

Análisis de anticuerpos antifosfolipídicos y cistatina C en pacientes con esclerosis múltiple

Analysis of antiphospholipid antibodies and cystatin C in multiple sclerosis patients

Teste de anticorpos antifosfolípídes e cistatina C em pacientes com esclerose múltipla

- Teresa Arrobas Velilla^{a,b}, María Isabel García Sánchez^c, Concepción González Rodríguez^d, Carmen Bermudo Guitarte^d, Guillermo Izquierdo Ayuso^c, Fernando Fabiani Romero^a

^a Laboratorio de Riesgo Vascular. UGC de Bioquímica Clínica. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla. España.

^b Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Autónoma de Chile.

^c Unidad de Esclerosis Múltiple. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla. España.

^d Laboratorio de Autoinmunidad. UGC de Bioquímica Clínica. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla. España.

Resumen

La cistatina C es considerada el inhibidor fisiológico más importante de las proteasas de cisteína endógenas. Se cree que el papel de la cistatina C es el de modular la actividad de las proteasas secretadas o liberadas de células dañadas o en proceso de necrosis, siendo por tanto las cistatinas fundamentales para los procesos de regulación y prevención del potencial daño proteolítico local. Los anticuerpos antifosfolípidos se usan para esclarecer el diagnóstico de esclerosis múltiple (EM) ya que existen patologías que pueden cursar con sintomatología o hallazgos paraclínicos semejantes. El objetivo de este trabajo fue analizar la concentración de cistatina C y la presencia o ausencia de anticuerpos antifosfolipídicos en pacientes diagnosticados de esclerosis múltiple remitente recurrente (EMRR) como marcadores de desmielinización. Este trabajo se llevó a cabo conjuntamente por el laboratorio de Riesgo Vascular, el laboratorio de Autoinmunidad y la Unidad de Esclerosis Múltiple del Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla, España, con una duración de un año. Se seleccionaron dos tipos de poblaciones: grupo 1, n=30 pacientes con EMRR y un segundo grupo, denominado grupo control, n=30. Se determinó cistatina C y anticuerpos antifosfolípidos IgG e IgM, anticuerpos anticardiolipina IgG e IgM y anticuerpos β 2 glicoproteína IgG e IgM. Los pacientes diagnosticados de EMRR presentan títulos negativos de anticuerpos antifosfolípidos IgG e IgM, anticardiolipina IgG e IgM y β 2 glicoproteína IgG e IgM. La concentración de cistatina C es menor en el grupo de pacientes diagnosticados de EM, lo que podría producir un déficit en la modulación de las proteasas de cisteína endógenas. Dicha desmielinización agudizaría el progreso de la EM.

Palabra clave: esclerosis múltiple * anticuerpos antifosfolipídicos * cistatina C * desmielinización * bandas oligoclonales * proteinasas de cisteína * líquido cefalorraquídeo

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

Summary

Cystatin C is considered the most important physiological inhibitor of endogenous cysteine proteases; the role of cystatin C is believed to be to modulate the activity of proteases secreted or released from damaged cells or in the process of necrosis, therefore cystatins being fundamental regulatory processes and a potential prevention of local proteolytic damage. Antiphospholipid antibodies are used to clarify the diagnosis of diseases like multiple sclerosis (MS) and other pathologies could present similar symptoms or paraclinical findings. The objective of the present work is to analyze the concentration of cystatin C and the presence or absence of antiphospholipid antibodies in patients diagnosed with relapsing remitting multiple sclerosis (RRMS) as markers of demyelization. This work was carried out jointly by the Vascular Risk Laboratory, the Laboratory of Autoimmunity and Multiple Sclerosis Unit, Hospital Universitario Virgen Macarena in Seville in one year. Two types of people were selected: Group 1 (n = 30) RRMS group and a control group, n = 30. Cystatin C and antiphospholipid antibodies IgG and IgM, IgG and IgM anticardiolipin, β 2 glycoprotein IgG and IgM were determined. Patients showed negative titers of antiphospholipid antibodies IgG and IgM, IgG and IgM anticardiolipin, β 2 glycoprotein IgG and IgM. Cystatin C concentration is lower in the group of patients diagnosed with MS, which could give rise to a decrease in the modulation of endogenous cysteine proteases. This would exacerbate the progress of demyelization in MS.

