

Reconocimiento a la trayectoria del Prof. Dr. Juan Miguel Castagnino†

## Apolipoproteína A-I en Líquido cefalorraquídeo en pacientes con bandas oligoclonales

► María Laura Facio<sup>1a\*</sup>, Marcelo García<sup>2a</sup>, Mariel Alejandre<sup>1b</sup>, Árida Borgonovo<sup>2a</sup>, Michelle Burstyn<sup>2a</sup>, Benjamín Federico Barakian<sup>3a</sup>, Leticia Madalena<sup>1a</sup>, Pablo Bresciani<sup>2a</sup>, Marco Pizzolato<sup>4b</sup>

### Resumen

La presencia de bandas oligoclonales (BO) en líquido cefalorraquídeo (LCR) es de importancia diagnóstica en la esclerosis múltiple (EM). La EM es una enfermedad inflamatoria, desmielinizante y neurodegenerativa del sistema nervioso central, de origen autoinmune, que presenta dos fases evolutivas: inflamatoria y neurodegenerativa. El tratamiento de la EM continúa transformándose con opciones a varias terapias. Se propuso hallar el perfil proteico en LCR, en el comienzo de la enfermedad, donde predomina la reacción inflamatoria, mediante electroforesis bidimensional para uso clínico. Para esto se contó con 37 muestras pareadas (LCR y suero) con solicitud médica para estudio de BO por isoelectroenfoque. Como control de LCR, se utilizaron 5 muestras provenientes de fístula nasal espontánea de pacientes sin enfermedad neurológica. De los 37 pacientes con sospecha de EM, el 54% presentó BO, de los cuales el 65% presentó apolipoproteína A-I (Apo A-I) con significación estadística ( $p=0,001$ , 87% de sensibilidad y 68% de especificidad, VPP 65% y VPN 88%). La Apo A-I se acompañó de proteínas reactantes de fase aguda positivas: haptoglobina en el 100% y orosomucoide en el 69% de los casos. Se contó con el diagnóstico en 7 de los 37 pacientes: 1 espectro de neuromielitis óptica y 6 EM de evolución "remitente-recurrente": 4 sin lesión activa por resonancia magnética (RMN) y 2 con lesión activa por RMN, con gadolinio. La haptoglobina y/u orosomucoide se observan cuando hay lesiones activas en RMN. Por lo tanto, la presencia de Apo A-I podría representar una lesión desmielinizante activa en pacientes con EM.

**Palabras clave:** Apolipoproteína A-I; Líquido cefalorraquídeo; Esclerosis múltiple; Haptoglobina

*Apolipoprotein A-I in cerebrospinal fluid in patients with oligoclonal bands*

### Abstract

*The presence of oligoclonal bands (OB) in cerebrospinal fluid (CSF) is of diagnostic importance in multiple sclerosis (MS). MS is an inflammatory, demyelinating and neurodegenerative disease of the central nervous system,*

---

<sup>1</sup> Bioquímica, Doctora de la Universidad de Buenos Aires.

<sup>2</sup> Bioquímico/a.

<sup>3</sup> Bioquímico Especialista en Bioquímica Clínica (área Química Clínica).

<sup>4</sup> Bioquímico, Doctor en Bioquímica.

<sup>a</sup> Laboratorio de Proteínas, Departamento de Bioquímica Clínica, Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica (INFIBIOC), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Hospital de Clínicas José de San Martín, Universidad de Buenos Aires, Junín 954, C1113AAD. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>b</sup> Laboratorio de Proteínas. Centro de Hematología Pavlovsky. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

\* Autora para correspondencia.

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957 (impresa)

ISSN 1851-6114 (en línea)

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

of autoimmune origin that presents two evolutionary phases: inflammatory and neurodegenerative. MS treatment continues to transform with options for various therapies. The objective of this work was to find the protein profile in CSF, at the beginning of the disease, where the inflammatory reaction predominates, by two-dimensional electrophoresis for clinical use. To this aim, 37 paired samples (CSF and serum) with medical request for study of OB by isoelectric focusing were introduced. As CSF control, 5 samples from spontaneous nasal fistula of patients without neurological disease were used. Of the 37 patients with suspected MS, 54% presented OB, 65% of which presented apolipoprotein A-I (Apo A-I), with statistical significance ( $p=0.002$ , 87% sensitivity and 68% specificity, PPV 65% and NPV 88%). Apo A-I was accompanied by positive acute phase reactant proteins: haptoglobin in 100% and orosomucoid in 69% of cases. There was a diagnosis in 7 of the 37 patients: 1 spectrum of neuromyelitis optica and 6 MS with a "relapsing-remitting" course: 4 without active lesion by magnetic resonance imaging (MRI) and 2 with active lesion by MRI, with gadolinium. Haptoglobin and/or orosomucoid are seen when there are active lesions on MRI. Therefore, the presence of Apo A-I could represent an active demyelinating lesion in MS patients.

