nervio periférico está protegido por una BHN (equivalente a la barrera hema-to-encefálica del SNC aunque con menor capacidad aislante) que lo convierte en un sistema “inmuno-privilegiado”. La BHN (**Figura 5**) es una interfaz entre el microambiente endoneural y el espacio extracelular circundante y la sangre, que se localiza en la capa más interna del perineuro y en los microvasos endoneurales³¹. Esta estructura controla el medio interno del parénquima de los nervios periféricos y restringe la entrada de células inmunitarias y factores humorales nocivos. Aunque la BHN evita que las células inmunitarias migren aleatoriamente al SNP, el nervio periférico está bajo vigilancia inmune constante por los linfocitos y macrófagos³². De hecho, los ganglios de las raíces dorsales, las raíces espinales y las termina-ciones nerviosas carecen de las propiedades de la BHN por lo que son especial-mente vulnerables a la entrada de factores humorales o celulares. La ruptura de la BHN es uno de los primeros eventos en los modelos animales de las neuropatías inmunomediadas³². También se han reportado anomalías morfológicas de las células endoteliales que constituyen la BHN en pacientes con neuropatías inmuno-mediadas³³.

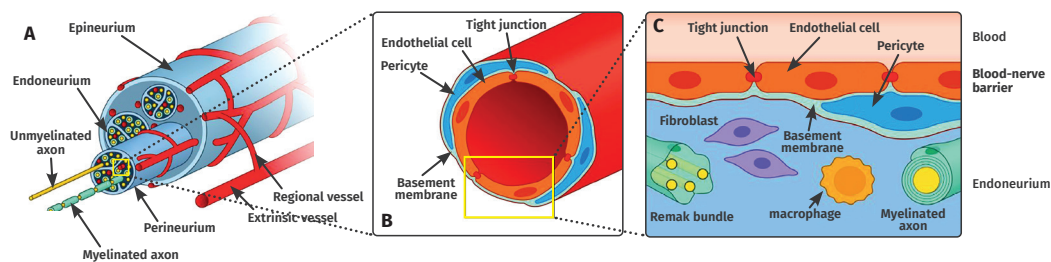


Figura 5: Barrera hemato-neural (BHN).

A: Visión transversal de un nervio periférico envuelto por epineuro. Cada fascículo está rodeado por perineuro y contiene fibras nerviosas (axones amielínicos y mielinizados) y pequeños vasos sanguíneos, englobados en el endoneuro. **B:** Vaso sanguíneo endoneural individual rodeado por células endoteliales, pericitos y la membrana basal. **C:** Estructura celular de la BHN, formada por células endoteliales que están conectadas por uniones estrechas, pericitos y una membrana basal. La barrera está expuesta a células y moléculas que circulan por el torrente sanguíneo y su función es proteger de los factores nocivos a los componentes del endoneuro (fibras nerviosas, Remak bundles, macrófagos residentes y fibroblastos). *Adaptada de Richner et al.*³⁴.

1.1.4.2. Modelos animales en el estudio de la respuesta inmunitaria en el nervio periférico

El conocimiento del funcionamiento del sistema inmunitario en el SNP parte de las observaciones anatomopatológicas en pacientes con neuropatías y en los modelos animales. Éstos últimos permiten estudiar los mecanismos patogénicos y nuevas estrategias terapéuticas en estas enfermedades.

Existen modelos animales de neuropatías inmunomediadas agudas y crónicas³⁵. La neuritis autoinmune experimental (EAN) fue el primer modelo de neuropatía inflamatoria³⁶. Éste se ha convertido en el modelo más utilizado en el estudio del síndrome de Guillain-Barré (SGB) (**Figura 6A**). La inducción del modelo se logra inmunizando roedores (ratas Lewis) con homogeneizados de mielina periférica, proteínas de la mielina (como P0 o PMP22) o péptidos derivados de la mielina³⁵. La inmunización conduce a una respuesta monofásica aguda mediada por linfocitos T que se dirigen contra la mielina. Esta respuesta se inicia cuando las células T autorreactivas reconocen un autoantígeno específico presentado por las células presentadoras de antígeno (APC) en el compartimento inmunológico sistémico. Los linfocitos T activados cruzan la BHN y generan una respuesta inmunitaria dentro del SNP. Activan los macrófagos y la producción de citoquinas proinflamatorias que amplifican la respuesta inmunitaria atrayendo a más células inflamatorias. Los macrófagos activados dañan la mielina mediante fagocitosis y secreción de mediadores proinflamatorios, dando lugar a una desmielinización multifocal de predominio perivenular²⁹. Como en la EAN, el SGB presenta un inicio agudo y un curso monofásico que, en algunos casos, se desencadena por la exposición a proteínas o epítomos microbianos. En estos pacientes se pueden observar infiltrados en el SNP de células mononucleares y destrucción de mielina mediada por células de sistema inmunitario. Por todo ello, la EAN es un modelo animal útil para el estudio del SGB aunque no reproduce todos los aspectos de la enfermedad humana.

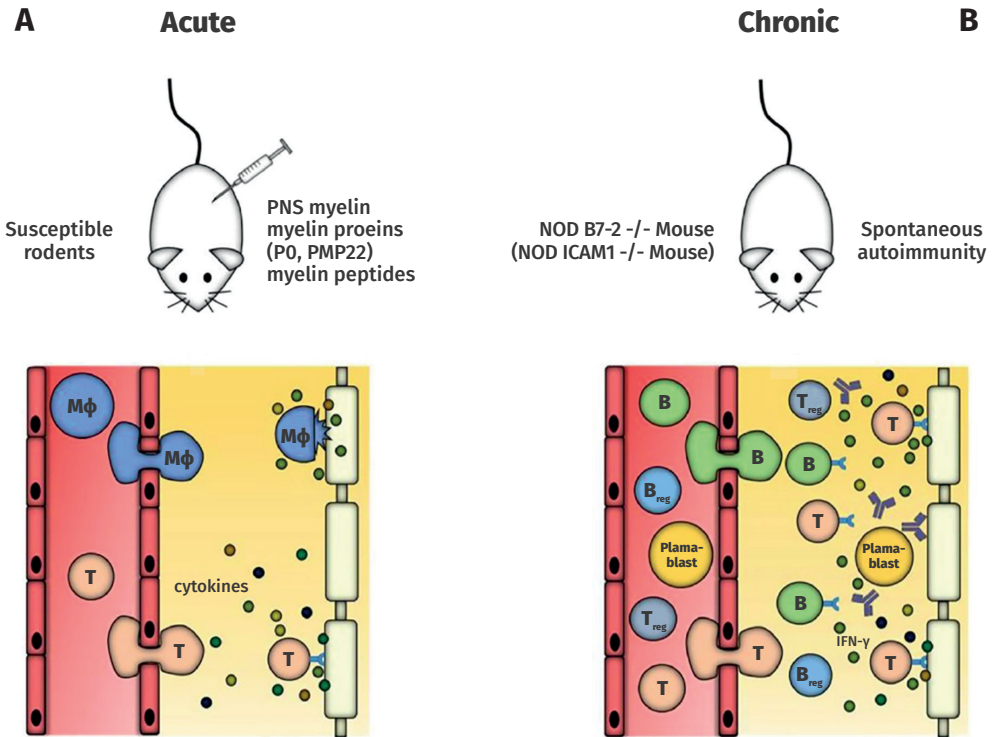


Figura 6: Modelos animales de neuropatías inmunomediadas agudas y crónicas.

A: La neuritis autoinmune experimental (EAN) es el modelo animal de las formas agudas como SGB. **B:** Los modelos de ratón NOD B7-2 -/- y NOD ICAM1 -/- desarrollan neuritis espontánea desmielinizante crónica similar a la CIDP en humanos.

Adaptada de Schafflick et al³⁷.

Se han desarrollado diferentes modelos animales de neuropatías inmunomediadas crónicas que intentan reproducir la naturaleza progresiva crónica de la polirradiculoneuropatía inflamatoria desmielinizante crónica (CIDP). Inicialmente se intentaron inducir modelos de EAN recurrente crónica como el de la rata Lewis inmunizada con mielina y tratada con dosis bajas de ciclosporina-A, o mediante la transferencia repetida de células T reactivas a la proteína P2³⁵.

Modelos más recientes se basan en la cepa de ratón diabético no obeso (NOD), que es propenso a desarrollar autoinmunidad (**Figura 6B**). Estos modelos presentan defectos en los mecanismos de tolerancia central y periférica hacia el SNP que llevan al desarrollo de neuropatías inmunomediadas crónicas (**Figura 7**).

En uno de estos modelos la eliminación de la molécula de coestimulación B7-2 (CD86) previene la diabetes, pero provoca el desarrollo espontáneo de una polineuropatía progresiva crónica desmielinizante con infiltrados mononucleares compuestos por células dendríticas, linfocitos T CD4 y T CD8³⁸. Este proceso está mediado por linfocitos T helper-1 reactivos a la proteína de la mielina P0³⁹. Además los linfocitos B parecen tener un papel importante en el desarrollo de la neuropatía⁴⁰. Los plasmablastos y los linfocitos B reactivos a P0 están aumentados en el bazo de estos ratones y la depleción de células B CD19+ mejora los síntomas de la enfermedad. La falta de B7-2 podría provocar un déficit de linfocitos reguladores T y B (Tregs y Bregs) encargados de suprimir la autoinmunidad espontánea. Estos hallazgos sugieren que la ausencia de B7-2 en las células dendríticas previene la inducción de tolerancia periférica al antígeno P0 por una disminución de Tregs. Además, la transferencia de Tregs, pero no de Bregs, controla la progresión de la neuropatía en estos ratones⁴¹. Por tanto, las Tregs parecen jugar un papel importante en los mecanismos de tolerancia periférica al SNP⁴². Otro mecanismo de tolerancia periférica implicado en el desarrollo de neuropatía en los modelos NOD es el eje de señalización de la molécula de muerte programada 1 (PD-1) y su ligando PDL-1, que en condiciones normales inhiben la respuesta de las células T en la periferia. El modelo de ratón NOD.H-2b. PD-1^{-/-} que carece de PD-1 también desarrolla autoinmunidad del SNP⁴³. Por otro lado, se han reportado casos de neuropatías inmunomediadas como un efecto secundario de las terapias con anticuerpos anti-PD-1 utilizadas en el tratamiento del cáncer⁴⁴. Estos hallazgos sugieren que el bloqueo de PD-1 puede romper la tolerancia inmunitaria hacia el SNP.

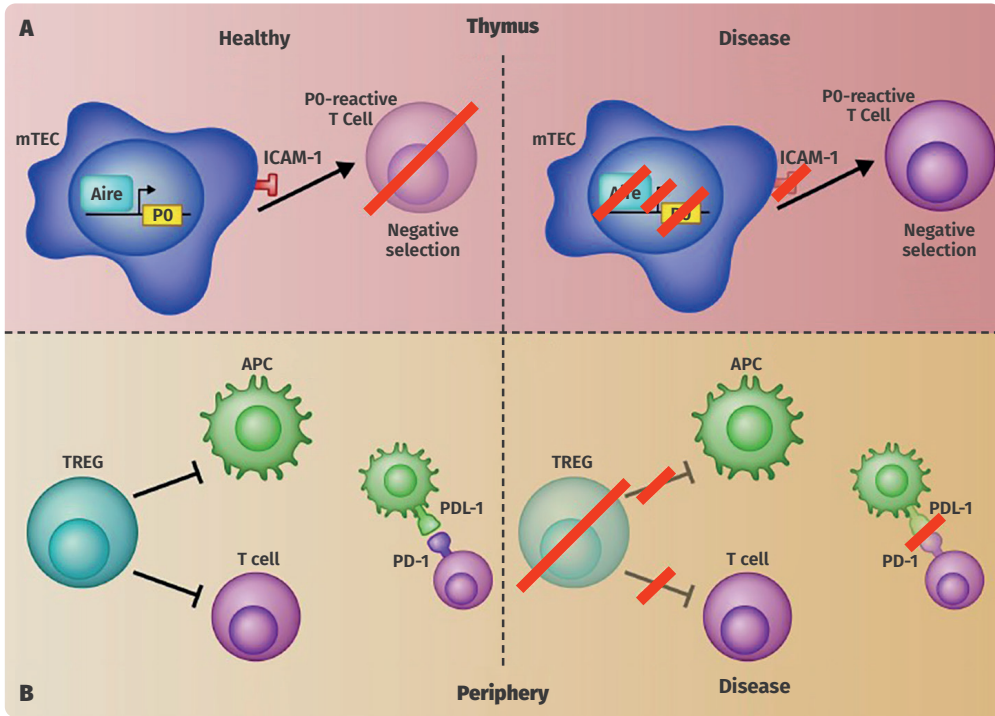


Figura 7: Representación esquemática de los mecanismos de tolerancia importantes para prevenir la autoinmunidad y los mecanismos patogénicos que desencadenan neuropatías autoinmunes crónicas en modelos animales.

A: En un estado fisiológico las células T reactivas a P0 se someten a una selección negativa. En el timo, Aire controla la expresión de antígenos específicos de tejido, como P0, y el reconocimiento de estos antígenos por los linfocitos T en desarrollo conduce a su selección negativa. En los modelos animales de CIDP, la disminución de la expresión de Aire o ICAM-1 conduce a la pérdida de la selección negativa que da como resultado el escape de células T autorreactivas hacia el compartimento periférico. **B:** Los mecanismos de tolerancia periférica incluida la actividad inmunosupresora de las células T reguladoras (Treg) y las interacciones de PD-1/PDL-1 también se han implicado en la prevención de la autoinmunidad del SNP. *Adaptada de Wolbert et al*⁴².

Los mecanismos de tolerancia central también se han relacionado con el desarrollo de las neuropatías inmunomediadas crónicas. Los ratones NOD con pérdida parcial de la función del gen Aire por la mutación G228W (NOD AireGW/+) desarrollan una neuropatía comparable a la CIDP. En condiciones normales Aire induce la expresión de miles de autoantígenos en las células epiteliales tímicas. El reconocimiento de estos autoantígenos en los linfocitos T autorreactivos conduce a su selección negativa o conversión en linfocitos Tregs. Este proceso de tolerancia

central evita la liberación de linfocitos T autorreactivos en la periferia y un posterior desarrollo de autoinmunidad. En los ratones NOD AireGW/+, la pérdida parcial de la función del gen Aire conduce a una reducción expresión de P0 en el timo que resulta en un escape a la selección negativa en el timo de los linfocitos T autorreactivos que reconocen P1⁴⁵. Éstos tienen un aumento de los linfocitos específicos de P0 en la periferia y autoanticuerpos que reconocen P0. Los pacientes con mutaciones de Aire desarrollan un síndrome autoinmune multiorgánico que incluye un fenotipo similar a la CIDP. En resumen, Aire podría jugar un papel importante en el control de la tolerancia inmune del SNP, tanto en ratones como en humanos. Por otro lado, la molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1) también actúa como molécula coestimuladora y participa en los mecanismos de tolerancia central del SNP. Los ratones NOD ICAM-1^{tm1cgr} presentan una expresión alterada de ICAM-1 en el epitelio tímico⁴⁶ que previene la diabetes pero provoca una neuropatía autoinmune crónica. Linfocitos TCD4+ autorreactivos a P0 infiltran el SNP junto con los macrófagos y las células B. Estos ratones presentan un aumento de linfocitos T productores de IL-17 sin alteraciones en los linfocitos Tregs. El trasplante de células tímicas estromales de ratones NOD ICAM-1^{tm1cgr} es suficiente para provocar autoinmunidad del SNP en receptores atímicos, induciendo un aumento de las células TCD4+ autorreactivas específicas de P0 en la periferia. Todos estos hallazgos implican defectos en la tolerancia central hacia P0 en el desarrollo de respuestas autoinmunes aberrantes contra el SNP⁴².

1.1.4.3. Papel de las células de Schwann en la inflamación

Las SC participan en las respuestas inmunitarias innata y adaptativa. Éstas expresan una cantidad de receptores de reconocimiento de patrones (PRRs) que les permite reconocer señales de peligro tanto exógenas como endógenas. Entre estos receptores del sistema inmunitario innato se encuentran miembros de la familia receptores tipo Toll (TLR)⁴⁷, de la familia de receptores tipo dominio de oligomerización de unión a nucleótidos (NLR) y otros miembros de reconocimiento

1 | INTRODUCCIÓN

de patrones más clásicos⁴⁸. La estimulación de estos receptores da como resultado la activación del factor nuclear-kappa B (NF-κB). Tras ser activadas, las SC contribuyen en la iniciación de la respuesta inmunitaria local mediante la producción de citoquinas proinflamatorias como IL-1β, IL-6, factor de necrosis tumoral (TNF)⁴⁹ y quimiocinas como la proteína quimioatrayente de monocitos-1⁵⁰. También producen óxido nítrico y moléculas de adhesión celular como ICAM-1⁵¹, que ayudan a amplificar la respuesta atrayendo a otras células como los macrófagos. Por otro lado, para prevenir la sobreactivación de la respuesta inmune, las SC producen la citocina antiinflamatoria IL-10 que inhibe la síntesis de citoquinas⁵². Además, las SC actúan como células presentadoras de antígeno locales gracias a la expresión de los complejos mayores de histocompatibilidad de clase I y II, y así contribuyen a la reactivación de los linfocitos T en el nervio periférico⁵³. En resumen, las SC interactúan con otras células inmunitarias contribuyendo a dar forma a las respuestas que pueden desencadenar las neuropatías autoinmunes⁴⁸. Y además, éstas tienen un papel principal en la evolución de la enfermedad ya que la capacidad de regeneración nerviosa del SNP después de un daño depende de ellas en gran medida^{54,55}.

1.2. LAS NEUROPATÍAS INMUNOMEDIADAS CRÓNICAS

1.2.1. *Introducción y clasificación*

Las neuropatías inmunomediadas son un grupo heterogéneo de enfermedades raras del SNP. Estas neuropatías se clasifican según su curso clínico en formas agudas, principalmente el SGB, y formas crónicas, entre las que se incluyen la CIDP, las neuropatías asociadas a gammapatía monoclonal (GM) y la neuropatía motora multifocal (MMN). Aunque la patogenia de estas enfermedades no se conoce bien, los hallazgos anatomopatológicos y la respuesta a tratamientos inmunomoduladores apoyan la etiología autoinmune. En ellas la respuesta inmunitaria se dirige contra estructuras del SNP, y en concreto los mecanismos humorales y los anticuerpos parecen tener un papel clave en su desarrollo.

1.2.2. Polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP)

1.2.2.1. Características clínicas de la CIDP

La CIDP es una categoría diagnóstica que engloba al grupo de neuropatías inmunomediadas crónicas más prevalente, con una prevalencia de entre 1 a 8 casos por 100.000 habitantes⁵⁶⁻⁵⁸. Su variante clásica se caracteriza por un déficit sensitivo-motor en las cuatro extremidades y evidencia electrofisiológica o histológica de desmielinización⁵⁸. Su curso clínico puede ser progresivo o en brotes y la instauración dura al menos 8 semanas, lo que la diferencia del SGB, que es monofásico y normalmente alcanza su punto máximo (nadir) en 3-4 semanas. Sin embargo, hasta el 16% de los pacientes con CIDP presentan un inicio agudo que puede llevar a un diagnóstico inicial de SGB⁵⁹. La CIDP es una enfermedad tratable. Los tratamientos inmunomodulares de primera elección son las inmunoglobulinas endovenosas (IGEV), los corticoides y la plasmaféresis⁶⁰. Sin embargo, muchos pacientes presentan discapacidad a pesar de estos tratamientos y es necesario recurrir a fármacos de segunda línea como inmunosupresores clásicos o rituximab. El diagnóstico de la CIDP se basa en unos criterios clínicos y electrofisiológicos⁶⁰ amplios, creados fundamentalmente para facilitar la detección de neuropatías susceptibles de tratamiento inmunomodulador, que condicionan una importante variabilidad en la forma de presentación, en los fenotipos clínicos y en la respuesta farmacológica y que sugieren una heterogeneidad en los mecanismos patogénicos subyacentes dentro del espectro CIDP. Es preciso conocer mejor la inmunopatogenia de la CIDP para mejorar el manejo clínico de los pacientes y el desarrollo de terapias con mecanismos de acción más específicos y efectivos.

1.2.2.1.1. Variantes fenotípicas de la CIDP

Aunque tradicionalmente se ha considerado a la CIDP como una enfermedad, en realidad se trata de un síndrome con una variabilidad fenotípica amplia. Se han descrito múltiples variantes de CIDP^{60,61}, que difieren en la forma de presentación y distribución de los síntomas, y que están resumidas en la **Tabla 2**. La CIDP típica

1 | INTRODUCCIÓN

es la forma más frecuente y se presenta en el 50-75% de los casos dependiendo de las series^{61,62}. Ésta se caracteriza por un patrón de debilidad simétrica de la musculatura proximal y distal y déficits sensitivos de las cuatro extremidades⁶⁰. En algunos casos puede aparecer afectación de los pares craneales. Entre las formas atípicas se incluyen la variante desmielinizante adquirida distal simétrica (DADS)⁶³, la asimétrica multifocal sensitivo-motora (Síndrome de Lewis-Sumner o MADSAM)^{64,65}, la focal (por afectación del plexo braquial o lumbosacro o de uno o más nervios periféricos en una extremidad superior o inferior)⁶⁶, la sensitiva pura⁶⁷, la polirradiculopatía sensitiva crónica inmune⁶⁸ y la motora pura⁶⁹.

A diferencia de la CIDP típica, que se caracteriza por su distribución proximal y distal, el fenotipo DADS tiene una distribución simétrica distal. En muchos casos los síntomas son predominantemente sensitivos, aunque hay evidencia electrofisiológica (y en algunos casos clínica) de afectación motora. Dos tercios de los pacientes con fenotipo DADS tienen una GM-IgM y anticuerpos anti-MAG⁶³, una entidad diferenciada de la CIDP⁷⁰. Sin embargo en los pacientes sin GM-IgM y anticuerpos anti-MAG el fenotipo DADS se reconoce como una variante de la CIDP.

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

Tabla 2: Principales variantes fenotípicas de la CIDP. *Adaptada de Mathey et al*⁶¹.

1.2.2.1.2. Diagnóstico de la CIDP

CRITERIOS CLÍNICOS
1. Criterios de inclusión
a) CIDP Típica
Debilidad progresiva crónica, escalonada o recurrente de distribución simétrica proximal y distal y disfunción sensitiva en todas las extremidades, de instauración durante al menos 2 meses; puede haber afectación de nervios craneales pueden verse afectados; y reflejos tendinosos ausentes o reducidos en todas las extremidades
b) CIDP Atípica
Uno de los siguientes pero por lo demás como en (a) (los reflejos tendinosos pueden ser normales en las extremidades no afectadas) <ul style="list-style-type: none"> • Predominantemente distal (Simétrico desmielinizante adquirido distal: DADS) • Asimétrico (Multifocal desmielinizante adquirido sensitivo-motor: MADSAM) • Focal (por afectación del plexo braquial o lumbosacro o de uno o más nervios periféricos en una extremidad superior o inferior) • Motor puro • Sensitivo puro (incluyendo la polirradiculopatía sensitiva crónica inmune)
2. Criterios de Exclusión
<ul style="list-style-type: none"> • Enfermedad de Lyme, difteria, exposición a fármacos o tóxicos como causa probable de la neuropatía • Neuropatía desmielinizante hereditaria • Trastorno esfinteriano prominente • Diagnóstico de neuropatía motora multifocal • Gammapatía monoclonal IgM con anticuerpos anti-MAG a títulos altos • Otras causas de neuropatía desmielinizante: POEMS, mieloma osteoesclerótico, linfoma del SNP, amiloidosis, radiculoplexoneuropatía lumbosacra
CRITERIOS ELECTRODIAGNÓSTICOS
1. Definida: al menos uno de los siguientes
<p>a) Prolongación de la latencia motora distal $\geq 50\%$ del LSN en dos nervios (excluyendo la neuropatía del nervio mediano en la muñeca), o</p> <p>b) Reducción de la velocidad de conducción del motor $\geq 30\%$ por debajo del LIN en dos nervios, o</p> <p>c) Prolongación de la latencia de la onda F $\geq 30\%$ por encima del LSN en dos nervios ($\geq 50\%$ si la amplitud del CMAP distal $< 80\%$ del LIN), o</p> <p>d) Ausencia de ondas F en dos nervios, si estos nervios tienen amplitudes máximas de CMAP distal negativas $\geq 20\%$ de LLN + ≥ 1 otro parámetro desmielinizante en ≥ 1 otro nervio, o</p> <p>e) Bloqueo parcial de la conducción motora: Reducción de la amplitud $\geq 50\%$ del CMAP proximal en relación al distal, excluyendo el nervio tibial posterior, si la amplitud del CMAP distal es $\geq 20\%$ del LIN, en dos nervios, o en un nervio + ≥ 1 otro parámetro desmielinizante en ≥ 1 otro nervio, o</p> <p>f) Dispersión temporal anormal (aumento de la duración $> 30\%$ entre el CMAP máximo proximal y distal) en ≥ 2 nervios, o</p> <p>g) Duración del CMAP distal (intervalo entre el inicio del primer pico negativo y el retorno a la línea de base del último pico negativo) aumento en ≥ 1 nervio (mediana $\geq 6,6$ ms, cubital $\geq 6,7$ ms, peroneo $\geq 7,6$ ms, tibial $\geq 8,8$ ms) b + ≥ 1 otro parámetro desmielinizante en ≥ 1 otro nervio</p>
2. Probable
Reducción de la amplitud $\geq 30\%$ del CMAP proximal en relación al distal, excluyendo el nervio tibial posterior, si la amplitud del CMAP distal es $\geq 20\%$ del LIN, en dos nervios, o en un nervio + ≥ 1 otro parámetro desmielinizante en ≥ 1 otro nervio
3. Posible: como en (1) pero solo un nervio

Tabla 3A: Criterios diagnósticos de CIDP (EFNS/PNS 2010). Adaptado de Van den Bergh et al. ⁶⁰.

CMAP: potencial de acción muscular compuesto; **LIN:** límite inferior de la normalidad;

LSN: límite superior de la normalidad.

CRITERIOS DE APOYO	
<ol style="list-style-type: none"> 1. Proteínas en LCR elevadas con recuento de leucocitos <10/mm³ 2. RM con realce de contraste y/o hipertrofia de la cola de caballo, raíces o plexo braquial y/o lumbosacro 3. Electrofisiología sensitiva anormal en al menos un nervio: <ol style="list-style-type: none"> a) Amplitudes del potencial de acción en nervio sural normal con radial o mediano anormal (excluyendo la neuropatía del nervio mediano en la muñeca por el síndrome del túnel carpiano), o b) Velocidad de conducción <80% del límite inferior de la normalidad (<70% si la amplitud es <80% del límite inferior de la normalidad); o c) Retraso en los potenciales evocados somatosensoriales sin enfermedad del SNC 4. Mejoría clínica objetiva tras el tratamiento inmunomodulador 5. Biopsia de nervio que muestre evidencia inequívoca de desmielinización y/o remielinización por microscopía electrónica o análisis de preparaciones de fibras (teased fibres) 	
CATEGORÍAS DIAGNÓSTICAS	
CIDP definida	<ul style="list-style-type: none"> • Criterios clínicos 1 (a o b) y 2 con criterio electrodiagnóstico 1; o • CIDP Probable + al menos un criterio de apoyo; o • CIDP Posible + al menos dos criterios de apoyo clínicos 1 (a o b) y 2
CIDP probable	<ul style="list-style-type: none"> • Criterios clínicos 1 (a o b) y 2 con criterio electrodiagnóstico 2; o • Posible CIDP + al menos un criterio de apoyo
CIDP posible	<ul style="list-style-type: none"> • Criterios clínicos 1 (a o b) y 2 con criterio electrodiagnóstico 3
CIDP (definida, probable o posible) asociada con enfermedades concomitantes	

Tabla 3B: Criterios de apoyo y categorías diagnósticas EFNS/PNS de CIDP.

*Adaptada de Van den Bergh et al.*⁶⁰

El diagnóstico de CIDP se basa en una combinación de criterios clínicos y electrofisiológicos. Se han descrito múltiples criterios diagnósticos pero los más ampliamente aceptados son los propuestos por la European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society (EFNS/PNS)⁶⁰ (**Tabla 3A**). Éstos combinan características clínicas y evidencia electrofisiológica de desmielinización definida por prolongación de las latencias motoras distales, reducción de la velocidad de conducción motora, prolongación de la latencia de las ondas F y bloqueos parciales de la conducción motora. Se deben descartar otras causas de neuropatía desmielinizante como la MMN, neuropatías hereditarias, la neuropatía asociada a GM-IgM con anticuerpos anti-MAG, el POEMS o la neuropatía amiloídica. Además existen unos criterios de apoyo (**Tabla 3B**) que incluyen aumento de proteínas en el LCR, realce de gadolinio de las raíces nerviosas o del plexo en resonancia magnética (RM), o evidencia de desmielinización en biopsia de nervio. Entre los hallazgos anatomopatológicos que apoyan el diagnóstico de CIDP se incluyen: desmielinización mediada por macrófagos, lesiones en bulbo de cebolla,

fibras desmielinizadas, edema endoneural e infiltrados mononucleares endoneurales⁶⁰.

1.2.2.2. Anatomopatología de la CIDP

Los estudios de necropsia, RM y ultrasonografía en pacientes con CIDP han demostrado que las lesiones inflamatorias afectan predominantemente a las raíces, troncos nerviosos y plexos, aunque también se pueden identificar hallazgos diseminados en los nervios periféricos⁶¹ (**Figura 8**). Debido a la inaccesibilidad de las raíces nerviosas proximales, en la práctica clínica habitual se realiza la biopsia del nervio sural (si bien su uso ha quedado restringido a casos muy seleccionados en los que el diagnóstico es dudoso o es necesario descartar otras patologías).

Las lesiones en la CIDP tienen una distribución parcheada. Clásicamente se observa una desmielinización primaria con axones finamente mielinizados, macrófagos llenos de detritus granulares y lesiones en bulbo de cebolla². Estas últimas están formadas por proliferaciones de SC concéntricas debidas a episodios repetidos de desmielinización y remielinización, que son indicativas de cronicidad⁷¹. Puede haber una pérdida de fibras mielinizadas. La presencia de degeneración axonal es variable, y aparece hasta en un 25% de los casos⁷². En algunos pacientes solo se detecta degeneración axonal crónica a pesar de cumplir criterios diagnósticos de CIDP y responder al tratamiento inmunomodulador. En aproximadamente el 50% de los casos se observan infiltrados inflamatorios formados por macrófagos activados (principalmente), y linfocitos CD4+ y CD8+, que suelen localizarse a nivel perivascular en el epineuro y en menor medida en el endoneuro^{2,72,73}. Las células plasmáticas son poco frecuentes y sugieren una neuropatía asociada a GM. Junto con los infiltrados también puede aparecer edema superineural o endoneural.

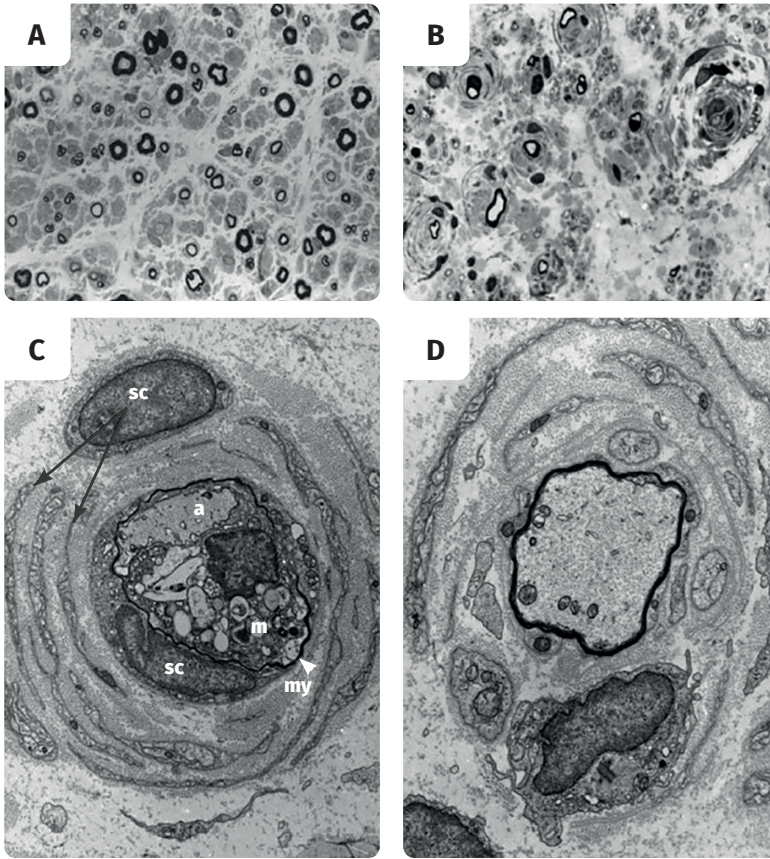


Figura 8: Secciones de biopsia sural (**A**) y de plexo braquial (**B**) de un paciente con CIDP.

A: Se observa desmielinización y pequeñas lesiones en bulbo de cebolla en la biopsia sural; y **B:** cambios hipertróficos marcados en el plexo. **C:** En la microscopía electrónica del nervio sural se observan lesiones en bulbo de cebolla junto con desmielinización inducida por macrófagos; y **D:** axones finamente remielinizados.

A: axón; **m:** macrófago; **my:** mielina; **Sc:** célula de Schwann. *Adaptada de Mathey*⁶¹.

En la microscopía electrónica de biopsia de nervio sural se pueden ver macrófagos rompiendo la lámina basal de fibras mielinizadas y sus procesos que se insinúan entre las láminas de mielina de apariencia normal. Estos hallazgos confirman la presencia de desmielinización primaria mediada por macrófagos que es patognomónica de CIDP y SGB². Estas lesiones se pueden localizar en segmentos internodales o en segmentos nodales-paranodales, lo que sugiere que los macrófagos seleccionan el punto inicial de ataque a la mielina tras reconocer epítomos específicos o lugares específicos de unión a anticuerpos que varían entre diferentes

pacientes⁷⁴. También se ha reportado algún caso aislado de espaciamiento de las láminas de mielina, aunque estos hallazgos son altamente sugestivos de neuropatía asociada a GM^{75,76}.

En algunos pacientes los estudios de inmunohistoquímica revelan la presencia de depósitos de IgG, IgM y complemento en la superficie de las SC con una disposición lineal que sugiere la unión a antígenos en la superficie celular⁷⁷. Por otro lado, en secciones longitudinales y en biopsias de piel se han descrito alteraciones de las regiones nodales en pacientes con CIDP, como la elongación de los espacios nodales, así como la dispersión del patrón de tinción de Caspr1 y NF^{78,79}. Esta variabilidad de hallazgos anatomopatológicos en los pacientes con CIDP apoya la heterogeneidad de los mecanismos patogénicos de esta enfermedad.

1.2.2.3. Inmunopatogenia de la CIDP

La CIDP está mediada por una respuesta inmunitaria aberrante a antígenos del SNP. Su patogenia no es bien conocida, pero los hallazgos anatomopatológicos y en los modelos animales sugieren que en su desarrollo están implicados mecanismos celulares y humorales, que actúan sinérgicamente provocando el daño en los nervios periféricos **Figura 9**^{42,58,61}.

1.2.2.3.1. Inmunidad celular en la CIDP

La evidencia de infiltrados inflamatorios en los nervios periféricos⁷³, el aumento de linfocitos Th1 y Th17⁸⁰ así como de citoquinas proinflamatorias^{81,82} en sangre periférica y LCR de pacientes con CIDP apoyan la implicación de la inmunidad celular en la patogénesis de esta enfermedad.