Key words: *multiple sclerosis * antiphospholipid antibodies * cystatin C * demyelization * oligoclonal bands * cysteine proteases * cerebrospinal fluid*

Resumo

A cistatina C é considerada o inibidor fisiológico das proteases de cisteína endógenas mais importante. Acredita-se que o papel da cistatina C é o de modular a atividade de proteases secretadas ou liberadas a partir de células danificadas ou em processo de necrose, sendo por isso as cistatinas fundamentais para os processos de regulação e prevenção do potencial dano proteolítico local. Anticorpos antifosfolípidos são usados para esclarecer o diagnóstico de EM, visto que existem patologias que podem apresentar sintomas ou achados paraclínicos semelhantes. O objetivo deste trabalho foi o de analisar a concentração de cistatina C e a presença ou ausência de anticorpos antifosfolípidos em pacientes diagnosticados com esclerose múltipla recidivante – remitente (EMRR) como marcadores de desmielinização. Este trabalho foi realizado em conjunto pelo laboratório de Risco Vascular, o laboratório de Autoimunidade e a Unidade de Esclerose Múltipla do Hospital Universitário Virgen Macarena, de Sevilha, Espanha, com uma duração de um ano. Foram selecionados dois tipos de populações: Grupo 1 (n = 30) pacientes com EMRR e um segundo grupo, chamado de grupo controle, n = 30. Determinou-se cistatina C e anticorpos antifosfolípidos IgG e IgM, anticorpos anticardiolipina IgG e IgM, e anticorpos β 2 glicoproteína IgG e IgM. Pacientes diagnosticados com EMRR apresentam títulos negativos de anticorpos antifosfolípidos IgG e IgM, anticardiolipina IgG e IgM e β 2 glicoproteína IgG e IgM. A concentração de cistatina C é menor no grupo de pacientes diagnosticados com EM, o que poderia produzir um déficit na modulação das proteases de cisteína endógenas. Tal desmielinização agravaria o progresso da EM.

Palavra-chave: *esclerose múltipla * anticorpos antifosfolípidos * cistatina C desmielinização * bandas oligoclonais * proteinases de cisteína * líquido cefalorraquidiano*

Introducción

La cistatina C es una proteína no glicosilada producida por todas las células nucleadas del organismo y presente en casi todos los fluidos biológicos. Es especialmente abundante en líquido cefalorraquídeo (LCR), plasma, líquido seminal y leche materna. Su concentración no se ve influida por la edad, el sexo, la masa muscular o la ingesta de proteínas, ni por sustancias como la bilirrubina (1). La tasa de producción permanece constante ya que no hay reabsorción en la circulación sanguínea y sólo se detectan cantidades

mínimas en la orina de personas con una función renal normal (1).

El aporte de esta proteína al diagnóstico de enfermedades del sistema nervioso central se debe a que se han descrito aumentos de su concentración en LCR (2), en la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (3) y en pacientes con dolor persistente (4). En cambio, se ha observado disminución de su concentración en metástasis leptomeníngea (5), meningitis bacterianas (6), síndrome de Guillain-Barré (7), polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (8), angiopatía amiloide hereditaria por cistatina C19 y esclerosis múltiple (EM) (9).

Son muchos los parámetros que se estudian para el diagnóstico y seguimiento de la EM [bandas oligoclonales, resonancia magnética, potenciales evocados visuales (10)], pero harían falta otras determinaciones, como la cistatina C, que contribuyeran al diagnóstico precoz de la EM o al control del tratamiento (11). Parece que la cistatina predice la evolución de algunas enfermedades neurológicas como la mielitis aguda a EM (12).

El mecanismo de acción por el cual la concentración de cistatina C está implicada en la EM se debe a que la cistatina C bloquea la actividad de algunas enzimas, entre ellas la catepsina B, asociada a la desmielinización. La concentración baja de cistatina C en pacientes diagnosticados de esclerosis múltiple sugiere que la regulación de las proteasas de cisteína se ve afectada en esta enfermedad ya que una actividad incrementada de proteasas de cisteína podría iniciar o aumentar la descomposición de la mielina (12). Si bien algunos trabajos han descrito una concentración baja de cistatina C en la EM y han propuesto a la cistatina C como marcador de EM, otros autores, sin embargo, no han encontrado diferencias significativas en ese sentido (13).