**Keywords:** Apolipoprotein A-I; Cerebrospinal fluid; Multiple sclerosis; Haptoglobin

## Apolipoproteína A-I em Líquido cefalorraquidiano em pacientes com bandas oligoclonais

### Resumo

A presença de bandas oligoclonais (BO) em Líquido cefalorraquidiano (LCR) é de importância para o diagnóstico de esclerose múltipla (EM). A EM é uma doença inflamatória, desmielinizante e neurodegenerativa do sistema nervoso central, de origem autoimune que apresenta duas fases evolutivas: uma inflamatória e outra neurodegenerativa. O tratamento da EM continua sendo transformado com opções de várias terapias. A proposta foi achar o perfil proteico em LCR, no início da doença, onde predomina a reação inflamatória, através de eletroforese bidimensional para uso clínico. Para isso houve 37 amostras pareadas (LCR e soro) com pedido médico para estudo de BO por isoeletoenfoco. Como controle de LCR, foram utilizadas 5 amostras provenientes de fístula nasal espontânea de pacientes sem doença neurológica. Dos 37 pacientes com suspeita de EM, 54% apresentaram BO, dos quais 65% apresentaram apolipoproteína A-I (Apo A-I), com significação estatística ( $p=0,001$ , 87% de sensibilidade e 68% de especificidade, VPP 65% e VPN 88%). A Apo A-I foi acompanhada de proteínas reagentes de fase aguda positivas: haptoglobina em 100% e orosomucóide em 69% dos casos. Em 7 dos 37 pacientes se contou com o diagnóstico: 1 espectro de neuromielite óptica e 6 EM de evolução "remittente-recorrente": 4 sem lesão ativa por ressonância magnética (RMN) e 2 com lesão ativa por RMN, com gadolínio. A haptoglobina e/ou orosomucóide são observados quando há lesões ativas em RMN. Portanto, a presença de Apo A-I poderia representar uma lesão desmielinizante ativa em pacientes com EM.

**Palavras chave:** Apolipoproteína A-I; Líquido cefalorraquidiano; Esclerose múltipla; Haptoglobina

## Introducción

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad inflamatoria, desmielinizante y neurodegenerativa del sistema nervioso central (SNC), de origen autoinmune. La detección de bandas oligoclonales (BO) en líquido cefalorraquídeo (LCR) indica síntesis intratecal de inmunoglobulinas y se utiliza como criterio diagnóstico paraclínico en la EM (1). El 85% de las personas diagnosticadas durante el inicio de los síntomas cursan la evolución "recurrente-remittente" (EMRR), con mejorías y recaídas a lo largo del tiempo; luego de 10 a 20 años pueden desarrollar un deterioro irreversible y progresivo, característico de la evolución progresiva

(EMP). El 15% restante desarrolla desde el inicio un curso clínico progresivo (2). Mientras que en la EMRR, considerada como fase inicial de la enfermedad, predomina el proceso inflamatorio, en la EMP, la neurodegeneración es la principal causa de los síntomas. La EM se caracteriza por la acumulación de lesiones (3). Para identificar las lesiones activas de la EM se administran agentes de contraste basados en gadolinio para mejorar el contraste en la resonancia magnética nuclear (RMN) (4); se utilizan para controlar la progresión de la enfermedad y evaluar la eficacia y efectividad de los agentes antiinflamatorios en la práctica clínica de la EM. La captación de material de contraste administrado por vía intravenosa en lesiones nuevas en el cerebro indica

la ruptura de la barrera hematoencefálica (BHE) y la inflamación activa (5). Como bien se sabe, la etapa inicial de la enfermedad es un proceso inflamatorio, plétórico de reactantes de fase aguda (RFA), acompañada de un marcador inmunológico, como las BO. Por otra parte, la detección de BO es la puerta de entrada para diagnosticar EM en el laboratorio bioquímico (1), cuyos marcadores pronósticos se desconocen. Sería posible, *a priori*, encontrar proteínas inflamatorias en LCR que identifiquen etapas previas a la neurodegeneración. El objetivo de este trabajo fue identificar proteínas por electroforesis bidimensional para uso clínico (2D-UC) (6) en LCR en pacientes con solicitud de BO y postularlas como marcadores bioquímicos de la fase inicial de la enfermedad.