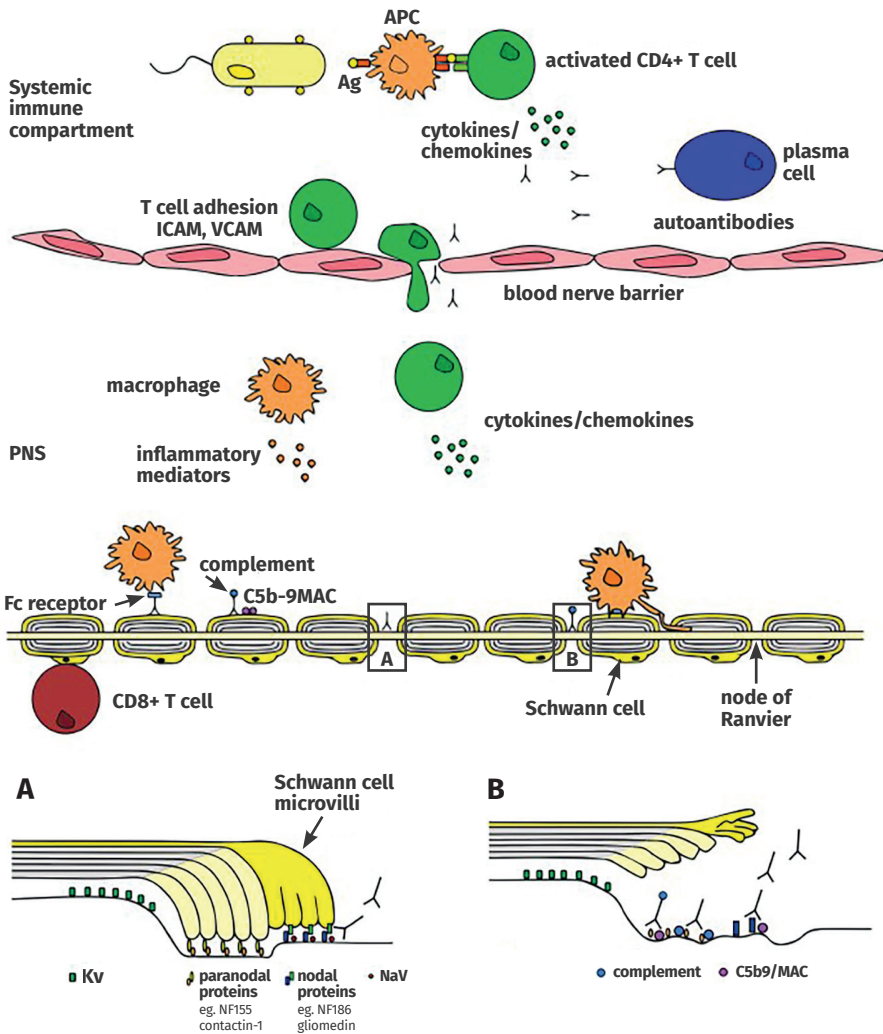


Figura 9: Inmunopatogenesis de la CIDP. Un antígeno es presentado por células presentadoras de antígeno (APC) a linfocitos T autorreactivos en el compartimento inmune periférico. Los linfocitos T se activan, experimentan una expansión clonal, liberan mediadores inflamatorios y cruzan la BHN. Se produce una rotura de la BHN que permite el paso de factores humorales como autoanticuerpos al endoneuro. Los macrófagos del SNP son activados y provocan desmielinización. Otros mecanismos de daño del SNP son: depósito de complemento, depósito de C5b-9/complejo de ataque de membrana (MAC) que conduce a la lisis celular, y lisis mediada por linfocitos CD8+. Los autoanticuerpos contra estructuras del nodo de Ranvier actúan mediante diferentes mecanismos: **A)** La unión del anticuerpos al nodo de Ranvier bloquea la función de moléculas nodales interfiriendo en la conducción saltatoria. **B)** La unión de un anticuerpo activa la fijación de complemento y la deposición del MAC que conduce a destrucción del nodo y áreas adyacentes. *Adaptada de Mathey*⁶¹.

Clásicamente se ha postulado que la patogenia de la CIDP se inicia cuando los linfocitos T autorreactivos se activan al reconocer un autoantígeno en el compartimento inmunitario periférico. Entonces experimentan una expansión clonal, liberan mediadores proinflamatorios y atraviesan la BHN alterando la permeabilidad de la misma y permitiendo el acceso al endoneuro a los factores humorales. Los linfocitos B periféricos autorreactivos son estimulados por linfocitos T mediante citoquinas, que proliferan, se expanden clonalmente y maduran su afinidad para producir autoanticuerpos que reconozcan estructuras del SNP. Los autoanticuerpos atraviesan la BHN para alcanzar su diana antigénica, donde provocan, al menos en algunas variantes de CIDP, un daño mediado por complemento y la activación macrófagica. El ambiente proinflamatorio atrae y activa tanto a los macrófagos residentes en SNP, como a los macrófagos del torrente sanguíneo, y todos ellos son las células efectoras finales, que mediante los receptores Fc reconocen los autoanticuerpos y provocan la clásica desmielinización inducida por macrófagos, que se puede observar en las biopsias de nervio sural de los pacientes con CIDP⁷⁴. Sin embargo, en la mayoría de los casos se desconoce la diana antigénica de los autoanticuerpos responsables de este proceso.

En algunas formas de SGB el ataque inmunitario se desencadena por infecciones mediante un mecanismo de mimetismo molecular⁸³. Determinados microorganismos patógenos (como *Campylobacter Jejuni*) comparten epítomos glicoconjugados con estructuras del SNP, lo que lleva a la producción de autoanticuerpos contra la mielina⁸⁴. Sin embargo en la actualidad se conoce muy poco sobre la cascada de eventos que inician la respuesta dirigida contra el SNP en la CIDP. Estudios recientes indican que los mecanismos de tolerancia central y periférica hacia el SNP podrían estar implicados en la patogenia de la enfermedad⁴².

1.2.2.3.2. Inmunidad humoral y anticuerpos en la CIDP

Múltiples observaciones apoyan el papel de los factores humorales y en especial de los autoanticuerpos en la inmunopatogenia de la CIDP: **1:** la eficacia de

1 | INTRODUCCIÓN

las terapias de recambio plasmático y depletivas de células B apoyan un papel clave de la inmunidad humoral y los anticuerpos en la patogenia de la CIDP ⁵⁸; **2:** la detección de depósitos de complemento e inmunoglobulinas en la superficie de las SC y en la mielina compacta en biopsias de nervio sural de pacientes con CIDP ⁷⁷; **3:** la reactividad del suero de pacientes con CIDP contra estructuras de la mielina en estudios de inmunohistoquímica ^{61,85}; **4:** la inducción de bloqueos de la conducción y desmielinización mediante transferencia pasiva de suero de pacientes con CIDP en estudios *in vivo*, que sugiere la presencia de anticuerpos patogénicos que reconocen antígenos de la mielina ⁸⁶. Todos estos hallazgos llevaron a la búsqueda de anticuerpos patogénicos en pacientes con CIDP.

1.2.2.3.2.1. Anticuerpos contra proteínas de la mielina y los gangliósidos

Inicialmente, la búsqueda de anticuerpos patogénicos en la CIDP se centró, con poco éxito, en proteínas de la mielina compacta. En concreto, las proteínas P0, P2 y PMP22 se presentaron como potenciales dianas antigénicas ya que inducían una EAN en modelos animales. Se identificaron anticuerpos contra la proteínas P0, P2 y PMP22 en unos pocos pacientes con CIDP ^{87,88}, pero también en pacientes con otras neuropatías y en controles sanos lo que impidió establecer una asociación entre estos anticuerpos y la CIDP ⁸⁹. Estudios más recientes ^{85,90} reportaron una reactividad IgG contra estructuras mielínicas del nervio periférico y contra SC en casi un cuarto de los pacientes con CIDP. Se observaron varios patrones de tinción que sugerían la presencia de autoanticuerpos que reconocían diferentes antígenos diana en la mielina. Sin embargo no se consiguió identificar la diana antigénica de esos autoanticuerpos.

Las investigaciones se centraron también en la búsqueda de anticuerpos anti-gangliósido. Los gangliósidos se distribuyen ampliamente en las membranas celulares del SNC y SNP. Su abundancia varía en las diferentes fibras motoras, sensitivas o los pares craneales ⁹¹. Es el caso del gangliósido GM1 que se expresa

ampliamente en el axolema nodal y en las microvellosidades de las SC de modo que los anticuerpos anti-GM1 reconocen el nodo⁹². Los anticuerpos anti-GM1 se asocian a la forma axonal motora del SGB (anti-GM1/GD1a IgG)^{93,94} y a la MMN (anti-GM1 IgM)^{95,96}. Por otro lado, las neuropatías atáxicas se asocian con anticuerpos anti-disialosil: anti-GD1b IgG en las agudas⁹⁷, y anti-GD1b/disialosil IgM en las crónicas, dentro del síndrome CANDA/CANOMAD⁹⁸: neuropatía atáxica crónica, oftalmoplejía, GM-IgM, crioaglutininas y anti-disialosil IgM. Además los anti-GQ1b IgG aparecen en la mayoría de los pacientes con el síndrome de Miller-Fisher caracterizado por oftalmoparesia, ataxia y arreflexia⁹⁹. Teniendo en cuenta las semejanzas clínico-patológicas entre la CIDP y otras neuropatías inmunomediadas como el SGB o la MMN en las que los gangliósidos son dianas antigénicas bien establecidas, se decidió investigar la presencia de estos anticuerpos en la CIDP. De este modo se identificaron anticuerpos dirigidos contra los gangliósidos LM1, GM1, GD1b, GM2 o complejos que contenían LM1¹⁰⁰⁻¹⁰². Los anticuerpos anti-LM1 se asociaron con CIDP atáxica¹⁰¹. Sin embargo estos hallazgos no fueron replicados posteriormente en otras cohortes. En un reciente estudio de cribado de anticuerpos se detectaron anticuerpos anti-gangliósido en 11 (18%) pacientes⁹⁰. Cuatro de ellos tenían títulos altos de anti-GM1 IgM. Aunque estos hallazgos sugieren la presencia de anti-GM1 IgM en un pequeño subgrupo de pacientes con CIDP, estas observaciones esperan a ser replicadas.

Por otro lado, en unos pocos pacientes con neuropatía desmielinizante crónica se han detectado anticuerpos contra los sulfátidos, uno de los principales glicoesfingolípidos de la mielina del SNC y SNP^{100,103,104}. Sin embargo, el significado y la patogenicidad de los anticuerpos anti-sulfátido en los pacientes con CIDP no es bien conocido¹⁰⁵. Por último, se ha reportado la detección de anticuerpos anti-MAG, que habitualmente se asocian a GM IgM, en unos pocos pacientes que no tenían GM-IgM y que cumplían criterios diagnósticos de CIDP^{63,76,106,107}.

1.2.2.3.2.2. Anticuerpos contra proteínas del nodo de Ranvier

Las investigaciones más recientes se han centrado en la búsqueda de autoanticuerpos contra las proteínas que forman las uniones axogliales en el nodo y paranodo. Se han descrito anticuerpos contra CNTN1¹⁰⁸, NF155¹⁰⁹, NF nodal¹¹⁰ y Caspr1¹¹¹ en un 5-10% de los pacientes con CIDP. Estos anticuerpos son predominantemente de la subclase IgG4, lo que les confiere una gran afinidad antigénica, a pesar de que no fijan complemento ni se unen a los receptores de inmunoglobulinas; lo que podría explicar por qué estos pacientes no responden bien al tratamiento con IGEV. Estudios anatomopatológicos en pacientes con anticuerpos IgG4 anti-CNTN1 y anti-NF155 muestran alteraciones patológicas limitadas al paranodo, donde los anticuerpos interrumpen las uniones axo-gliales provocando la separación de los bucles de mielina paranodales del axón y la elongación del nodo, en ausencia de inflamación y signos clásicos de desmielinización segmentaria⁷. En resumen, los anticuerpos contra las proteínas del nodo de Ranvier en la CIDP se asocian a fenotipos clínicos y mecanismos inmunopatogénicos específicos. Por todo ello, y a pesar de su baja frecuencia en la población general de CIDP, su descripción ha supuesto una revolución en el campo de las neuropatías inflamatorias, pues ha permitido identificar subtipos de enfermedad dentro del síndrome de la CIDP y comprender mejor su inmunopatogenia.

1.2.2.3.2.2.1. Anticuerpos anti-contactin1

En 2013 nuestro grupo reportó la presencia de anticuerpos anti-CNTN1 IgG4 en dos pacientes con CIDP agresiva con daño axonal temprano y mala respuesta al tratamiento con IGEV¹⁰⁸. Más tarde se describió la buena respuesta al rituximab¹¹² de los pacientes con anti-CNTN1 IgG4, en la línea con otras enfermedades mediadas por anticuerpos IgG4¹¹³. Estos hallazgos fueron después replicados por otros grupos que, además, describieron una alta frecuencia de ataxia en estos pacientes¹¹⁴. También se han reportado casos con afectación craneal incluyendo parálisis facial, disfagia y afectación respiratoria^{114,115}. Recientemente se han

reportado casos de CIDP con anticuerpos anti-CNTN1 que asociaron síndrome nefrótico, incluyendo proteinuria, hipoalbuminemia y alteraciones variables del filtrado glomerular¹¹⁵⁻¹¹⁸. La biopsia renal de estos pacientes demostró glomerulonefritis con depósitos de IgG4, probablemente debido al depósito de inmunocomplejos formados con CNTN1.

Los estudios neurofisiológicos de estos pacientes muestran hallazgos de desmielinización adquirida que cumplen los criterios electrodiagnósticos de la EFNS/PNS de CIDP definitiva^{108,119}. En comparación con los pacientes con CIDP seronegativa, los pacientes con anticuerpos anti-CNTN1 tienen alteraciones más prominentes de las conducciones nerviosas, especialmente de las latencias motoras distales y velocidades de conducción motora en los nervios medianos y cubitales¹¹⁹. Además, pueden aparecer marcados hallazgos de afectación axonal temprana en los estudios electromiográficos¹⁰⁸. En LCR habitualmente se detectan niveles elevados de proteínas^{108,114}. En la biopsia de nervio sural de estos pacientes destaca una disminución de la densidad de fibras mielinizadas, con ovoides de mielina ocasionales, escasas fibras finamente mielinizadas y leve edema endoneural. Sin embargo no se observan lesiones en bulbo de cebolla o infiltrados inflamatorios, por lo que el diagnóstico anatomopatológico suele ser de neuropatía axonal¹²⁰. El estudio de las fibras mielinizadas en biopsias de piel de estos pacientes (**Figura 10**) muestra una elongación de los nodos de Ranvier y desaparición de la inmunorreactividad de Caspr1 y neurofascin^{115,120}. Además se pueden identificar depósitos de IgG4 en el paranodo que colocalizan con Caspr1¹²¹. Mediante microscopía electrónica se observa la disección de la unión axoglial a nivel del paranodo en ausencia de desmielinización mediada por macrófagos^{119,121}. Posteriormente los anticuerpos anti-CNTN1 IgG4 demostraron su patogenicidad en estudios *in vitro*¹²² e *in vivo*¹²³, convirtiéndose en los primeros anticuerpos patogénicos descritos en la CIDP.

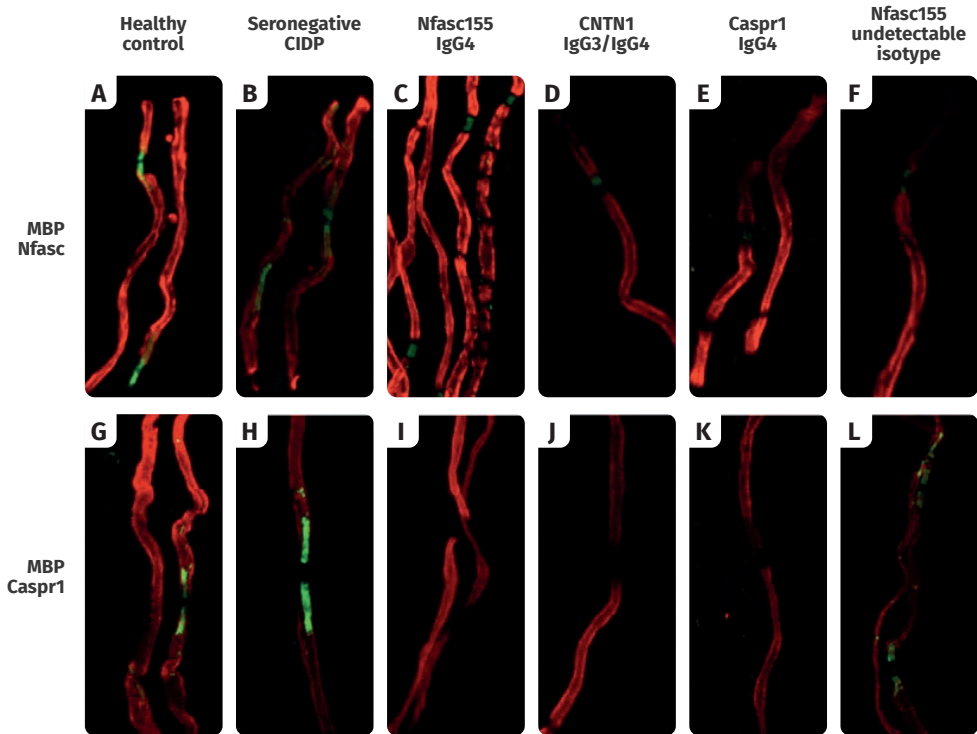


Figura 10: Alteraciones morfológicas en los nodos de Ranvier en pacientes con CIDP con autoanticuerpos IgG4. En análisis de las fibras mielinizadas de las biopsias de piel de pacientes y controles se objetiva una elongación de los nodos de Ranvier y pérdida de inmunoreactividad a neurofascin (Nfasc) y Caspr1 en los paranodos de los pacientes con anticuerpos anti-NF155 IgG4, anti-Caspr1 IgG4 y anti-CNTN1 IgG4 pero no en el control sano, el paciente con CIDP seronegativa o del paciente con anti-NF155 sin un isotipo identificable. *Adaptada de Cortese*¹¹⁵.

1.2.2.3.2.2. Anticuerpos anti-neurofascin155

Los anticuerpos anti-NF155 IgG4 son los anticuerpos anti-paranodales más frecuentemente reportados, en el 5-10% de los pacientes con CIDP, dependiendo de las series^{109,115,124}. Éstos fueron descritos en pacientes con CIDP con clínica motora de predominio distal, ataxia, temblor con características cerebelosas y mala respuesta a IGEV¹⁰⁹. Estas asociaciones fueron después reportadas en diferentes cohortes de CIDP^{124,125} y en un reciente metanálisis¹²⁶. También se han descrito casos con afectación craneal como temblor cefálico y vocal¹²⁷ o alteraciones sensitivas y parálisis facial^{125,128}. Los pacientes con IgG4 anti-NF155 refractarios a terapias de primera línea, responden adecuadamente a rituximab¹²⁹.

En los estudios neurofisiológicos aparecen datos de desmielinización adquirida y los pacientes presentan prolongación de las latencias distales y de las ondas F significativamente mayores que las detectadas en los pacientes con CIDP seronegativa^{119,125}. Estos pacientes presentan niveles aumentados de proteínas en el LCR. En el estudio ecográfico los nervios están engrosados¹³⁰ y en la RM se observa hipertrofia y captación de contraste en las raíces¹²⁵, así como hipertrofia de los pares craneales¹²⁸. En la biopsia del nervio sural de estos pacientes se puede observar edema endoneural, reducción en el número de fibras mielinizadas y degeneración axonal, en ausencia de infiltrados inflamatorios o signos clásicos de desmielinización^{121,131}. También se pueden detectar depósitos de IgG4 en los paranodos que colocalizan con Caspr1¹²¹ y elongación de los nodos de Ranvier junto con pérdida de NF155 y Caspr1 en los paranodos (**Figura 10**)¹¹⁵. En la microscopía electrónica se puede observar la disección de la unión axoglial en los paranodos en ausencia de desmielinización mediada por macrófagos (**Figura 11**)^{121,131} como en los pacientes con anticuerpos anti-CNTN1. Las fibras amielínicas están preservadas.

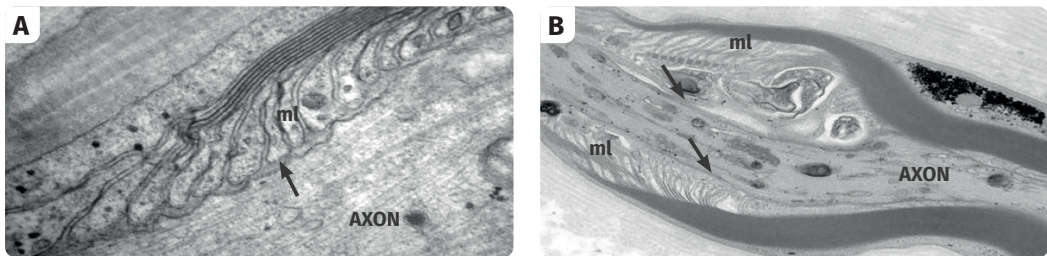


Figura 11: Hallazgos en la microscopía electrónica de una sección longitudinal de biopsia sural de un paciente con CIDP con anticuerpos anti-NF155 con desaparición de las bandas transversales. **A:** En el paranodo el espacio periaxonal entre el axón y los bucles de mielina (*ml*) está ensanchado y es irregular. **B:** Paranodo desestructurado con procesos citoplasmáticos (*flechas*) que se interponen entre el axón y la mielina paranodal. *Adaptada de Vallat*⁷.

Otra característica diferencial de los pacientes con CIDP anti-NF155+ es que son portadores del alelo del HLA de clase II DRB1*15 con una frecuencia significativamente mayor que los pacientes con CIDP seronegativa y en la población normal

1 | INTRODUCCIÓN

(77% frente a 14% y 17% respectivamente)¹³². Estos resultados han sido replicados en una cohorte de CIDP japonesa, en el que todos los pacientes con CIDP anti-NF155+ son portadores del alelo DRB1*15¹³³. Así pues, el HLA DRB1*15 es un factor de riesgo genético para el desarrollo CIDP anti-NF155+. Recientemente, estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado la patogenicidad de los anticuerpos anti-NF155 IgG4¹³⁴, convirtiéndose en los segundos anticuerpos patogénicos descritos en la CIDP.

1.2.2.3.2.3. Anticuerpos anti-neurofascin nodal

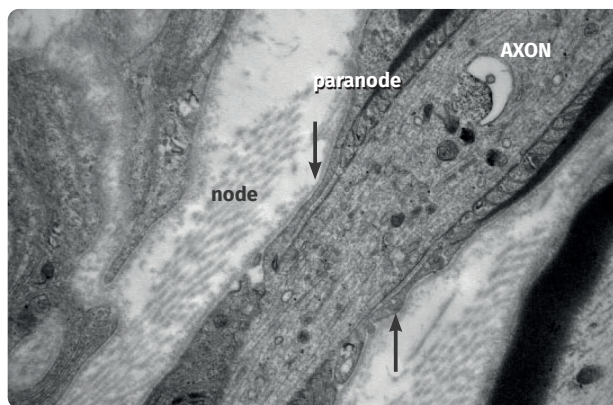


Figura 12: Alteraciones de la estructura del nodo de Ranvier en un paciente con anticuerpos anti-NF140/186. Microscopía electrónica de una sección longitudinal de biopsia del nervio sural a nivel del nodo de Ranvier. Las microvellosidades han sido sustituidas por extensiones citoplasmáticas de la célula de Schwann (**flechas**) que ocluyen la brecha nodal.

Adaptada de Vallat⁷.

Recientemente se han reportado autoanticuerpos IgG3 e IgG4 dirigidos contra isoformas de neurofascin (140/186) localizadas en el nodo de Ranvier^{110,135}. Estos anticuerpos estaban presentes en un subgrupo de pacientes con CIDP que compartían un fenotipo grave de inicio subagudo con afectación de pares craneales e incluso de las funciones respiratorias¹³⁵. Además, en varios pacientes se ha reportado la asociación a síndrome nefrótico. Los estudios electrofisiológicos de pacientes con anticuerpos anti-NF140/186 demostraron bloqueos de la conducción y una disminución de las amplitudes motoras distales, que se recuperaban tras la remisión clínica. Estos hallazgos electrofisiológicos son sugestivos

de fallo de conducción reversible y se asocian a nodopatía. En la biopsia sural de un paciente con anticuerpos anti-neurofascin nodal IgG3 se apreciaba una pérdida de fibras gruesas mielinizadas en ausencia de infiltrados inflamatorios, y curiosamente en la microscopía electrónica se detectó una alteración de la estructura del nodo con desaparición de los microvilli de las células de Schwann, sustituidos por elongaciones citoplasmáticas que ocluían la brecha nodal (**Figura 12**)¹³⁶.

1.2.2.3.2.2.4. Anticuerpos contra Caspr1 y contra el complejo Caspr1/CNTN1

Los anticuerpos contra Caspr1 y contra el complejo formado por Caspr1 y CNTN1 en el paranodo han sido recientemente descritos en unos pocos pacientes con neuropatías inmunomediadas. En primer lugar, nuestro grupo describió una paciente con CIDP agresiva y anticuerpos IgG4 dirigidos contra el complejo Caspr1/CNTN1 detectados mediante ensayos basados en células co-transfectadas con CNTN1 y Caspr1¹⁰⁸. Estos anticuerpos no reaccionaban con las células transfectadas con CNTN1 o Caspr1 por separado. Además, este suero inmunoprecipitaba Caspr1 y CNTN1 en neuronas hipocampales. Todos estos hallazgos sugerían que los anticuerpos de esta paciente reconocían un epítipo del complejo Caspr/CNTN1. Posteriormente, un grupo alemán reportó anticuerpos anti-Caspr1 en dos pacientes, uno con CIDP (anti-Caspr1 IgG4) y otro con SGB (anti-Caspr1 IgG3)¹¹¹. En este caso los anticuerpos reaccionaban con células transfectadas solo con Caspr1, aunque su detección se optimizaba mediante la co-trasfección de Caspr1 y CNTN1. Los dos pacientes con CIDP presentaron una tetraparesia grave de inicio subagudo. En ambos destacaba una hiperproteínorraquia importante y en los estudios electrofisiológicos aparecían datos de desmielinización adquirida junto con daño axonal temprano. En ambos casos se constató mala respuesta a IGEV, pero buena a rituximab. Recientemente, en una serie de CIDP italiana se han reportado 3 pacientes con CIDP y anticuerpos anti-Caspr1 IgG4 detectados mediante ensayos basados en células co-transfectadas con CNTN1 y Caspr1¹¹⁵. De nuevo, estos pacientes presentaron un debut subagudo con tetraparesia (de predominio

1 | INTRODUCCIÓN

distal), en un caso asociado a disfagia y otro con temblor, y ninguno respondió a IGEV. En la serie alemana el dolor fue uno de los síntomas predominantes, sin embargo esta asociación no fue reportada en la serie italiana. Por último, un trabajo reciente ha reportado anticuerpos anti-Caspr1 en pacientes con neuropatías inmunomediadas de inicio agudo, tanto SGB como CIDP de inicio agudo¹³⁷. Curiosamente en dos de estos pacientes se observó la coexistencia de anticuerpos contra las proteínas CNTN1 y Caspr1 (por ELISA y por células monotransfectadas con CNTN1 y Caspr1). Uno de ellos, era un paciente con SGB en el que los anticuerpos anti-CNTN1 y anti-Caspr1 eran de la subclase IgG2 y se negativizaron en el seguimiento. El segundo paciente, diagnosticado de CIDP de inicio agudo, tenía anticuerpos anti-CNTN1 y anti-Caspr1 IgG3 que en el seguimiento evolucionaron a anticuerpos anti-Caspr1 IgG4, mientras que los anti-CNTN1 negativizaron.

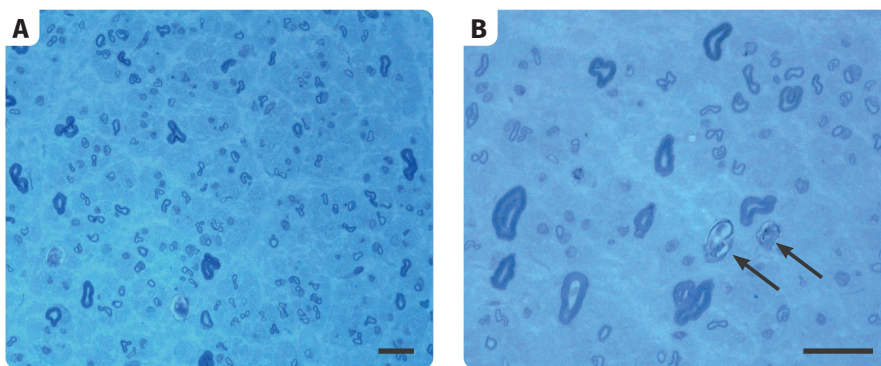


Figura 13: Biopsia sural de un paciente con CIDP y anticuerpos anti-Caspr1 IgG4. Secciones de biopsia sural, tinción azul de toluidina, que muestran **A:** pérdida axonal y **B:** varios axones degenerando (**flechas**). Barras=50 μ m

En la biopsia de piel de pacientes anti-Caspr1 positivos se observaba una elongación de los nodos de Ranvier y desaparición de inmunoreactividad de NF155 y Caspr1 (**Figura 10**)¹¹⁵. La biopsia de nervio sural de un paciente con CIDP mostró edema subepineural y pérdida axonal marcada e imágenes de degeneración axonal, con muy escasas fibras finamente mielinizadas y ausencia de infiltrados inflamatorios lesiones en bulbo de cebolla (**Figura 13**)¹¹¹.

En preparaciones de fibras de nervio sural de estos pacientes se detectaron depósitos de IgG en los paranodos¹¹¹. Todos estos hallazgos apoyaban la patogenicidad de estos anticuerpos, sin embargo hasta el momento no se han realizado estudios *in vivo* que apoyen esta hipótesis.

1.2.2.3.2.2.5. Patogenicidad de los anticuerpos contra proteínas paranodales

Los hallazgos clínicos, neurofisiológicos y anatomopatológicos descritos en los pacientes con anticuerpos contra las proteínas del nodo y paranodo de Ranvier apoyaban la patogenicidad de los mismos y llevaron a la realización de estudios *in vitro* e *in vivo* que confirmaran esta hipótesis. Así pues, los anticuerpos anti-CNTN1 IgG4 fueron los primeros que demostraron su patogenicidad. En ensayos *in vitro* las IgG de los pacientes con anti-CNTN1 alteraban la unión entre NF155 y el complejo Caspr1/CNTN1, así como la estructura de los paranodos en cultivos de neuronas de ganglio raquídeo dorsal (DRG) mielinizadas de rata¹²². En otro estudio *in vitro*, los anticuerpos anti-CNTN1 IgG4 (pero no los IgG1) de un paciente, incubados en secciones de nervio ciático, atravesaban la barrera paranodal y se depositaban en los paranodos del nervio ciático¹²³. Posteriormente se realizaron estudios en modelos animales. Tras la inyección intraneural, los anticuerpos anti-CNTN1 IgG4 se depositaban lentamente en los paranodos¹²³. Inicialmente la IgG4 anti-CNTN1 accedía al paranodo a través del nodo, y en el día 3 los anticuerpos habían difundido completamente por el paranodo. La administración endovenosa seriada de anti-CNTN1 en un modelo de EAN para investigar el efecto a largo plazo de estos anticuerpos, demostró que las IgG4 anti-CNTN1 (pero no las IgG1) inducían un deterioro clínico progresivo con ataxia. En los estudios electrofisiológicos se constató una reducción de la amplitud de los CMAP y unas velocidades de conducción motora preservadas. Los estudios anatomopatológicos mostraron disrupción de los complejos paranodales formados por NF155 y Caspr1/CNTN1 en las neuronas motoras (raíces ventrales), mientras que la arquitectura del nodo y de la mielina estaban preservadas. No se observaron

1 | INTRODUCCIÓN

hallazgos de desmielinización, degeneración axonal ni infiltrados inflamatorios. Todas estas observaciones demostraron la patogenicidad de los anticuerpos anti-CNTN1 IgG4.

Recientemente se han identificado anticuerpos anti-CNTN1 de la subclase IgG3 en unos pocos pacientes con CIDP de inicio agudo¹²⁰, que podrían predecir la respuesta a las IGEV. Estudios *in vitro* demostraron que los anticuerpos anti-CNTN1 IgG3 se asociaban a la presencia de depósitos de complemento, mientras que la administración de IGEV inhibía la formación de estos depósitos¹³⁸. En esta línea, otro trabajo del mismo grupo demostró que la transferencia pasiva de los anticuerpos anti-CNTN1 IgG3 humanos a modelos animales provocaba debilidad, bloqueos reversibles de la conducción y depósitos de complemento en los paranodos¹³⁸. En resumen, los anticuerpos anti-CNTN1 IgG3 y el consiguiente depósito de complemento podrían mediar el inicio agudo de la enfermedad, y explicar la inicial respuesta de algunos pacientes a las IGEV.

La patogenicidad de los anticuerpos anti-NF155 también ha sido recientemente investigada¹³⁴. En los estudios *in vitro*, a diferencia de los anticuerpos anti-CNTN1, los anticuerpos anti-NF155 no impedían las uniones entre NF155 y Caspr1/CNTN1, ni penetraban en las regiones paranodales, sino que se unían a NF155 en la superficie de las SC, en las uniones adherentes y alrededor del nodo, induciendo una depleción selectiva de NF155. En los estudios *in vivo*, los anticuerpos anti-NF155 IgG4 humanos, administrados a animales durante su desarrollo neonatal, provocaban una depleción de NF155 e impedían la formación de paranodos, mientras que los que se formaban eran de menor tamaño al de los controles. Probablemente estas alteraciones eran debidas a que los anticuerpos impedían la incorporación de NF155 en los paranodos en formación. Sin embargo, la administración de anti-NF155 a los animales con paranodos formados, no alteraba significativamente el número ni la estructura de los mismos. Por otro lado,

la infusión intratecal crónica de anticuerpos anti-NF155 IgG4 en animales adultos inducía debilidad y ataxia junto con caída de las amplitudes de los CMAPs, enlentecimiento de la velocidad de conducción nerviosa y dispersión temporal en las raíces ventrales. Además, en las raíces no se observaban signos de desmielinización clásica ni de alteración estructural del nodo, pero sí una pérdida de la tinción de CNTN1 y Caspr1 paranodales, junto a una pérdida selectiva de NF155.

En el caso de los anticuerpos anti-Caspr1, la disrupción de la arquitectura paranodal y presencia de depósitos IgG en los paranodos observada en las biopsias de estos pacientes que apoyaban la patogenicidad de estos anticuerpos¹¹¹ llevó a la realización de estudios *in vitro*¹¹⁵. En estos, la presencia de anticuerpos anti-Caspr1 IgG4 (pero no IgG1) impedía la unión entre Caspr1/CNTN1 y NF155, apoyando una función de bloqueo similar a la observada en los anticuerpos anti-CNTN1. Del mismo modo, los anticuerpos anti-Caspr1 IgG4 (pero no IgG1) penetraban en las regiones paranodales próximas al nodo de Ranvier en los estudios *in vitro* e *in vivo* mediante inyecciones intraneurales. Estas observaciones apuntan a que los anticuerpos anti-Caspr1 y anti-Caspr1/CNTN1 comparten un mecanismo de acción similar a los anticuerpos anti-CNTN1, pero hasta el momento no se han realizado estudios *in vivo* que confirmen esta hipótesis.

1.2.3. Neuropatía asociada a gammapatía monoclonal (GM)-IgM

1.2.3.1. La GM en las neuropatías periféricas

El 10% de los adultos con polineuropatía adquirida tienen una GM¹³⁹. La prevalencia de GM es del 3% en la población mayor de 50 años, y su incidencia aumenta con la edad¹⁴⁰. Sin embargo, la prevalencia de GM es 10 veces más frecuente en pacientes con polineuropatía⁷⁰.

Las GM son un grupo de enfermedades asociadas a la proliferación de un clon de células plasmáticas que secreta una inmunoglobulina monoclonal (también

1 | INTRODUCCIÓN

denominada proteína o componente monoclonal)¹⁴¹. Según el subtipo de cadena pesada de la inmunoglobulina la GM puede ser IgG, IgA o IgM; y según su cadena ligera puede ser kappa o lambda. Por tanto, la detección de una proteína monoclonal indica la presencia de un trastorno subyacente de las células plasmáticas que, desde el punto de vista hematológico, puede variar desde un trastorno benigno hasta una enfermedad linfoplasmocítica maligna. La GM “benigna” se denomina GM de significado incierto (GMSI) y es el trastorno de células plasmáticas más común. La GMSI se define por la presencia de una inmunoglobulina monoclonal en suero a una concentración menor de 3g/dl; en ausencia de síntomas constitucionales, lesiones óseas líticas, anemia, hipercalcemia e insuficiencia renal relacionadas; y una proporción de células plasmáticas en médula ósea menor al 10%¹⁴¹. La GMSI puede progresar a mieloma múltiple o una enfermedad maligna relacionada, con una tasa anual del 1%¹⁴², por lo que estos pacientes requieren un seguimiento indefinido. Aunque las polineuropatías asociadas a GM pueden aparecer en contexto de un proceso linfoide maligno como mieloma o macroglobulinemia de Waldenström, la mayoría aparecen en pacientes con GMSI. Por ello, mientras que una GM puede ser de significado incierto desde un punto de vista hematológico, puede tener un significado clínicamente relevante desde un punto de vista neurológico.

La GM-IgM es el subtipo que se detecta con más frecuencia en los pacientes con polineuropatía periférica, a pesar de que la GM-IgG es la más común en la población general¹⁴³. La prevalencia de polineuropatía en pacientes con GM-IgM puede alcanzar el 50%⁷⁰. Los pacientes con polineuropatía desmielinizante asociada con GM-IgG o IgA suelen comportarse como una CIDP y la GM es probablemente una coincidencia. Sin embargo, la neuropatía asociada a GM-IgM presenta un fenotipo clínico y unas características patológicas específicas, y en el 50-70% de los pacientes se detectan anticuerpos IgM contra MAG, mientras que en unos pocos pacientes se detectan anticuerpos contra otras estructuras del nervio

periférico como gangliósidos o sulfátidos (en un 5% de los casos)^{104,144,145}. En un pequeño grupo de pacientes con neuropatía atáxica crónica y oftalmoplejia y GM-IgM (CANOMAD) se detectan anticuerpos anti-disialosil IgM^{98,146}.

1.2.3.2. Características clínicas de la neuropatía asociada a GM-IgM

Los pacientes con neuropatía asociada a GM-IgM suelen presentar síntomas debidos a la disfunción de las fibras mielinizadas gruesas como parestesias distales de predominio en pies, ataxia de la marcha, temblor postural y en algunos casos debilidad muscular de predomino distal que afecta a la extensión de los dedos y del pie⁷⁰. El espectro clínico varía¹⁴⁷ desde formas leves con parestesias distales y mínima ataxia, hasta formas graves con debilidad muscular que condiciona una discapacidad significativa. La enfermedad suele progresar muy lentamente, aunque algunos pacientes pueden presentar un inicio subagudo y un curso rápidamente progresivo similar al de la CIDP. En los estudios de conducción nerviosa se objetivan signos de desmielinización adquirida con reducción uniforme y simétrica de las velocidades de conducción y afectación preferencial de los segmentos nerviosos distales, que se manifiesta con latencias motoras distales prolongadas¹⁴⁸. Los potenciales sensitivos suelen estar ausentes. En el 80% aparece hiperproteinorraquia y la GM-IgM también puede detectarse en el LCR¹⁴⁹. La respuesta a los tratamientos en la neuropatía desmielinizante asociada a GM-IgM es diferente de la CIDP. Unos pocos pacientes responden a IGEV mientras que la depleción de células B con rituximab puede ser eficaz y debe considerarse en casos con síntomas progresivos e invalidantes¹⁵⁰⁻¹⁵².