Por otra parte, la esclerosis múltiple es una enfermedad inflamatoria desmielinizante del sistema nervioso central que comparte muchas características clínicas con las enfermedades autoinmunitarias como lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide, psoriasis, tiroiditis autoinmune, diabetes *mellitus* tipo 1, síndrome de Sjögren o síndrome antifosfolípido (14). Los aPL en el suero de pacientes con EM se encuentran en concentraciones variables y aún no se ha establecido su significado en la patogenia de la enfermedad o su utilidad diagnóstica (14). Algunos autores sugieren que pueden tener un papel en la alteración de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica durante las exacerbaciones agudas de la EM.

Con estos antecedentes se planteó analizar los valores de cistatina C y aPL IgG e IgM en un grupo de pacientes diagnosticados de EM remitente recidivante (EMRR) de reciente diagnóstico y sin tratamiento farmacológico previo, como marcadores de desmielinización. El objetivo del trabajo fue analizar la concentración de cistatina C y la presencia o ausencia de anticuerpos antifosfolípidos en pacientes diagnosticados de EMRR como marcadores de desmielinización.

Materiales y Métodos

Este trabajo se llevó a cabo conjuntamente por el laboratorio de Riesgo Vascular, el laboratorio de Autoinmunidad, la Unidad de Esclerosis Múltiple del Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla y la Universidad Autónoma de Chile desde el 22 de febrero de 2010 hasta el 15 de enero de 2011.

Se seleccionó de forma secuencial, conforme acudían a la consulta de neurología del Hospital Universitario

Virgen Macarena, una muestra de 30 pacientes diagnosticados de EMRR (n=30) (n=19 hombres y n=11 mujeres, edad 45±16 años) de reciente diagnóstico y sin tratamiento farmacológico previo. Al mismo tiempo se constituyó una segunda muestra (grupo control n=30, n=13 hombres y n=17 mujeres, edad 39±19 años) con pacientes diagnosticados de hipertensión intracraneal benigna que acudían a las consultas de neurología a realizarse punciones evacuadoras. Previo consentimiento informado, se les realizó una punción lumbar con extracción de LCR y una extracción de una muestra de suero para el análisis de aPL IgG e IgM, cistatina C, inmunoglobulinas y bandas oligoclonales.

La determinación de cistatina C se realizó tanto en suero como en LCR en el autoanalizador Roche Cobas integra 6000 (Mannheim, Alemania). Es un *test* inmunoturbidimétrico potenciado por partículas. La cistatina C humana se aglutina con las partículas de látex, en tampón glicina, recubiertas con anticuerpos anti-cistatina C de conejo. El agregado se determina turbidimétricamente a 546 nm. La determinación de aPL IgG e IgM incluyó el análisis de anticuerpos anti-cardiolipina (aCL) IgG e IgM y el análisis de anticuerpos anti-β2 glicoproteína (anti-β2GPI) IgG e IgM (cofactor de la cardiolipina). Estos anticuerpos se cuantificaron por técnica de ELISA (INOVA Dcs, California EE.UU.) en el autoanalizador Zenit (Menarini Dcs, ML, Italia). Se consideran aCL IgG e IgM positivos (superiores al percentil 99 de una población normal) los resultados superiores a 13 GPL/mL y 11 MPL/mL, respectivamente. Los anti-β2GPI IgG e IgM son positivos cuando superan las 20 U/mL.

Obtenidos todos los resultados se diseñó y cumplimentó una base de datos en el programa SPSS v15.0 y se analizaron mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov para determinar su ajuste a la distribución normal. Se observó que siguen esta distribución y por ello se utilizan media ± DE como estimadores de tendencia central y dispersión. Se realizó comparación de medias mediante la prueba de la *t* de Student para muestras independientes. Se consideraron estadísticamente significativos valores $p < 0,05$.