## Materiales y Métodos

### Muestras

Se procesaron 37 muestras pareadas (LCR y suero) con solicitud médica para estudio de BO por isoelectroenfoque (IEE) y, como control de LCR, 5 muestras provenientes de fístula nasal espontánea de pacientes sin enfermedad neurológica. Se agruparon en:

*Grupo control:* 5 LCR provenientes de fístula nasal espontánea de pacientes ambulatorios sin alteraciones neurológicas (rinoliquorrea). Estas muestras se utilizaron como control negativo, debido a estudios previos, que avalaron las diferencias con la secreción nasal (7).

*Grupo 1:* 17 pacientes con sospecha de enfermedad desmielinizante y BO negativas, incluido uno con diagnóstico de espectro de neuromielitis óptica (NMO) y lesiones activas por RMN contrastada con gadolinio.

*Grupo 2:* 20 pacientes con sospecha de enfermedad desmielinizante y BO positivas. Se contó con 6 historias clínicas de pacientes que tenían diagnóstico de EM de evolución "remitente-recurrente" (EMRR), 2 con lesiones activas y 4 sin lesiones activas con el contraste con gadolinio.

Se consideró que una proteinorraquia menor de 45 mg/dL indicaba que la BHE no presentaba daño aparente (8). Los datos de albúmina, en LCR y en suero, y también el cociente, se utilizaron como marcadores de daño de la BHE.

### Métodos

#### Cuantificación de IgG en suero y en LCR

Se realizó por turbidimetría en el equipo *SPA PLUS* (*Binding Site*, Birmingham, Reino Unido). Se utilizó la medición en suero y LCR para llevar a una concentración final de IgG de 3 mg/dL, en ambos líquidos biológicos, para la técnica de IEE.

#### Cuantificación de proteínas totales en LCR

Cloruro de bencetonio (Cobas-Roche Birmingham, Reino Unido). Método turbidimétrico de alta sensibilidad para la medición de proteínas totales en LCR.

#### Cuantificación de albúmina en suero y LCR

Se realizó por turbidimetría en el equipo *SPA PLUS Binding Site*. El cociente de albúmina (Q Alb) se definió como la relación entre la concentración de albúmina en LCR y la concentración de albúmina sérica:  $Q_{Alb} = \text{albúmina LCR (mg/dL)} / \text{albúmina sérica (mg/dL)} \times 100$ .

#### Isoelectroenfoque

Se utilizó el equipo *Hydragel CSF Isofocusing* (Inter-Lab. Roma, Italia), (IEE) *Hydragel csf isofocusing-Sebia*, de acuerdo a las indicaciones del fabricante. Las proteínas se fraccionaron en función de su punto isoeléctrico. Posteriormente, se realizó una fijación con anti-IgG conjugado con peroxidasa y se colorearon las inmunoglobulinas de interés. Se consideró un resultado positivo cuando en el LCR se observaron, al menos, dos bandas extras respecto al suero (9) (10).

Se analizaron de acuerdo a los criterios de clasificación establecidos para el IEE (Tipo I-II-III y IV); los perfiles de tipo II y III se consideran positivos.

#### Western blot

Se utilizaron: gel de poliacrilamida, membranas de nitrocelulosa (*Hybond-ECL*, Amersham, Biosciences), anti-sueros específicos anti-haptoglobina, orosomucoide y apolipoproteína A-I (Dako) y anti-IgG de cabra (Sigma) marcado con peroxidasa y revelado con 4-cloro-naftol (Sigma).