1.2.3.3. Inmunopatogenia de la neuropatía asociada a GM-IgM

1.2.3.3.1. Anatomopatología de la neuropatía asociada a GM-IgM

La biopsia del nervio sural muestra un reducción en el número de axones mielinizados con pérdida selectiva de las fibras gruesas y degeneración axonal^{70,75,153}. En la microscopía electrónica se observa, característicamente,

1 | INTRODUCCIÓN

un espaciamiento entre las capas externas de la vaina de mielina^{75,153}. También se observa un engrosamiento de la mielina en forma de pliegues redundantes, similares a lo observado en la neuropatía tomacular, localizados principalmente en regiones paranodales e internodales. En secciones longitudinales, en las regiones paranodales, se observa un ensanchamiento de los espacios entre los bucles de mielina terminales (algunos de ellos desprendidos del axolema paranodal) y los nodos de Ranvier adyacentes aparecen elongados⁷⁵. La IgM se deposita en las capas externas de la mielina, especialmente en regiones paranodales e incisuras de Schmidt-Lanterman (**Figura 14 A-B**), coincidiendo con las áreas en las que se observan los espaciamientos entre las capas mielina^{75,153}. Estas observaciones apoyan el papel de la proteína monoclonal en la patogénesis de la neuropatía.

1.2.3.3.2. Anticuerpos contra la glicoproteína asociada a la mielina (MAG)

En un 50% de los pacientes con neuropatía asociada a GM-IgM se detectan anticuerpos IgM anti-MAG^{144,154,155}. MAG es una glicoproteína transmembrana del sistema nervioso que se localiza en la membrana periaxonal de las SC y los oligodendrocitos²⁸. Además, en el SNP su expresión está aumentada en las regiones paranodales y en las incisuras de Schmidt-Lanterman. MAG participa en la adhesión entre las membranas de las SC y entre éstas y los axones, así como en el mantenimiento de la mielina²⁸, aunque los mecanismos por los cuales ejerce estas funciones no son bien conocidos. Los anticuerpos anti-MAG reconocen el epítipo human natural killer-1 (HNK1)¹⁵⁶ que también está presente en otras glicoproteínas del nervio periférico como el sulfátido glucuronil paraglobósido (SGPG), PO o PMP22.

Durante años la técnica de Western blot fue el “gold standard” para la detección de los anticuerpos anti-MAG, pero el método ELISA (Bühlmann), mucho más simple y de uso rutinario, ha demostrado su validez y mayor sensibilidad

como método de screening de anticuerpos anti-MAG^{154,157}. Un título de anti-MAG superior a 1.000 unidades de título de Bühlmann (BTU) se considera positivo, aunque los títulos entre 1.000 y 10.000 BTU se consideran bajos y algunos autores proponen que los títulos de anti-MAG estén por encima de 10.000 BTU para considerar que los anticuerpos se asocian a la neuropatía^{158,159}. Los títulos de anticuerpos anti-MAG no correlacionan bien con la gravedad de la neuropatía¹⁶⁰. En los pacientes con títulos bajos de anticuerpos anti-MAG, es recomendable utilizar una segunda técnica confirmatoria como el Western blot o la inmunofluorescencia indirecta en tejido de nervio periférico (**Figura 14 C**)^{157,160,161}. Además, el suero de gran parte de los pacientes con anti-MAG reacciona con el epítipo HNK1 en secciones de cerebro de rata¹⁶². Recientemente se ha reportado que los anticuerpos anti-HNK1 detectados por ELISA tienen una buena sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de la neuropatía asociada a anti-MAG¹⁶³ y sus títulos correlaciona mejor con la gravedad de la neuropatía y disminuyen después del tratamiento con rituximab.

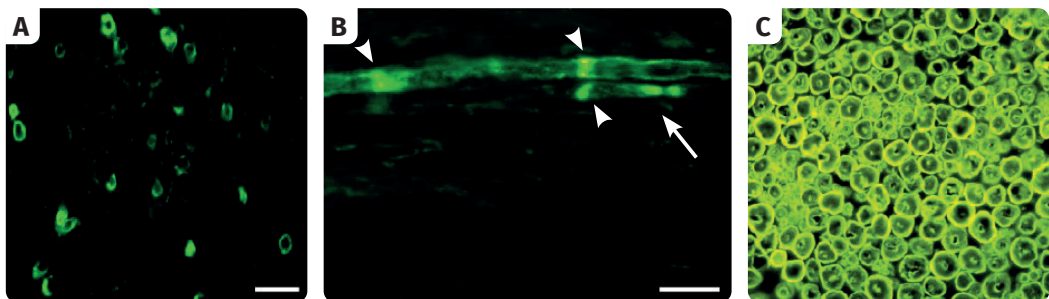


Figura 14: Estudio de inmunofluorescencia en neuropatía anti-MAG.

A: Sección transversal y **B:** longitudinal de biopsia de nervio de paciente con neuropatía anti-MAG. La reactividad IgM (**verde**) se concentra en las regiones paranodales (**flechas**) y en las incisuras Schmidt-Lanterman, así como en la capa más externa de la mielina. Extraídas de Kawagashira⁷⁵. **C:** Sección de nervio periférico de primate incubado con suero de paciente anti-MAG y anticuerpo secundario IgM. Se observa una tinción de las vainas de mielina que es de mayor intensidad en su periferia.

Adaptada de Jaskowski¹⁵⁷.

1.2.3.3.2.1. Patogenicidad de los anticuerpos anti-MAG

El suero de pacientes con neuropatía asociada a anti-MAG muestra reactividad IgM contra las vainas de mielina del nervio periférico (**Figura 14 C**)^{157,161}. En los estudios de inmunofluorescencia directa en biopsia de nervio sural de estos pacientes se observan depósitos de IgM en las vainas de mielina de algunas fibras nerviosas (**Figura 14 A-B**)^{72,161}. Los anticuerpos anti-MAG IgM se depositan en las membranas de mielina (provocando el ensanchamiento entre las capas de mielina), en las incisuras de Schmidt–Lanternman y en los bucles de mielina paranodales^{164,165}. También se han descrito depósitos de complemento en las vainas de mielina en algunos pacientes^{166,167}. Todas estas observaciones anatomopatológicas sugerían que los anticuerpos anti-MAG mediaban la desmielinización. Posteriormente, esta hipótesis fue demostrada en estudios *in vivo* mediante la administración sistémica de IgM de pacientes con anti-MAG a modelos animales de pollo, lo que provocaba una desmielinización segmentaria con mínima inflamación¹⁶⁸. Se observó ensanchamiento de los espacios entre las capas externas de mielina y depósitos de IgM en las capas externas de la mielina, y especialmente en los nodos de Ranvier y las incisuras de Schmidt-Lanternman con un patrón similar al observado en las biopsias de los pacientes. Ésta fue la primera demostración *in vivo* de desmielinización mediada por anticuerpos¹⁶⁸.

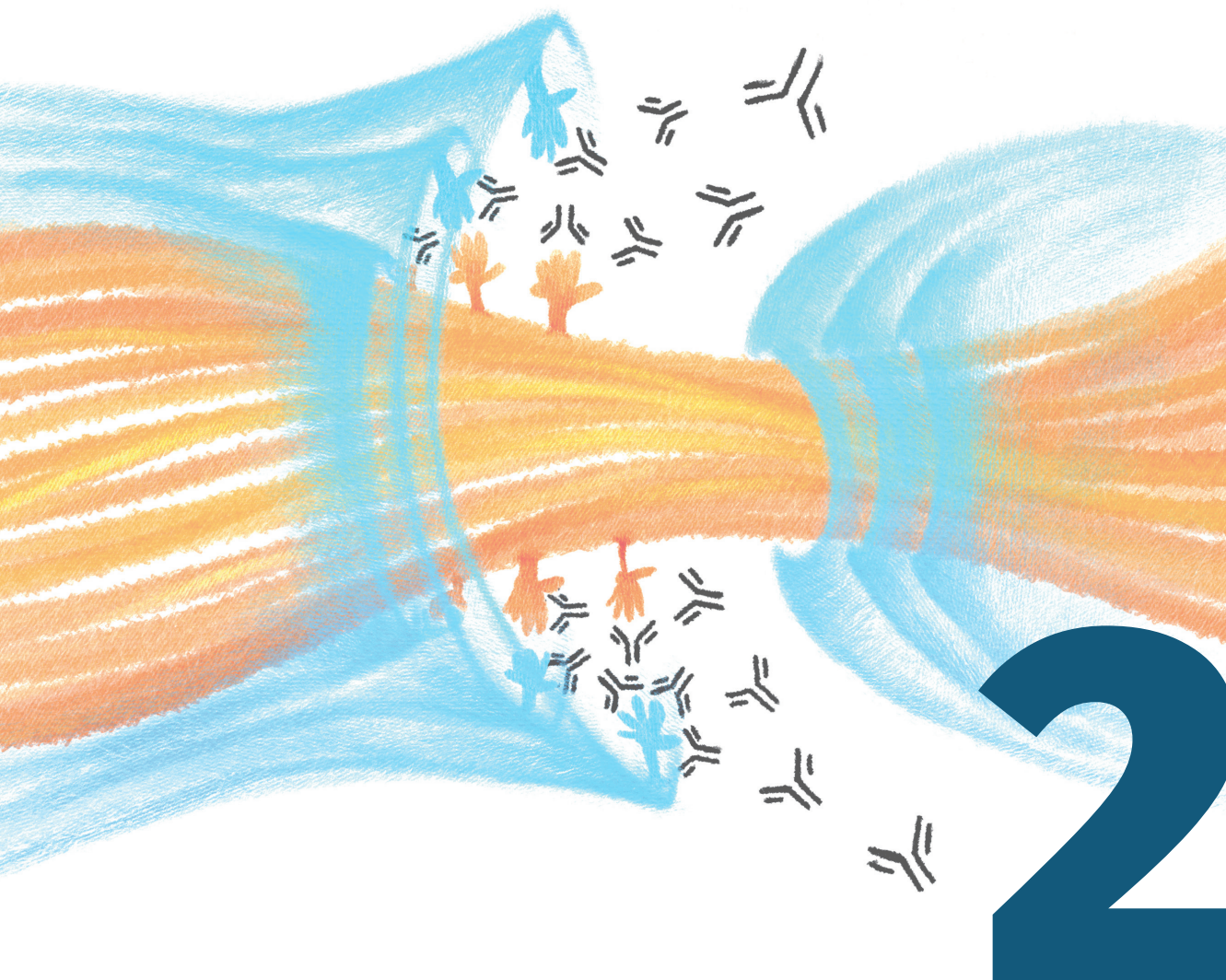
Los clones anti-MAG se consideran parte de la GM-IgM¹⁵². Las secuencias de los anticuerpos producidos por estos clones habrían madurado a partir de la línea germinal¹⁶⁹. Mutaciones en el gen del factor de diferenciación mieloide 88 (MYD88) están presentes en la mayoría de los pacientes con macroglobulinemia de Waldenström (MW)¹⁷⁰, un linfoma B linfoplasmocítico de bajo grado localizado en la médula ósea. La mutación MYD88^{L265P} se considera causante de la MW. Recientemente se ha descrito la presencia de esta mutación en el 60% de los pacientes con neuropatía anti-MAG¹⁷¹. Estas observaciones sugieren que la fisiopatología de la GM-IgM con anti-MAG es similar a la de la WM, lo que podría

tener implicaciones terapéuticas. Ibrutinib, un inhibidor de la tirosina quinasa de Bruton, ha demostrado eficacia en la MW con mutación MYD88^{L265P}¹⁷². Recientemente se ha reportado una buena respuesta al tratamiento con ibrutinib en tres pacientes con neuropatía anti-MAG portadores de la mutación MYD88^{L265P}¹⁷³.

1.2.4. Relevancia clínica de la detección de autoanticuerpos en los pacientes con neuropatías inmunomediadas crónicas

La descripción de anticuerpos contra proteínas del nodo del Ranvier ha demostrado la existencia de distintos subtipos de enfermedad que difieren en su diana antigénica, lo que a su vez se traduce en fenotipos clínicos diferentes, y en una respuesta selectiva a determinados tratamientos inmunomoduladores. Del mismo modo, la detección de anticuerpos anti-MAG en pacientes con neuropatías inmunomediadas crónicas permite identificar otro subgrupo de pacientes con peculiaridades clínicas asociadas a estos anticuerpos, que requieren de un manejo clínico diferente. Por tanto, la detección de estos anticuerpos tiene una aplicación directa en la práctica clínica, pues son útiles para el diagnóstico y pronóstico, así como para guiar el tratamiento en estos pacientes¹⁷⁴. Además, el descubrimiento de estos anticuerpos nos ha ayudado a comprender los mecanismos inmunopatogénicos de la enfermedad en estos subgrupos de pacientes con neuropatías inmunomediadas.

Hipótesis



2.1. HIPÓTESIS GENERAL

Las neuropatías inmunomediadas crónicas son un grupo heterogéneo de enfermedades agrupadas bajo categorías diagnósticas definidas en base a criterios clínicos y electrofisiológicos que no reflejan su diversidad patogénica. Los anticuerpos contra estructuras del SNP juegan un papel fundamental en la patogenia de las neuropatías inmunomediadas crónicas y permiten caracterizarlas en subgrupos más homogéneos que comparten unos fenotipos clínicos y mecanismos inmunopatogénicos comunes.

2.2. HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

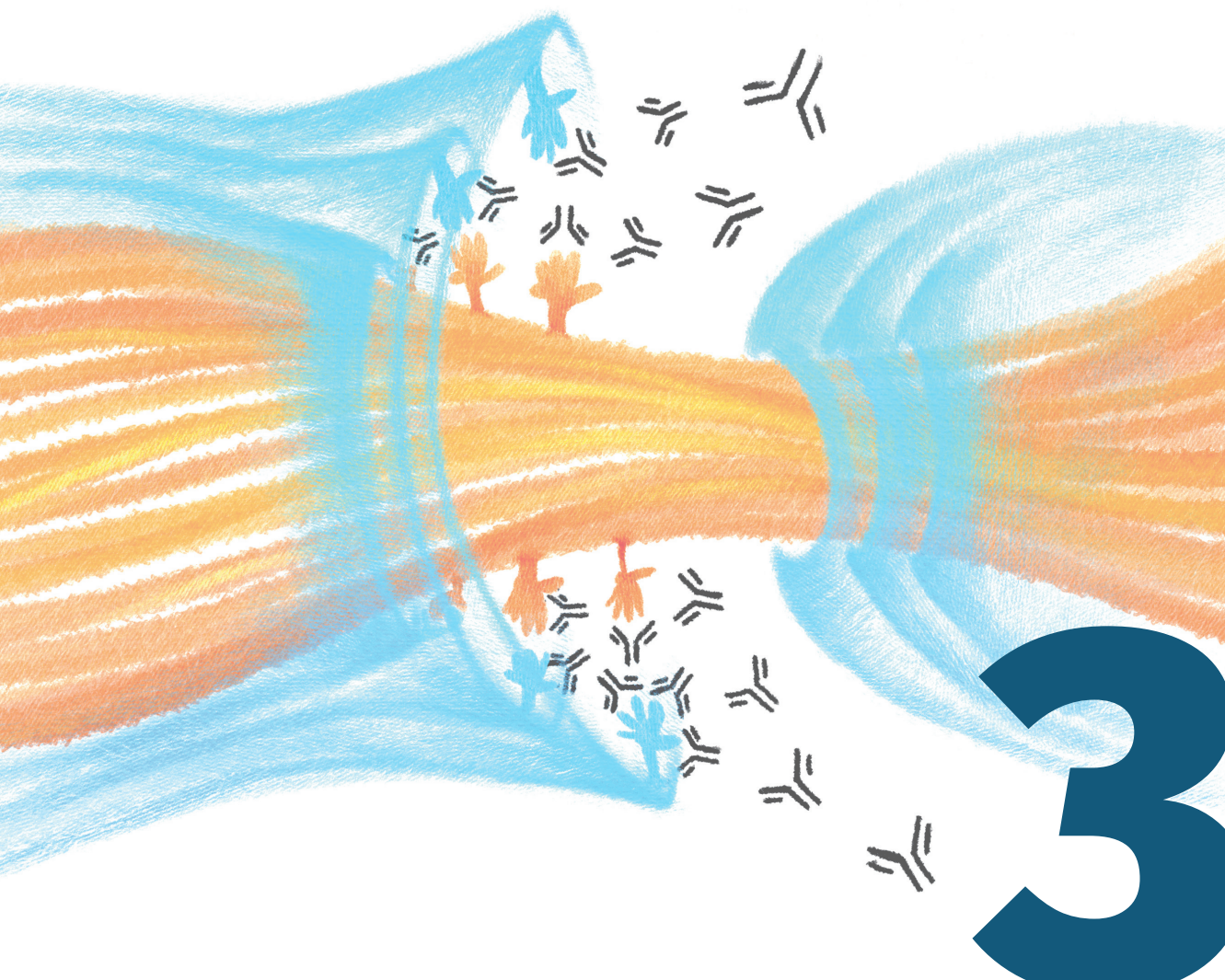
2.2.1. Anticuerpos anti-MAG

- Los anticuerpos anti-MAG están presentes en un subgrupo de pacientes que cumplen criterios diagnósticos de CIDP. La restricción del testado de anti-MAG a pacientes con GM-IgM genera un sesgo de selección que impide detectar estos anticuerpos en pacientes con neuropatía inmunomediada crónica sin GM-IgM asociada. Estos pacientes tienen un fenotipo clínico diferente al de la CIDP clásica por lo que su detección es fundamental para un adecuado diagnóstico y manejo clínico.

2.2.2. Anticuerpos anti-Caspr1/CNTN1

- Los anticuerpos contra el complejo Caspr1/CNTN1 están presentes en un subgrupo de pacientes con CIDP. Estos pacientes tienen un fenotipo clínico diferente al de la CIDP clásica por lo que su detección es fundamental para un adecuado manejo clínico.
- La reactividad de los anticuerpos anti-Caspr1/CNTN1 depende de la presencia de Caspr1 y/o CNTN1. Este hecho interfiere en las técnicas de laboratorio para la detección de anticuerpos anti-Caspr1/CNTN1 en suero.

Objetivos



3.1. OBJETIVO PRINCIPAL

Describir la presencia de anticuerpos dirigidos contra estructuras del nervio periférico con relevancia clínica en subgrupos de pacientes con neuropatías inmunomediadas crónicas.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

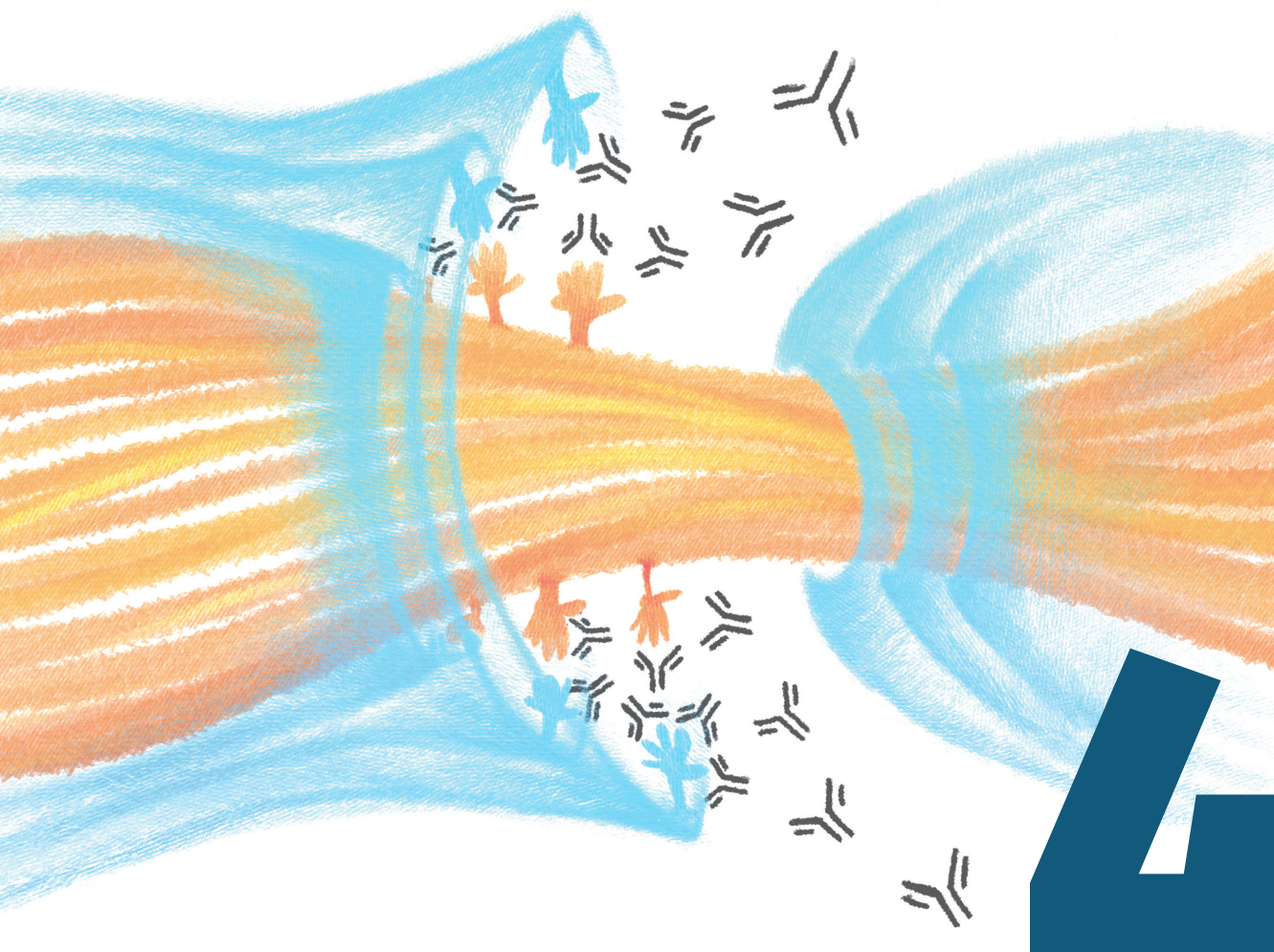
3.2.1. Anticuerpos anti-MAG

- Describir la presencia de anticuerpos anti-MAG en pacientes que cumplen criterios diagnósticos de CIDP y no tienen GM-IgM asociada. Describir las características clínicas e inmunológicas de estos pacientes.

3.2.2. Anticuerpos anti-Caspr1/CNTN1

- Describir la presencia de anticuerpos anti-Caspr1/CNTN1 en pacientes que cumplen criterios diagnósticos de CIDP. Describir las características clínicas e inmunológicas de estos pacientes.
- Identificar la diana antigénica de los anticuerpos anti-Caspr1/CNTN1.
- Optimizar la estrategia diagnóstica de los anticuerpos anti-Caspr1/CNTN1.

Compendio de Publicaciones



4

4.1. ARTÍCULO 1

Clinical and laboratory features of anti-MAG neuropathy without monoclonal gammopathy

Pascual-Goñi E, Martín-Aguilar L, Lleixà C, Martínez-Martínez L, Simón-Talero MJ, Díaz-Manera J, Cortés-Vicente E, Rojas-García R, Moga E, Juárez C, Illa I, Querol L.
Sci Rep. 2019 Apr 16;9(1):6155. doi: 10.1038/s41598-019-42545-8

SCIENTIFIC REPORTS

OPEN

Clinical and laboratory features of anti-MAG neuropathy without monoclonal gammopathy

Elba Pascual-Goñi¹, Lorena Martín-Aguilar¹, Cinta Lleixà¹, Laura Martínez-Martínez⁴, Manuel J. Simón-Talero³, Jordi Díaz-Manera^{1,2}, Elena Cortés-Vicente^{1,2}, Ricard Rojas-García^{1,2}, Esther Moga⁴, Cándido Juárez², Isabel Illa^{1,2} & Luis Querol^{1,2}

Received: 31 January 2019
Accepted: 2 April 2019
Published online: 16 April 2019

Abstract Antibodies against myelin-associated glycoprotein (MAG) almost invariably appear in the context of an IgM monoclonal gammopathy associated neuropathy. Very few cases of anti-MAG neuropathy lacking IgM-monoclonal gammopathy have been reported. We investigated the presence of anti-MAG antibodies in 69 patients fulfilling diagnostic criteria for CIDP. Anti-MAG antibodies were tested by ELISA and confirmed by immunohistochemistry. We identified four (5.8%) anti-MAG positive patients without detectable IgM-monoclonal gammopathy. In two of them, IgM-monoclonal gammopathy was detected at 3 and 4-year follow-up coinciding with an increase in anti-MAG antibodies titers. In conclusion, anti-MAG antibody testing should be considered in chronic demyelinating neuropathies, even if IgM-monoclonal gammopathy is not detectable.

Polyneuropathy associated with IgM monoclonal gammopathy of uncertain significance (MGUSP) is a rare form of chronic immune-mediated neuropathy. More than 50% of these patients harbor antibodies against myelin-associated glycoprotein (MAG)^{1,2}. Patients with anti-MAG + MGUSP present with a predominantly sensory neuropathy with ataxia and tremor with poor response to immunotherapy³.

Anti-MAG antibodies were described to be invariably associated with IgM monoclonal gammopathy⁴, and clinical practice guidelines recommend to test them in patients with detectable IgM monoclonal gammopathy⁵. Anecdotal cases of neuropathy with anti-MAG antibodies lacking monoclonal gammopathy were reported^{6–8}. A recent Japanese study⁹ reported a prevalence of 5.6% of anti-MAG positive patients in a cohort of 36 patients with chronic demyelinating polyneuropathy with no monoclonal gammopathy. Antibodies in these patients were tested by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and confirmed by Western blot analysis.

Here we investigate the presence of anti-MAG antibodies in patients fulfilling diagnostic criteria for chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy (CIDP) without IgM monoclonal gammopathy. Also, we describe the clinical, electrophysiological and laboratory findings of four patients with anti-MAG associated neuropathy without any detectable monoclonal gammopathy at the time of diagnosis.

Results

Patients. We detected 69 patients (61% males, mean age 58 years) fulfilling CIDP diagnostic criteria. Flowchart of the study population is represented in Fig. 1A. Briefly, nine patients with antibodies toward NF155 (n = 4; 5.8%), NF140/186 (n = 2; 2.9%), CNTN1 (n = 2; 2.9%) or CNTN1/CASPR1 (n = 1; 1.4%), all of them negative for anti-MAG antibodies, were excluded from the seronegative cohort. Thirteen patients had monoclonal gammopathy (IgA n = 1; IgG n = 9; IgM n = 2; IgA + IgG n = 1) at diagnosis. The two CIDP patients with IgM monoclonal gammopathy were anti-MAG negative. Finally, we tested anti-MAG antibodies by ELISA in 58 CIDP seronegative patients. Anti-MAG antibodies were detected in four patients (6.9% of the seronegative patients; 5.8% of the whole CIDP cohort) without IgM monoclonal gammopathy.

¹Neuromuscular Diseases Unit, Department of Neurology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain. ²Centro para la Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Raras (CIBERER), Madrid, Spain. ³Department of Neurology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain. ⁴Department of Immunology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain. Correspondence and requests for materials should be addressed to L.Q. (email: lquerol@santpau.cat)

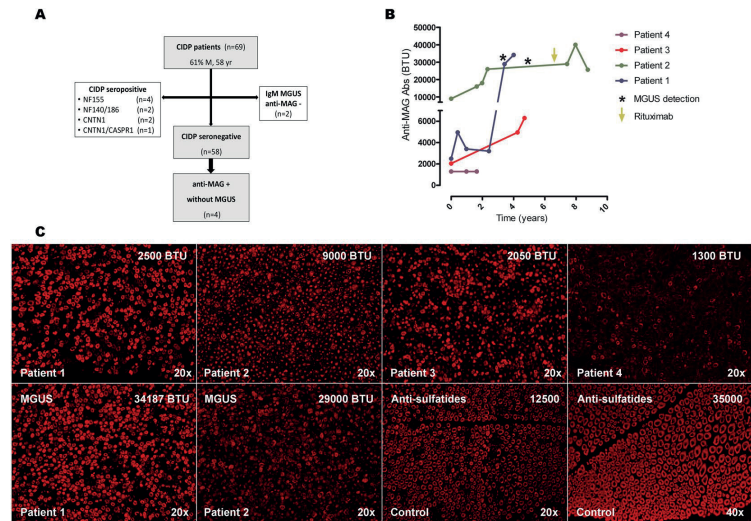


Figure 1. Flowchart of the study population (A). Serial anti-MAG antibody titers during follow-up (B). The asterisks highlight the detection of IgM MGUS in patients 1 and patient 2. The arrow indicates rituximab administration. Immunohistochemistry studies with serum from patients 1–4 showing IgM binding on the myelin sheaths. Immunofluorescence intensity increased in patients 1 and 2 after MGUS detection (C). Staining pattern of patients anti-MAG- sulfatides+ MGUSP used as control are shown. Titers of anti-MAG and anti-sulfatides antibodies are represented. (Anti-IgM, 20x and 40x original magnification). BTU Böhlmann test units; IgM immunoglobulin M; MAG myelin-associated glycoprotein; MGUS monoclonal gammopathy of uncertain significance.

Clinical and neurophysiological features. Clinical and epidemiological features of all four patients are summarized in Table 1. All of them were males, with ages ranging from 58 to 70 years. Patients 1 and 2 presented with progressive distal sensory disturbances, while patient 4 presented with gait imbalance due to sensory ataxia. Patient 3 was diagnosed of essential tremor and had an incipient neuropathy with impaired vibration sensation in the lower limbs. Physical examination revealed mild to moderate sensory ataxia and mild to severe action tremor in all patients. During follow-up, patients 1, 2 and 4 developed distal motor involvement. Nerve conduction studies (Table 1) demonstrated prolonged distal motor latencies in patients 1 and 4 and mild to moderate reduction of motor or sensory nerve conduction velocities in all four patients. Also, F-waves showed prolonged latencies in patients 1, 2 and 3; and were absent in patient 4. Temporal dispersion was observed in patient 1, and compound muscle action potentials or sensory nerve action potentials were reduced in all four patients. An additional file shows nerve conduction studies in more detail (Supplementary Table 1).

All patients were treated with intravenous immunoglobulin (IVIg) (2 g/Kg), and good response was observed in patient 1 and 4, while partial response was observed in patients 2 and 3. Patient 2 was treated with azathioprine without response. Upon IgM MGUS detection, rituximab (375 mg/m², once weekly for 4 weeks followed by 1 additional dose 1 month later) was started and we observed disease stabilization. IVIg were suspended in patient 4, due to toxicodermia and neither prednisone (1 mg/Kg/d), nor cyclosporine (125 mg/12 h) showed any significant benefit.

Antibody assays. Anti-MAG antibodies tested positive at diagnosis in four patients by ELISA. Immunofixation did not detect monoclonal gammopathy at diagnosis in any of these patients, and total IgM levels were only mildly elevated in patient 3 (301 mg/dL, upper limit 230 mg/dL). Anti-MAG antibody titers and presence of IgM monoclonal gammopathy by immunofixation was tested periodically in these patients depending on their visit schedules. Follow-up anti-MAG antibody titers are shown in Fig. 1B. Antibodies to sulfatides and gangliosides were negative in all four patients.

In patients 1 and 2 we detected an IgM monoclonal gammopathy after 3 and 4 years of follow-up respectively (Fig. 1B), while in patients 3 and 4 no monoclonal gammopathy has been detected yet (follow-up of 5 and 2 years respectively). In patient 1, the detection of monoclonal gammopathy coincided with a significant increase in anti-MAG antibody titers. At that time, hematological malignancy screening tests performed in patients 1 and 2 were negative. Both had a serum IgM-kappa monoclonal protein of less than 1 g/L, a negative Bence-Jones protein

	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4
Age at onset, yr; Sex	58; M	70; M	70; M	68; M
Past medical history	No	Hypertension, diabetes	Osteoarthritis, Essential tremor	Arthritis (methotrexate)
Clinical manifestations				
Initial symptoms	Distal sensory disturbance upper > lower limbs	Distal sensory disturbance upper > lower limbs	Postural tremor	Gait ataxia
Limb weakness	Distal > proximal mild	Distal mild	No	Distal > proximal moderate distal atrophy
Gait ataxia	Mild	Moderate	Mild	Moderate
Intention tremor	Mild	Moderate, upper limbs	Severe, head and upper limbs	Moderate, upper limbs
Electrophysiological findings				
Prolonged motor distal latencies	+	–	–	+
Reduction of NCV	+	+	+	+
Prolonged F-wave latencies	+	+	+	+
Conduction block	–	–	–	NA
Temporal dispersion	+	–	–	+
Reduced CMAPs	+	+	+	
Reduced SNAPs	+	+	+	+
Laboratory findings				
Cerebrospinal fluid findings (protein; cell count)	1,1 g/L; 2cells/mm ³	1,4 g/L; 2cells/mm ³	NA	0,44 g/L; 0cells/mm ³
IgM levels * (presentation)	163 mg/dL	174 mg/dL	301 mg/dL	63 mg/dL
Anti-sulfatides and gangliosides	Negative	Negative	Negative	Negative
Anti-MAG Abs titers (presentation)	2500	9000	2050	1300
Monoclonal protein, levels (follow-up)	IgM-κ, < 1 g/L	IgM-κ, < 1 g/L	No	No
Malignancy screening	Negative	Negative	NA	NA
Treatment and response	IVIg: good	IVIg: partial azathioprine: no rituximab: good	IVIg: partial	IVIg: good steroids: no cyclosporine: no

Table 1. Summary of clinical and laboratory findings of patients with anti-MAG neuropathy without monoclonal gammopathy. *IgM normal values: 40–230 mg/dL. CMAPs: compound muscle action potential; IVIg: intravenous immunoglobulin; κ: kappa light chain; M: male; NA: not available; NCV: nerve conduction velocities; SNAPs: sensory nerve action potential; yr: years.

urine test, and a radiographic X-ray skeletal survey without bone lesions. Accordingly, both patients were diagnosed of IgM MGUS and underwent hematological follow-up. Neither of them developed malignancy to date.

Immunohistochemistry. At diagnosis, serum from all four patients showed a typical anti-MAG reactivity pattern in the immunohistochemistry assays. Immunostaining reactivity was indistinguishable from patients with monoclonal gammopathy associated anti-MAG neuropathy and different from patients with anti-sulfatide antibody-associated neuropathy (Fig. 1C). The intensity of the myelin staining increased significantly after IgM monoclonal gammopathy detection in patients 1 and 2.

Discussion

In this study, we identified anti-MAG antibodies in four patients fulfilling CIDP diagnostic criteria and no evidence of monoclonal gammopathy. Only one patient had slightly increased total IgM levels at diagnosis, and in two patients we detected an IgM MGUS after 3 and 4 years of follow-up. All patients presented with clinical, electrophysiological and serological features indistinguishable from those described in patients with anti-MAG + MGUS³.

Since their description, anti-MAG antibodies have always been associated to IgM monoclonal gammopathy⁴. Anti-MAG have been shown to be specific for the diagnosis of MGUS⁵, while they are negative in healthy controls². Indeed, clinical guidelines^{5,9} only recommend to test anti-MAG antibodies in patients with IgM monoclonal gammopathy. Although the association of IgM monoclonal gammopathy and anti-MAG antibodies is very strong, these recommendations likely generate a selection bias. Our observations suggest that there is a subset of patients with anti-MAG + polyneuropathy without any detectable monoclonal gammopathy that may remain undiagnosed. A few other cases of anti-MAG neuropathy in the absence of monoclonal gammopathy have been described^{6–8}, supporting our observations.

In two of our patients an IgM monoclonal gammopathy was detected by serum immunofixation years after diagnosis, and in patient 1 it clearly coincided with an increase in anti-MAG titers. Longer follow-ups may lead to detectable gammopathy in the other two patients but this remains to be confirmed. This phenomenon may

imply that, either early IgM gammopathy is not detectable with current immunofixation techniques or that an early antigen-driven autoimmune process is subsequently followed by a clonal expansion and appearance of the monoclonal gammopathy. Whatever the case, these two patients suggest that anti-MAG antibody polyneuropathy displays a spectrum of disease that includes patients that test negative for the presence of gammopathy. Either early testing of anti-MAG or repeated testing of monoclonal gammopathy by immunofixation have to be considered then, especially in patients with clinical and electrophysiological features resembling typical anti-MAG+ MGUSP.

The prevalence of anti-MAG+ patients in our CIDP cohort (5.8%) was similar to that recently reported by a Japanese group (5.7%)⁸. It is also comparable to the amount of anti-NF155+ patients in our study population (4/69) and the prevalence of anti-NF155+ patients reported in other CIDP cohorts¹⁰. These findings support the concept that CIDP is a heterogeneous disease in terms of immunopathology, clinical presentation and treatment response. Therefore, autoantibody profiling, including detection of anti-MAG antibodies, is useful to guide diagnosis, prognosis and treatment selection in patients with chronic demyelinating neuropathy.