Resultados

En la Tabla I se muestra la concentración media y desviación típica de cistatina C en líquido y suero de pacientes control así como la significación estadística tras realizar el análisis comparativo de *t* de student de la concentración de cistatina C en líquido y suero de pacientes control y EMRR.

En la Tabla II se muestra la concentración de anticuerpos antifosfolípidos (aPL) en suero y LCR de los pacientes con EMRR. No se encontraron concentraciones en intervalos positivos para los anticuerpos aPL (aCL IgG, aCL IgM, anti-β2GPI IgG o anti-β2GPI IgM) ni en LCR ni en suero en esos pacientes.

Tabla I. Concentración media y desviación típica de cistatina C en líquido y suero de pacientes control y con EMRR.

Pacientes	n	Media	Desviación típica	p
Líquido EMRR	30	4,57047	1,761559	
Líquido control	30	4,72580	1,414112	
Suero EMRR	30	0,88710	0,404119	
Suero control	30	1,34245	0,205287	
Líquido EMRR - Líquido control	60			0,873
Suero EMRR - Suero control	60			0,001

Tabla II. Concentración de anticuerpos antifosfolípidos (AP) IgG e IgM, anticuerpos anticardiolipina (ACA) IgG e IgM, β 2 glicoproteína (BETA2G) IgG e IgM, en grupo de pacientes EMRR. No se encontraron títulos en intervalos positivos para anticuerpos antifosfolípidos, anticardiolipina, β 2 glicoproteína de tipo IgG e IgM tanto en LCR como en suero.

	LCR	Suero
ACA-G	0,545	2,88
ACA- M	1,31	5,12
AP- M	1,3	5,68
AP- G	0,68	2,97
BETA2G- G	0,230	1,245
BETA2G-M	0,341	6,562

Debido a la negatividad de la presencia de anticuerpos, no se realizó correlación entre niveles de cistatina C y presencia o no de anticuerpos.

Discusión

La importancia de centrar el estudio de cistatina C como marcador de degeneración de mielina es debido a que la misma es considerada el inhibidor fisiológico más importante de las proteasas de cisteína endógenas. Las cisteína proteasas juegan un papel importante en el metabolismo intracelular de péptidos y proteínas y se cree que el papel de la cistatina C es el de modular la actividad de las proteasas secretadas o liberadas de células dañadas o en proceso de necrosis, siendo por tanto las cistatinas fundamentales para los procesos de regulación y prevención del potencial daño proteolítico local (15).

Los resultados de este estudio ponen de manifiesto una menor concentración de cistatina C tanto en LCR como en suero en pacientes diagnosticados de EMRR con respecto al grupo control. La significación estadística sólo se obtiene en la muestra de suero con respecto

a ambos grupos ($p=0,01$). Este resultado puede explicarse debido a que el grupo de pacientes con EMRR está compuesto por pacientes de reciente diagnóstico, sin medicación previa y en estadios tempranos de evolución (criterio previo de inclusión al estudio). Los datos obtenidos sugieren que la cistatina C en este estadio, también se encuentra en menor concentración en LCR con respecto al grupo control pero en menor proporción, sin alcanzar significación estadística. Quizás al inicio de la enfermedad la cistatina C no atraviese tan rápido la barrera hematoencefálica. Las bajas concentraciones de cistatina C provocarían un déficit en la modulación de las proteasas de cisteína endógenas, como se ha mencionado anteriormente, y participarían en la regulación de la desmielinización. Los datos obtenidos son muy alentadores y concuerdan con los resultados que se van publicando.

Algunos autores determinan cistatina C por otras técnicas como espectrometría de masa y muestran que los picos de 12,5 kDa correspondientes a cistatina C son significativamente menores en el grupo de pacientes con esclerosis múltiple respecto a controles y lo mismo ha ocurrido por técnicas de inmunoabsorción enzimática concluyendo que las alteraciones de la cistatina C pueden estar relacionadas con la patogenia de las enfermedades desmielinizantes (16).

Nakashima demostró que esta proteína única de 12,5 kDa posee una especificidad del 100% para EM (17), los pacientes con mayor número de fragmentos de 12,5 kDa tuvieron la mayor actividad de la catepsina B inhibitoria. Esto sugiere que la cistatina C puede ser una respuesta adaptativa de acogida y puede identificar a un subgrupo de pacientes con EM (17).