#### Electroforesis bidimensional para uso clínico (2D-UC)

Consiste en un primer fraccionamiento de las proteínas del LCR por carga, mediante el proteinograma en acetato de celulosa gelatinizado (Cellogel-Biosystem), con *buffer* veronal pH 8,6; Fi 0,05 (Helena) a 200 V en corriente continua durante 30 min. Finalizado este proceso, la tira de acetato de celulosa fue sometida a un fraccionamiento por tamiz molecular mediante el equipo *Mini protean 3 System* (Bio-Rad, EE.UU.) utilizando un gel de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes con dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE) al 10%. Se realizó la electroforesis vertical durante 45 min a 200 V en *buffer* tris glicina con SDS (6). Finalizado el procedimiento se sometió el gel a la coloración argéntica descrita por Switzer *et al.* (11). La sensibilidad aproximada del método es de 5 mg/L de proteína (12).

## Análisis estadístico

La presencia de proteínas por 2D-UC en relación a las BO se evaluó por el *test* exacto de Fisher para una cola, con un grado de significación del 5%. El análisis estadístico se realizó con la aplicación GraphPad Prism versión 5.03 (California, EE.UU.).

## Resultados

En la Figura 1 se muestran la electroforesis 2D-UC de 2 LCR provenientes de fístula nasal y, en la Figura 2, la de un LCR con BO positivas (tipo II por IEE). Las

proteínas que evidenciaron modificaciones en sentido positivo, es decir, que aumentaron su concentración, fueron haptoglobina (Hapto), orosomucoide (Oroso) y apolipoproteína A-I (Apo A-I). Dichas proteínas se identificaron por *Western blot* (Fig. 2B).

En el Grupo 1 (BO negativas) se observó un incremento de Hapto en el 76% (n=13), de Oroso en el 47% (n=8) y de Apo A-I en solo el 12% (n=2) (Tabla I). De los pacientes que presentaron Apo A-I, uno tenía pro-teínorraquia normal y el otro elevada.

En el Grupo 2 (BO positivas) se observó un incremento de Hapto en el 85% (n=17), de Apo A-I en el 65% (n=13) y de Oroso en el 55% (n=11) (Tabla II). De

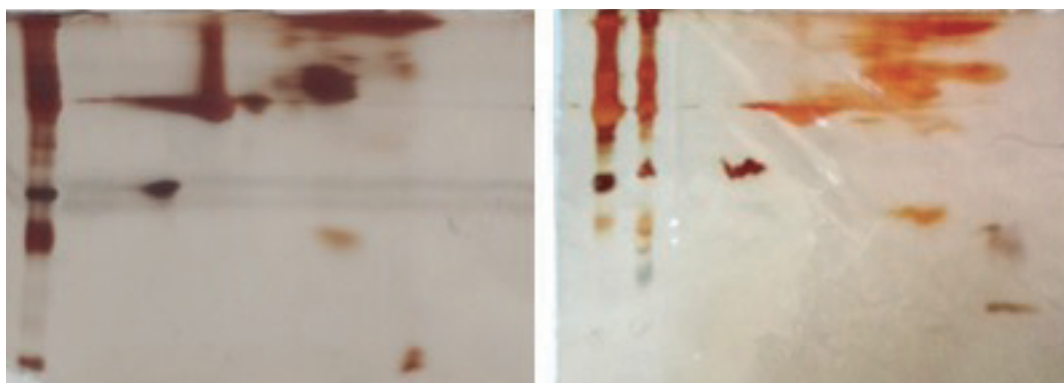


Figura 1. Electroforesis bidimensional de utilidad clínica (2D-UC) de 2 LCR provenientes de fístulas espontáneas nasales. Se utilizaron como controles de LCR por no poseer enfermedades neurológicas.