The treatment strategy in anti-MAG associated neuropathies is limited due to the low response rate to current therapies. Treatment with IVIg, plasma exchange, prednisone or rituximab have shown benefits in some patients^{3,11}. Two of our patients were initially diagnosed of seronegative CIDP and unsuccessfully treated with immunosuppressant drugs such as azathioprine and cyclosporine that are not considered effective in anti-MAG+ MGUSP. Thus, within the standard therapies used in CIDP, anti-MAG antibodies helped us choose those therapies that could yield better results (e.g. IVIg). It would be interesting to assess in larger cohorts if early treatment of these patients with B-cell depleting therapies, such as rituximab, would be more efficacious than if patients are treated after the development of the monoclonal gammopathy^{11,12}. Moreover, due to the association of anti-MAG antibodies to the presence of MGUS, all four patients underwent hematological follow-up to study the appearance of monoclonal gammopathy.

In conclusion, we report four patients with anti-MAG neuropathy in the absence of IgM-monoclonal gammopathy. Given these observations, we suggest to test anti-MAG antibodies in patients with chronic demyelinating neuropathy, regardless of the detection of IgM monoclonal gammopathy, especially in those with distal, sensory-ataxic involvement.

Methods

Patients, informed consent and protocol approvals. Patients prospectively observed during routine neuromuscular practice between 2007–2017 fulfilling EFNS/PNS diagnostic criteria for CIDP were included. We tested the presence of anti-MAG antibodies in serum. Patients with antibodies towards neurofascin-155 (NF155), nodal neurofascin-140 and 186 (NF140/186), contactin-1 (CNTN1), contactin-1/caspr-1 complex (CNTN1/CASPR1) were excluded from the seronegative cohort. This study was conducted according to a protocol approved by the Institutional Ethics' Committee of the Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. All experiments were performed in accordance with the relevant guidelines and regulations. Written informed consent were obtained from all subjects.

Clinical and neurophysiological features. In anti-MAG+ patients we collected the age at onset, sex, past medical history and clinical manifestations including initial symptoms and the presence of limb weakness (proximal/distal), gait ataxia or intention tremor. We analyzed neurophysiological findings including motor distal latencies, nerve conduction velocities, F-wave latencies, and the presence of conduction blocks, temporal dispersion, reduced CMAPs or reduced SNAPs. We also collected therapies and response to them.

Antibody assays. The presence of monoclonal gammopathy (IgA, IgG or IgM) was evaluated by serum protein electrophoresis and serum immunofixation electrophoresis studies (Sebia, France) at diagnosis and follow-up. Antibodies against NF155, NF140/186, CNTN1 and CNTN1/CASPR1 were investigated by immunocytochemistry as previously described¹³. Anti-MAG antibodies were tested by ELISA (Bühlmann laboratories AG, Schönenbuch, Switzerland). We used a cut-off value of 1000 Bühlmann Titer Units (BTU), according to the manufacturer's instructions. In anti-MAG+ patients, antibodies to sulfatides and gangliosides were also investigated by ELISA as previously described¹⁴. Further, total levels of IgM in serum were investigated (Immagine 800 Nephelometer Beckman Coulter).

Immunohistochemistry. Monkey peripheral nerve tissue slides (Inova Diagnostics, Inc., San Diego, CA) were blocked with 5% normal goat serum in PBS, incubated with patients' sera at 1:10 for 1 hour at room temperature, washed and incubated with Alexa Fluor 594 goat antihuman IgM secondary antibody at 1:1000 for 1 hour. Slides were mounted with Fluoromount medium (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Immunostaining patterns were analyzed and compared with controls. Sera from patients with anti-MAG+ MGUSP and anti-MAG- sulfatides + MGUSP were used as disease controls.

Data Availability

All data generated or analyzed during this study are included in this published article (and its Supplementary Information Files).

References

1. Nobile-Orazio, E. *et al.* Frequency and clinical correlates of anti-neural IgM antibodies in neuropathy associated with IgM monoclonal gammopathy. *Ann Neurol* **36**, 416–424 (1994).
2. Kuif, M. L. *et al.* Detection of anti-MAG antibodies in polyneuropathy associated with IgM monoclonal gammopathy. *Neurology* **73**, 688–695 (2009).
3. Dalakas, M. C. Advances in the diagnosis, immunopathogenesis and therapies of IgM-anti-MAG antibody-mediated neuropathies. *Ther. Adv. Neurol. Disord.* **11**, 175628561774664 (2018).

4. Ellie, E. *et al.* Neuropathy associated with 'benign' anti-myelin-associated glycoprotein IgM gammopathy: clinical, immunological, neurophysiological pathological findings and response to treatment in 33 cases. *J Neurol* **243**, 34–43 (1996).
5. Joint Task Force of the E. & the, P. N. S. European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society Guideline on management of paraproteinemic demyelinating neuropathies. Report of a Joint Task Force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society. *J Peripher Nerv Syst* **15**, 185–195 (2010).
6. Nobile-Orazio, E. *et al.* Neuropathy and anti-MAG antibodies without detectable serum M-protein. *Neurology* **34**, 218–221 (1984).
7. Gabriel, J. M. *et al.* Confocal microscopic localization of anti-myelin-associated glycoprotein autoantibodies in a patient with peripheral neuropathy initially lacking a detectable IgM gammopathy. *Acta Neuropathol* **95**, 540–546 (1998).
8. Sakamoto, Y., Shimizu, T., Tobisawa, S. & Isozaki, E. Chronic demyelinating neuropathy with anti-myelin-associated glycoprotein antibody without any detectable M-protein. *Neural Sci* **38**, 2165–2169 (2017).
9. Van den Bergh, P. Y. *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. *Eur J Neurol* **17**, 356–363 (2010).
10. Devaux, J. J. *et al.* Neurofascin-155 IgG4 in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Neurology* **86**, 800–807 (2016).
11. Dalakas, M. C. *et al.* Placebo-controlled trial of rituximab in IgM anti-myelin-associated glycoprotein antibody demyelinating neuropathy. *Ann Neurol* **65**, 286–293 (2009).
12. Leger, J.-M. *et al.* Placebo-controlled trial of rituximab in IgM anti-myelin-associated glycoprotein neuropathy. *Neurology* **80**, 2217–2225 (2013).
13. Querol, L. *et al.* Antibodies against peripheral nerve antigens in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Sci Rep* **7**, 14411 (2017).
14. Willison, H. J. *et al.* Inter-laboratory validation of an ELISA for the determination of serum anti-ganglioside antibodies. *Eur J Neurol* **6**, 71–77 (1999).

Acknowledgements

This project was supported by Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS), Instituto de Salud Carlos III, Spain and FEDER under grant FIS16/00627, and personal grant SLT006/17/00131 of the Pla estratègic de recerca i innovació en salut (PERIS), Departament de Salut, Generalitat de Catalunya, IP Luis Querol.

Author Contributions

E.P.G. and L.Q. were involved in study conceptualization, data collection, drafting, analysis, and revising the manuscript for intellectual content. L.M.A., C.L., L.M.M., M.S.T., J.D.M., E.C.V., R.R.G., E.M., C.J., I.I. were involved in data collection and revising the manuscript for intellectual content.

Additional Information

Supplementary information accompanies this paper at <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42545-8>.

Competing Interests: EP-G, LM-A, CL, LM-M, MJS-T, JD-M, EC-V, RR-G, EM and CJ declare no competing interests. LQ has provided expert testimony for Grifols, Genzyme and CSL Behring and received research funds from Novartis Spain and Grifols (Spin Award). II provided expert testimony and received speaking fees and travel grants from Pfizer.

Publisher's note: Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2019

Material suplementario**Additional file 1: Nerve conduction studies**

Patient 1						
Motor conduction studies						
Nerve	Distal Motor Latency, ms		Amplitude, mV		Conduction Velocity, m/s	
	Values	Normal values	Values	Normal values	Values	Normal values
Median (wrist), L	6.6	<3.9	10.7	>6	47	>50
Ulnar (wrist), L	5.8	<3.3	6.5	>5	52	>48
Peroneal (ankle), L	20.3	<5	0.4	>2	MD	>42

Sensory conduction studies				
Nerve	Amplitude, mV		Conduction Velocity, m/s	
	Values	Normal values	Values	Normal values
Median (wrist), L	33	>25	50	>47
Ulnar (wrist), L	23	>18	40	>45
Peroneal (ankle), L	10	>9	33	>40

F-waves studies		
F Latency, ms		
Nerve	Values	Normal values
Median (wrist), L	36.1	< 30
Ulnar (wrist), L	38.7	< 31

Patient 2						
Motor conduction studies						
Nerve	Distal Motor Latency, ms		Amplitude, mV		Conduction Velocity, m/s	
	Values	Normal values	Values	Normal values	Values	Normal values
Median (wrist), R	5.9	<3.9	5.1	>6	44	>50
Tibial (ankle), R/L	10.8/9.5	<6	0.2/0.3	>3	19/22	>38
Peroneal (ankle), R/L	9.1/7.9	<5	1.1/1.4	>2	23/28	>42

Sensory conduction studies				
Nerve	Amplitude, mV		Conduction Velocity, m/s	
	Values	Normal values	Values	Normal values
Radial (forearm), R	6	>11	50	>47
Sural (lower leg), L	3	>5	39	>38

F-waves studies		
F Latency, ms		
Nerve	Values	Normal values
Median (wrist), L	46.4	< 30
Ulnar (wrist), L	45.8	< 31

Patient 3						
Motor conduction studies						
Nerve	Distal Motor Latency, ms		Amplitude, mV		Conduction Velocity, m/s	
	Values	Normal values	Values	Normal values	Values	Normal values
Median (wrist), R	4.6	<3.9	5.7	>6	51	>50
Ulnar (wrist), R	3.4	<3.3	8.5	>5	59	>48
Peroneal (ankle), R	4.7	<5	2.2	>2	44	>42
Tibial (ankle), R	3.7	<6	8.4	>3	42	>38

Sensory conduction studies				
Nerve	Amplitude, mV		Conduction Velocity, m/s	
	Values	Normal values	Values	Normal values
Ulnar (wrist), R	11.7	>15	39	>42
S Peroneal (lat leg), R	2.7	>6	38	>39

F-waves studies		
F Latency, ms		
Nerve	Values	Normal values
Ulnar, R	32.6	< 27
D peroneal, R	58.4	< 47
Tibial, R	59.9	<48

Patient 4						
Motor conduction studies						
Nerve	Distal Motor Latency, ms		Amplitude, mV		Conduction Velocity, m/s	
	Values	Normal values	Values	Normal values	Values	Normal values
Median (wrist), R	10	<3.9	5.4	>6	19	>50
Ulnar (wrist), R	9.2	<3.3	2.6	>5	18	>48
Peroneal (ankle), R/L	NA/NA	<5	NR/NR	>2	NA/NA	>42

Sensory conduction studies				
Nerve	Amplitude, mV		Conduction Velocity, m/s	
	Values	Normal values	Values	Normal values
Median (wrist), R	NR	>16	NA	>44
Ulnar (wrist), R	NR	>15	NA	>42
Radial (forearm), R	NR	>11	NA	>47
Sural (lower leg), L	NR	>5	NA	>38

F-waves studies		
F Latency, ms		
Nerve	Values	Normal values
Ulnar, R	NR	< 31

MD: missing data; **NA:** not applicable; **NR:** No response

4.2. ARTÍCULO 2

Antibodies to the Caspr1/contactin-1 complex in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy

Elba Pascual-Goñi, Janev Fehmi, Cinta Lleixà, Lorena Martín-Aguilar, Jérôme Devaux, Romana Höftberger, Emilien Delmont, Kathrin Doppler, Claudia Sommer, Aleksandar Radunovic, Alejandra Carvajal, Shane Smyth, Laura Williams, Radim Mazanec, Veronika Potocková, Nigel Hinds, Julien Cassereau, Karine Viala, Mathilde Lefilliatre, Guillaume Nicolas, Peter Foley, Frank Leypoldt, Stephen Keddie, Michael P. Lunn, Fritz Zimprich, Vharoon Sharma Nunkoo, Wolfgang N. Löscher, Laura Martínez-Martínez, Jordi Díaz-Manera, Ricard Rojas-Garcia, Isabel Illa, Simon Rinaldi and Luis Querol

Brain. 2021 Apr 20; awab014. doi: 10.1093/brain/awab014.

Antibodies to the Caspr1/contactin-1 complex in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy

Elba Pascual-Goñi,¹ Janev Fehmi,² Cinta Lleixà,¹  Lorena Martín-Aguilar,¹ Jérôme Devaux,³  Romana Höftberger,⁴ Emilien Delmont,⁵ Kathrin Doppler,⁶ Claudia Sommer,⁶ Aleksandar Radunovic,⁷ Alejandra Carvajal,⁸ Shane Smyth,⁹ Laura Williams,⁹ Radim Mazanec,¹⁰ Veronika Potočková,¹⁰ Nigel Hinds,¹¹ Julien Cassereau,¹² Karine Viala,¹³  Mathilde Lefilliatre,¹⁴ Guillaume Nicolas,¹⁵  Peter Foley,¹⁶ Frank Leypoldt,^{17,18}  Stephen Keddie,¹⁹  Michael P. Lunn,¹⁹ Fritz Zimprich,²⁰  Vharoon Sharma Nunkoo,²¹ Wolfgang N. Löscher,²²  Laura Martínez-Martínez,²³ Jordi Díaz-Manera,^{1,24} Ricard Rojas-García,^{1,24} Isabel Illa,^{1,24} Simon Rinaldi,^{2,†} and  Luis Querol^{1,24,†}

[†]These authors contributed equally to this work.

Previous studies have described the clinical, serological and pathological features of patients with chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy (CIDP) and antibodies directed against the paranodal proteins neurofascin-155, contactin-1 (CNTN1), contactin-associated protein-1 (Caspr1), or nodal forms of neurofascin. Such antibodies are useful for diagnosis and potentially treatment selection. However, antibodies targeting Caspr1 only or the Caspr1/CNTN1 complex have been reported in few patients with CIDP. Moreover, it is unclear if these patients belong to the same pathophysiological subgroup. Using cell-based assays in routine clinical testing, we identified sera from patients with CIDP showing strong membrane reactivity when both CNTN1 and Caspr1 were co-transfected (but not when CNTN1 was transfected alone). Fifteen patients (10 male; aged between 40 and 75) with antibodies targeting Caspr1/CNTN1 co-transfected cells were enrolled for characterization. The prevalence of anti-Caspr1/CNTN1 antibodies was 1.9% (1/52) in the Sant Pau CIDP cohort, and 4.3% (1/23) in a German cohort of acute-onset CIDP. All patients fulfilled European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society (EFNS/PNS) definite diagnostic criteria for CIDP. Seven (47%) were initially diagnosed with Guillain-Barré syndrome due to an acute-subacute onset. Six (40%) patients had cranial nerve involvement, eight (53%) reported neuropathic pain and 12 (80%) ataxia. Axonal involvement and acute demyelination were frequent in electrophysiological studies. Complete response to intravenous immunoglobulin was not observed, while most (90%) responded well to rituximab. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and teased nerve fibre immunohistochemistry confirmed reactivity against the paranodal Caspr1/CNTN1 complex. Weaker reactivity against Caspr1 transfected alone was also detected in 10/15 (67%). Sera from 13 of these patients were available for testing by ELISA. All 13 samples reacted against Caspr1 by ELISA and this reactivity was enhanced when CNTN1 was added to the Caspr1 ELISA. IgG subclasses were also investigated by ELISA. IgG4 was the predominant subclass in 10 patients, while IgG3 was predominant in other three patients. In conclusion, patients with antibodies to the Caspr1/CNTN1 complex display similar serological and clinical features and constitute a single subgroup within the CIDP syndrome. These antibodies likely target Caspr1 primarily and are detected with Caspr1-only ELISA, but reactivity is optimal when CNTN1 is added to Caspr1 in cell-based assays and ELISA.

- 1 Neuromuscular Diseases Unit, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Spain
- 2 Nuffield Department of Clinical Neurosciences, University of Oxford, John Radcliffe Hospital, Oxford, UK
- 3 Institut de Neurosciences de Montpellier, Hospital Saint Eloi, Montpellier, France
- 4 Division of Neuropathology and Neurochemistry, Department of Neurology, Medical University of Vienna, Vienna, Austria

Received July 12, 2020. Revised October 02, 2020. Accepted November 04, 2020.

© The Author(s) (2021). Published by Oxford University Press on behalf of the Guarantors of Brain. All rights reserved.

For permissions, please email: journals.permissions@oup.com

- 5 Referral Centre for ALS and Neuromuscular Diseases, Hospital La Timone, Marseille, France
- 6 Department of Neurology, University Hospital Würzburg, Würzburg, Germany
- 7 Department of Neurology, Barts Health NHS Trust, London, UK
- 8 Complejo Hospitalario Universitario de Granada, Granada, Spain
- 9 Mater Misericordiae University Hospital, Dublin, Republic of Ireland
- 10 Department of Neurology, Medical Faculty of Charles University and University Hospital Motol, Prague, Czech Republic
- 11 Abertawe Bro Morgannwg University Health Board, Swansea, Wales, UK
- 12 Reference Centre for Neuromuscular Diseases, Department of Neurology, Angers University Hospital, Angers, France
- 13 Department of Clinical Neurophysiology, Hospital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
- 14 Department of Neurology, Hospital Center University of Caen, Caen, France
- 15 Department of Neurology, Hôpital Raymond-Poincaré, Université Versailles-Saint-Quentin-en-Yvelines, Garches, France
- 16 Anne Rowling Regenerative Neurology Clinic, University of Edinburgh, Edinburgh, UK
- 17 Institute of Clinical Chemistry, University Hospital Schleswig-Holstein, Kiel, Germany
- 18 Department of Neurology, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Kiel, Germany
- 19 Centre for Neuromuscular Diseases, National Hospital for Neurology and Neurosurgery, Queen Square, London, UK
- 20 Department of Neurology, Medical University of Vienna, Vienna, Austria
- 21 Department of Neurology, Municipal University Hospital Dr. Gavril Curteanu, Oradea, Romania
- 22 Department of Neurology, Medical University of Innsbruck, Austria
- 23 Department of Immunology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain
- 24 Centro para la Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Spain

Correspondence to: Dr Luis Querol

Department of Neurology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau Sant Pau Biomedical Research Institute

(IIB Sant Pau) Sant Quintí 77 (2nd Floor), 08041 Barcelona, Spain

E-mail: lquerol@santpau.cat

Keywords: contactin-1; contactin-associated protein 1; CIPD; autoantibodies; IgG4

Abbreviations: Caspr1 = contactin-associated protein 1; CBA = cell-based assays; CIPD = chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy; DRG = dorsal root ganglion; ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay; IVIg = intravenous immunoglobulin; mAb = monoclonal antibody

Introduction

Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy (CIPD) is a disabling disorder of the peripheral nerves, diagnosed by clinical and electrophysiological criteria.^{1,2} These criteria identify a heterogeneous population of patients responding to immunomodulatory therapies. Humoral factors are considered important in CIPD pathogenesis and therapies^{3,4}. The recent discovery of autoantibodies against nodal and paranodal proteins such as neurofascin 155 (NF155),⁵⁻⁷ nodal neurofascins (NF186 and NF140)^{8,9} and contactin-1 (CNTN1)^{10,11} has led to the description of subsets of CIPD patients with specific phenotypic features.¹² Antibodies to these cell-adhesion molecules are currently detected in less than 15% of all CIPD patients. Moreover, *in vitro* and *in vivo* data demonstrate their pathogenic potential^{13,14} and their clinical phenotypes^{7,10} and response to treatment differ from those of patients with seronegative CIPD.¹⁵ Antibodies are usually of the IgG4 isotype, although smaller populations with predominantly IgG3 autoantibody isotypes have also been reported.^{16,17} The stratification of CIPD according to their antibody reactivities has facilitated the identification of distinct pathological features^{18,19} and associated HLA haplotypes²⁰ in some variants. Thus, autoantibodies to nodal and paranodal structures have

pathophysiological relevance and have emerged as clinically useful biomarkers.

Contactin-associated protein 1 (Caspr1) is a cell-adhesion protein expressed by neurons.^{21,22} Caspr1 forms a complex with CNTN1^{23,24} that binds to the glial protein NF155, which together form the septate-like junctions (transverse bands) that interconnect the paranodal loops of Schwann cells to the axon at the paranode. Antibodies targeting Caspr1 have previously been reported in one patient with Guillain-Barré syndrome and in one CIPD patient with neuropathic pain.²⁵ Our group reported autoantibodies targeting the Caspr1/CNTN1 complex (and not their components in isolation) in one patient with an aggressive form of CIPD.¹¹ Three more patients with IgG4 autoantibodies against Caspr1/CNTN1 were also reported in the Italian cohort.²⁶ Moreover, very recently, patients with acute onset CIPD reacting against both CNTN1 and Caspr1 separately have been described.²⁷ It remains unclear whether patients reacting only against the Caspr1/CNTN1 complex constitute a population with distinct clinical and serological features compared to those reacting against Caspr1 or CNTN1 in isolation. The aim of our study was to analyse the clinical and immunological characteristics of CIPD patients with antibodies against the Caspr1/CNTN1 complex, elucidate the exact antigenic target (CNTN1, Caspr1 or the Caspr1/CNTN1 complex) and propose the optimal diagnostic strategy for this subpopulation of CIPD patients.

Materials and methods

Patients and sera

CIDP patients reacting against Caspr1/CNTN1 co-transfected cells, and non-reactive in CNTN1-only cell-based assays (CBA), from all participating centres were identified during routine testing for paranodal/nodal antibodies, and were selected for further characterization between 1 January and 31 December 2019. Patient 14 was identified as part of a study testing a retrospective German cohort of acute-onset CIDP. To calculate the prevalence of anti-Caspr1/CNTN1 autoantibodies in the Sant Pau CIDP cohort, we tested antibodies to Caspr1/CNTN1 in all patients fulfilling European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society (EFNS/PNS) diagnostic criteria for CIDP¹ that were followed-up in the Neuromuscular Clinic of Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (between 1 January and 31 December 2019). Sera collected from all patients fulfilling the inclusion criteria were further tested to specifically characterize the antigenic target of the autoantibodies. This study was conducted according to a protocol approved by the Institutional Ethics Committee of the Hospital de la Santa Creu i Sant Pau and samples were collected at each centre following local IRB approved protocols. Written informed consent was obtained from all subjects for sample handling and data collection.

Cell-based assays

Antibodies against NF155, NF140/186 and CNTN1 were investigated by immunocytochemistry as previously described.²⁸ Antibodies to Caspr1/CNTN1 were tested by CBA using human embryonic kidney (HEK) 293A cells and Chinese hamster ovary (CHO) Lec1 cells co-transfected with mammalian-expression vectors encoding human CNTN1 (EXA1153-MO29 Genecopoeia) and Caspr1 (EXMO417-MO2 Genecopoeia) at equimolar concentrations, or with CNTN1 or Caspr1 alone. Cells were grown in culture slides coated with poly-D-lysine for HEK293 or laminin for Lec1 cells. After 24 h, cells were transfected with LipofectamineTM 2000 (Invitrogen), fixed with 4% paraformaldehyde (PFA) (Affymetrix Inc) and frozen at -80°C until needed. Cells were then blocked with 5% goat or rabbit sera in PBS and incubated with patient's sera (1:100) preabsorbed with HEK293 cells pellet, 1 h at room temperature, followed by anti-CNTN1 (AF904, R&D Systems) (1:1000) or anti-Caspr1 (ab133634, Abcam) (1:250) antibodies. Finally, appropriate Alexa Fluor[®] secondary IgG antibodies (1:1000) were used as previously described (Querol et al., 2017b). Slides were mounted with FluoromountTM medium (Sigma-Aldrich). Images were acquired using a Leica TSC SP5 confocal microscope or a fluorescence microscope (Olympus DX51) and processed with ImageJ software. Patient 14 was recruited for another study²⁷ and serum of this patient was tested at the University Hospital Würzburg according to published protocols.^{25,29}

Caspr1 and CNTN1 enzyme-linked immunosorbent assay

MaxiSorpTM 96-well enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) plates (Thermo Fisher Scientific) were coated with 5 $\mu\text{g/ml}$ human recombinant Caspr1 protein (2418-CR R&D Systems), or 5 $\mu\text{g/ml}$ human recombinant CNTN1 protein (Sino Biological

Inc.) or 5 $\mu\text{g/ml}$ of Caspr1 and 3.8 $\mu\text{g/ml}$ CNTN1 protein (equimolar concentration) overnight at 4°C . Wells were blocked with 5% non-fat milk in PBS-Tween 0.1% for 1 h, incubated with sera diluted in blocking buffer for 1 h, and then incubated with peroxidase-conjugated mouse anti-human IgG secondary antibody 1:2000 (Invitrogen) or anti-IgG1, IgG2, IgG3 and IgG4 secondary antibodies for 1 h at room temperature. To calculate the anti-Caspr1 titres, the ELISA was performed with different serum concentrations (range 1:100–1:200 000). ELISAs were developed with tetramethylbenzidine solution (BioLegend), and the reaction stopped with 1 M sulphuric acid. Optical density (OD) was measured at 450 nm Multiscan ELISA reader. Samples were considered positive by ELISA when they had a ΔOD higher than average healthy control $\Delta\text{OD} + 2$ standard deviations. We used sera from healthy donors, seronegative CIDP and anti-CNTN1-positive patients as controls.

Teased nerve fibre and dorsal root ganglion immunohistochemistry

Swine sciatic nerves were obtained (discarded tissue from *Sus scrofa* used in Animal Ethics' Committee approved protocol for cardiovascular research) and pre-fixed in 2% PFA for 1 h. Nerve fibres were teased, transferred to slides, dried at room temperature, and stored at -20°C until needed. Dorsal root ganglion (DRG) sections of adult mice were prepared as previously described.³⁰ Slides were fixed in acetone -20°C for 10 min and incubated with the following solutions 1 h each at room temperature: (i) 5% goat serum in TritonTM 0.1%-PBS for 1 h; (ii) patient's serum (1:100); (iii) anti-neurofascin chicken antibody (AF3235 R&D Systems; 1:500) or anti-pan sodium channel monoclonal antibody (mAb) (S8809, Sigma-Aldrich; 1:500), or anti-Caspr1 (ab133634, Abcam; 1:100), or anti-TRPV1 (ACC-030 Alomone; 1:100), or anti-IB4 (L2140 Sigma-Aldrich; 1:200); and (iv) appropriate secondary antibodies (1:1000). Slides were mounted with FluoromountTM (Diagnostic BioSystems Inc.). Images were acquired using Leica TSC SP5 confocal microscope or Olympus DX51 fluorescence microscope, and processed with ImageJ software.

Peripheral nerve immunohistochemistry

Macaque peripheral nerve tissue slides (Inova Diagnostics, Inc.) were incubated with patients' sera and anti-Caspr1 or anti-CNTN1 antibodies. For Caspr1, peripheral nerve slides were incubated with the following solutions, 1 h each, at room temperature: (i) 5% normal goat serum in PBS; (ii) patients' sera at 1:20; (iii) anti-Caspr antibodies (ab133634, Abcam; 1:20); and (iv) monkey-adsorbed goat anti-human IgG 488 secondary antibody (2049-30 Southern Biotech; 1:400) and AF594 goat anti-rabbit secondary antibody (A11037, Thermo Fisher Scientific; 1:400). For CNTN1, slides were incubated with the following solutions, 1 h each, at room temperature: (i) UltraCruz Blocking Reagent (sc-516214, Santa Cruz Biotechnology); (ii) goat anti-CNTN1 IgG (AF904, R&D Systems, Minnesota, US; 1:50); (iii) secondary antibody donkey anti-goat IgG AF555 (A-21432 Invitrogen; 1:500); (iv) 5% normal goat serum in PBS; (v) patients' sera at 1:20; and (vi) monkey-adsorbed goat anti-human IgG 488 secondary antibodies (2049-30 Southern Biotech; 1:300). To study Caspr1 and CNTN1 staining patterns,

slides were also stained with anti-human CD56 mAb (347740, Becton Dickinson; 1:40) or anti-S100b (ab52642 Abcam; 1:50); and appropriate secondary antibodies (1:500). Slides were mounted with Fluoromount™ medium (Sigma-Aldrich). Images were acquired using Leica TSC SP5 confocal microscope and prepared using ImageJ software.

Dorsal root ganglion, hippocampal and human neuroblastoma-derived neuron immunocytochemistry

Rat DRG neurons were extracted and cultured, and immunocytochemistry was performed as previously described.³¹ Rat hippocampal neurons were isolated and cultured, and immunocytochemistry was performed as previously described.¹¹ SH-SY5Y cells were plated in glass coverslips coated with laminin (Invitrogen) and grown in proliferation medium containing DMEM, F12, FBS (10%), l-glutamine (1%) and sodium pyruvate (1%). After 24 h, proliferation medium was replaced by differentiation medium containing Neurobasal™ (Gibco) supplemented with B27 (Gibco), GlutaMAX™ (Gibco), nerve growth factor (Invitrogen) and retinoic acid. This medium was replaced every 2 days until full differentiation was achieved. On Days 5 and 6 of differentiation, cells were fixed for 15 min with PFA 4%; and incubated with the following solutions: (i) rabbit serum 1/40 in PBS for 1 h; (ii) patients' sera diluted 1:50; (iii) anti-CNTN1 antibodies (AF904, R&D Systems; 1:100); (iv) appropriate Alexa Fluor® secondary IgG antibodies (1:500). Slides were mounted with Vectashield with DAPI (Vector Laboratories). Sera from healthy donors and anti-CNTN1 positive CIDP patients were used as controls. Images were acquired using Leica TSC SP5 confocal microscope. Animal procedures were performed according to a protocol approved by our Institution's Animal Ethics' Committee.

Immunoabsorption experiments

Non-transfected, CNTN1-, Caspr1- or Caspr1/CNTN1-cotransfected HEK293 cells were grown in six-well plates as described above and then fixed with 4% PFA. Patients' sera diluted 1:500, 1:800 or 1:1000 in 5% goat serum in PBS were serially incubated for 1 h in each of the six wells. After incubation in the sixth and final well, the supernatant was collected, and its reactivity was tested by teased-nerve fibre immunohistochemistry as described above.

Mass spectrophotometry and immunoprecipitation

Human recombinant Caspr1 protein was analysed by mass spectrophotometry to detect CNTN1 contamination. The amount of CNTN1 was estimated based on the number of spectral counts (corrected by the molecular weight), and using the emPAI parameter as previously reported.³² CNTN1 was immunoprecipitated from Caspr1 human recombinant protein using Pierce Classic Magnetic IP/Co-IP Kit (88804, Thermo Fisher Scientific) and goat anti-CNTN1 IgG (AF904, R&D Systems). Anti-LRP4 antibody (SC98775, Santa Cruz Biotechnology) was used as control. CNTN1 immunoprecipitation was confirmed by western blot (Supplementary Fig. 3B). ELISAs with Caspr1

protein after CNTN1 immunoprecipitation were performed to analyse sera reactivity in the absence of CNTN1.

Data collection and statistical analysis

Clinical, neurophysiological, laboratory and treatment response data of each patient were obtained retrospectively by chart review by their primary clinicians in 15 different European centres. The diagnosis of CIDP was made according to current EFNS/PNS guidelines.¹ A good response to treatment was defined as an improvement of at least two points in the modified Rankin Scale. A partial response to treatment was defined as an improvement of 1 point in the modified Rankin Scale. Statistical analysis was performed with Prism v8.0 (GraphPad Software, La Jolla, California, US).

Data availability

The authors confirm that the data supporting the findings of this study are available within the article and its [Supplementary material](#).

Results

Autoantibodies against Caspr1/ CNTN1 co-transfected cells are detected in CIDP patients

We identified 15 CIDP patients with autoantibodies targeting Caspr1/CNTN1 co-transfected cells (and not reacting against CNTN1 alone), for clinical and immunological characterization. All samples were also negative for NF155 and NF140/186 by CBA. [Table 1](#) summarizes the immunological features of these patients. The prevalence of antibodies to Caspr1/CNTN1 co-transfected cells in the Sant Pau CIDP cohort was 1/52 (1.9%). Patient 14 belonged to a German cohort of 23 patients with acute-onset CIDP of whom only one (4.3%) had anti-Caspr1 antibodies. All patients' sera showed reactivity against the Caspr1/CNTN1 co-transfected cells that co-localized better with CNTN1 ([Fig. 1A and B](#)) than with Caspr1 mAb ([Fig. 1C and D](#)). However, reactivity was absent when CNTN1 was transfected alone ([Fig. 1G and H](#)). Although this may be interpreted as Caspr1 being the antigenic target, five patients did not show any reactivity against HEK293 transfected only with Caspr1 ([Fig. 1E](#)), and in the 10 others only mild to moderate reactivity was seen against such cells and, again, this reactivity did not co-localize with Caspr1 ([Fig. 1F](#)). Non-transfected HEK293 endogenously express low levels of CNTN1 ([Supplementary Fig. 1](#)) and this may explain why some patients react against Caspr1-only transfected cells.

We aimed to identify whether the interaction between CNTN1 and Caspr1 during their expression in HEK cells, or the formation of Caspr1/CNTN1 complex itself, is required to generate the antigenic epitope for these autoantibodies.

Table 1 Summary of immunological features of CIDP patients with antibodies against the Caspr1/CNTN1 complex

Patient	CBA HEK Caspr1	ELISA Caspr1 Total IgG titres	ELISA Caspr1 IgG subclasses	Swine teased nerve fibres IHC	Macaque's peripheral nerve IHC	Cultured rat DRG neurons	Mouse DRG sections IHC
1 ^a	Negative	1:8100	IgG3 > > IgG4 > IgG1	Paranodes	Caspr1 pattern ^b	Moderate positive	DRG mild positive Dorsal roots paranodes
2	Positive	1:24 300	IgG4	Paranodes	Caspr1 pattern ^b	NA	NA
3	Positive	1:218 700	IgG4 > > > IgG2	Paranodes	Caspr1 pattern ^b	Weak positive	DRG mild positive Dorsal roots paranodes
4	Positive	1:24 300	IgG4	Paranodes	Caspr1 pattern ^b	NA	NA
5	Positive	1:8100	IgG4	Paranodes	Caspr1 pattern ^b	NA	NA
6 ^a	Negative	1:2700	IgG3 > IgG1	Paranodes	Caspr1 pattern ^b	Moderate positive	DRG mild positive Dorsal roots paranodes
7 ^a	Negative	1:2700	IgG4	Paranodes	Caspr1 pattern ^b	Weak positive	DRG mild positive Dorsal roots paranodes
8	Positive	1:72 300	IgG4	Paranodes	Caspr1 pattern ^b	Strong positive	DRG mild positive Dorsal roots paranodes
9	Positive	NA	NA	NA	NA	NA	NA
10	Positive	1:24 300	IgG4 > > > IgG2	Paranodes	Caspr1 pattern ^b	Weak positive	DRG mild positive Dorsal roots paranodes
11 ^a	Negative	1:900	IgG4	Paranodes	Caspr1 pattern ^b	Weak positive	DRG mild positive Dorsal roots paranodes
12	Positive	1:218 700	IgG4	Paranodes	Caspr1 pattern ^b	Strong positive	DRG mild positive Dorsal roots paranodes
13	Positive	NA	NA	NA	NA	NA	NA
14	Positive ^c	Positive ^c	IgG3 > IgG2 ^c	Paranodes (mouse) ^c	NA	NA	NA
15 ^a	Negative	1:2700	IgG4	Paranodes	Caspr1 pattern ^b	Weak positive	NA

IHC = immunohistochemistry; NA = assays were not performed because sera were not available.

^aSamples were negative in the Caspr1 CBA.

^bParanodal staining that co-localizes with Caspr1 mAb.

^cTested in Würzburg.

Autoantibodies against both CNTN1 and Caspr1 bearing mannose-rich N-glycans were identified in one patient with an aggressive form of CIDP^{11,33} using an N-glycosylation mutant cell line (Lec1). We used Lec1 cells to analyse if N-glycosylation of Caspr1 or CNTN1 was relevant for the detection of anti-Caspr1/CNTN1 antibodies, but did not find any difference in the reactivity pattern of HEK293 and Lec1 cells. (Supplementary material and Supplementary Fig. 2)

IgG reactivity against Caspr1 alone was detected by ELISA

All tested sera (12/12) from CIDP patients with Caspr1/CNTN1 antibodies showed reactivity against the Caspr1/CNTN1 complex and against Caspr1 alone by ELISA (Fig. 2A and B). Anti-Caspr1 IgG titres by ELISA varied from 1:900 to 1:218 700 (Table 1). Interestingly, sera with higher Caspr1 ELISA titres were those that were positive in the Caspr1-only CBA (median 1:24 300 CBA Caspr1-

positive versus 1:2700 CBA Caspr1-negative, $P = 0.0025$), suggesting that the addition of CNTN1 improves CBA sensitivity in those with lower titres. Indeed, both CBA Caspr1-positive and CBA Caspr1-negative sera showed increased Δ OD signal when CNTN1 protein was added to the Caspr1 ELISA (Fig. 2C). Autoantibodies were predominantly of the IgG4 subclass in all but two tested sera (Patients 1 and 6), in which the antibodies were predominantly of the IgG3 subclass (Fig. 2D and Table 1). Additionally, the sample from Patient 14 was tested in Würzburg by Caspr1 ELISA, and antibodies were predominantly of the IgG3 subclass. Finally, in the CNTN1 ELISA only Patient 15 showed mild positivity (Fig. 2E). Sera from Patients 9 and 13 were not available for ELISA tests.