La combinación de dos tecnologías de proteómica cuantitativa (fluorescencia bidimensional en electroforesis (2D-DIGE), seguida de un proceso de desorción / ionización láser asistida por matriz (MALDI-TOF MS) y cromatografía líquida de cuádruplo con tiempo de vuelo acoplado a espectrometría de masas (UPLC/Q-TOF MS) también ha sido útil en el descubrimiento de dos proteínas expresadas como la catepsina S y la cistatina C que pueden servir como biomarcadores útiles para el diagnóstico y tratamiento de la EM (18). Ambas pueden contribuir a la actividad de la enfermedad en la EM, incluso en pacientes que responden al tratamiento con interferón-beta (19).

Además, se ha demostrado que la concentración de cistatina C se correlaciona significativa en LCR con el grado de discapacidad neurológica (ρ de Spearman = 0,69, $p=0,03$) (20). Este hecho también se ha confirmado en estudios de investigación básica con ratones (modelo animal que imita el fracaso de la remielinización en la EM) que muestran cómo la remielinización puede verse afectada por el aumento de la actividad de las catepsinas, inadecuadamente controlados por la cistatina C (21).

El análisis de aPL en LCR y suero de estos pacientes se debe a que los criterios diagnósticos actuales de EM requieren la exclusión de una serie de enfermedades tanto neurológicas primarias como sistémicas, que pueden cursar con sintomatología o hallazgos paraclínicos semejantes (22-24). Esta situación complica el diagnóstico diferencial de la EM, además de que se desconoce la significación patológica real del hallazgo de estos anticuerpos en algunos estudios de pacientes con EM (25-32).

En los pacientes estudiados no se encontraron concentraciones positivas para aPL, ya sean aCL o anti- β 2GPI en cualquiera de los isotipos IgG o IgM en suero o LCR. La significación de estos anticuerpos en la patogenia de la enfermedad es aún incierta, aunque algunos autores sugieren que pueden tener un papel en la alteración de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica durante las exacerbaciones agudas de la EM (33). Quizá debido al limitado número y/o al tipo de pacientes seleccionados (EMRR) de reciente diagnóstico, el título de anticuerpos se mantenga en intervalos negativos, o la presencia de síntomas clínicos o lesiones en el SNC puedan influir en su presencia o ausencia de aPL. En un grupo de pacientes con EM con predominio de neuritis óptica seguida de afección medular tampoco se han detectado aPL y en concreto anti- β 2GPI en suero o LCR. En este estudio, al igual que en el que se presenta, también se incluyen pacientes en fases tempranas de la EM (33). Aunque en la bibliografía se describen aPL en pacientes con EM, los resultados son muy variables, ya que se han informado aPL positivos, desde el 82% (32) en pacientes con exacerbación aguda hasta prevalencias más bajas 5-0% (30-31). En fases de remisión la presencia de aPL disminuye (33). Dentro de los aPL han estudiado más los aCL que los anti- β 2GPI; pero parece que se elevan en proporciones similares (32). Los resultados positivos de aPL se obtienen con mayor frecuencia para el isotipo IgM (31)(32). Precisamente, los aPL IgM son los que poseen una especificidad menor para el síndrome antifosfolipídico. En este estudio no se ha detectado aPL de ninguno de los isotipos IgG e IgM cuando se determinaron por el método recomendado para su análisis de rutina (ELISA o similar). Con este método se han descrito prevalencias muy variables de aPL en la EM, entre un 2% y un 44% (31). El tamaño muestral es limitado en este estudio, pero hay que considerar que se han descrito prevalencias elevadas de aPL en series aún más cortas de pacientes (32). En resumen, se describen prevalencias muy variables de aPL en la esclerosis múltiple especialmente de isotipo IgM y a concentraciones bajas con métodos similares al utilizado en este estudio, especialmente en fases de actividad de la enfermedad. En fases tempranas, como ocurre en éste y otros estudios, o en remisión la prevalencia disminuye de forma significativa o son indetectables.