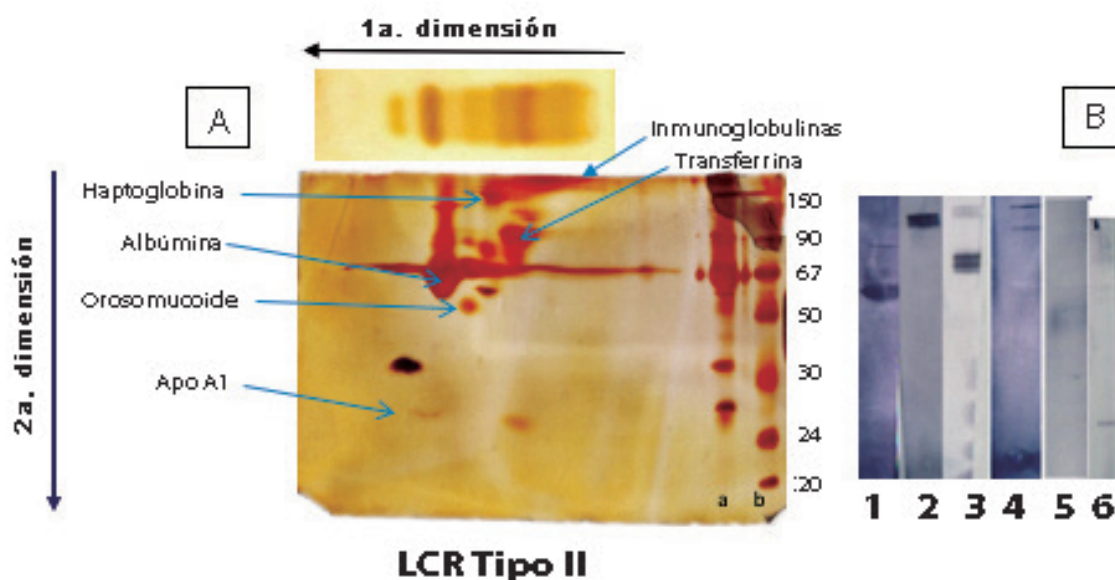


Figura 2. Identificación por *Western blot* de las proteínas en LCR y su ubicación en electroforesis bidimensional. A: Electroforesis bidimensional de LCR de un paciente con bandas oligoclonales (IEE tipo II). En primera dimensión se observa la corrida coloreada con tinción argéntica del LCR y en segunda dimensión el gel de poli-acrilamida al 12% coloreado con tinción argéntica. Corrida en SDS-PAGE en una dimensión: a) LCR y b) patrón de peso molecular. B: *Western blot* con antiseros anti-: 1-albúmina, 2-inmunoglobulina G, 3-transferrina, 4-haptoglobina, 5-orosomucoide, 6-apolipoproteína A-I.



Tabla I. Prevalencia de proteínas Apo A-I, Hapto y Orosol en LCR por electroforesis bidimensional (2D-UC) en pacientes con sospecha de enfermedad desmielinizante y BO negativas (Grupo 1).

n=17	Marcador 2D-UC		
	Apo A1 (%)	Hapto (%)	Orosol (%)
Presencia	2 (12)	13 (76)	8 (47)
Ausencia	15 (88)	4 (24)	9 (53)

Tabla II. Prevalencia de proteínas Apo A-I, Hapto y Orosol en LCR por electroforesis bidimensional (2D-UC) en pacientes con sospecha de enfermedad desmielinizante y BO positivas (Grupo 2).

n=20	Marcador 2D-UC		
	Apo A1 (%)	Hapto (%)	Orosol (%)
Presencia	13 (65)	17 (85)	11 (55)
Ausencia	7 (35)	3 (15)	9 (45)

los 13 pacientes con Apo A-I, 6 presentaron proteinorraquia normal y 7 elevada.

En la Figura 3 se muestra el predominio de Apo A-I en los LCR de los pacientes que presentaron BO positivas con respecto a BO negativas, con significación

estadística de  $p=0,001$ . En la Figura 4 se muestra la electroforesis 2D-UC de dos pacientes tipo I por IEE, RFA negativo y otro con Apo A-I, Hapto y Orosol, donde se observa un predominio de Orosol frente a Hapto. En la Figura 5, dos pacientes con diagnóstico de EMRR, ambos sin daño en la BHE, uno de ellos con Apo A-I y predominio de Hapto. En la Figura 6 se observa, en un único paciente con espectro de NMO, la ausencia de Apo A-I y el predominio de Orosol frente a Hapto.

En la Tabla III se muestran los 7 pacientes con historia clínica; ningún paciente con resultados negativos para el contraste con gadolinio por RMN presentó RFA y, los 3 con lesiones activas, mostraron incremento de RFA; uno de ellos presentó además, Apo A-I.