Since Caspr1 is expressed in the cell membrane complexed with CNTN1 and considering the HEK CBA results, we wanted to investigate if the Caspr1 protein used in our ELISAs (obtained from Caspr1-transfected CHO cells) was contaminated with CNTN1, and if the presence of CNTN1

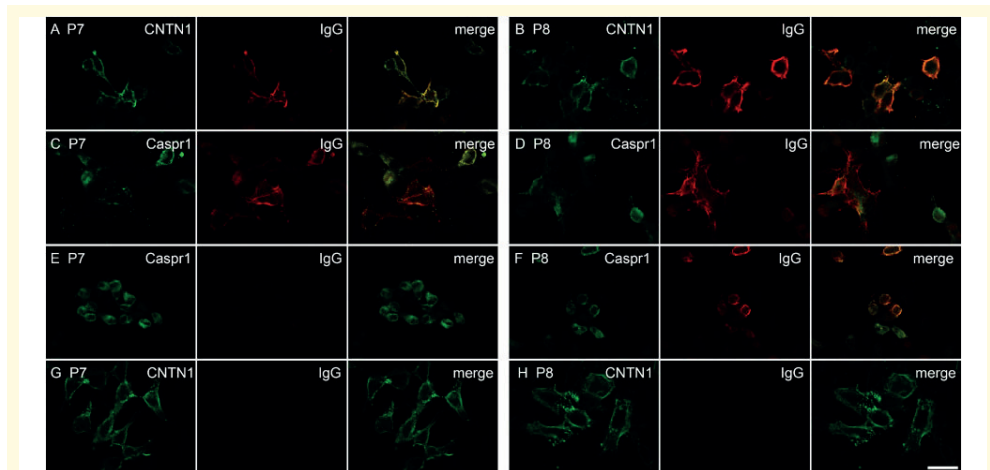


Figure 1 Immunocytochemistry of anti-Caspr1/CNTN1 antibodies. HEK293 cells co-transfected with Caspr1 and CNTN1 (A–D) or transfected with Caspr1 (E and F) or CNTN1 (G and H) alone and double labelled with CNTN1 (A, B, G and H) or Caspr1 (C–F) antibodies and patients' sera. Patients' IgG bind to cells co-transfected with CNTN1 and Caspr1 and co-localize better with CNTN1 (A and B) than with Caspr1 (C and D). While IgG from Patient 7 (E) does not bind to Caspr1 monotransfected cells, IgG from Patient 8 binds to cells transfected with Caspr1 only but does not co-localize with Caspr1 (F). Patient's IgG did not show reactivity when CNTN1 was transfected alone (G and H). Scale bars = 25 μm .

was necessary for the sera of our patients to react against Caspr1 in the ELISA. Mass spectrophotometry (Supplementary material) identified two peptides of CNTN1, with a total of two spectral counts, compared to 76 peptides and 434 spectral counts for Caspr1. The estimated ratio (molar) between the two proteins was 157 and 73, respectively, based on the number of spectral counts (corrected by molecular weight), and the emPAI parameter.³² Thus, the amount of CNTN1 protein was estimated between 0.6% and 1.3% of the total protein amount in the purified Caspr1 protein. We confirmed the presence of CNTN1 in the Caspr1 human recombinant protein by immunoprecipitation (Supplementary Fig. 3B), and used the CNTN1-depleted Caspr1 recombinant protein to test if sera reactivity by ELISA was lost after CNTN1 depletion. We did not observe statistically significant differences in reactivity after CNTN1 depletion (Supplementary Fig. 3A). As a result, we concluded that sera from these patients primarily react against Caspr1 but that reactivity is enhanced, both in ELISA and CBA when CNTN1 is added.

Anti-Caspr1/CNTN1 antibodies bind to paranodes and co-localize with Caspr1 in peripheral nerve tissue

The presence of autoantibodies targeting paranodal structures was confirmed using swine teased-nerve fibre

immunohistochemistry (Fig. 3A and B). All sera bound to paranodes and co-localized with Caspr1 mAb. The staining pattern was similar to that of other antibodies against paranodal proteins such as CNTN1. To define the IgG staining pattern in peripheral nerve tissue, we used macaque peripheral nerve sections and compared the staining pattern with that of anti-CNTN1 positive serum. IgG from both anti-Caspr1/CNTN1 and anti-CNTN1 positive patients bound to paranodes (Fig. 3C–F and Supplementary Fig. 4), but only IgG from CNTN1-positive patients and CNTN1 antibody bound strongly against NCAM (CD56)-positive non-myelinating Schwann cells (Remak bundles). Unfortunately, sera from Patients 9, 13 and 14 were not available for these experiments.

Anti-Caspr1/CNTN1 antibodies bind strongly to dorsal root paranodes and weakly to dorsal root ganglion neuron somas

Anti-Caspr1 antibodies from two previously reported patients bound to TRPV1-immunoreactive DRG neurons.²⁵ Hence, we investigated binding of our anti-Caspr1/CNTN1 sera to cultured DRG neurons and DRG sections. Table 1 summarizes the results of these experiments. In DRG sections, patients' IgG bound strongly to the paranodes in the nerve roots arising from the DRG (Fig. 4B), but

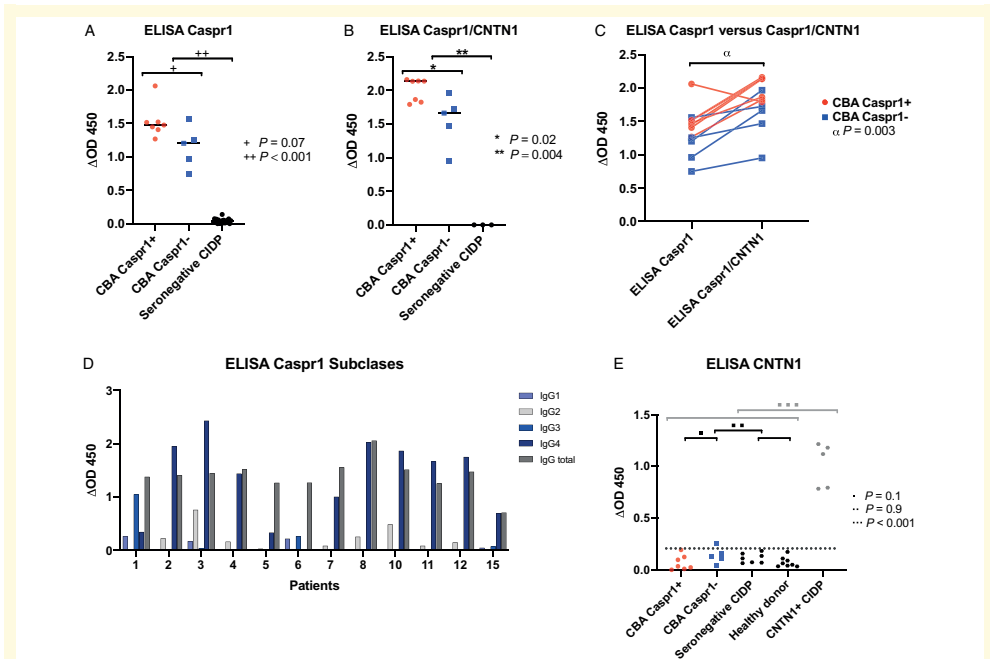


Figure 2 Sera reactivity against Caspr1 measured by ELISA. (A and B) Sera from patients with Caspr1/CNTN1 antibodies were positive in Caspr1 ELISA and Caspr1/CNTN1 ELISA. (C) Almost all samples showed increased reactivity (OD450) in the Caspr1/CNTN1 ELISA compared to the Caspr1 ELISA ($P = 0.003$) and there were no differences between CBA Caspr1-positive and CBA Caspr1-negative sera ($P = 0.89$). (D) In the Caspr1 ELISA, antibodies were predominantly of the IgG4 subclass in all patients tested except for two (Patients 1 and 6) that were predominantly of the IgG3 subclass. (E) In the CNTN1 ELISA only one sample (Patient 15) tested mild positivity compared with seronegative CIDP and healthy donors. (A, B and E) were analysed using Mann-Whitney U-test. Data in C were analysed using Wilcoxon matched-pairs signed rank test.

weakly to DRG neuron bodies (Fig. 4A). In contrast, the Caspr1 mAb bound strongly to DRG neuron somas (Fig. 4A) and paranodes. Interestingly, CNTN1 antibody bound weakly to DRG neuron somas (Fig. 4C) but strongly to the paranodes (Fig. 4D). We also investigated if anti-Caspr1/CNTN1-positive sera bind to small DRG neurons labelled with IB4 and TRPV1. Patients' IgG did not bind to IB4-positive DRG neurons, but bound weakly to TRPV1-positive DRG neurons. (Supplementary Fig. 5). However, this weak binding does not allow us to confirm that our patients' sera bind to small pain-conducting DRG neurons. In the cultured DRG neurons, strong binding was observed only in two samples, and moderate reactivity was observed in another two. Interestingly, patients' sera bound small but also large neurofilament heavy-positive DRG neurons (Supplementary Fig. 5). Finally, we investigated anti-Caspr1/CNTN1 IgG binding to hippocampal and motor neurons. Only serum from Patient 12 bound to hippocampal neurons. However, we observed mild to moderate IgG binding of all

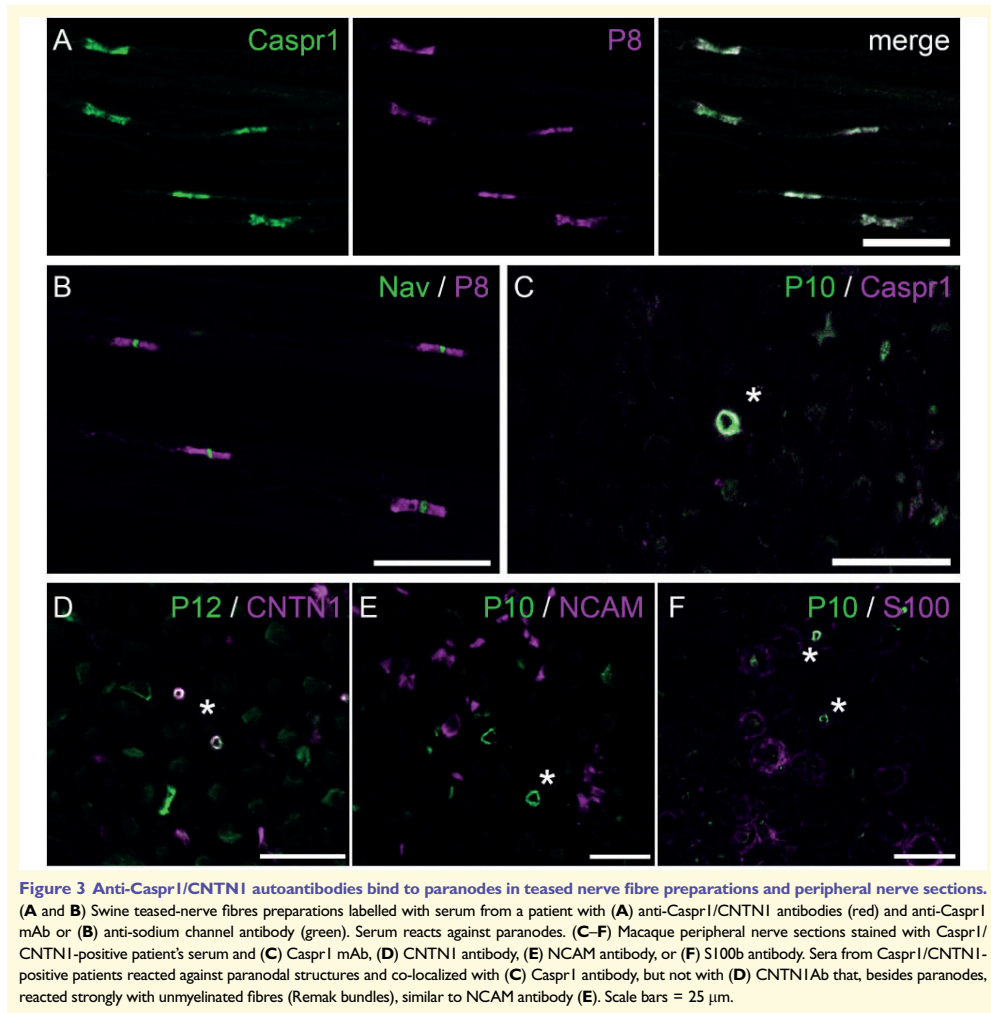
available patients' sera to neuronal somas and axons in neuroblastoma-derived motor neurons. Sera from Patients 9, 13 and 14 were not available for these tests.

Immunoabsorption experiments

We performed immunoabsorption experiments incubating patients' sera with HEK cells transfected with CNTN1, Caspr1 or co-transfected with Caspr1/CNTN1. Reactivity against the paranodes was abrogated after serum preabsorption with HEK cells co-expressing Caspr1/CNTN1 in all patients (Supplementary Fig. 6).

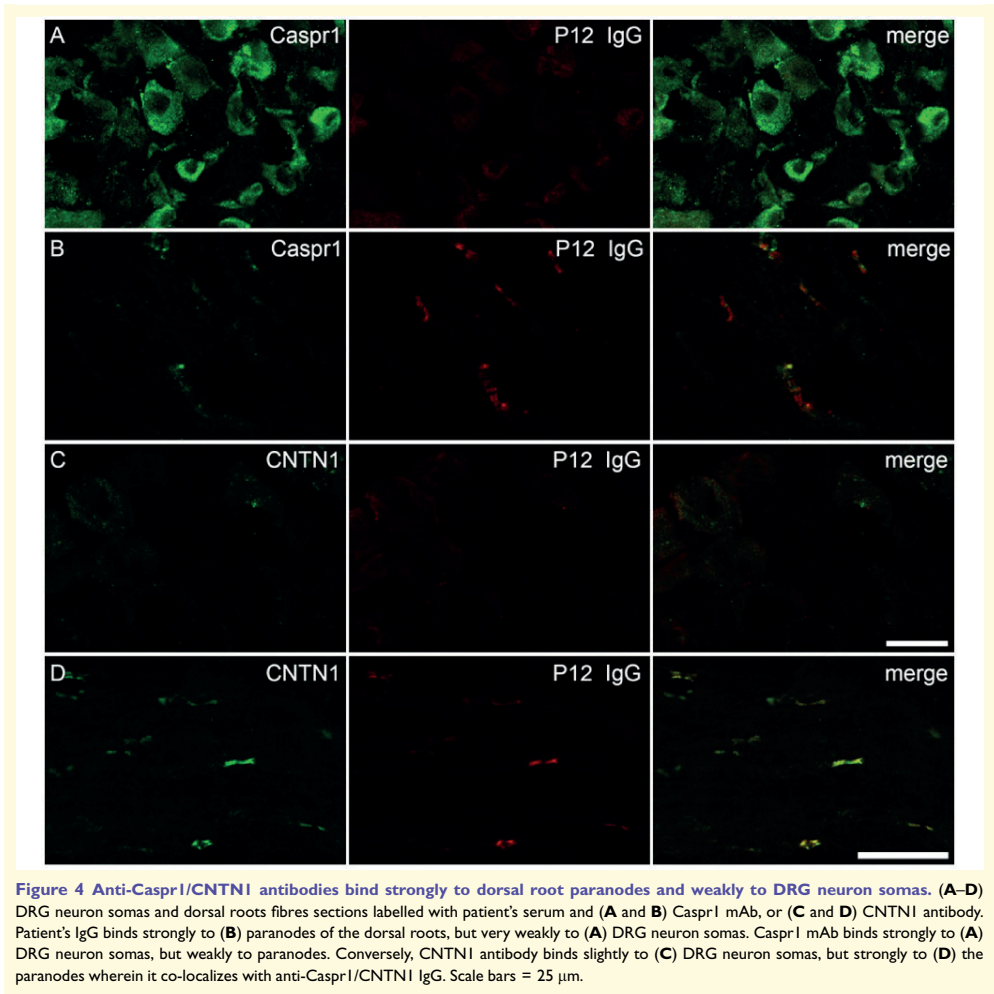
Clinical features of CIDP patients with anti-Caspr1/CNTN1 autoantibodies

Clinical features of CIDP patients with antibodies against the Caspr1/CNTN1 complex are summarized in Table 2



and [Supplementary Table 2](#). Patients were aged between 40 and 75 at onset, 10 (67%) were male. All patients fulfilled EFNS/PNS definite diagnostic criteria for definite CIDP, 12 (80%) were typical and three had a distal acquired demyelinating symmetric (DADS) phenotype. Seven (47%) patients were initially diagnosed with Guillain-Barré syndrome due to an acute or subacute onset. All 15 patients showed areflexia or hyporeflexia and altered sensation in all four limbs. Six (40%) patients had cranial nerve dysfunction, including ophthalmoparesis, facial weakness and dysphagia, or respiratory involvement. Eight (53%) patients reported

neuropathic pain. Ten (67%) patients had tremor and 12 (80%) ataxia. Neurophysiological studies ([Supplementary Table 1](#)) showed non-uniform motor nerve conduction slowing and increased (or absent) F-wave latencies. In addition, low-amplitude compound muscle action potentials and spontaneous activity suggesting acute denervation were observed in most patients. CSF protein levels were elevated in all patients and MRI demonstrated nerve root enhancement in the six patients in which imaging studies were performed. Nerve biopsies were available in four patients and showed subtotal loss of myelinated fibres and ongoing



axonal degeneration with rare inflammatory cells and no onion bulbs. Interestingly, in three of these patients mild to moderate subperineurial oedema was observed. Figure 5 shows a representative biopsy (Patient 3) with nearly complete loss of myelinated fibres and retained small, unmyelinated axons. Complete response to intravenous immunoglobulin (IVIg) was not observed in any patient, and good response to steroids was observed in only one patient (7%). Nine of 10 (90%) patients showed a good response to rituximab defined as an improvement of at least two points in the modified Rankin Scale. Good response to rituximab was statistically significant ($P < 0.001$) compared to the

response to IVIg. Data on treatments used and patients' response is summarized in Table 3. Follow-up sera following rituximab treatment were available from five patients, and all five were seronegative after a median of 20 months of follow-up.

Discussion

Patients with antibodies targeting Caspr1/CNTN1 co-transfected cells represent a rare but clinically and serologically distinct subset of CIDP patients. Such patients present with

Table 2 Clinical features and treatment data of CIDP patients with antibodies against the Caspr/ICNTNI complex

Patient	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Sex, age	F, 75	F, 40	M, 75	M, 50	M, 51	M, 70	F, 51	M, 48	F, 58	F, 57	M, 56	M, 65	M, 53	M, 47	M, 73
Initial diagnosis	CIDP	GBS	GBS	CIDP	CIDP	GBS	CIDP	GBS	GBS	CIDP	CIDP	CIDP	GBS	GBS	CIDP
Category	Typical	Typical	Typical	Typical	Typical	DADS	Typical	Typical	Typical	DADS	Typical	Typical	Typical	Typical	DADS
Clinical features															
Onset	Subacute	Acute	Chronic	Subacute	Chronic	Subacute	Chronic	Acute	Chronic	Chronic	Chronic	Chronic	Subacute	Chronic	Subacute
Weakness	Symmetric proximal and distal	Symmetric proximal and distal	Asymmetric proximal and distal	Symmetric proximal and distal	Asymmetric proximal and distal	Symmetric proximal and distal	Symmetric proximal and distal	Symmetric proximal and distal	Symmetric proximal and distal	Symmetric proximal and distal	Symmetric proximal and distal	Symmetric proximal and distal	Symmetric proximal and distal	Symmetric proximal and distal	Symmetric proximal and distal
Tremor	No	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Yes
Ataxia	Yes	Yes	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No
Cranial nerve	No	No	No	No	No	Ophthalmoparesis	No	Ophthalmoparesis and facial weakness	Facial weakness	No	Facial weakness	Dysphagia and respiratory weakness	Facial weakness and respiratory	Facial weakness and respiratory	No
Pain	Yes	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No	No	Yes	Yes	Yes	No	Yes	No
CSF															
Proteins, g/l	3.8	3.2	1.8	2.7	>5	2.5	5.1	4.6	4.4	4.0	5.0	2.2	5	4.1	0.9
WBC, c/mm ³	13	19	1	3	4	0	NA	8	5	0	0	0	NA	3	3
Treatment (given/response)															
IVIg	Yes/partial	Yes/NR	Yes/NR	Yes/partial	Yes/partial	Yes/partial	Yes/partial	Yes/partial	Yes/NR	Yes/NR	Yes/NR	Yes/NR	Yes/NR	Yes/partial	Yes/NR
Steroids	Yes/partial	Yes/partial	Yes/NR	Yes/partial	Yes/partial	Yes/partial	Yes/partial	Yes/partial	Yes/partial	Yes/partial	Yes/good	Yes/partial	Yes/NR	No	Yes/NR
PLEX	No	No	No	Yes/NR	Yes/partial	Yes/partial	Yes/partial	Yes/good	No	No	Yes/good	Yes/good	Yes/NR	No	Yes/good
Rituximab	Yes/good	Yes/good	Yes/good	Yes/good	Yes/good	No	No	Yes/good	No	Yes/good	Yes/good	Yes/good	Yes/ongoing	No	No
Cyc	No	No	No	Yes/NR	No	No	Yes/good	Yes/partial	No	No	No	No	No	No	No

Cyc = cyclophosphamide; DADS = distal acquired demyelinating symmetric; F = female; GBS = Guillain-Barré syndrome; M = male; NA = not available; NR = no response; OCB = oligoclonal bands; PLEX = plasma exchange; WBC = white blood cells.

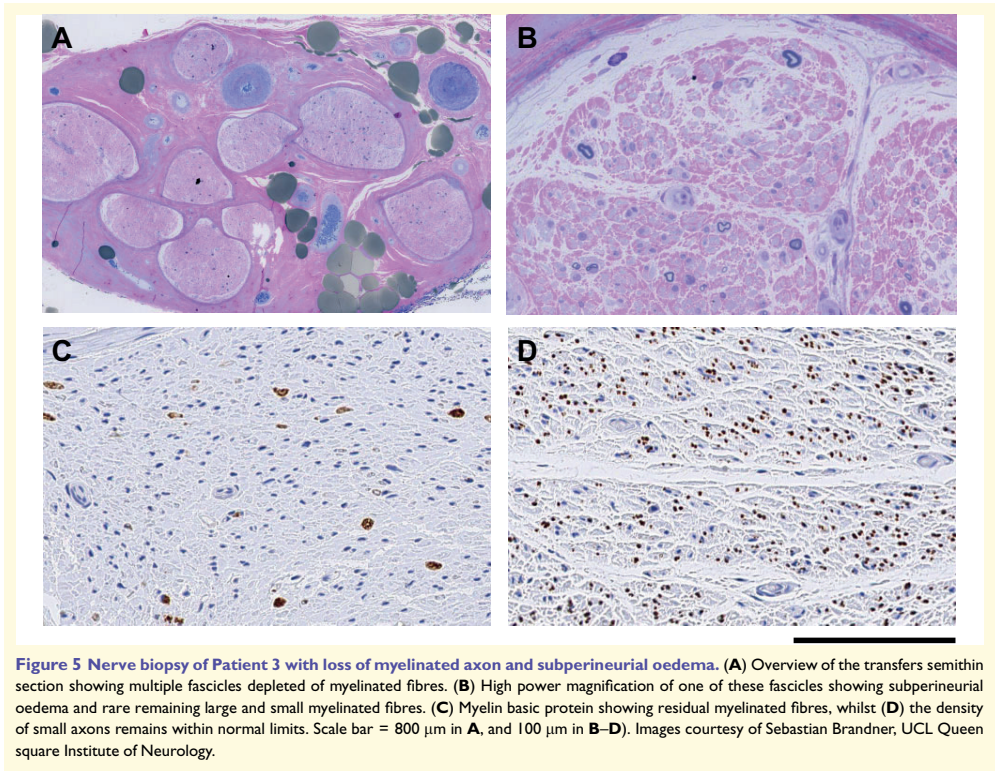


Table 3 Treatment and response in CIDP patients with antibodies to Caspr1/CNTN1 co-transfected cells

Treatment	Response			P (versus IVIg)*
	Absent	Partial	Good	
IVIg (n = 15)	8 (53%)	7 (47%)	0 (0%)	–
Steroids (n = 14)	6 (43%)	7 (50%)	1 (7%)	0.48
PLEX (n = 9)	3 (33%)	4 (44%)	2 (22%)	0.13
Rituximab (n = 10)	0 (0%)	1 (10%)	9 (90%)	<0.001
Cyclophosphamide (n = 3)	1 (33%)	1 (33%)	1 (33%)	0.11

A good response was defined as an improvement of at least two points in the modified Rankin scale. A partial response was defined as an improvement of one point in the modified Rankin scale. PLEX = plasma exchange.

*Fisher's exact test comparing good response to each treatment relative to good response to IVIg. A P-value of 5% or lower was considered statistically significant.

rapidly progressive and disabling neuropathies, and generally respond poorly to IVIg, but very well to rituximab. Although two subpopulations can be defined, based on whether antibodies are detectable using the Caspr1 singly-transfected CBA or not, these sera behave identically when

antibodies are tested by ELISA or by nerve immunohistochemistry, suggesting that they harbour the same autoantibody specificity at different titres. Our work aimed to elucidate if antibodies target Caspr1 only, or an epitope emerging from the Caspr1/CNTN1 complex. Despite the interpretation of our assays was complicated by the fact that Caspr1 protein used for the ELISA was contaminated by CNTN1, and HEK cells, used in the Caspr1 CBA, express low but detectable levels of CNTN1, Caspr1 ELISA detected antibodies against Caspr1 in all patients suggesting that Caspr1 is the primary target. The addition of CNTN1 to the serological assays increased both the ELISA signal intensity and the sensitivity of the CBA but reactivity in Caspr1-only ELISA was not abrogated by depletion of CNTN1 from the recombinant Caspr1 preparation. Altogether these findings strongly suggest that the primary target in these patients is Caspr1 and reactivity against it is enhanced in the presence of CNTN1. Thus, the Caspr1 ELISA could serve as a good screening method for the presence of antibodies against Caspr1 that need then to be confirmed by CBA or immunohistochemistry in the routine diagnostic process.

Caspr1 is a transmembrane glycoprotein expressed by neurons in the paranode where it forms a complex with CNTN1 that binds to the glial protein NF155 to form the septate-like junctions linking the axon and the paranodal loops of Schwann cells.^{23,34,35} In 2013, our group detected autoantibodies against cells co-transfected with CNTN1 and Caspr1 but not against CNTN1 or Caspr1 alone in a single CIPD patient.¹¹ Subsequent studies³³ showed that these antibodies recognized contactin-1 bearing mannose-rich *N*-glycans and also reacted independently with Caspr1, which also bears oligomannose-type sugars. Later, Doppler et al.²⁵ described the presence of autoantibodies against Caspr1 in two patients, one with CIPD and one with Guillain-Barré syndrome. Two additional anti-Caspr1-positive patients were reported in a CIPD cohort,⁸ but their clinical characteristics were not described in detail. Antibodies to Caspr1/CNTN1 complex were also recently reported in six (1.8%) patients of an Italian CIPD cohort.²⁶ Three of these patients had IgG4 anti-Caspr1/CNTN1 antibodies and presented a predominantly distal phenotype without neuropathic pain. In our series, anti-Caspr1/CNTN1-positive CIPD patients were characterized by a rapid-onset neuropathy with ataxia in more than three-quarters of the patients, comparable with that described in patients with anti-CNTN1 antibodies.¹⁰ Only half of our patients reported pain. Interestingly, cranial involvement, including ophthalmoparesis, facial weakness or oropharyngeal weakness, uncommon in seronegative CIPD, was observed in 40% of our patients. Thus, a rapid-onset with cranial nerve involvement may be a clinical clue to the presence of anti-Caspr1/CNTN1 autoantibodies in CIPD. Neurophysiological studies demonstrated nerve conduction slowing and other features attributed to acquired demyelination, but decreased CMAP amplitudes and early denervation, suggestive of axonal involvement, were also detected, as it was described in patients with anti-CNTN1¹¹ and anti-Caspr1²⁵ antibodies. The four nerve biopsies available showed loss of myelinated fibres (but retained small, unmyelinated axons) with mild to moderate subperineurial oedema and in the absence of inflammatory cells. Similar to previous descriptions of CIPD patients with anti-CNTN1 and anti-NF155 antibodies,^{18,36} no signs of segmental demyelination were observed, despite nerve conduction studies suggesting demyelination.

Antibodies against paranodal proteins such as CNTN1 and NF155 are most frequently of the IgG4 subclass, but a few patients with IgG3 antibodies have been reported. Appeltshauser et al.³⁷ demonstrated that anti-CNTN1 IgG3 antibodies are able to fix complement and may associate with a better response to IVIg. In a recent study,²⁷ they also reported one patient with an acute-onset CIPD and antibodies against both CNTN1 and Caspr1 that evolved towards anti-Caspr1 specificity only during follow-up. Importantly, these antibodies that were initially IgG3, switched to the IgG4 subclass during follow-up. In our study IgG subclasses assays revealed that IgG4 was the predominant isotype in most of the patients, but IgG3 was predominant in three. We lacked serial samples to test if the IgG3 isotype later evolved

to IgG4. None of our patients had a complete response to IVIg, as has been reported in other cohorts of CIPD patients with IgG4 paranodal antibodies.^{15,38} Interestingly, all three patients with IgG3 anti-Caspr1/CNTN1 antibodies had a partial response to IVIg, while only 3 of 10 patients with IgG4 antibodies responded partially to IVIg. Moreover, 9 of 10 (90%) patients presented a good response to rituximab. However, recovery was slow in most of the cases, probably explained by the established axonal degeneration at the time the treatment was begun. Long term outcomes for these patients remain to be assessed but early diagnosis and therapy with B-cell depletion therapies could help avoid permanent axonal loss in these patients.

One of the objectives of our study was to elucidate the target of these autoantibodies. The search for the antigenic target was complicated by the fact that surface expression of Caspr1 is dependent on the presence of CNTN1,³⁹ and that CNTN1 glycosylation is modified by the presence of Caspr1.⁴⁰ Moreover, several cell types (including, in low amounts, the HEK293 line, routinely used for CBA) endogenously express CNTN1.⁴¹ Our study, however, suggests that, even though the main antigenic target is Caspr1, the presence of CNTN1 enhances patients' IgG binding to Caspr1. First, patients' sera co-localized perfectly with CNTN1 and Caspr1 at the paranodes (both in DRG preparations and teased nerve immunohistochemistry) but did not co-localize well (or staining is much weaker) with Caspr1 at the DRG neuron somas, where CNTN1 is less abundant according to our experiments. Second, all patients had anti-Caspr1 antibodies detected by ELISA, but the recombinant Caspr1 protein used in the ELISA was contaminated with CNTN1 (that could also be enhancing binding to Caspr1). Indeed, the addition of CNTN1 to Caspr1 improved the detection of the anti-Caspr1/CNTN1 antibodies. Third, some patients did not have detectable antibodies by CBA when only Caspr1 is transfected, but they did when those same cells were co-transfected with CNTN1. Indeed, in the first description of anti-Caspr1 antibodies, Caspr1/CNTN1-co-transfected HEK293 cells were used to detect these autoantibodies by flow cytometry.²⁵ When Caspr1 and CNTN1 were co-transfected, patients' IgG co-localization was better (but not exclusive) with CNTN1, likely because only those cells that had CNTN1 expressed in their surface display Caspr1 in its natural conformation. We explored the possibility that the glycosylation patterns of CNTN1 and Caspr1, when co-expressed in HEK cells, influence the immunoreactivity of these sera, as had been previously suggested.³³ CNTN1 expressed in Lec1 cells bears mannose-rich *N*-glycans,⁴⁰ unlike CNTN1 expressed in HEK cells in the absence of Caspr1, which bears complex *N*-glycans.³³ However, in our assays, transfection of Lec1 rather than HEK293 cells did not change the staining patterns significantly, so we concluded that the epitope of the autoantibodies was not influenced by the glycosylation of CNTN1. According to these observations, we believe that anti-Caspr1/CNTN1 autoantibodies target primarily Caspr1 but binding is stronger when CNTN1 is also present. We were technically unable to

elucidate why. One possible explanation is that the presence of CNTN1 would modify Caspr1 conformation and create conformational epitopes that are best detected by anti-Caspr1/CNTN1 autoantibodies. Another explanation would be that the presence of CNTN1 triggers post-translational modifications in Caspr1 that enhance its antigenicity. The detailed study of these hypotheses is beyond the scope of this study. In summary, the conformational display of Caspr1 seems to influence the detection of these autoantibodies and, therefore, both, Caspr1 ELISA or Caspr1/CNTN1 CBA are more sensitive than Caspr1 CBA to detect these antibodies.

The main limitation of our study derives from the low numbers of patients and their diverse origin, that precludes an estimation of the real frequency of these antibodies. The prevalence of anti-Caspr1/CNTN1 antibodies in the Barcelona cohort was only 1.9% (1/52) of the CIDP cases. Similarly, in the Würzburg cohort of 85 patients who fulfilled the EFNS criteria for CIDP, two (2.3%) were anti-Caspr1/CNTN1 positive, and in the Oxford cohort of 89 CIDP patients only one (1.1%) had anti-Caspr1/CNTN1 antibodies (unpublished observations). Also, one of the patients was recruited from an acute-onset CIDP cohort in which one (4.3%) of 23 patients had anti-Caspr1/CNTN1 antibodies. Considering this low prevalence, the identification of 15 patients has required a collaborative effort that has resulted in the largest series of anti-Caspr1/CNTN1 patients reported so far and the only one that is able to report the clinical-immunological features associated with these antibodies. We believe that the description of specific phenotypic features (cranial involvement) and treatment response patterns (poor response to IVIg, good response to rituximab), despite the low frequency of these autoantibodies, provides valuable information for the identification and management of these patients.

In conclusion, anti-Caspr1/CNTN1 autoantibodies associate with a rapid-onset CIDP with cranial-nerve and early axonal involvement, but poor response to IVIg. These antibodies target primarily Caspr1 but binding is stronger when CNTN1 is also present. The antibody ELISA using human recombinant Caspr1 detects these antibodies with high sensitivity, but confirmation with the Caspr1/CNTN1 CBA or immunohistochemistry should be routine in diagnostic laboratories.

Acknowledgement

The authors thank Professor Sebastian Brandner for providing the neuropathology data and images. The authors also thank the Department of Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, Spain for the support in the development of this work.

Funding

This project was supported by Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS), Instituto de Salud Carlos III, Spain and

FEDER under grant FIS16/00627, FIS19/1407, a personal grant SLT006/17/00131 of the Pla estratègic de recerca i innovació en salut (PERIS), Departament de Salut, Generalitat de Catalunya to L.Q. and the GBS-CIDP Foundation International. M.P.L. is supported by the National Institute for Health Research University College London Hospitals Biomedical Research Centre. S.R. is supported by the Medical Research Council (UK), grant MR/P008399/1.

Competing interests

E.P.G. received speaking fees from Merck, Roche and Biogen. L.M.A. received speaking fees from Roche. I.I. provided expert testimony and received speaking fees and travel grants from Pfizer. A.R. has received honoraria from Sarepta, Roche and Sanofi Aventis, is a member of MND Association Clinical Advisory Board, and was a member of NICE MND Guideline Development Group. R.H. is supported by the Jubiläumsfonds der Österreichischen Nationalbank, project 16919. S.R. runs a not-for-profit diagnostic testing service for nodal/paranodal antibodies. He has received a speaker's honorarium and travel expenses from Fresenius Medical Care, Alnylam and Excemed, and payments to provide expert medicolegal advice on inflammatory neuropathies and their treatment. He has received complimentary registration and prize money from the Peripheral Nerve Society, and a travel bursary from the European School of Neuroimmunology. He is a member of the GBS and Associated Inflammatory Neuropathies (GAIN) UK patient charity medical advisory board. L.Q. has received speaker honoraria from Merck, Sanofi-Genzyme, Roche, Biogen, Grifols, CSL Behring provided expert testimony for Grifols, Johnson and Johnson, Annexon Pharmaceuticals, Alexion, Sanofi-Genzyme, Novartis and CSL Behring and received research funds from Roche and Grifols.

Supplementary material

Supplementary material is available at *Brain* online.

References

1. Van den Bergh PY, Hadden RD, Bouche P, 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 Peripheral Nerve Society. *Eur J Neurol*. 2010;17:356-363.
2. Dalakas MC. Advances in the diagnosis, pathogenesis and treatment of CIDP. *Nat Rev Neurol*. 2011;7:507-517.
3. Mathey EK, Park SB, Hughes RAC, et al. Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: from pathology to phenotype. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2015;86:973-985.
4. Wolbert J, Cheng MI, Meyer Zu Horste G, et al. Deciphering immune mechanisms in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathies. *JCI Insight*. 2020;5:e132411.