Conclusiones

La concentración de cistatina C es menor en el grupo de pacientes diagnosticados de EM. Estas bajas concentraciones de cistatina C tanto en LCR como en suero participarían en la regulación de la desmielinización ya que se produciría un déficit en la modulación de las proteasas de cisteína endógenas. Dicha desmielinización agudizaría el progreso de la EM.

Los pacientes diagnosticados de esclerosis múltiple remitente recurrente presentan títulos negativos de anticuerpos aPL IgG e IgM (aCL IgG, aCL IgM, anti- β 2GPI IgG, anti- β 2GPI IgM).

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

CORRESPONDENCIA

DRA TERESA ARROBAS VELILLA.
Unidad de Riesgo Vascular. UGC de Bioquímica Clínica.
Hospital Universitario Virgen Macarena.
c/ Dr. Fedriani nº3 41007 SEVILLA.
Fax: 955008105 Telf: 955008110
E-mail: teresaarrobavelilla@hotmail.com

Referencias bibliográficas

1. Grubb A, Nyman U, Björk J, Lindström V, Rippe B, Sterner G, *et al.* Simple Cystatin C-based prediction equations for glomerular filtration rate compared with the modification of diet in renal disease prediction equation for adults and the Schwartz and the Counahan-Barratt prediction equations for children. *Clin Chem* 2005; 51: 1420-31.
2. Mussap M, Plebani M. Biochemistry and clinical role of human cystatin C. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2004; 41: 467-550.
3. Sánchez JC, Guillaume E, Lescuyer P, Allard L, Carrette O, Scherl A, *et al.* Cystatin C as a potential cerebrospinal fluid marker for the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Proteomics* 2004; 4: 2229-33.
4. Mannes AJ, Martin BM, Yang HY, Keller JM, Lewin S, Gaiser RR, *et al.* Cystatin C as a cerebrospinal fluid biomarker for pain in humans. *Pain* 2003; 102: 251-6.
5. H, Murakawa Y, *et al.* Cathepsin B and H activities and cystatin C concentrations in cerebrospinal fluid from patients with leptomeningeal metastasis. *Clin Chim Acta* 2003; 329: 53-60.
6. Reiber H. Dynamics of brain-derived proteins in cerebrospinal fluid. *Clin Chim Acta* 2001; 310: 173-86.
7. Nagai A, Murakawa Y, Terashima M, Shimode K, Umegae N, Takeuchi H, *et al.* Cystatin C and cathepsin B in CSF from patients with inflammatory neurologic diseases. *Neurology* 2000; 55: 1828-32.