### Discusión y Conclusiones

La EM es una enfermedad desmielinizante autoinmune del SNC. La determinación de un diagnóstico o de un pronóstico en patologías complejas y, el avance de drogas de primera o segunda línea para el tratamiento, llevan a la necesidad de la búsqueda de marcadores proteicos. En los perfiles proteicos observados en LCR

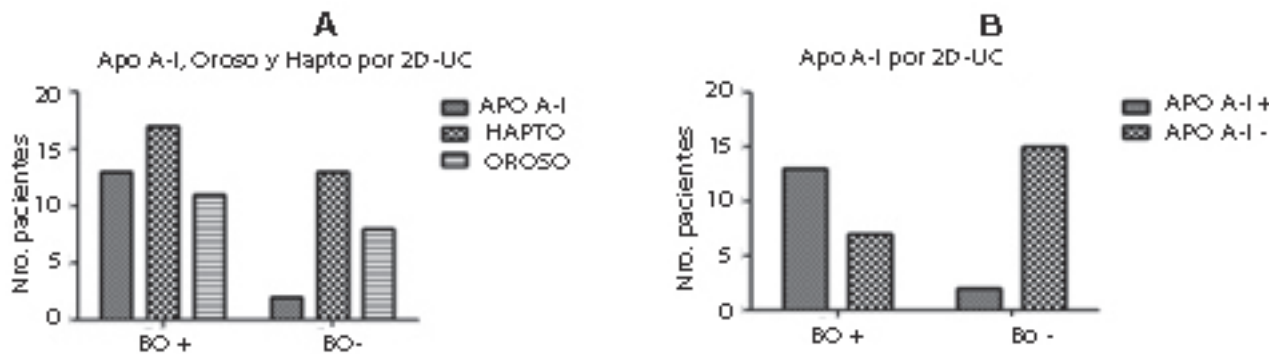


Figura 3. Gráfico de tablas de contingencia para la presencia de proteínas en LCR por electroforesis bidimensional y bandas oligoclonales por isoelectroenfoque (n=37). Tipo I y IV: BO negativas. Tipo II y III: BO positivas. A) Apolipoproteína A-I, orosomucoide y haptoglobina. B) Presencia de Apo A-I, en el 65% de los pacientes con bandas oligoclonales positivas con respecto a los que no las tienen. Significación estadística de  $p=0,001$ , sensibilidad 87%, especificidad 68%, VPP 65% y VPN 88%.

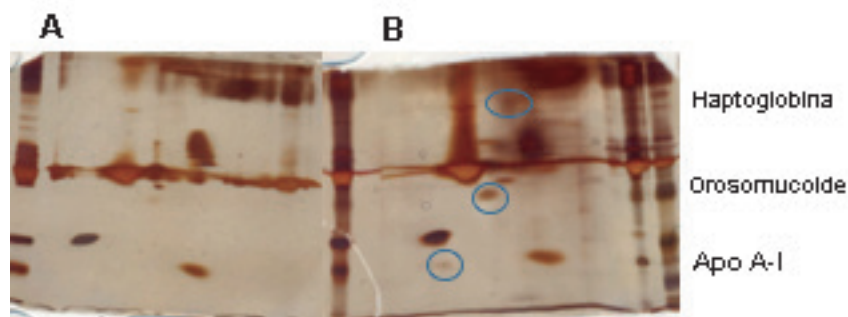


Figura 4. Electroforesis bidimensional de LCR tipo I por isoelectroenfoque. Se muestran dos patrones de proteínas: A) Ausencia de haptoglobina, orosomucoide y Apo A-I y B) Paciente BAR: presencia de haptoglobina, orosomucoide y Apo A-I con alteración de la barrera hematoencefálica (proteinorraquia elevada). Predominio de Orosol frente a Hapto.

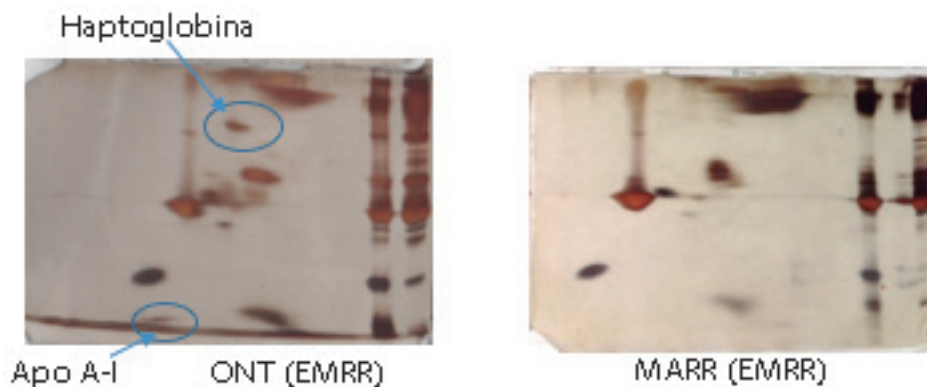


Figura 5. Electroforesis bidimensional de LCR de 2 pacientes con EMRR: paciente ONT con haptoglobina y Apo A-I, paciente MAR sin haptoglobina ni Apo A-I. Ambos sin daño en la BHE (proteinorraquia normal).