5. Ng JKM, Malotka J, Kawakami N, et al. Neurofascin as a target for autoantibodies in peripheral neuropathies. *Neurology* 2012;79:2241-2248.
6. Ogata H, Yamasaki R, Hiwatashi A, et al. Characterization of IgG4 anti-neurofascin 155 antibody-positive polyneuropathy. *Ann Clin Transl Neurol.* 2015;2:960-971.
7. Querol L, Nogales-Gadea G, Rojas-García R, et al. Neurofascin IgG4 antibodies in CIDP associate with disabling tremor and poor response to IVIg. *Neurology* 2014;82:879-886.
8. Delmont E, Manso C, Querol L, et al. Autoantibodies to nodal isoforms of neurofascin in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Brain* 2017;140:1851-1858.
9. Vallat JM, Mathis S, Magy L, et al. Subacute nodopathy with conduction blocks and anti-neurofascin 140/186 antibodies: an ultrastructural study. *Brain* 2018;141:e56-e56.
10. Miura Y, Devaux JJ, Fukami Y, et al. For the CNTN1-CIDP Study Group, et al. Contactin 1 IgG4 associates to chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy with sensory ataxia. *Brain* 2015;138:1484-1491.
11. Querol L, Nogales-Gadea G, Rojas-García R, et al. Antibodies to contactin-1 in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Ann Neurol.* 2013;73:370-380.
12. Querol L, Devaux J, Rojas-García R, et al. Autoantibodies in chronic inflammatory neuropathies: diagnostic and therapeutic implications. *Nat Rev Neurol.* 2017a;13:533-547.
13. Manso C, Querol L, Lleixà C, et al. Anti-Neurofascin-155 IgG4 antibodies prevent paranodal complex formation in vivo. *J Clin Invest.* 2019;129:2222-2236.
14. Manso C, Querol L, Mekaouche M, et al. Contactin-1 IgG4 antibodies cause paranode dismantling and conduction defects. *Brain* 2016;139:1700-1712.
15. Querol L, Rojas-García R, Diaz-Manera J, et al. Rituximab in treatment-resistant CIDP with antibodies against paranodal proteins. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm.* 2015;2:e149.
16. Doppler K, Schuster Y, Appeltshauer L, et al. Anti-CNTN1 IgG3 induces acute conduction block and motor deficits in a passive transfer rat model. *J Neuroinflammation* 2019;16:
17. Stengel H, Vural A, Brunder AM, et al. Anti-pan-neurofascin IgG3 as a marker of fulminant autoimmune neuropathy. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm.* 2019;6:e603.
18. Koike H, Kadoya M, Kaida K, 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.
19. Vallat JM, Magy L, Corcia P, et al. Ultrastructural lesions of nodo-paranodopathies in peripheral neuropathies. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2020;79:247-255.
20. Martinez-Martinez L, Lleixà MC, Boera-Carnicero G, et al. Anti-NF155 chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy strongly associates to HLA-DRB15. *J Neuroinflammation* 2017;14:224.
21. Einheber S, Zanazzi G, Ching W, et al. The axonal membrane protein Caspr, a homologue of neuexin IV, is a component of the septate-like paranodal junctions that assemble during myelination. *J Cell Biol.* 1997;139:1495-1506.
22. Peles E, Nativ M, Lustig M, et al. Identification of a novel contactin-associated transmembrane receptor with multiple domains implicated in protein-protein interactions. *Embo J.* 1997;16:978-988.
23. Bhat MA, Rios JC, Lu Y, et al. Axon-glia interactions and the domain organization of myelinated axons requires Neuexin IV/Caspr/Paranodin. *Neuron.* 2001;30:369-383.
24. Rios JC, Melendez-Vasquez CV, Einheber S, et al. Contactin-associated protein (Caspr) and contactin form a complex that is targeted to the paranodal junctions during myelination. *J Neurosci.* 2000;20:8354-8364.
25. Doppler K, Appeltshauer L, Villmann C, et al. Auto-antibodies to contactin-associated protein 1 (Caspr) in two patients with painful inflammatory neuropathy. *Brain* 2016;139:2617-2630.
26. Cortese A, Lombardi R, Briani C, et al. Antibodies to neurofascin, contactin-1, and contactin-associated protein 1 in CIDP: clinical relevance of IgG isotype. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm.* 2020;7:e639.
27. Appeltshauer L, Brunder AM, Heinius A, et al. Antiparanodal antibodies and IgG subclasses in acute autoimmune neuropathy. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm.* 2020;7:e817.
28. Querol L, Siles AM, Alba-Rovira R, et al. Antibodies against peripheral nerve antigens in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Sci Rep.* 2017b;7:14411.
29. Doppler K, Appeltshauer L, Wilhelm K, et al. Destruction of paranodal architecture in inflammatory neuropathy with anti-contactin-1 autoantibodies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2015;86:720-728.
30. Lonigro A, Devaux JJ. Disruption of neurofascin and gliomedin at nodes of Ranvier precedes demyelination in experimental allergic neuritis. *Brain* 2009;132:260-273.
31. Siles AM, Martínez-Hernández E, Araque J, et al. Antibodies against cell adhesion molecules and neural structures in paraneoplastic neuropathies. *Ann Clin Transl Neurol.* 2018;5:559-569.
32. Ishihama Y, Oda Y, Tabata T, et al. Exponentially modified protein abundance index (emPAI) for estimation of absolute protein amount in proteomics by the number of sequenced peptides per protein. *Mol Cell Proteomics.* 2005;4:1265-1272.
33. Labasque M, Hivert B, Nogales-Gadea G, et al. Specific contactin N-glycans are implicated in neurofascin binding and autoimmune targeting in peripheral neuropathies. *J Biol Chem.* 2014;289:7907-7918.
34. Boyle MET, Berglund EO, Murai KK, et al. Contactin orchestrates assembly of the septate-like junctions at the paranode in myelinated peripheral nerve. *Neuron.* 2001;30:385-397.
35. Charles P, Tait S, Faivre-Sarrailh C, et al. Neurofascin is a glial receptor for the paranodin/Caspr-contactin axonal complex at the axoglial junction. *Curr Biol.* 2002;12:217-220.
36. Vallat J-M, Yuki N, Sekiguchi K, et al. Paranodal lesions in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy associated with anti-Neurofascin 155 antibodies. *Neuromuscul Disord.* 2017;27:290-293.
37. Appeltshauer L, Weishaup A, Sommer C, et al. Complement deposition induced by binding of anti-contactin-1 auto-antibodies is modified by immunoglobulins. *Exp Neurol.* 2017;287:84-90.
38. 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;9:1029.
39. Faivre-Sarrailh C, Gauthier F, Denisenko-Nehrbass N, et al. The glycosylphosphatidyl inositol-anchored adhesion molecule I3/contactin is required for surface transport of paranodin/contactin-associated protein (Caspr). *J Cell Biol.* 2000;149:491-502.
40. Bonnon C, Bel C, Goutebroze L, et al. PGY repeats and N-glycans govern the trafficking of paranodin and its selective association with contactin and neurofascin-155. *MBoC.* 2007;18:229-241.
41. The Human Protein Atlas. Contactin-1 RNA Expression Cell lines [Internet]. 2020. Available from: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000018236-CNTN1/cell>

Material Suplementario

	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Patient 5	Patient 6	Patient 7	Patient 8	Patient 9	Patient 10	Patient 11	Patient 12	Patient 13	Patient 14	Patient 15
Investigations															
Median nerve															
SNAP (µV)	NR	41,5 47	NR	NR	NR	2,3 37	NR	15 55,6	NR	NR	NR	NA	NR	4,2 40,8	NA
NCV (m/s)															
Ulnar nerve															
SNAP (µV)	NA	8,1 35,6	NR	NR	NR	NA	NR	7,6 66,7	NA	NA	NR	NA	NR	NA	NA
NCV (m/s)															
Radial nerve															
SNAP (µV)	NR	39,5 47,1	NR	5 34	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NR	NA	NR	NA	NR
NCV (m/s)															
Sural nerve															
SNAP (µV)	NR	20,5 42,1	NR	4,7 37	NR	NR	NA	11 52,2	normal normal	NR	NR	NA	NR	14 39,4	NA
NCV (m/s)															
Clinical features															
Median nerve															
DML (ms)	10,1	3,6	6,2	6,3	6,29	5,2	11,3	3,6	6,6	5	8,9		10,8	4,27	5,73
Distal CMAP (mV)	2,4	12	5,6	4	3,7	6,1	0,35	13,9	reduced	4,9	2,62		1,27	18,3	2,7
NCV (m/s)	17	46,9	24	36,1	19,7	28	7	51,1	25,1	21,6	17		19	37,7	21,5
F-latency	12,8	45,3	69,5	49,9		65,15			absent		absent			66,7	
Ulnar nerve															
DML (ms)	6,5	3,85	5,6	2,3	5,74	3,4	8,6	3,6		3,5	5,7		4,7		5,19
Distal CMAP (mV)	3,7	1,2	7,5	4,1	6	7,1	0,7	9,4	reduced	6,1	2,14		2,69	NA	3,9
NCV (m/s)	20	37,5	24	38,8	22,8	44	7	56,1	slowed	23,7	20		22	NA	20,1
F-latency	24,7		79,5	62	82,8	40			absent		absent				
Peroneal nerve															
DML (ms)	14,5	5,5	12,2	5,3		8,3		4,9	increased	7,6	5,1		4,7	4,38	
Distal CMAP (mV)	0,1	3,6	0,6	6,8	NA	1	NA	5,2	reduced	0,9	1,03		2,69	2,7	NR
NCV (m/s)	15,7	34,5	20	39,6		31		49,2	slowed	18,9	25		22	33,7	
F-latency		88,4	absent	74,8					absent		absent			absent	
Tibial nerve															
DML (ms)	12,8	5		6,3	9,5	10		3,4	10,8	11,8			9,5	4,95	
Distal CMAP (mV)	0,2	9,9	NR	4,4	0,73	1		9,5	reduced	1,4	NR		0,21	11,6	NR
NCV (m/s)	18,1	NA		35,6	17,5		NA	37,5		19,6				37,8	
F-latency		82,8		87,8	44,6				absent					47,08	
EMG															
Acute denervation (at onset)	Yes (Fib, PSW, Fasc, PR)	No	Yes (Fib, PSW, Fasc, PR)	NA	NA	Yes (Fib, PSW, Fasc, PR)	No	Yes (Fib, PSW)	Yes (Fib, PSW, Fasc, PR)	Yes (Fib)	Yes (Fib)	Yes	Yes (Fib, PR)	Yes (Fib, PSW, PR)	Yes (Fib, PSW, Fasc PR)

Supplementary Table 1: Neurophysiological studies of CIDP patients with autoantibodies against the Caspr1/Contactin-1 complex at the onset of disease

CMAP: compound muscle action potential; **DML:** distal motor latencies; Fas: fasciculations; **Fib:** fibrillations; **NCV:** nerve conduction velocity; **SNAP:** sensory nerve action potential; **NA:** Not Available; **NR:** No Response; **Poly:** polyphasic potentials; **PR:** reduced pattern; **PSW:** positive sharp waves;

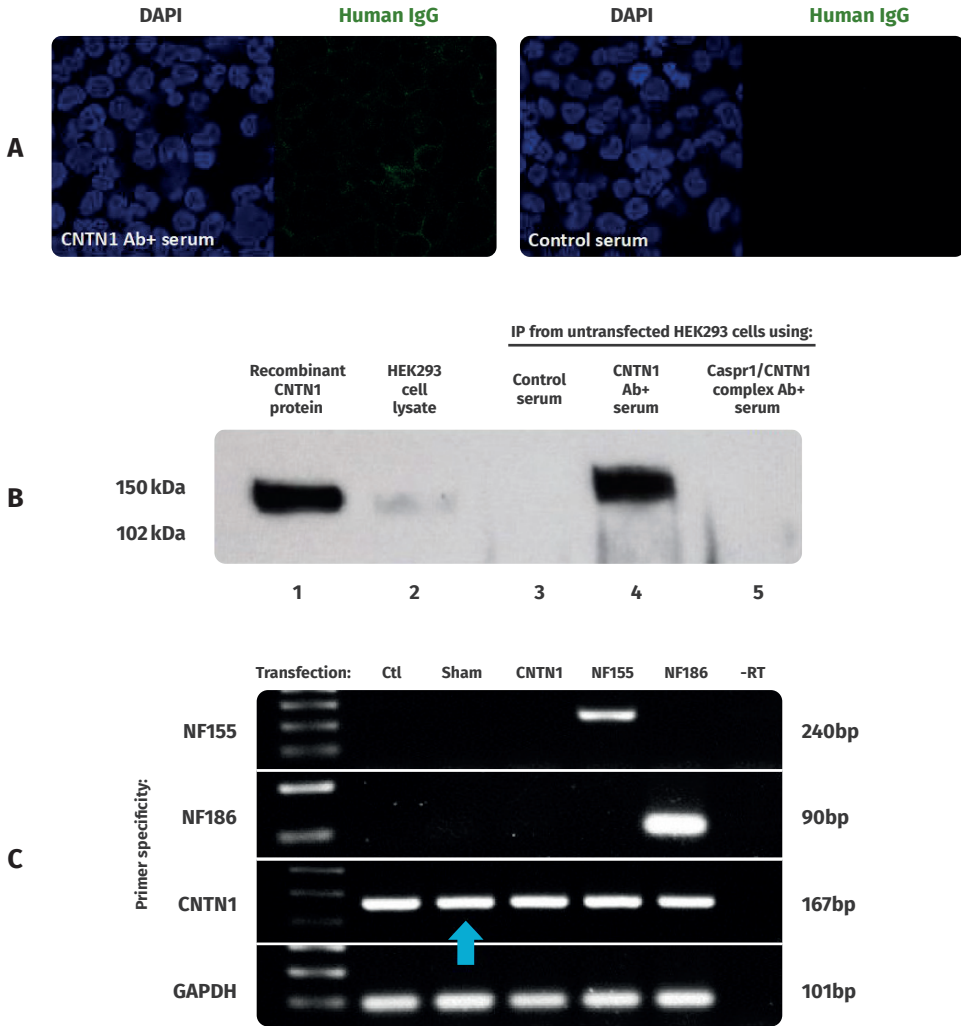
	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Patient 5	Patient 6	Patient 7	Patient 8	Patient 9	Patient 10	Patient 11	Patient 12	Patient 13	Patient 14	Patient 15	
Sex, Age onset	Female, 75	Female, 40	Male, 75	Male, 50	Male, 51	Male, 70	Female, 51	Male, 48	Female, 58	Female, 57	Male, 56	Male, 65	Male, 53	Male, 47	Male, 73	
Initial diagnosis	CIDP	GBS	GBS	CIDP	CIDP	GBS	CIDP	GBS	GBS	CIDP	CIDP	CIDP	GBS	GBS	CIDP	
CIDP category	Typical	Typical	Typical	Typical	Typical	Atypical: DADS	Typical	Typical	Typical	Atypical: DADS	Typical	Typical	Typical	Typical	Atypical: DADS	
mRS at sampling	4	3	5	4	4	3	3	5	4	4	4	5	4	2	4	
Clinical features																
Onset	Subacute	Acute	Chronic	Subacute	Chronic	Subacute	Chronic	Acute	Chronic	Chronic	Chronic	Chronic	Subacute	Chronic	Subacute	
First symptoms	Lumbar pain	Sensory-motor	Pain in lower limbs	Sensory-motor	Sensory-motor	Sensory-motor	Sensory-motor	Sensory-motor	Sensory-motor	Sensory-motor	Sensory-motor; ataxia	Sensory and pain	Sensory	Sensory	Sensory-motor	
Weakness	Symmetrical proximal and distal	Symmetrical proximal and distal	Asymmetrical proximal and distal	Symmetrical distal weakness	Asymmetrical proximal and distal	Symmetrical proximal and distal	Symmetrical proximal and distal	Symmetrical proximal and distal	Symmetrical distal	Symmetrical proximal and distal	Symmetrical proximal and distal	Symmetrical proximal and distal	Symmetrical proximal and distal	Symmetrical proximal and distal	Symmetrical proximal and distal	
Sensory																
Postural tremor	No	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Yes	No	No	Yes	Yes	
Ataxia	Yes	Yes	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	
Cranial nerve	No	No	No	No	No	Ophthalmoparesis	No	Ophthalmoparesis, facial weakness	Facial weakness	No	Facial weakness	Dysphagia and respiratory	Facial weakness and respiratory	No	No	
Neuropathic pain	Yes	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No	No	Yes	Yes	Yes	No	Yes	No	
Nephropathy	Mild proteinuria	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	
Neurophysiological studies																
Definite EFNS/PNS electrophysiological diagnostic criteria																
Demyelinating																
Acute denervation	Yes	Yes	Yes	NA	NA	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	NA

Supplementary Table 2A: Clinical features of CIDP patients with antibodies against the Caspr1/contactin-1 complex
CIDP: chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy; **DADS:** distal acquired demyelinating symmetric; **GBS:** Guillain-Barré syndrome; **NA:** Not Available;

	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Patient 5	Patient 6	Patient 7	Patient 8	Patient 9	Patient 10	Patient 11	Patient 12	Patient 13	Patient 14	Patient 15
Investigations															
CSF	Prot 3.8g/L WCC 13 cells/mm3	Prot 3.2 g/L WCC 19 cells/mm3	Prot 1.8 g/L WCC 1 cells/mm3	Prot 2.7 g/L WCC 3 cells/ mm3	Prot >5g/l WCC 4 cells/mm3	Prot 2.5 g/L WCC 0 cells/mm3	Prot 5.1 g/L NA	Prot 4.6 g/L WCC 8 cells/mm3	Prot 4.4 g/L WCC 5	Prot 4.0 g/L WCC 0 cells/mm3	Prot 5g/L WCC 0 cells/mm3	Prot 2.2 g/L WCC 0 cells/mm3	Prot 5g/L NA	Prot 4.1g/L WCC 3 cells/ mm3	Prot 0.9g/L WCC 3 cells/ mm3
CSF oligoclonal bands	Not detected	Not detected	Not detected	Not done	Not detected	Not detected	Not detected	Not done	Not detected	Not detected	Not detected	Not detected	Not detected	Mirror pattern	Not detected
Post-contrast MRI of the lumbar roots	Not done	Nerve root enhancement	Nerve root enhancement	Not done	Nerve root enhancement	Not done	Not done	Not done	Nerve root hyperrophy with enhancement	Not done	Nerve root hyperrophy with enhancement	Not done	Not done	Nerve root enhancement	Not done
Nerve biopsy	Not done	Not done	Subtotal loss of myelinated fibres, no inflammatory cells, sub-perineurial edema	Not done	Moderate axonal loss, rare inflammatory cells, sub-perineurial edema	Not done	Not done	Not done	Not done	Not done	Not done	Not done	Not done	Axonal neuropathy	Subtotal loss of myelinated fibres, rare inflammatory cells, sub-perineurial edema
Clinical features															
IVIg	Yes / partial	Yes / NR	Yes / NR	Yes, partial	Yes / partial	Yes / partial	Yes / partial	Yes / partial	Yes / NR	Yes / NR	Yes / NR	Yes / NR	Yes / NR	Yes / partial	Yes / NR
Steroids, response	Yes / partial	Yes / partial	Yes / NR	Yes, NR	Yes / partial	Yes / NR	Yes / partial	Yes / partial	Yes / partial	Yes / partial	Yes / good	Yes / NR	Yes / NR	No	Yes / NR
PLEX, response	No	No	No	Yes, NR	Yes / partial	Yes / partial	Yes / partial	Yes / partial	No	No	Yes / good	Yes / NR	Yes / NR	No	Yes / good
Rituximab, response	Yes / good	Yes / good	Yes / good	Yes, good	Yes / good	No	No	Yes / good	No	Yes / good	Yes / good	Yes / good	Yes / on-going	No	No
Other, response Cyclophosphamide	No	No	No	Cyclophosphamide / NR ASCT / partial	No	No	Cyclophosphamide / good	Cyclophosphamide / partial	No	No	No	No	No	No	No

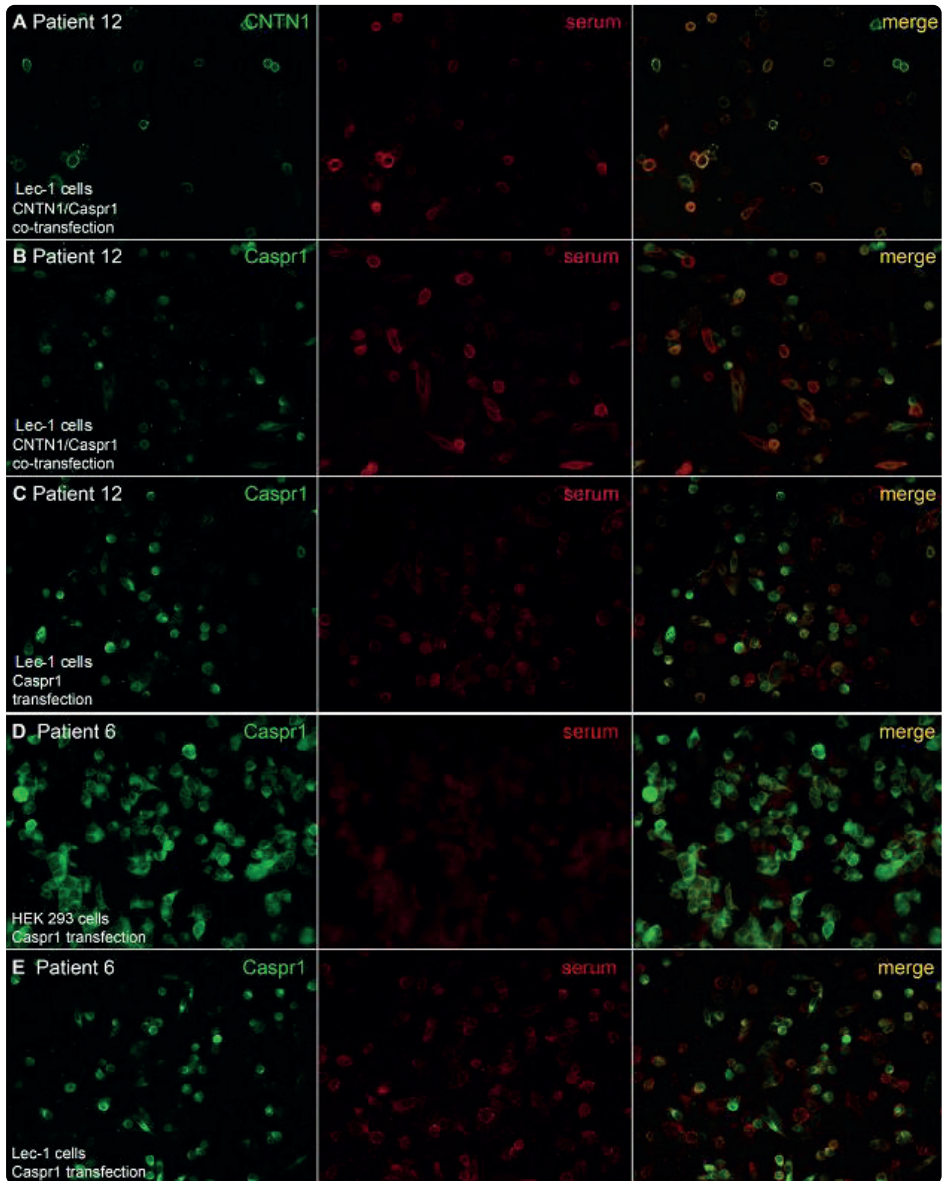
Supplementary Table 2B: Investigations and treatment data of CIDP patients with antibodies against the Caspr1/contactin-1 complex

ASCT: Autologous stem-cell transplantation; **CSF:** Cerebrospinal fluid; **IVIg:** Intravenous Immunoglobulin; **NA:** Not Available; **NR:** No Response; **PLEX:** Plasma Exchange; **WBC:** white blood cells.



Supplementary Figure 1: Contactin-1 expression in untransfected HEK cells as assessed by cellbased assay, western blot / immunoprecipitation and RT-PCR.

A: Faint membrane IgG deposition is seen when untransfected HEK cells are incubated with CNTN1-antibody positive serum (upper panel). Such staining is not seen with control serum (lower panel). **B:** Western blot using goat anti-CNTN1 commercial antibody for the detection of contactin-1 protein. Low levels of CNTN1 protein can be detected in the lysate of untransfected HEK293 cells (lane 2, faint band corresponding to recombinant protein in lane 1). CNTN1 protein is enriched in the eluate fraction following immunoprecipitation using untransfected HEK293 cells and CNTN1-antibody positive serum (lane 4), but not when the same cells are incubated with control serum or Caspr/CNTN1 complex antibody positive serum. **C:** RT-PCR reveals that CNTN1 mRNA is present even in sham/untransfected HEK293T cells (arrow), whereas the transcripts for nodal (NF155) and paranodal (NF186) isoforms of neurofascin are only detected following transfection with the relevant construct

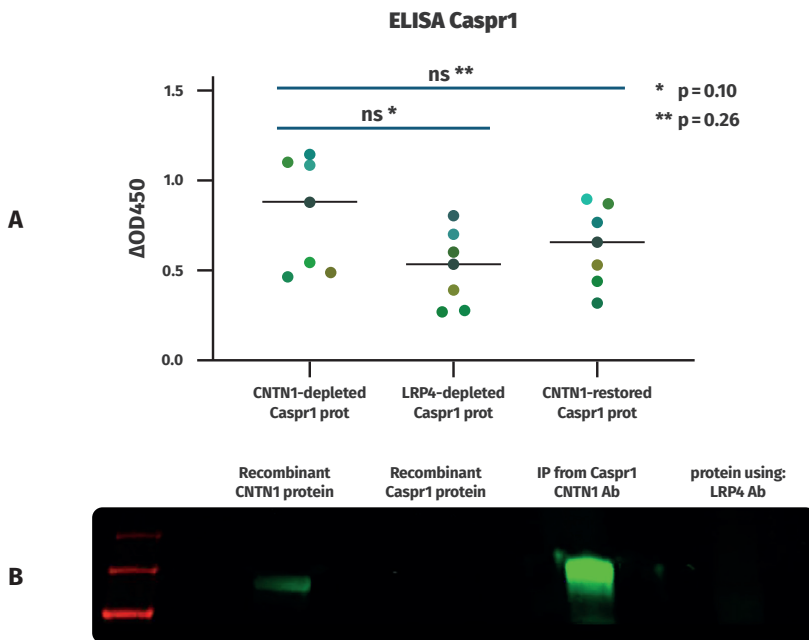


Supplementary Figure 2: Cell-based assays with HEK293 cells and CHO Lec-1 cells.

CHO Lec-1 cotransfected with CNTN1 and Caspr1 at equimolar concentration (**A-B**) or transfected with Caspr1 alone and double labeled with CNTN1 (**A**) or Caspr1 (**B,C**) monoclonal antibodies and patient's serum. IgG from patients reacted against cells co-transfected with CNTN1 and Caspr1 and colocalized better with CNTN1 mAb (**A**) than with Caspr1 mAb (**B**). Also, Patient IgG binds to Caspr1-only transfected cells but does not colocalize well with Caspr1 mAb (**C**). HEK 293 (**D**) and Lec-1 (**E**) transfected with Caspr1 and double labeled with Caspr1 monoclonal antibody and patient's serum. IgG from patient 6 did not show reactivity against Caspr1-transfected HEK cells (**D**). IgG binding was observed in Caspr1-transfected Lec-1 cells (**E**) that did not colocalize with Caspr1 mAb.

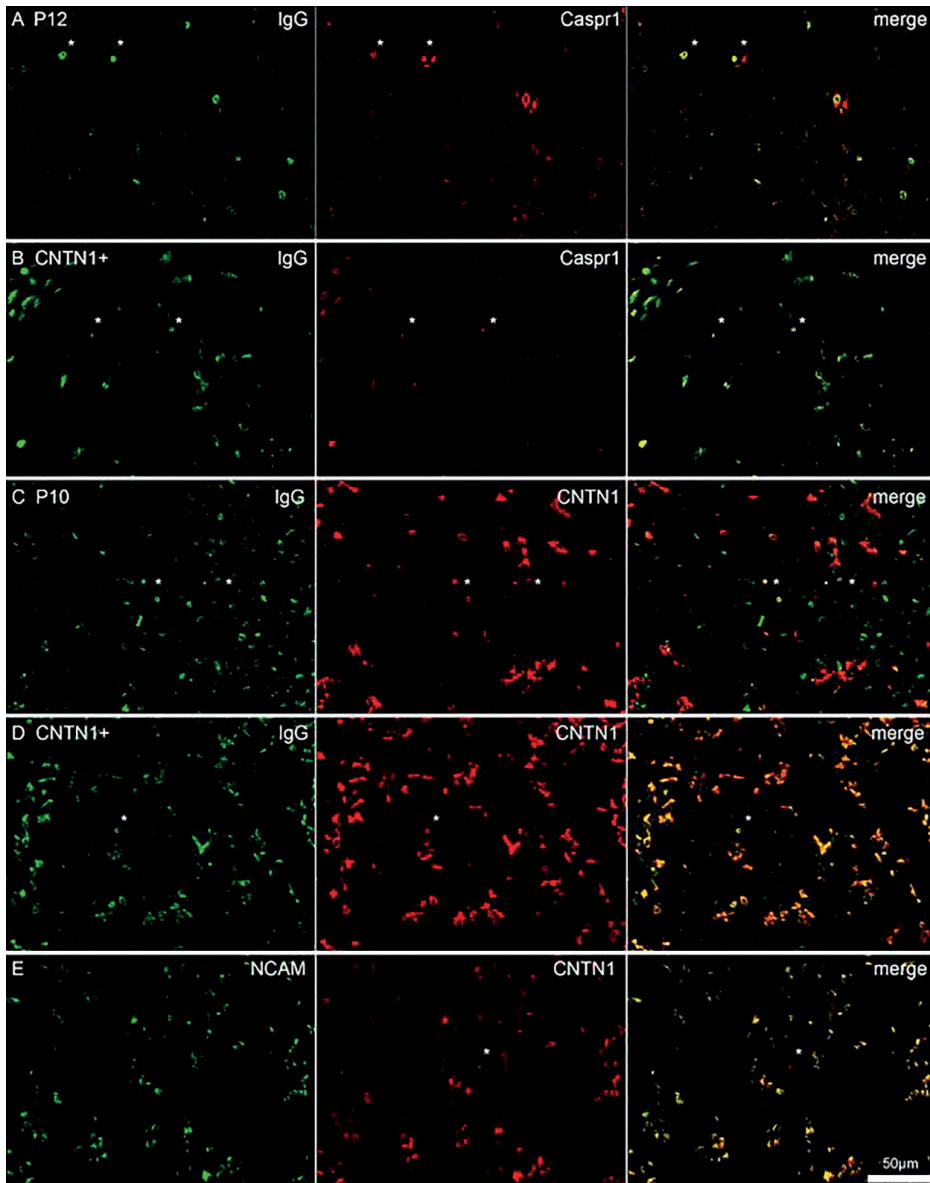
Supplementary results 1. Cell-based assays with CHO Lec-1 cells.

We used lec-1 cells to analyse if N-glycosylation of Caspr1 or CNTN1 was relevant for the detection of antibodies to these targets. We did not find any difference in the reactivity pattern of HEK293 and lec-1 cells except in patient 6. Briefly, no serum reacted against Lec-1 cells transfected with CNTN1 alone. All tested sera bound to Lec-1 cells co-transfected with CNTN1 and Caspr1 and moderate colocalization was observed with a CNTN1 Ab, while colocalization with a Caspr1 mAb was poor (**Sup Figure 2A, B**). Second, IgG from nine patients bound to Caspr1 transfected Lec-1 cells but showed poor colocalization with the Caspr1 mAb (**Sup Figure 2C**). Interestingly, serum from patient 6 reacted against Caspr1-transfected Lec-1 cells while it tested negative in the Caspr1-monotransfected HEK293 CBA (**Sup Figure 2D, E**). Sera from patients 9, 13 and 14 were not available to test in these assays.



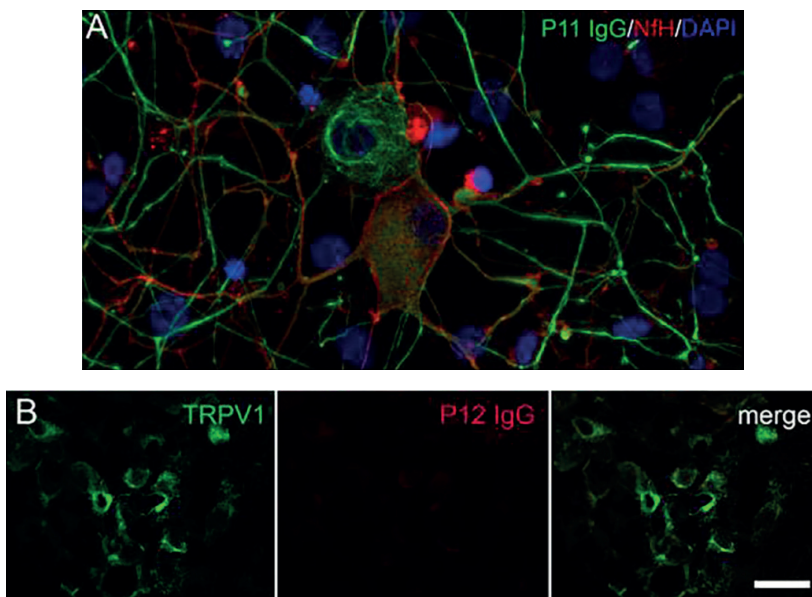
Supplementary figure 3: CNTN1 was immunoprecipitated from Caspr1 human recombinant protein.

A: ELISA with Caspr1 protein showed no statistically significant differences in reactivity after CNTN1 or LRP4 immunoprecipitation, or when CNTN1 protein was restored after CNTN1 immunoprecipitation. **B:** Western blot confirmed CNTN1 immunoprecipitation from recombinant Caspr1 protein. *, ** analyzed using Mann-Whitney U test.



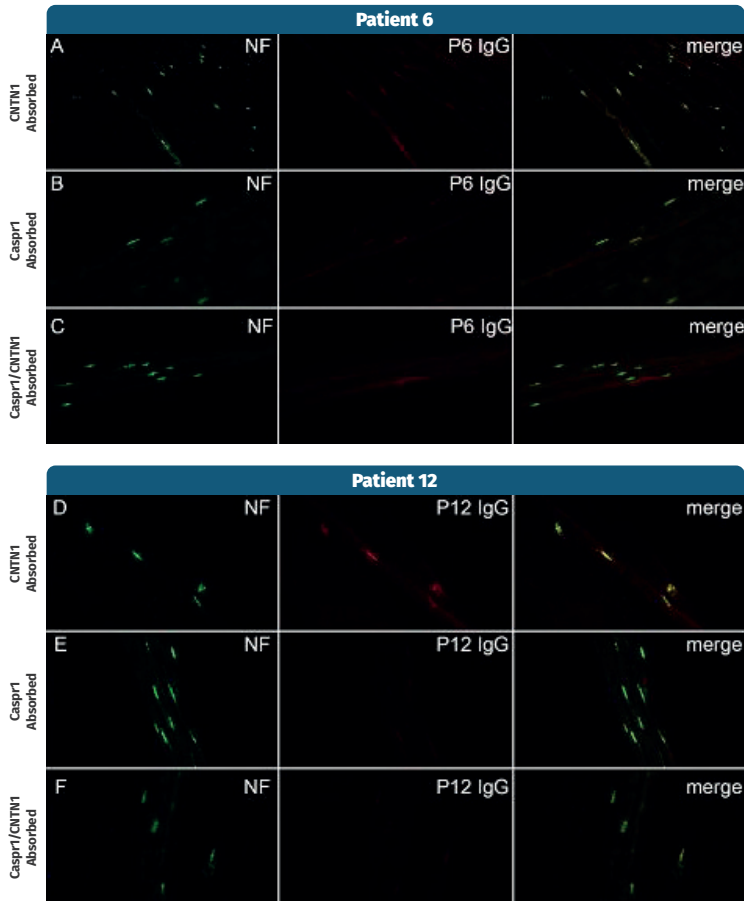
Supplementary Figure 4: Anti-Caspr1/CNTN1 autoantibodies bind to paranodes in peripheral nerve sections with a pattern different from that of anti-CNTN1 autoantibodies.

Macaque peripheral nerve sections stained with **(A)** Caspr1/CNTN1 positive patient's serum and Caspr1 monoclonal antibody (mAb) **(B)**, CNTN1 positive patient's serum and Caspr1 Ab **(B)**, Caspr1/CNTN1 positive patient's serum and CNTN1 Ab **(C)**, CNTN1 positive patient's serum and CNTN1 AD **(D)**. Sera from Caspr1/CNTN1 and CNTN1 positive patients reacted against paranodal structures. Only CNTN1 positive sera reacted strongly against extracellular matrix and bundles of unmyelinated fibres (Remak bundles), and colocalized with CNTN1 AD **(D)** and NCAM **(E)**. Paranodes, highlighted with asterisks, are stained by both Caspr1 and CNTN1 Ab and by both CNTN1+ and Caspr1/CNTN1 + sera. Bars = 50 µm.



Supplementary Figure 5: Anti-Caspr 1/CNTN1 autoantibodies bind to small and large cultured dorsal root ganglion (DRG) neurons.