8. Asgeirsson B, Haebel S, Thorsteinsson L, Helgason E, Gudmundsson KO, Gudmundsson G, *et al.* Hereditary cystatin C amyloid angiopathy: monitoring the presence of the Leu-68ÆGln cystatin C variant in cerebrospinal fluids and monocyte cultures by MS. *Biochem J* 1998; 329: 497-503.
9. Bollengier F. Cystatin C, alias post-gamma-globulin: a marker for multiple sclerosis? *J Clin Chem Clin Biochem* 1987; 25: 589-93.
10. Mc Donald W, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung H, Lublin F, *et al.* Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the international panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2001; 50: 121-7.
11. Un fragmento proteico en el líquido cefalorraquídeo detecta precozmente la esclerosis múltiple. Disponible en: <http://abdem.mforos.com/1062199/4964159-un-fragmento-proteico-en-el-liquido-cefalorraquideo-detecta-precozmente-la-em/>. (Fecha de acceso: 1 de enero de 2013).
12. Gajofatto A, Monaco S, Fiorini M, Zanusso G, Vedovello M, Rossi F, *et al.* Assessment of outcome predictors in first-episode acute myelitis: a retrospective study of 53 cases. *Arch Neurol* 2010; 67 (6): 724-30.
13. Bollengier F. Cystatin C, alias post-gamma-globulin: a marker for multiple sclerosis? *J Clin Chem Clin Biochem* 1987; 25 (9): 589-93.
14. Carrillo-Mora P, González-Villalva A. Características clínicas y anticuerpos antifosfolipídicos (anticardiopina-β2GP-1) en líquido cefalorraquídeo y suero en una muestra de pacientes con esclerosis múltiple en México. *Neurología* 2010; 25 (2): 71-7.
15. Martínez-Brú C. Cistatina C. Propiedades y utilidad clínica. *Ed Cont Lab Clín* 2006; 9: 36-41.
16. Irani DN, Anderson C, Gundry R, Cotter R, Moore S, Kerr DA, *et al.* Cleavage of cystatin C in the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2006; 59 (2): 237-47.
17. Nakashima I, Fujinoki M, Fujihara K, Kawamura T, Nishimura T, Nakamura M, *et al.* Alteration of cystatin C in the cerebrospinal fluid of multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2007; 62 (2): 197-200.
18. Liu S, Bai S, Qin Z, Yang Y, Cui Y, Qin Y. Quantitative proteomic analysis of the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis. *J Cell Mol Med* 2009; 13 (8A): 1586-603.
19. Haves-Zbuorof D, Paperna T, Gour-Lavie A, Mandel I, Glass-Marmor L, Miller A. Cathepsins and their endogenous inhibitors cystatins: expression and modulation in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2010; 67 (6): 724-30.
20. Gajofatto A, Monaco S, Fiorini M, Zanusso G, Vedovello M, Rossi F, *et al.* Assessment of outcome predictors in first-episode acute myelitis: a retrospective study of 53 cases. *Arch Neurol* 2010; 67 (6): 724-30.
21. Ma J, Tanaka KF, Yamada G, Ikenaka K. Induced expression of cathepsins and cystatin C in a murine model of demyelination. *Neurochem Res* 2007; 32 (2): 311-20.
22. Courtney AM, Treadaway K, Remington G, Frohman E. Multiple sclerosis. *Med Clin N Am* 2009; 93: 451-76.
23. Polman CH, Reingold SC, Edan G, Filippi M, Hartung HP, Kappos L, *et al.* Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald criteria". *Ann Neurol* 2005; 58: 840-6.
24. Rinker JR, Cross AH. Diagnosis and differential diagnosis of multiple sclerosis. *CONTINUUM: Life Long Learning in Neurology* 2007; 13: 13-34.
25. Cuadrado MJ, Khamashta MA, Ballesteros A, Godfrey T, Simon MJ, Hughes GR. Can neurologic manifestations of Hughes (anti-phospholipid) syndrome be distinguished from multiple sclerosis? *Medicine* 2000; 79: 57-68.
26. Lolli F, Matá S, Baruffi MC, Amaducci L. Cerebrospinal fluid anticardiolipin antibodies in neurological diseases. *Clin Immunol Immunopathol* 1991; 59: 314-21.
27. Marullo S, Clauvel JP, Intrator L, Danon F, Brouet JC, Oksenhendler E. Lupoid sclerosis with antiphospholipid and antimyelin antibodies. *J Rheumatol* 1993; 20: 747-9.
28. Scott TF, Hess D, Brillman J. Antiphospholipid antibody syndrome mimicking multiple sclerosis clinically and by magnetic resonance imaging. *Arch Intern Med*. 1994; 154: 917-20.
29. Sastre-Garriga J, Reverter JC, Font J, Tintore M, Espinosa G, Montalvan X. Anticardiolipin antibodies are not useful screening tool in a non-selected large group of patients with multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2001; 49: 408-11.
30. Chapman J. The interface of multiple sclerosis and antiphospholipid antibodies. *Thrombosis Res* 2004; 114: 477-81.
31. Ferreira S, Cruz DP, Hughes GRV. Multiple sclerosis, neuropsychiatric lupus and antiphospholipid syndrome: where do we stand? *Rheumatol* 2005; 44: 434-42.
32. Bidot CJ, Hortsman LL, Jy W, Jimenez JJ, Bidot Jr C, Ahn YS, *et al.* Clinical and neuroimaging correlates of antiphospholipid antibodies in multiple sclerosis: a preliminary study. *BMC Neurol* 2007; 7: 36-43.
33. Carrillo-Mora P, Gonzalez-Villalba A. Características clínicas y anticuerpos antifosfolipídicos (anticardiopina-β2GP-1) en líquido cefalorraquídeo y suero en una muestra de pacientes con esclerosis múltiple en México. *Neurología* 2010; 25: 21-77.

Aceptado para su publicación el 8 de febrero de 2013