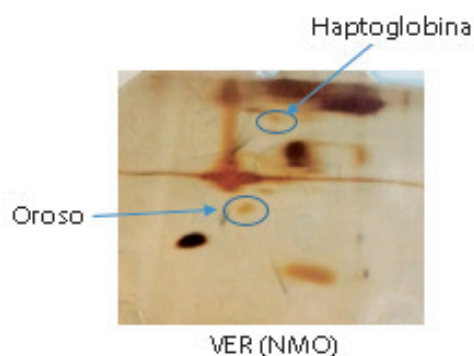


Figura 6. Electroforesis bidimensional de LCR de un paciente con espectro de neuromielitis óptica (NMO) con marcada orosomucoide y débil haptoglobina con alteraciones en la BHE. Predominio de Orosomucoide frente a Haptoglobina.

en pacientes que presentaron BO positivas, la presencia de Apo A-I fue significativa. La metodología empleada fue la electroforesis 2D-UC, que permite abrir el espectro del perfil proteico y, a diferencia de la proteómica convencional, si bien la resolución es menor en 2D-UC, resuelve las muestras en forma individualizada y es aplicable al laboratorio clínico especializado en proteínas. La proteína Apo A-I es muy conocida por su presencia en la lipoproteína de alta densidad (HDL) por su papel fundamental en el transporte reverso de colesterol y también posee varias propiedades vasoprotectoras potentes, que incluyen: estimular la reparación endotelial, inhibir la inflamación, suprimir la apoptosis de las células endoteliales y la agregación plaquetaria y prevenir la oxidación de lípidos (13). En 1979, Roheim *et al.* (14) describieron la presencia de apolipoproteínas en el LCR, sin daño en la BHE y en 1991 Gelman *et al.* (15) respaldaron las sugerencias de que las apolipoproteínas tienen funciones importantes en la composición lipídica alterada de la mielina después de la desmielinización, y que pueden desempeñar un papel activo en la remodelación de la vaina de mielina días después de comenzar la desmielinización, sin degeneración axo-

nal. Stukas *et al.*, en 2014, describieron la presencia de Apo A-I en ausencia de ARN mensajero de Apo A-I en el cerebro, lo cual respaldó la hipótesis de que la Apo A-I ingresa al cerebro desde la periferia a través de un transporte celular específico, luego de la inyección intravenosa de Apo A-I humana recombinante (16) y por Apo A-I marcada con Alexa Fluor 647 (17). Estos hallazgos implican a la BHE como un portal importante para la entrega de Apo A-I al cerebro. En el presente trabajo fue notoria la presencia de Apo A-I en pacientes con BO positivas, tanto con BHE alterada o no, mientras que, en las muestras con BO negativas, la tendencia a la presencia de Apo A-I fue menor, aún con proteínas RFA, lo que podría sugerir en los pacientes con BO positivas, un transporte celular específico en respuesta a “alguna señal”. Karasinska *et al.* (18) demostraron que la delección específica en cerebro murino del transportador de colesterol [ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1)] aumenta los niveles de Apo A-I en el LCR, lo que sugiere una regulación ascendente compensatoria de la translocación de Apo A-I plasmática para satisfacer la demanda de Apo A-I/HDL en el compartimento cerebral (18) (19). Recientemente, Li *et al.* comprobaron

Tabla III. Pacientes con diagnóstico conocido. Resultados de la resonancia magnética nuclear y proteínas por electroforesis bidimensional (2D-UC).