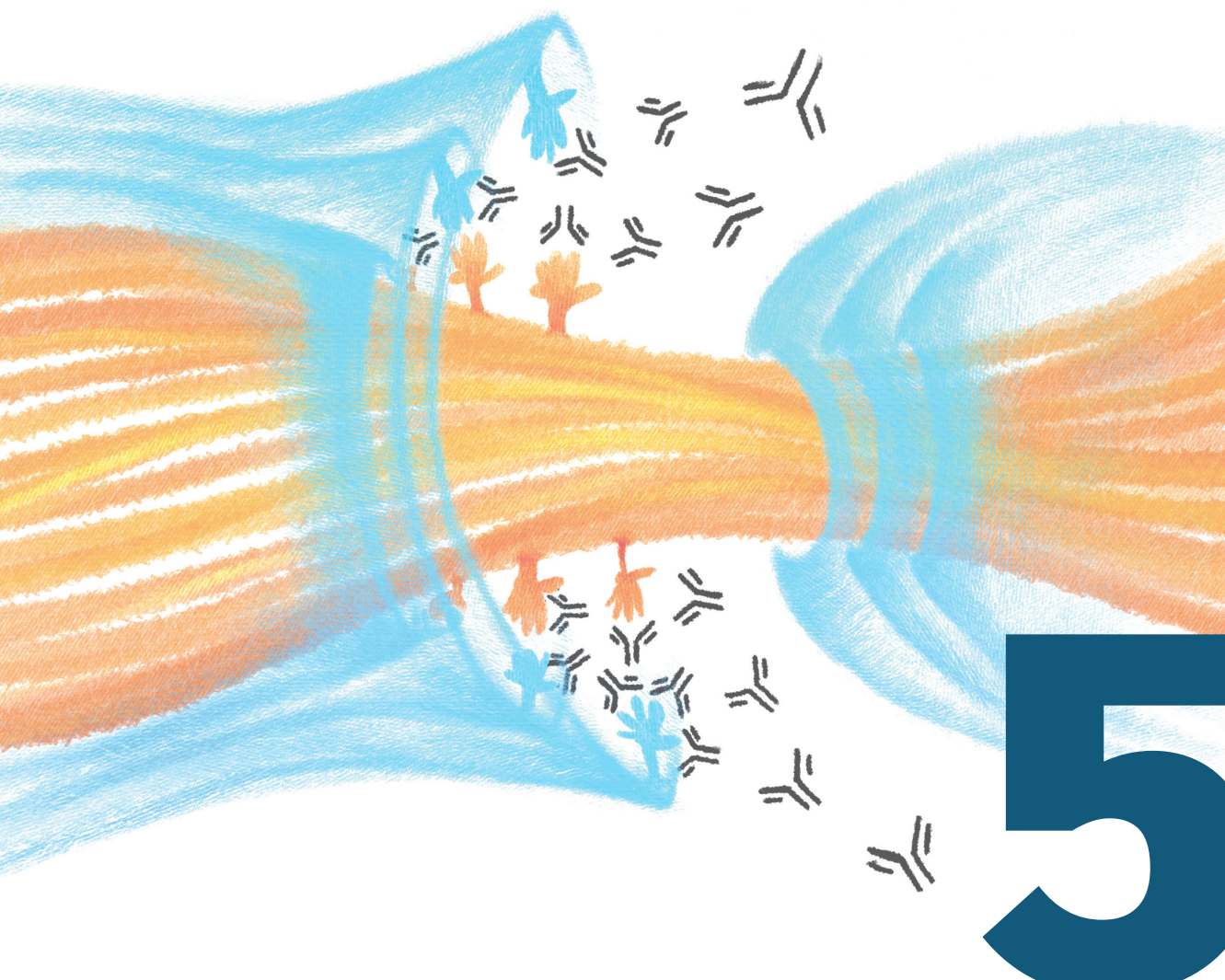
A: Cultured rat-derived DRG neurons labelled with serum from patient 11 (green), neurofilament heavy Ab (red) and DAPI (blue). Patient's 11 IgG binds to neurofilament heavy-positive large neurons. **B:** DRG sections labelled with Patient's 12 IgG ant TRPV1 Ab labelling small DRG neuron som as. IgG binds weakly to TRPV1 positive DRG neurons. Bar = 25 μ m.



Summary of paranodal reactivity of pre-absorbed sera				
Patient	Absorption sera dilution	Values	Normal values	Normal values
		CNTN1- Absorbed	Caspr1- Absorbed	Caspr1/CNTN1- Absorbed
1	1:800	Positive	Positive	Negative
2	1:500	Positive	Negative	Mild Positive
3	1:800	Positive	Mild Positive	Mild Positive
6	1:500	Positive	Positive	Negative
7	1:500	Positive	Positive	Negative
10	1:1000	Positive	Negative	Negative
12	1:1000	Positive	Mild Positive	Very Mild Positive

Supplementary Figure 6: Immunoabsorption experiments (**A-F**) Paranodes of swine teased-nerve fibres were labelled with anti-neuro fascin Ab and pre-absorbed patients' sera (**A-C**) in patient 6 (CBA Caspr1-) paranodal reactivity was abrogated after serum pre-absorption with HEK cells co-expressing Caspr1/CNTN1 (**C**) but not after pre-absorption with Caspr1 alone (**B**). (**D-F**) In patient 12 (CBA Caspr1+) paranodal reactivity was abrogated after serum pre-absorption with either, HEK cells co-expressing Caspr1/CNTN1 (**F**) or Caspr1 alone (**E**). The table summarizes the reactivity against paranodes of the pre-absorbed sera.

Resumen Global de los Resultados



5

Las neuropatías inmunomediadas crónicas son un grupo heterogéneo de enfermedades del SNP que incluyen diferentes formas clínicas con mecanismos inmunopatogénicos diversos. Se han descrito anticuerpos contra estructuras del nervio periférico que se asocian a subtipos específicos de estas enfermedades. Los anticuerpos nos dan información sobre los mecanismos inmunopatogénicos subyacentes y permiten una mejor tipificación de los subtipos de neuropatías. Por ello, la detección de estos anticuerpos permite clasificar mejor a los pacientes y optimizar su manejo terapéutico.

Uno de los anticuerpos que clásicamente se han asociado a un subtipo de neuropatía inmunomediada crónica son los anticuerpos anti-MAG. Éstos fueron descritos asociados invariablemente a la presencia de una GM-IgM, y su patogenicidad fue demostrada en modelos animales ¹⁶⁸. Actualmente los anticuerpos anti-MAG se detectan en más del 50% de los pacientes con neuropatía asociada a GM-IgM. Las guías clínicas actuales recomiendan testar los anti-MAG en los pacientes con una GM-IgM conocida ¹⁷⁵. Sin embargo, se han reportado unos pocos casos de pacientes con neuropatía asociada a anticuerpos anti-MAG sin GM-IgM detectable ^{76,106,176}.

El objetivo de nuestro estudio recogido en el artículo 1 fue estudiar la presencia de anticuerpos anti-MAG en pacientes con neuropatía crónica desmielinizante sin una GM-IgM detectable y analizar si las características de estos pacientes son homólogas a las de los pacientes con anticuerpos anti-MAG asociados a GM-IgM. Para ello reclutamos 69 pacientes visitados en nuestra Unidad de Neuromuscular entre 2007 y 2017 que cumplían los criterios diagnósticos de CIDP (EFNS/PNS 2010) y que no tenían una GM-IgM detectable. Los anticuerpos anti-MAG fueron testados mediante ELISA (Bühlmann) y confirmados mediante inmunofluorescencia indirecta en tejido de nervio periférico. En este estudio detectamos anticuerpos anti-MAG en ausencia de GM-IgM en suero de cuatro

5 | RESUMEN GLOBAL DE LOS RESULTADOS

pacientes. Este subgrupo de pacientes anti-MAG positivos representaba el 5.8% de nuestra cohorte de CIDP. Los cuatro pacientes eran hombres con edades de inicio de la neuropatía comprendidas entre los 58 y los 70 años. Todos presentaban un fenotipo clínico similar al descrito en los pacientes con neuropatía anti-MAG asociada a GM-IgM, con síntomas de predominio sensitivo, ataxia y temblor. Durante el seguimiento 3 pacientes presentaron afectación motora distal. En ninguno de estos pacientes se detectó GM mediante estudio de inmunofijación en el momento del diagnóstico, y solo uno de ellos tenía niveles elevados de IgM en suero. Dos de los pacientes desarrollaron una GMSI-IgM Kappa de baja cuantía (<1g/L) a los 3 y 4 años de seguimiento, coincidiendo con un aumento en los títulos de anti-MAG.

Por otro lado, recientemente se han descrito anticuerpos contra proteínas del Nodo de Ranvier (CNTN1, Caspr1, NF155, NF nodal) en pacientes que cumplen criterios diagnósticos de CIDP¹⁷⁴. Estos anticuerpos se asocian a unos mecanismos inmunopatogénicos y unos fenotipos clínicos específicos; que son diferentes a los de la CIDP clásica. Por ello, su detección permite tipificar mejor a los pacientes, y precisar su manejo clínico en base a los mecanismos inmunopatogénicos subyacentes.

Los anticuerpos anti-CNTN1 y anti-NF155 se han descrito y replicado en varias series de pacientes con CIDP, y sus características clínicas e inmunopatogénicas están bien establecidas. Recientemente su patogenicidad ha sido demostrada en modelos animales^{123,134}. No es el caso de los anticuerpos anti-Caspr1 y anti-Caspr1/CNTN1, que han sido recientemente descritos en casos anecdóticos de pacientes con neuropatías inmunomediadas^{115,137}. Existen pocos datos sobre las características clínicas e inmunológicas asociadas a los anticuerpos anti-Caspr1 y anti-Caspr1/CNTN1, y su patogenicidad no ha sido estudiada hasta el momento.

El objetivo de nuestro estudio recogido en artículo 2 fue estudiar las características clínicas e inmunológicas de los pacientes con CIDP con anticuerpos anti-Caspr1/CNTN1 y caracterizar la reactividad de estos anticuerpos. Para ello reclutamos pacientes de diferentes centros europeos con CIDP y anticuerpos anti-Caspr1/CNTN1 detectados mediante ensayos basados en células co-transfectadas con Caspr1 y CNTN1. Los anticuerpos fueron confirmados mediante ELISA e inmunohistoquímica. En este estudio incluimos 15 pacientes con CIDP definida (EFNS/PNS 2010) y anticuerpos anti-Caspr1/CNTN1. La prevalencia de estos anticuerpos en nuestra cohorte de CIDP (Sant Pau) fue de 1,9% (1/52). La prevalencia de estos anticuerpos en una cohorte alemana de CIDP de inicio agudo fue del 4,3% (1/23). Casi la mitad de los pacientes (7/15) fueron inicialmente diagnosticados de SGB por presentar un inicio agudo o subagudo. La mayoría (12/15) presentaron una CIDP típica mientras que en tres se observó un fenotipo DADS. En 6 pacientes apareció disfunción de pares craneales como oftalmoparesia, parálisis facial o afectación respiratoria. Más de la mitad (8/15) refirieron dolor, dos tercios (10/15) presentaron temblor y un 80% (12/15) ataxia. Todos los pacientes presentaron hiperproteino-rraquia (3,6g/L de media). La biopsia de nervio, disponible en cuatro pacientes, objetivó una pérdida de fibras mielinizadas, degeneración axonal y edema subperineural, con infiltrados inflamatorios poco frecuentes y ausencia de lesiones en bulbo de cebolla. Ningún paciente presentó respuesta completa a IGEV, y 9/10 pacientes presentaron una buena respuesta (mejoría de al menos 2 puntos en el mRS) a rituximab.

El suero de todos los pacientes reaccionaba contra las células co-transfectadas con Caspr1 y CNTN1, y colocalizaba mejor con CNTN1 que con Caspr1. Sin embargo, el suero de ningún paciente reaccionaba contra las células transfectadas solo con CNTN1. Por el contrario, el suero de 10 pacientes reaccionaba contra las células transfectadas solo con Caspr1. La reactividad contra los paranodos fue confirmada mediante inmunohistoquímica en preparados de fibras nerviosas. Además,

5 | RESUMEN GLOBAL DE LOS RESULTADOS

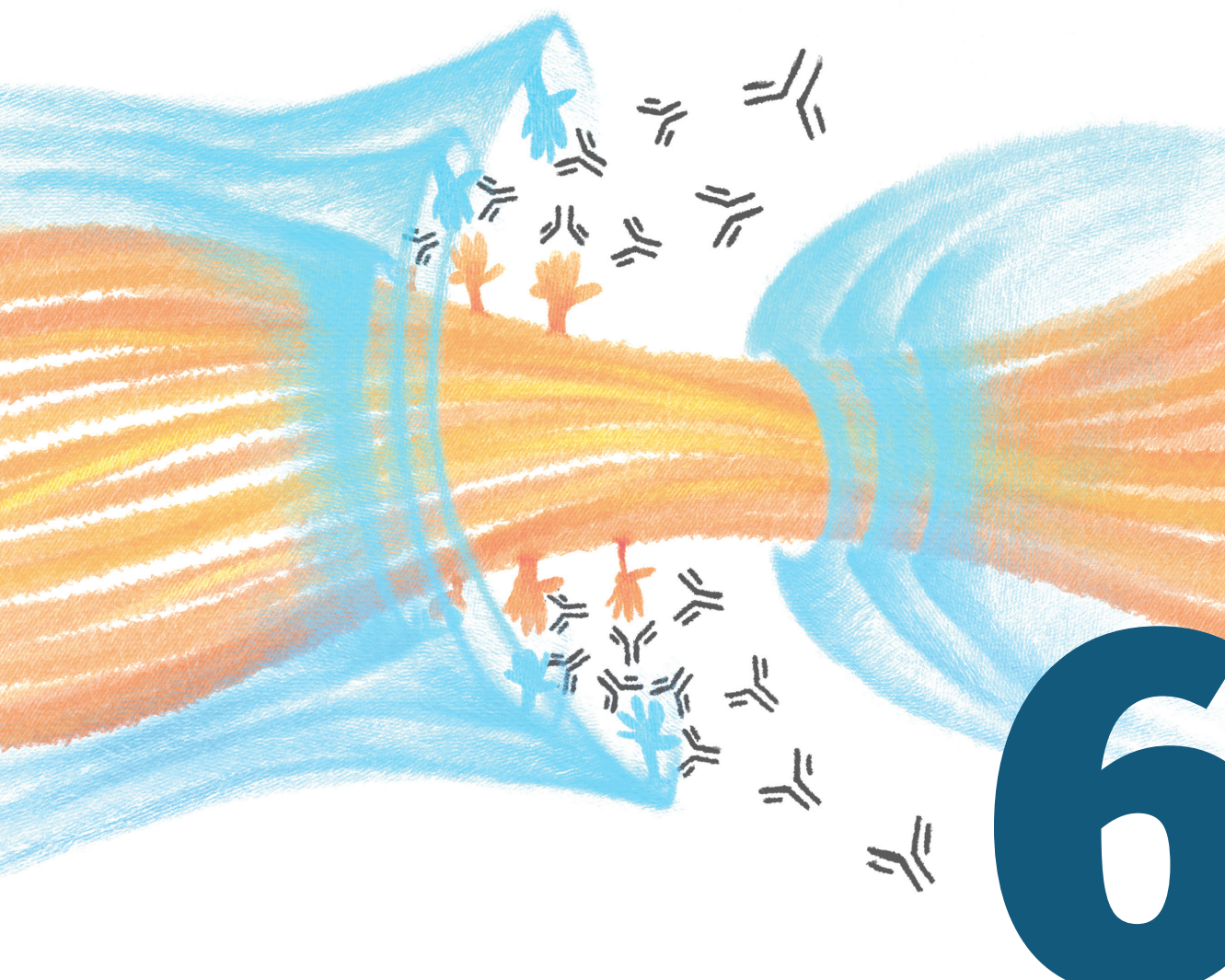
el suero fue testado por ELISA con proteína recombinante Caspr1 y CNTN1. Todos los sueros fueron positivos en el ELISA con proteína recombinante Caspr1 y solo uno mostró reactividad muy leve en el ELISA con proteína CNTN1. Observamos que los sueros que eran positivos en el CBA de Caspr1 tenían títulos más altos en el ELISA Caspr1 que los que eran negativos en el CBA Caspr1. En el estudio de subclases por ELISA, la IgG4 fue la subclase predominante en 10 pacientes, y la IgG3 en tres (en 2 pacientes no se pudo realizar el estudio de subclases). Al añadir proteína CNTN1 al ELISA Caspr1, la reactividad de prácticamente todos los sueros aumentaba. Por ello, mediante espectrometría de masas investigamos si existía contaminación de la proteína recombinante Caspr1 con CNTN1. Este análisis puso de manifiesto la presencia de CNTN1 en una cantidad estimada del 0.6-1.3% de la proteína total. Posteriormente, la presencia de CNTN1 en la proteína Caspr1 fue confirmada mediante inmunoprecipitación. Entonces testamos de nuevo los sueros de los pacientes mediante ELISA con proteína Caspr1 previamente empobrecida en CNTN1, y no encontramos diferencias significativas en la reactividad. Por ello concluimos que los anticuerpos anti-Caspr1/CNTN1 reaccionan principalmente contra Caspr1, pero su reactividad aumenta, tanto en ELISA como en los CBAs, cuando se agrega CNTN1.

En su descripción inicial, los anticuerpos anti-Caspr1 se detectaron en dos pacientes con neuropatías inmunomediadas (SGB y CIDP) en los que el dolor neuropático era un síntoma predominante. El suero de estos pacientes reaccionaba contra las neuronas DRGs pequeñas TRPV1⁺ ¹¹¹. Por ello, testamos la reactividad del suero de nuestros pacientes con anti-Caspr1/CNTN1 en secciones de DRGs. En nuestros experimentos el suero reaccionaba contra los paranodos de las raíces contiguas a los DRGs, pero muy levemente con los somas neuronales de los DRG. El anticuerpo monoclonal Caspr1 sin embargo sí se unía a los somas de las neuronas DRG, a diferencia del anticuerpo comercial CNTN1 que tenía un patrón de tinción muy similar al de los sueros anti-Caspr1/CNTN1. Estas

observaciones apoyaban la hipótesis de que la presencia de CNTN1 junto con Caspr1 mejoraba la unión del suero anti-Caspr1/CNTN1 a su epítipo. En base a nuestras observaciones, concluimos que los anticuerpos anti-Caspr1/CNTN1 se dirigen primariamente contra Caspr1 aunque su detección se optimiza añadiendo CNTN1 en el CBA y ELISA.

En resumen, en esta tesis hemos identificado anticuerpos anti-MAG y anti-Caspr1/CNTN1 en pacientes con neuropatías inmunomediadas crónicas que cumplían criterios diagnósticos de CIDP. Estos subgrupos de pacientes asociaron unas características clínicas homogéneas, y diferentes a las de la CIDP clásica. Por un lado, los pacientes con anticuerpos anti-MAG sin GM-IgM presentaron un fenotipo clínico similar al descrito en la neuropatía anti-MAG con GM-IgM. Por otro lado, los pacientes con anticuerpos anti-Caspr1/CNTN1 presentaron unas características clínicas y de respuesta al tratamiento homogéneas, y con algunas diferencias respecto a los pacientes con anti-CNTN1 (como la presencia de dolor y la ausencia de síndrome nefrótico), sugiriendo que estos pacientes constituyen un grupo diferenciado dentro del espectro de la CIDP. En conclusión, la detección de los anticuerpos anti-MAG y anti-Caspr1/CNTN1 permitió definir el subtipo de neuropatía en un grupo de pacientes con CIDP, lo que llevó a mejorar el diagnóstico y optimizar el manejo clínico de los pacientes.

Resumen Global de la Discusión



En este trabajo estudiamos la presencia de anticuerpos anti-MAG y anti-Caspr1/CNTN1 en pacientes con CIDP, con el objetivo de definir las características clínicas y de laboratorio de estos subgrupos de pacientes.

En la primera parte de nuestro trabajo, recogido en el **artículo 1**, identificamos anticuerpos anti-MAG, sin GM-IgM asociada, en pacientes que cumplen criterios diagnósticos de CIDP. La presencia de títulos elevados de anticuerpos anti-MAG asociados a una GM-IgM es un criterio de exclusión para el diagnóstico de CIDP (EFNS/PNS 2010). Sin embargo, las guías clínicas recomiendan testar los anticuerpos anti-MAG solo en los pacientes con GM-IgM conocida¹⁷⁵. Como ya había sido descrito previamente^{76,106}, hemos encontrado que alrededor del 5% de pacientes con CIDP tiene anticuerpos anti-MAG confirmados con dos técnicas en ausencia de GM-IgM. Este hallazgo tiene implicaciones en el diagnóstico y manejo clínico de los pacientes, pues la neuropatía anti-MAG es diferente a la CIDP en términos de respuesta a tratamientos y pronóstico. Además, la detección de anti-MAG incentivó la búsqueda activa de GM durante el seguimiento. Esta práctica no consta en las guías diagnósticas convencionales y, sin embargo, puede cambiar el diagnóstico final (y, de forma más importante, el tratamiento y el seguimiento) de hasta el 5% de los pacientes con CIDP que, en realidad, tienen una neuropatía asociada a GM con anticuerpos anti-MAG (que es, precisamente por su diferente manejo y tratamiento, criterio de exclusión de CIDP). Por tanto, y en consonancia con reportes previos^{76,106,176}, nuestras observaciones apoyan la necesidad de revisar las guías clínicas actuales y de recomendar testar los anticuerpos anti-MAG (o, en su defecto, realizar determinaciones de inmunofijación de IgM repetidas) en pacientes con CIDP sin GM-IgM pero con un fenotipo clínico semejante al de la neuropatía con anti-MAG, con el objetivo de evitar los errores diagnósticos mencionados previamente.

6 | RESUMEN GLOBAL DE LA DISCUSIÓN

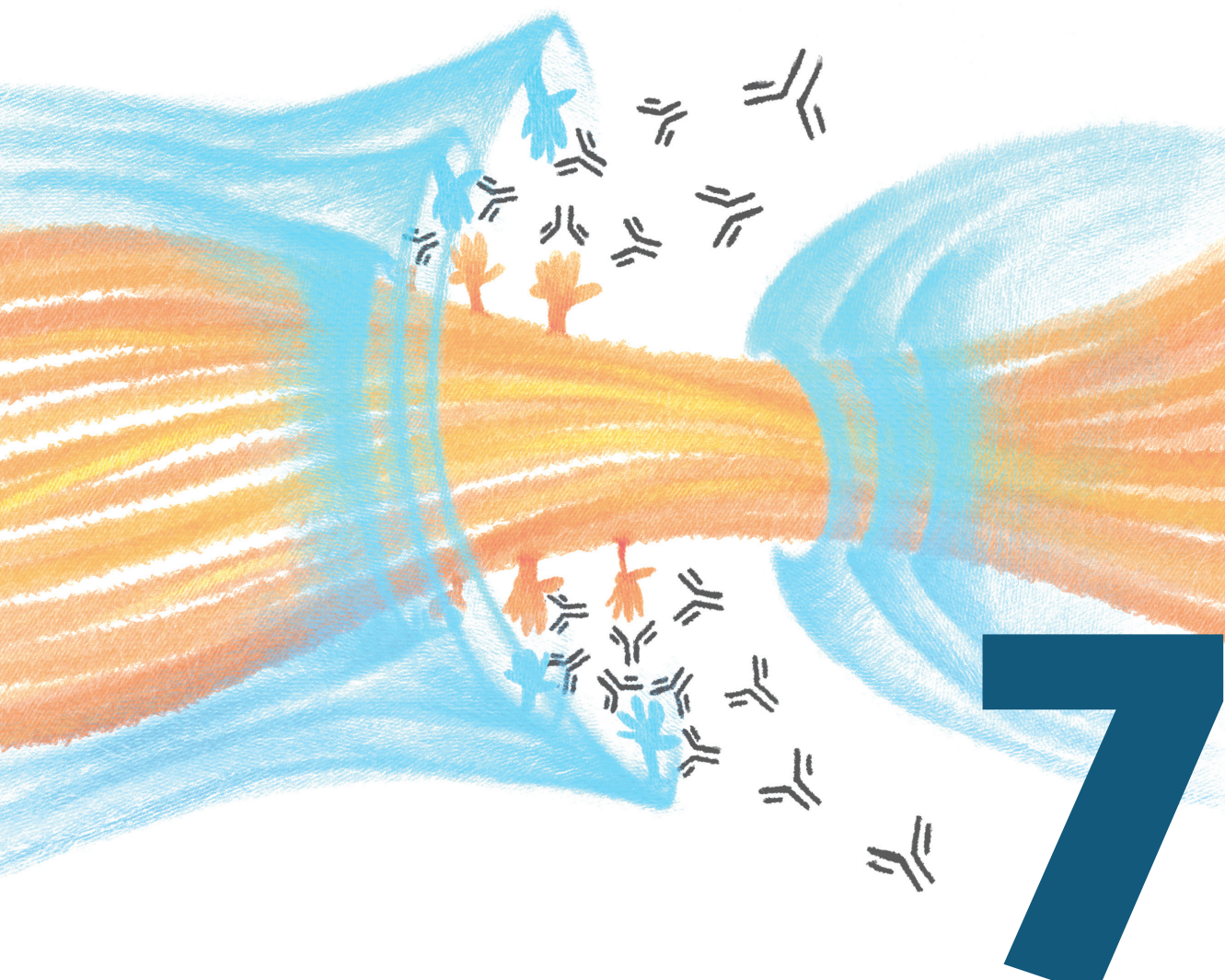
En la segunda parte de nuestro trabajo, recogido en el **artículo 2**, identificamos pacientes con CIDP con anticuerpos anti-Caspr1/CNTN1 detectados mediante CBA. Estos pacientes presentaron una neuropatía rápidamente progresiva con frecuente afectación de pares craneales e incluso disfunción respiratoria, lo que llevó al diagnóstico inicial de SGB en casi la mitad. De hecho, los anticuerpos anti-Caspr1 también han sido recientemente reportados en unos pocos casos de SGB. En consonancia con las descripciones en los pacientes con anticuerpos anti-CNTN1 y anti-NF155, los pacientes anti-Caspr1/CNTN1+ respondieron mal a IGEV y bien a rituximab. Los anticuerpos anti-Caspr1/CNTN1 también eran mayoritariamente IgG4, excepto en tres pacientes en los que la subclase predominante fue IgG3. En la misma línea, la biopsia de nervio de nuestros pacientes no mostró hallazgos clásicos de CIDP. Aunque son precisos estudios para demostrar formalmente la patogenicidad de estos anticuerpos, los hallazgos clinicopatológicos que observamos en nuestros pacientes anti-Caspr1/CNTN1 sugieren que los anticuerpos anti-Caspr1/CNTN1 también sean responsables de la neuropatía.

Aunque en los estudios de CBA se podían diferenciar dos patrones de reactividad diferentes, con pacientes con CBA de Caspr1 positivo y con CBA de Caspr1 negativo, que podrían sugerir que se trata de dos subpoblaciones diferenciadas de pacientes, en los estudios de inmunohistoquímica y ELISA los sueros de todos los pacientes presentaban patrones de reactividad similares. Nuestras observaciones sugieren que los anticuerpos anti-Caspr1/CNTN1 de todos los pacientes presentan una misma reactividad a diferentes títulos, de modo que los pacientes con títulos más altos en el ELISA Caspr1 eran los que mostraban positividad en el CBA Caspr1. Por todo ello, concluimos que los pacientes con anticuerpos anti-Caspr1/CNTN1 constituyen una población única dentro del espectro de la CIDP que comparte unas características clínicas e inmunopatogénicas similares.

En el intento de dilucidar la diana antigénica exacta de los anticuerpos anti-Caspr1/CNTN1 encontramos que todos los sueros eran positivos en el ELISA Caspr1, pero la reactividad aumentaba al añadir CNTN1. De hecho, existía una pequeña contaminación de CNTN1 en la proteína recombinante utilizada en el ELISA de Caspr1, aunque su eliminación no modificaba la positividad del ELISA Caspr1. En los CBAs y en la inmunohistoquímica de secciones de DRG, el patrón de reactividad del suero anti-Caspr1/CNTN1 colocalizaba mejor con CNTN1 que con Caspr1. Todos estos hallazgos apoyan que Caspr1 sea la diana principal de estos anticuerpos, pero que la expresión o conformación de Caspr1 esté influenciada por CNTN1, y por ello, los anticuerpos reconocen mejor Caspr1 en presencia de CNTN1. En base a estas observaciones, la estrategia diagnóstica de los anticuerpos anti-Caspr1/CNTN1 debería incluir el ELISA Caspr1 como técnica de screening y una segunda técnica confirmatoria, como el CBA con células co-transfectadas con Caspr1 y CNTN1, o la inmunohistoquímica con tejido de nervio periférico, con el objetivo de evitar falsos positivos.

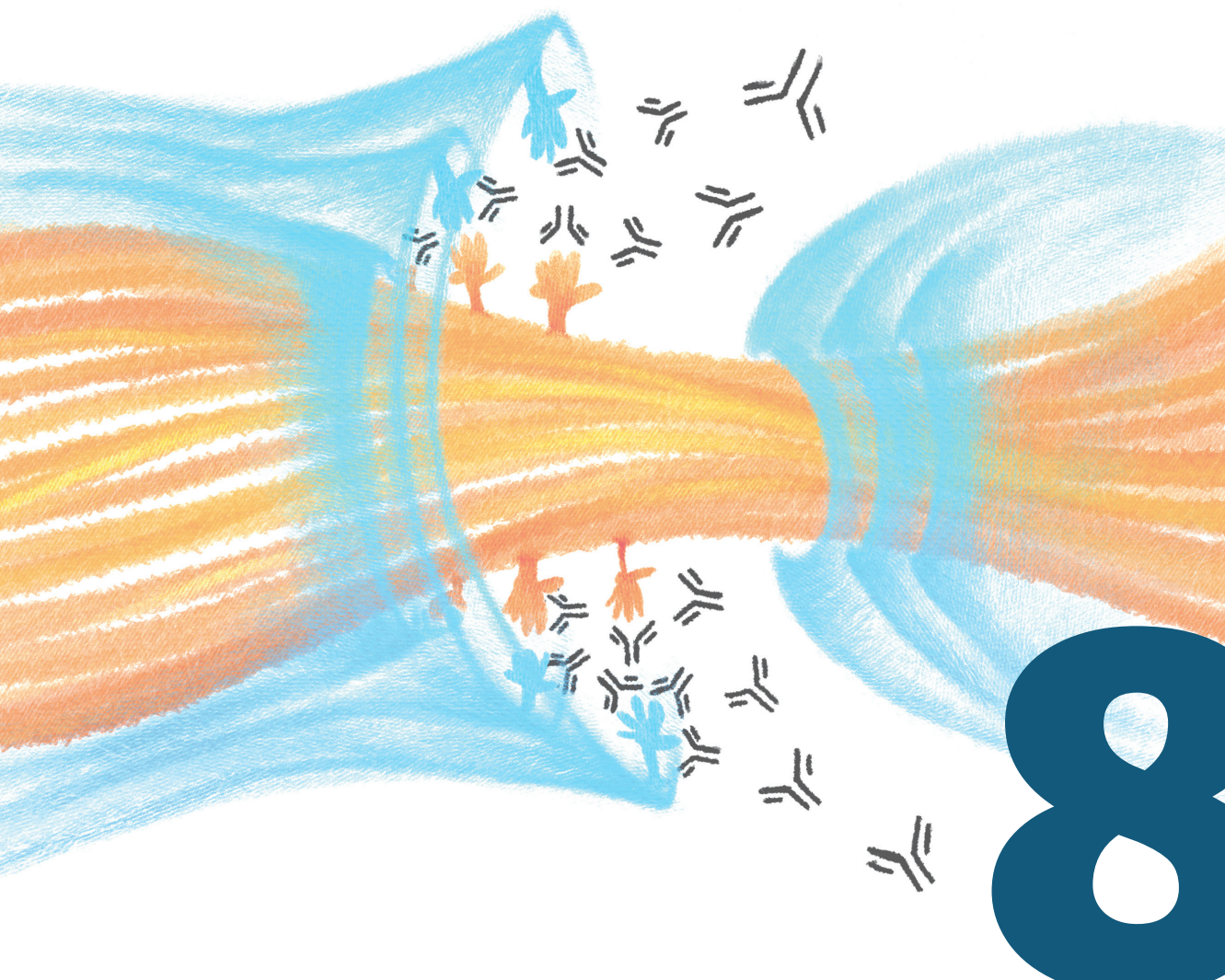
En resumen, la detección de anticuerpos anti-MAG y anti-Caspr1/CNTN1 aumenta el porcentaje de pacientes con CIDP con una diana antigénica conocida y pone de manifiesto la existencia de subtipos de enfermedad englobadas dentro del espectro de la CIDP. La neuropatía anti-MAG y la CIDP con anti-Caspr1/CNTN1 presentan peculiaridades clínicas e inmunológicas específicas, diferentes a la CIDP clásica. Por ello, estos anticuerpos son biomarcadores útiles en la práctica clínica, ya que permiten precisar el diagnóstico y el manejo clínico acorde con los mecanismos inmunopatogénicos subyacentes.

Conclusiones



- La neuropatía desmielinizante con anticuerpos anti-MAG puede aparecer en pacientes sin GM-IgM detectable. El fenotipo clínico de estos pacientes es similar al de los pacientes con neuropatía asociada a GM-IgM, y difiere de la CIDP típica, por lo que su detección es fundamental para su correcto diagnóstico y manejo clínico.
- Los anticuerpos anti-Caspr1/CNTN1 están presentes en un subgrupo de pacientes con CIDP que comparten un fenotipo clínico homogéneo con un inicio agudo-subagudo, mala respuesta a tratamientos de primera línea y buena a la depleción de células B. Estos anticuerpos se dirigen primariamente contra Caspr1, aunque su detección se optimiza en presencia de CNTN1.
- La identificación de anticuerpos específicos en subgrupos pequeños de pacientes con neuropatías autoinmunes que desbordan las clasificaciones formuladas en los criterios diagnósticos tradicionales pone de manifiesto, por un lado, la gran heterogeneidad de las neuropatías inmunomediadas y, por otro, permite una caracterización de estos pacientes basada en su inmunopatogenia y no únicamente en sus características clínicas y electrofisiológicas y, en definitiva, determina un mejor manejo clínico.

Líneas de Investigación Futuras

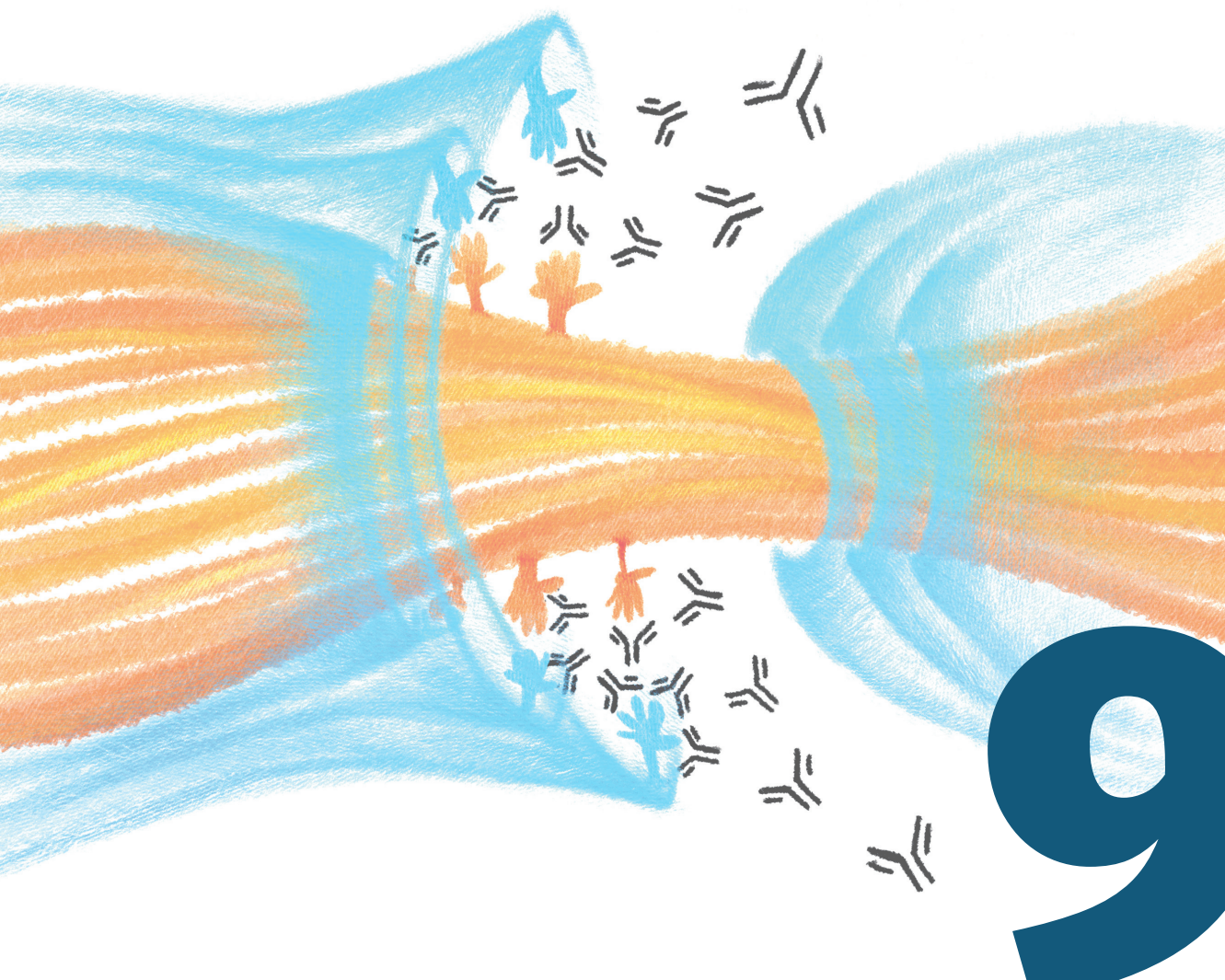


8

La detección de anticuerpos en nuestros pacientes con neuropatías inmuno-mediadas crónicas pone de manifiesto la existencia de diferentes subtipos de enfermedad englobados dentro de una misma categoría diagnóstica. La identificación de estos pacientes con características clínicas e inmunológicas diferenciales permite adecuar el manejo clínico a los mecanismos inmunopatogénicos subyacentes.

Sin embargo, y a pesar de los esfuerzos en encontrar nuevos anticuerpos o biomarcadores clínicos, en la gran mayoría de los pacientes con neuropatías inmunomediadas crónicas no se detecta ningún autoanticuerpo. Por ello nuestros estudios futuros se dedicarán a intentar identificar nuevos anticuerpos. Para ello se realizará un cribado inicial con sueros de pacientes con CIDP en tejido nervioso central y periférico. En los pacientes en los que se identifiquen reactividades contra estructuras del sistema nervioso se intentará identificar el antígeno diana mediante técnicas de inmunoprecipitación.

Bibliografía



9

1. Marani E, Lakke E. Peripheral Nervous System Topics. In: The human Nervous System. In Elsevier Ltd; 2012.
2. Bilbao J, Robert S. Biopsy Diagnosis of Peripheral Neuropathy. Second edi. Springer;
3. Ranvier L. Leçons sur l'Histologie du Système Nerveux, par M. L. Ranvier, recueillies par M. Ed. Weber (Librairie F. Savy, 1878).
4. Fehmi J, Scherer SS, Willison HJ, Rinaldi S. Nodes, paranodes and neuropathies. Vol. 89, Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry. 2018.
5. Salzer JL, Brophy PJ, Peles E. Molecular domains of myelinated axons in the peripheral nervous system. *Glia*. 2008;56(14):1532–40.
6. Lubetzki C, Sol-Foulon N, Desmazières A. Nodes of Ranvier during development and repair in the CNS. *Nat Rev Neurol* [Internet]. 2020;16(8):426–39. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41582-020-0375-x>
7. Vallat JM, Magy L, Corcia P, Boulesteix JM, Uncini A, Mathis S. Ultrastructural Lesions of Nodo-Paranodopathies in Peripheral Neuropathies. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2020;79(3):247–55.
8. Salzer JL. Clustering sodium channels at the node of Ranvier: Close encounters of the axon-glia kind. *Neuron*. 1997;18(6):843–6.
9. Devaux JJ, Kleopa KA, Cooper EC, Scherer SS. KCNQ2 Is a Nodal K⁺ Channel. *J Neurosci*. 2004;24(5):1236–44.
10. Rosenbluth J, Petzold C, Peles E. Dependence of paranodal junctional gap width on transverse bands. *J Comp Neurol*. 2012;520(12):2774–84.
11. Hongmei Cao, Rui Yu, Yi Tao, Dejan Nikolic and RB van B. Organization and Maintenance of Molecular Domains in Myelinated Axons. *Bone* [Internet]. 2005;23(1):1–7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624763/pdf/nihms412728.pdf>
12. Faivre-Sarrailh C. Molecular organization and function of vertebrate septate-like junctions. *Biochim Biophys Acta - Biomembr*. 2020;1862(5).
13. Charles P, Tait S, Faivre-Sarrailh C, Barbin G, Gunn-Moore F, Denisenko-Nehrbass N, et al. Neurofascin is a glial receptor for the paranodin/Caspr-contactin axonal complex at the axoglial junction. *Curr Biol*. 2002;12(3):217–20.
14. Bhat MA, Rios JC, Lu Y, Garcia-Fresco GP, Ching W, Martin MS, et al. Axon-glia interactions and the domain organization of myelinated axons requires Neurexin IV/Caspr/Paranodin. *Neuron*. 2001;30(2):369–83.
15. Rios JC, Melendez-Vasquez C V., Einheber S, Lustig M, Grumet M, Hemperly J, et al. Contactin-associated protein (Caspr) and contactin form a complex that is targeted to the paranodal junctions during myelination. *J Neurosci*. 2000;20(22):8354–64.
16. Bonnon C, Goutebroze L, Denisenko-Nehrbass N, Girault J-A, Faivre-Sarrailh C. The Paranodal Complex of F3/Contactin and Caspr/Paranodin Traffics to the Cell Surface via a Non-conventional Pathway. *J Biol Chem* [Internet]. 2003 Nov 28 [cited 2019 Nov 17];278(48):48339–47. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12972410>
17. Boyle MET, Berglund EO, Murai KK, Weber L, Peles E, Ranscht B. Contactin orchestrates assembly of the septate-like junctions at the paranode in myelinated peripheral nerve. *Neuron*. 2001;30(2):385–97.

9 INTRODUCCIÓN | BIBLIOGRAFÍA

18. Denisenko-Nehrbass N, Oguievetskaia K, Goutebroze L, Galvez T, Yamakawa H, Ohara O, et al. Protein 4.1B associates with both Caspr/paranodin and Caspr2 at paranodes and juxtaparanodes of myelinated fibres. *Eur J Neurosci.* 2003;17(2):411–6.
19. Bonnon C, Bel C, Goutebroze L, Maigret B, Girault J-A, Faivre-Sarrailh C. PGY Repeats and N-Glycans Govern the Trafficking of Paranodin and Its Selective Association with Contactin and Neurofascin-155. Brodsky J, editor. *Mol Biol Cell* [Internet]. 2007 Jan [cited 2019 Nov 3];18(1):229–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17093057>
20. Pillai AM, Thaxton C, Pribisko AL, Cheng G, Dupree JL, Bhat MA. Spatiotemporal ablation of myelinating glia-specific neurofascin (NfascNF155) in mice reveals gradual loss of paranodal axoglial junctions and concomitant disorganization of axonal domains. *J Neurosci Res.* 2009;87(8):1773–93.
21. Compton AG, Albrecht DE, Seto JT, Cooper ST, Ilkovski B, Jones KJ, et al. Mutations in Contactin-1, a Neural Adhesion and Neuromuscular Junction Protein, Cause a Familial Form of Lethal Congenital Myopathy. *Am J Hum Genet.* 2008;83(6):714–24.
22. Efthymiou S, Salpietro V, Malintan N, Poncelet M, Kriouile Y, Fortuna S, et al. Biallelic mutations in neurofascin cause neurodevelopmental impairment and peripheral demyelination. *Brain.* 2019;142(10):2948–64.
23. Laquérière A, Maluenda J, Camus A, Fontenas L, Dieterich K, Nolent F, et al. Mutations in CNTNAP1 and ADCY6 are responsible for severe arthrogyriposis multiplex congenita with axoglial defects. *Hum Mol Genet.* 2014;23(9):2279–89.
24. Vallat JM, Nizon M, Magee A, Isidor B, Magy L, Péréon Y, et al. Contactin-associated protein 1 (CNTNAP1) mutations induce characteristic lesions of the paranodal region. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2016;75(12):1155–9.
25. Trapp BD, Quarles RH. Presence of the myelin-associated glycoprotein correlates with alterations in the periodicity of peripheral myelin. *J Cell Biol.* 1982;92(3):877–82.
26. Traka M, Goutebroze L, Denisenko N, Bessa M, Nifli A, Havaki S, et al. Association of TAG-1 with Caspr2 is essential for the molecular organization of juxtaparanodal regions of myelinated fibers. *J Cell Biol.* 2003;162(6):1161–72.
27. Kidd GJ, Ohno N, Trapp BD. Biology of Schwann cells [Internet]. 1st ed. Vol. 115, *Handbook of Clinical Neurology*. Elsevier B.V.; 2013. 55–79 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-52902-2.00005-9>
28. Quarles RH. Myelin-associated glycoprotein (MAG): Past, present and beyond. *J Neurochem.* 2007;100(6):1431–48.
29. Kieseier BC, Hartung HP, Wiendl H. Immune circuitry in the peripheral nervous system. *Curr Opin Neurol.* 2006;19(5):437–45.
30. Dalakas MC. Pathogenesis of immune-mediated neuropathies. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis* [Internet]. 2015;1852(4):658–66. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbdis.2014.06.013>
31. Kanda T. Biology of the blood-nerve barrier and its alteration in immune mediated neuropathies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2013;84(2):208–12.
32. Gold R, Archelos JJ, Hartung HP. Mechanisms of immune regulation in the peripheral nervous system. *Brain Pathol.* 1999;9(2):343–60.

33. Kanda T, Yamawaki M, Iwasaki T, Mizusawa H. Glycosphingolipid antibodies and blood-nerve barrier in autoimmune demyelinating neuropathy. *Neurology*. 2000;54(7):1459–64.
34. 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(JAN):1–9.
35. Ma M, Gold R. Animal models of immune-mediated neuropathies. 2002;617–22.
36. Waksman BYBH, Adams RD. Allergic Neuritis: An experimental disease of rabbits induced by the injection of peripheral nervous tissue and adjuvants. *J Exp Med*. 1955;102(2):213–36.
37. Schafflick D, Kieseier BC, Wiendl H, Meyer zu Horste G. Novel pathomechanisms in inflammatory neuropathies. *J Neuroinflammation*. 2017;14(1):1–17.
38. Salomon B, Rhee L, Bour-Jordan H, Hsin H, Montag A, Soliven B, et al. Development of spontaneous autoimmune peripheral polyneuropathy in B7-2-deficient NOD mice. *J Exp Med*. 2001;194(5):677–84.
39. Kim H-J, Jung C-G, Jensen MA, Dukala D, Soliven B. Targeting of Myelin Protein Zero in a Spontaneous Autoimmune Polyneuropathy. *J Immunol*. 2008;181(12):8753–60.
40. Abraham PM, Quan SH, Dukala D, Soliven B. CD19 as a therapeutic target in a spontaneous autoimmune polyneuropathy. *Clin Exp Immunol*. 2014;175(2):181–91.
41. Quan S, Sheng JR, Abraham PM, Soliven B. Regulatory T and B lymphocytes in a spontaneous autoimmune polyneuropathy. *Clin Exp Immunol*. 2016;184(1):50–61.
42. Wolbert J, Cheng MI, Meyer Zu Horste G, Su MA. Deciphering immune mechanisms in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathies. *JCI Insight*. 2020;5(3).
43. Yoshida T, Jiang F, Honjo T, Okazaki T. PD-1 deficiency reveals various tissue-specific autoimmunity by H-2 b and dose-dependent requirement of H-2g7 for diabetes in NOD mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(9):3533–8.
44. Kao JC, Liao B, Markovic SN, Klein CJ, Naddaf E, Staff NP, et al. Neurological complications associated with anti-programmed death 1 (PD-1) antibodies. *JAMA Neurol*. 2017;74(10):1216–22.
45. Zeng XL, Nagavalli A, Smith C-J, Howard JF, Su MA. Divergent Effects of T Cell Costimulation and Inflammatory Cytokine Production on Autoimmune Peripheral Neuropathy Provoked by Aire Deficiency. *J Immunol*. 2013;190(8):3895–904.
46. Meyer zu Horste G, Mausberg AK, Cordes S, El-Haddad H, Partke H-J, Leussink VI, et al. Thymic Epithelium Determines a Spontaneous Chronic Neuritis in Icam1 tm1Jcgr NOD Mice. *J Immunol*. 2014;193(6):2678–90.
47. Goethals S, Ydens E, Timmerman V, Janssens S. Toll-like receptor expression in the peripheral nerve. *Glia*. 2010;58(14):1701–9.
48. Ydens E, Lornet G, Smits V, Goethals S, Timmerman V, Janssens S. The neuroinflammatory role of Schwann cells in disease. *Neurobiol Dis*. 2013;55:95–103.
49. Sharief MK, Ingram DA, Swash M, Thompson EJ. IV immunoglobulin reduces circulating proinflammatory cytokines in Guillain-Barre syndrome. *Neurology*. 1999;52(9):1833–8.
50. 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(1–2):118–27.

9 INTRODUCCIÓN | BIBLIOGRAFÍA

51. 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(17):4343–53.
52. Taskinen HS, Olsson T, Bucht A, Khademi M, Svelander L, Röyttä M. Peripheral nerve injury induces endoneurial expression of IFN- γ , IL-10 and TNF- α mRNA. *J Neuroimmunol*. 2000;102(1):17–25.
53. Meyer zu Hörste G, Heidenreich H, Mausberg AK, Lehmann HC, ten Asbroek ALMA, Saavedra JT, et al. Mouse Schwann cells activate MHC class I and II restricted T-cell responses, but require external peptide processing for MHC class II presentation. *Neurobiol Dis* [Internet]. 2010;37(2):483–90. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nbd.2009.11.006>
54. Jessen KR, Mirsky R, Lloyd AC. Schwann cells: Development and role in nerve repair. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2015;7(7):1–15.
55. Kim HA, Mindos T, Parkinson DB. Plastic Fantastic: Schwann Cells and Repair of the Peripheral Nervous System. *Stem Cells Transl Med*. 2013;2(8):553–7.
56. Mahdi-Rogers M, Hughes RAC. Epidemiology of chronic inflammatory neuropathies in south-east England. *Eur J Neurol*. 2014;21(1):28–33.
57. 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(12):1349–53.
58. Dalakas MC. Advances in the diagnosis, pathogenesis and treatment of CIDP. *Nat Rev Neurol*. 2011;7(9):507–17.
59. Mori K, Hattori N, Yamamoto M, Sobue G. Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy presenting with features of GBS. *Neurology*. 2002;59(11):1824.
60. Van den Bergh PY, Hadden RD, 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. *Eur J Neurol* [Internet]. 2010/05/12. 2010;17(3):356–63. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20456730>
61. 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(9):973–85.
62. Querol L, Rojas-García R, Casasnovas 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(6):870–6.
63. Katz JS, Saperstein DS, Gronseth G, Amato AA, Barohn RJ. Distal acquired demyelinating symmetric neuropathy. *Neurology*. 2000;54(3):615–20.
64. Lewis RA, Sumner AJ, Brown MJ, Asbury AK. Multifocal demyelinating neuropathy with persistent conduction block. *Neurology*. 1982;32(9):958–64.
65. 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.

66. Thomas PK, Claus D, Jaspert A, Workman JM, King RHM, Larner AJ, et al. Focal upper limb demyelinating neuropathy. *Brain*. 1996;119(3):765–74.
67. 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(8):677–80.
68. Sinnreich M, Klein CJ, Daube JR, Engelstad J, Spinner RJ, Dyck PJB. Chronic immune sensory polyradiculopathy: A possibly treatable sensory ataxia. *Neurology*. 2004;63(9):1662–9.
69. Sabatelli M, Madia F, Mignogna T, Lippi G, Quaranta L, Tonali P. Pure motor chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *J Neural Transm*. 2001;108(8–9):772–7.
70. Dalakas MC. Advances in the diagnosis, immunopathogenesis and therapies of IgM-anti-MAG antibody-mediated neuropathies. *Ther Adv Neurol Disord* [Internet]. 2018 Jan 15 [cited 2019 Jan 10];11:175628561774664. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29403542>
71. Ubogu EE. Inflammatory neuropathies: pathology, molecular markers and targets for specific therapeutic intervention. *Acta Neuropathol*. 2015;130(4):445–68.
72. Oh SJ. Inflammatory demyelinating neuropathy. In: *Color Atlas of Nerve Biopsy Pathology*. CRC Press LLC; 2002.
73. 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(4):474–87.
74. Koike H, Nishi R, Ikeda S, Kawagashira Y, Iijima M, Katsuno M, et al. Ultrastructural mechanisms of macrophage-induced demyelination in CIDP. *Neurology*. 2018;91(23):1051–60.
75. Kawagashira Y, Koike H, Tomita M, Morozumi S, Iijima M, Nakamura T, et al. Morphological progression of myelin abnormalities in IgM-monoclonal gammopathy of undetermined significance anti-myelin-associated glycoprotein neuropathy. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2010;69(11):1143–57.
76. Nobile-Orazio E, Latov N, Hays AP, Takatsu M, Abrams GM, Sherman WH, et al. Neuropathy and anti-MAG antibodies without detectable serum M-protein. *Neurology* [Internet]. 1984/02/01. 1984;34(2):218–21. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6198602>
77. Dalakas MC, Engel WK. Immunoglobulin and Complement Deposits in Nerves of Patients With Chronic Relapsing Polyneuropathy. *Arch Neurol* [Internet]. 1980 Oct 1 [cited 2019 Jan 12];37(10):637–40. Available from: <http://archneur.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=579053>
78. Doppler K, Werner C, Sommer C. Disruption of nodal architecture in skin biopsies of patients with demyelinating neuropathies. *J Peripher Nerv Syst* [Internet]. 2013 Jun [cited 2019 Feb 10];18(2):168–76. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23781964>
79. Cifuentes-Diaz C, Dubourg O, Irinopoulou T, Vigny M, Lachkar S, Decker L, et al. Nodes of ranvier and paranodes in chronic acquired neuropathies. *PLoS One*. 2011;6(1).
80. 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(4):345–56.

9 INTRODUCCIÓN | BIBLIOGRAFÍA

81. 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(9):842–6.
82. 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(1):48–53.
83. 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 Aug;10(8):469–82.
84. Yuki N, Susuki K, Koga M, Nishimoto Y, Odaka M, Hirata K, et al. Carbohydrate mimicry between human ganglioside GM1 and *Campylobacter jejuni* lipooligosaccharide causes Guillain-Barré syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(31):11404–9.
85. Vallat JM, Mathis S, Vegezzi E, Richard L, Duchesne M, Gallouedec G, et al. Antibody- and macrophage-mediated segmental demyelination in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: clinical, electrophysiological, immunological and pathological correlates. *Eur J Neurol.* 2020;27(4):692–701.
86. Yan WX, Taylor J, Andrias-Kauba S, Pollard JD. Passive transfer of demyelination by serum of IgG from chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy patients. *Ann Neurol.* 2000;47(6):765–75.
87. Yan WX, Archelos JJ, Hartung HP, Pollard JD. P0 protein is a target antigen in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Ann Neurol.* 2001;50(3):286–92.
88. Gabriel CM, Gregson NA, Hughes RAC. Anti-PMP22 antibodies in patients with inflammatory neuropathy. *J Neuroimmunol.* 2000;104(2):139–46.
89. Sanvito L, Makowska A, Mahdi-Roger M, Hadden RDM, Peakman M, Regson NG, et al. Humoral and cellular immune responses to myelin protein peptides in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2009;80(3):333–8.
90. 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 [Internet].* 2017 Dec 31 [cited 2019 Apr 19];7(1):14411. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29089585>
91. Gong Y, Tagawa Y, Lunn MPT, Laroy W, Heffer-Lauc M, Li CY, et al. Localization of major gangliosides in the PNS: Implications for immune neuropathies. *Brain.* 2002;125(11):2491–506.
92. 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 Aug;38(2):218–24.
93. 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 Oct;40(4):635–44.
94. Yuki N, Yoshino H, Sato S, Miyatake T. Acute axonal polyneuropathy associated with anti-GM1 antibodies following *Campylobacter* enteritis. *Neurology.* 1990 Dec;40(12):1900–2.
95. Van Schaik IN, Bossuyt PMM, Brand A, Vermeulen M. Diagnostic value of gm1 antibodies in motor neuron disorders and neuropathies: A meta-analysis. *Neurology.* 1995;45(8):1570–7.

96. Ito H, Latov N. Monoclonal IgM in two patients with motor neuron disease bind to the carbohydrate antigens Gal(β 1-3)GalNAc and Gal(β 1-3)GlcNAc. *J Neuroimmunol*. 1988;19(3):245–53.
97. Ito M, Matsuno K, Sakumoto Y, Hirata K, Yuki N. Ataxic Guillain-Barré syndrome and acute sensory ataxic neuropathy form a continuous spectrum. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2011;82(3):294–9.
98. Willison HJ, O’Leary CP, Veitch J, Blumhardt LD, Busby M, Donaghy M, et al. The clinical and laboratory features of chronic sensory ataxic neuropathy with anti-disialosyl IgM antibodies. *Brain* [Internet]. 2001 Oct [cited 2019 Feb 9];124(Pt 10):1968–77. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11571215>
99. Chiba A, Kusunoki S, Obata H, Machinami R, Kanazawa I. Serum anti-gq1b igg antibody is associated with ophthalmoplegia in miller fisher syndrome and guillain-barré syndrome: Clinical and immunohistochemical studies. *Neurology*. 1993;43(10):1911–7.
100. P. Fredman , C. A. Vedeler, H. Nyland , J. A. Aarli and LS. Antibodies in sera from patients with inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy react with ganglioside LMI and sulphatide of peripheral nerve myelin. 1991;75–9.
101. Kuwahara M, Suzuki H, Samukawa M, Hamada Y, Takada K, Kusunoki S. Clinical features of CIDP with LM1-associated antibodies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* [Internet]. 2013 May 1 [cited 2019 Feb 11];84(5):573–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23138763>
102. 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(1):111–21.
103. Campagnolo M, Ferrari S, Dalla Torre C, Cabrini I, Cacciavillani M, Lucchetta M, et al. Polyneuropathy with anti-sulfatide and anti-MAG antibodies: Clinical, neurophysiological, pathological features and response to treatment. *J Neuroimmunol* [Internet]. 2015 Apr [cited 2019 Feb 9];281:1–4. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165572815000429>
104. Carpo M, Meucci N, Allaria S, Marmioli P, Monaco S, Toscano A, et al. Anti-sulfatide IgM antibodies in peripheral neuropathy. *J Neurol Sci*. 2000;176(2):144–50.
105. Giannotta C, Di Pietro D, Gallia F, Nobile-Orazio E. Anti-sulfatide IgM antibodies in peripheral neuropathy: to test or not to test? *Eur J Neurol* [Internet]. 2015 May [cited 2019 Jan 30];22(5):879–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25597226>
106. Sakamoto Y, Shimizu T, Tobisawa S, Isozaki E. Chronic demyelinating neuropathy with anti-myelin-associated glycoprotein antibody without any detectable M-protein. *Neurol Sci* [Internet]. 2017/10/06. 2017;38(12):2165–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28980134>
107. Tagawa Y, Yuki N, Hirata K. Anti-SGPG antibody in CIDP: nosological position of IgM anti-MAG/SGPG antibody-associated neuropathy. *Muscle Nerve* [Internet]. 2000/06/08. 2000;23(6):895–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10842265>
108. Querol L, Nogales-Gadea G, Rojas-Garcia R, Martinez-Hernandez E, Diaz-Manera J, Suárez-Calvet X, et al. Antibodies to contactin-1 in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Ann Neurol*. 2013;73(3):370–80.

9 INTRODUCCIÓN | BIBLIOGRAFÍA

109. 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* [Internet]. 2014 Mar 11 [cited 2019 Feb 10];82(10):879–86. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24523485>
110. 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(7):1851–8.
111. Doppler K, Appeltshauser 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(10):2617–30.
112. Querol L, Rojas-García R, Diaz-Manera J, Barcena J, Pardo J, Ortega-Moreno A, et al. Rituximab in treatment-resistant CIDP with antibodies against paranodal proteins. *Neurol - Neuroimmunol Neuroinflammation* [Internet]. 2015 Oct 3 [cited 2019 Jan 12];2(5):e149. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26401517>
113. 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(3):189–93.
114. Miura Y, Devaux JJ, Fukami Y, Manso C, Belghazi M, Wong AHY, et al. Contactin 1 IgG4 associates to chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy with sensory ataxia. *Brain*. 2015;138(6):1484–91.
115. 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(1).
116. Taieb G, Le Quintrec M, Pialot A, Szwarc I, Perrochia H, Labauge P, et al. “Neuro-renal syndrome” related to anti-contactin-1 antibodies. *Muscle Nerve*. 2018;(1):1–11.
117. Hashimoto Y, Ogata H, Yamasaki R, Sasaguri T, Ko S, Yamashita K, et al. Chronic Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy With Concurrent Membranous Nephropathy: An Antiparanode and Podocyte Protein Antibody Study and Literature Survey. *Front Neurol* [Internet]. 2018 Nov 27 [cited 2019 Apr 28];9. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fneur.2018.00997/full>
118. Fehmi J., Keddie S., Lunn M., Bennett D., Carr A. RS. CIDP and nephrotic syndrome: A shared immune mechanism through anti-Contactin 1 antibodies? *J Peripher Nerv Syst* [Internet]. 2018 [cited 2019 May 4];23:305–305. Available from: <https://www.neuroscience.ox.ac.uk/publications/955304>
119. 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* [Internet]. 2020;131(4):921–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2020.01.013>
120. Doppler K, Appeltshauser L, Wilhelmi K, Villmann C, Dib-Hajj SD, Waxman SG, et al. Destruction of paranodal architecture in inflammatory neuropathy with anti-contactin-1 autoantibodies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* [Internet]. 2015 Jul [cited 2019 Feb 10];86(7):720–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25694474>

121. Koike H, Kadoya M, Kaida K, 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* [Internet]. 2017 Jun [cited 2019 Apr 30];88(6):465–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28073817>
122. Labasque M, Hivert B, Nogales-Gadea G, Querol L, Illa I, Faivre-Sarrailh C. Specific contactin N-glycans are implicated in neurofascin binding and autoimmune targeting in peripheral neuropathies. *J Biol Chem* [Internet]. 2014 Mar 14 [cited 2019 May 4];289(11):7907–18. Available from: <http://www.jbc.org/lookup/doi/10.1074/jbc.M113.528489>
123. Manso C, Querol L, Mekaouche M, Illa I, Devaux JJ. Contactin-1 IgG4 antibodies cause paranode dismantling and conduction defects. *Brain*. 2016;139(6):1700–12.
124. Devaux JJ, Miura Y, Fukami Y, Inoue T, Manso C, Belghazi M, et al. Neurofascin-155 IgG4 in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Neurology* [Internet]. 2016/02/05. 2016;86(9):800–7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26843559>
125. 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(10):960–71.
126. 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* [Internet]. 2018 Oct [cited 2019 Apr 28];8(10):e01115. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/brb3.1115>
127. Painous C, López-Pérez MÁ, Illa I, Querol L. Head and voice tremor improving with immunotherapy in an anti-NF155 positive CIDP patient. *Ann Clin Transl Neurol* [Internet]. 2018 Apr [cited 2019 May 1];5(4):499–501. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/acn3.539>
128. Franques J, Chapon F, Devaux J, Mathis S. Teaching Neuro Images : Cranial nerve hypertrophy in IgG4 anti-neurofascin 155 antibody-positive polyneuropathy. *Neurology* [Internet]. 2017 Feb 14 [cited 2019 May 1];88(7):e52–e52. Available from: <http://www.neurology.org/lookup/doi/10.1212/WNL.0000000000003616>
129. Querol L, Rojas-García R, Diaz-Manera J, Barcena J, Pardo J, Ortega-Moreno A, et al. Rituximab in treatment-resistant CIDP with antibodies against paranodal proteins. *Neurol - Neuroimmunol Neuroinflammation* [Internet]. 2015 Oct 3 [cited 2019 Feb 10];2(5):e149. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26401517>
130. Garg N, Park SB, Yiannikas C, Vucic S, Howells J, Noto Y-I, et al. Neurofascin-155 IGG4 Neuropathy: Pathophysiological Insights, Spectrum of Clinical Severity and Response To treatment. *Muscle Nerve* [Internet]. 2018 May [cited 2019 Apr 28];57(5):848–51. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/mus.26010>
131. Vallat J-M, Yuki N, Sekiguchi K, Kokubun N, Oka N, Mathis S, et al. Paranodal lesions in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy associated with anti-Neurofascin 155 antibodies. *Neuromuscul Disord* [Internet]. 2017 Mar [cited 2019 May 4];27(3):290–3. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960896616308574>
132. 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):1–6.

- 133.** 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* [Internet]. 2020;339(September 2019):577139. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2019.577139>
- 134.** 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* [Internet]. 2019 Mar 14 [cited 2019 Apr 19]; Available from: <http://www.jci.org/articles/view/124694>
- 135.** Stengel H, Vural A, Brunder AM, Heinius A, Appeltshauer L, Fiebig B, et al. Anti-pan-neurofascin IgG3 as a marker of fulminant autoimmune neuropathy. *Neurol Neuroimmunol NeuroInflammation*. 2019;6(5).
- 136.** Vallat J-M, Mathis S, Magy L, Bounolleau P, Skarzynski M, Heitzmann A, et al. Subacute nodopathy with conduction blocks and anti-neurofascin 140/186 antibodies: an ultrastructural study. *Brain* [Internet]. 2018 Jul 1 [cited 2019 Apr 21];141(7):e56–e56. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29800077>
- 137.** Appeltshauer L, Brunder AM, Heinius A, Körvélyessy P, Wandinger KP, Junker R, Villmann C, Sommer C, Leypoldt F, Doppler K. Anti-paranodal antibodies and IgG subclasses in acute autoimmune neuropathy. *Neurol Neuroimmunol NeuroInflammation*. 2020;(in press).
- 138.** Appeltshauer L, Weishaupt A, Sommer C, Doppler K. Complement deposition induced by binding of anti-contactin-1 auto-antibodies is modified by immunoglobulins. *Exp Neurol* [Internet]. 2017 Jan [cited 2019 Apr 29];287(Pt 1):84–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27746185>
- 139.** J J Kelly Jr, R A Kyle, P C O'Brien PJD. Prevalence of monoclonal protein in peripheral neuropathy. *Neurology*. 1981;31(11):1480–3.
- 140.** Robert A, Kyle, Therneau TM, Rajkumar SV, Larson DR, Plevak MF, Janice R O, et al. Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med*. 2006;354(13):1362–9.
- 141.** Kyle RA, Child JA, Anderson K, Barlogie B, Bataille R, Bensinger W, et al. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: A report of the International Myeloma Working Group. *Br J Haematol*. 2003;121(5):749–57.
- 142.** Kyle RA, Larson DR, Therneau TM, Dispenzieri A, Kumar S, Cerhan JR, et al. Long-Term Follow-up of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance. *N Engl J Med*. 2018;378(3):241–9.
- 143.** Gosselin S, Kyle RA, Dyck PJ. Neuropathy associated with monoclonal gammopathies of undetermined significance. *Ann Neurol*. 1991;30(1):54–61.
- 144.** Nobile-Orazio E, Manfredini E, Carpo M, Meucci N, Monaco S, Ferrari S, et al. Frequency and clinical correlates of anti-neural IgM antibodies in neuropathy associated with IgM monoclonal gammopathy. *Ann Neurol*. 1994;36(3):416–24.
- 145.** Eurelings M, Ang CW, Notermans NC, Van Doorn PA, Jacobs BC, Van Den Berg LH. Antiganglioside antibodies in polyneuropathy associated with monoclonal gammopathy. *Neurology*. 2001;57(10):1909–12.
- 146.** Willison HJ, Yuki N. Peripheral neuropathies and anti-glycolipid antibodies. 2002;
- 147.** Svahn J, Petiot P, Antoine JC, Vial C, Delmont E, Viala K, et al. Anti-MAG antibodies in 202 patients: clinicopathological and therapeutic features. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2018;89(5):499–505.

148. Kaku DA, England JD, Sumner AJ. Distal accentuation of conduction slowing in polyneuropathy associated with antibodies to myelin-associated glycoprotein and sulphated glucuronyl paragloboside. *Brain*. 1994;117(5):941–7.
149. Dalakas MC, Papadopoulos NM. Paraproteins in the spinal fluid of patients with paraproteinemic polyneuropathies. *Ann Neurol*. 1984;15(6):590–3.
150. Lunn MPT, Nobile-Orazio E. Immunotherapy for IgM anti-myelin-associated glycoprotein paraprotein-associated peripheral neuropathies. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016;2016(10).
151. Dalakas MC, Rakocevic G, Salajegheh M, Dambrosia JM, Hahn AF, Raju R, et al. Placebo-controlled trial of rituximab in IgM anti-myelin-associated glycoprotein antibody demyelinating neuropathy. *Ann Neurol* [Internet]. 2009 Mar [cited 2019 Mar 19];65(3):286–93. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/ana.21577>
152. Nobile-Orazio E, Meucci N, Baldini L, Di Troia A, Scarlato G. Long-term prognosis of neuropathy associated with anti-MAG IgM M-proteins and its relationship to immune therapies. *Brain*. 2000;123(4):710–7.
153. Lach B, Rippstein P, Atack D, Afar DEH, Gregor A. Immunoelectron microscopic localization of monoclonal IgM antibodies in gammopathy associated with peripheral demyelinating neuropathy. *Acta Neuropathol*. 1993;85(3):298–307.
154. Kuijff ML, Eurelings M, Tio-Gillen AP, van Doorn PA, van den Berg LH, Hooijkaas H, et al. Detection of anti-MAG antibodies in polyneuropathy associated with IgM monoclonal gammopathy. *Neurology* [Internet]. 2009/09/02. 2009;73(9):688–95. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19720975>
155. Latov N, Braun PE, Gross RB, Sherman WH, Penn AS, Chess L. Plasma cell dyscrasia and peripheral neuropathy: identification of the myelin antigens that react with human paraproteins. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1981;78(11):7139–42.
156. McGarry RC, Helfand SL, Quarles RH, Roder JC. Recognition of myelin-associated glycoprotein by the monoclonal antibody HNK-1. Vol. 306, *Nature*. 1983. p. 376–8.
157. Jaskowski TD, Martins TB, Litwin CM, Hill HR. Immunoglobulin (Ig) M antibody against myelin associated glycoprotein (MAG): A comparison of methods. *J Clin Lab Anal*. 2004;18(4):247–50.
158. Magy L, Kaboré R, Mathis S, Lebeau P, Ghorab K, Caudie C, et al. Heterogeneity of Polyneuropathy Associated with Anti-MAG Antibodies. *J Immunol Res*. 2015;2015.
159. Vallat J, Duchesne M, Corcia P, Richard L, Ghorab K, Magy L. The Wide Spectrum of Pathophysiological Mechanisms of Paraproteinemic Neuropathy. 2020.
160. Matà S, Ambrosini S, Saccomanno D, Biagioli T, Carpo M, Amantini A, et al. Anti-MAG IgM: differences in antibody tests and correlation with clinical findings. *Neurol Sci*. 2020;41(2):365–72.
161. Takatsu M, Hays AP, Latov N, Abrams GM, Nemni R, Sherman WH, et al. Immunofluorescence study of patients with neuropathy and IgM M proteins. *Ann Neurol*. 1985;18(2):173–81.
162. Matà S, Ambrosini S, Mello T, Lolli F, Minciacchi D. Anti-myelin associated glycoprotein antibodies recognize HNK-1 epitope on CNS. 2011;236:99–105.
163. Delmont E, Attarian S, Antoine JC, Paul S, Camdessanché JP, Grapperon AM, et al. Relevance of anti-HNK1 antibodies in the management of anti-MAG neuropathies. *J Neurol*. 2019;266(8):1973–9.

9 INTRODUCCIÓN | BIBLIOGRAFÍA

164. Gabriel JM, Erne B, Bernasconi L, Tosi C, Probst A, Landmann L, et al. Confocal microscopic localization of anti-myelin-associated glycoprotein autoantibodies in a patient with peripheral neuropathy initially lacking a detectable IgM gammopathy. *Acta Neuropathol* [Internet]. 1998/05/26. 1998;95(5):540–6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9600601>
165. Ritz MF, Erne B, Ferracin F, Vital A, Vital C, Steck AJ. Anti-MAG IgM penetration into myelinated fibers correlates with the extent of myelin widening. *Muscle and Nerve*. 1999;22(8):1030–7.
166. Lombardi R, Erne B, Lauria G, Pareyson D, Borgna M, Morbin M, et al. IgM deposits on skin nerves in anti-myelin-associated glycoprotein neuropathy. *Ann Neurol*. 2005;57(2):180–7.
167. Bracken, M.B.; Shepard M.P.H. et al. Complement mediated demyelination in patients with IgM monoclonal gammopathy and polyneuropathy. *New England J Med*. 1990;323(16):1120–3.
168. Tatum AH. Experimental paraprotein neuropathy, demyelination by passive transfer of human IgM anti-myelin-associated glycoprotein. *Ann Neurol*. 1993;33(5):502–6.
169. Spatz LA, Williams M, Brender B, Desai R, Latov N. DNA sequence analysis and comparison of the variable heavy and light chain regions of two IgM, monoclonal, anti-myelin associated glycoprotein antibodies. *J Neuroimmunol*. 1992;36(1):29–39.
170. Treon SP, Xu L, Yang G, Zhou Y, Liu X, Cao Y, et al. MYD88 L265P Somatic Mutation in Waldenström's Macroglobulinemia. *N Engl J Med*. 2012;367(9):826–33.
171. Vos JM, Notermans NC, D'Sa S, Lunn MP, Van Der Pol WL, Kraan W, et al. High prevalence of the MYD88 L265P mutation in IgM anti-MAG paraprotein-associated peripheral neuropathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2018;89(9):1007–9.
172. Treon SP, Tripsas CK, Meid K, Warren D, Varma G, Green R, et al. Ibrutinib in Previously Treated Waldenström's Macroglobulinemia. *N Engl J Med*. 2015;372(15):1430–40.
173. Castellani F, Visentin A, Campagnolo M, Salvalaggio A, Cacciavillani M, Candiottto C, et al. The Bruton tyrosine kinase inhibitor ibrutinib improves anti-MAG antibody polyneuropathy. *Neurol Neuroimmunol neuroinflammation*. 2020;7(4):1–6.
174. Querol L, Devaux J, Rojas-Garcia R, Illa I. Autoantibodies in chronic inflammatory neuropathies: Diagnostic and therapeutic implications. *Nat Rev Neurol*. 2017;13(9):533–47.
175. Guideline PNSPDN. EFNS / PNS PDN GUIDELINE European Federation of Neurological Societies / Peripheral Nerve Society Guideline * on management of paraproteinemic demyelinating neuropathies . Report of a Joint Task Force of the European Federation of Neurological Societies a. *J Peripher Nerv Syst*. 2010;195:185–95.
176. Talamo G, Mir MA, Pandey MK, Sivik JK, Raheja D. IgM MGUS associated with anti-MAG neuropathy: a single institution experience. *Ann Hematol*. 2015;94(6):1011–6.