Dx	Nombre	Edad	Diferencia de fecha entre punción del LCR y RMN	RMN cerebro y columna	Contraste con gadolinio	2D-UC						
						PTLCR (mg/dL) VR<45	AlbLCR (mg/dL) VR<30	AlbLCR/S x100 VR<0,65%	IEE	Apo A-1	HAPTO	OROSO
EMRR	MEZ	53	4 meses	Lesiones hiperintensas en T2 y FLAIR que <b>no refuerzan con gadolinio</b> , afecta el cuerpo calloso y pequeñas imágenes hiperintensas en C5	no	38,8	18,6	0,40	II	0	0+	0
EMRR	EST	31	1 mes	Imágenes hiperintensas en T2/FLAIR en hemisferios cerebrales, callosa-septal y tronco del encéfalo. Contraste intravenoso, <b>lesión desmielinizante sin actividad</b>	no	33	21,3	0,46	II	0	0	0
NMO	VERA	23	6 días	Lesión hiperintensa en T2/FLAIR occipital izquierdo, aumento de densidad del nervio óptico, lesión medular a nivel T2-T3 y otra en T5-T6, que <b>refuerza con contraste</b> .	sí	55	35,4	0,77	I	0	1+	2+
EMRR	SAN	23	1 mes	Múltiples imágenes típicas de EM <b>con actividad actual</b>	sí	27	18,6	0,40	II	0	0+	0
EMRR	MED	26	1 mes y 15 días	Múltiples lesiones en cerebro y médula, desmielinizantes, <b>sin actividad actual</b>	no	33	19,7	0,41	II	0	0	0
EMRR	ONT	41	1 mes	Lesión medular <b>gadocaptante</b> C1 C2 y en cerebro también con signos de <b>actividad inflamatoria</b>	sí	39	25,8	0,62	II	2+	2+	0
EMRR	MAR	35	1 mes y 15 días	Múltiples lesiones supra e infra periventriculares, percallosas, C3 C4 a nivel cervical y a nivel dorsal libre de lesiones. <b>No hay captación de contraste</b>	no	42	22,7	0,51	II	0	0	0

EMRR: Esclerosis múltiple recurrente-remittente, NMO: Espectro de neuromielitis óptica, PT: Proteínas totales, Alb: Albúmina, Apo A-1: Apolipoproteína A-1, HAPTO: Haptoglobina, OROSO: Orosomucoide, VR: Valores de referencia, NR: No realizado, IEE: Isoelectroforesis Score 2D-UC (bidimensional de uso clínico); 0: ausente, 0+: muy débil, 1+: débil, 1++: marcado.

que la vía de señalización ABCA1/Apo E/HDL contribuye a la mielinización y la oligodendrogénesis en el cerebro isquémico después de un accidente cerebrovascular (20). Ganesan *et al.* en 2016 demostraron que la HDL internalizada se localizó conjuntamente con el receptor *scavenger* clase B tipo 1 (SR-B1), y que el SR-B1 en la BHE era responsable de la endocitosis de Apo A-I en el lado luminal (21). Tsujita *et al.* en 2021 publicaron que los niveles de Apo A-I en LCR de ratones estaban altamente correlacionados con los niveles de HDL séricos en plasma, que estaban regulados por ABCA1 y LCAT y sugirieron que la proteína Apo A-I en el LCR se origina en el hígado y en el intestino delgado y se extrae del plasma (22).

Meyer *et al.*, en 2014, descubrieron que los pacientes con EM, según el grado de avance de la discapacidad, tienen valores plasmáticos de Apo A-I más bajos en comparación con pacientes con enfermedad EMRR estable y controles sanos de la misma edad (23). El aumento del 65% de Apo A-I en los LCR con BO positivas, podría estar evidenciando una translocación compensatoria de Apo A-I plasmática para satisfacer la demanda de Apo A-I/HDL en el compartimento cerebral. Su función podría ser favorable, ya que la HDL puede potencialmente inhibir la iniciación y/o el mantenimiento de la lesión de la BHE patógena después del primer evento de desmielinización (24), inhibir las moléculas de adhesión ICAM-1 y VCAM-1 (25), que ayudan en la extravasación de células T autorreactivas a través de la BHE (26) e interferir en la comunicación cruzada entre células T estimuladas y macrófagos, como inhibidor específico de la producción de citoquinas en la inflamación aguda o crónica (27) (28). Este hecho, aparentemente no sería exclusivo del SNC, sino también de las articulaciones, ya que, en la artritis reumatoidea disminuyó en el plasma y aumentó en el líquido sinovial, lo que sugiere infiltración de partículas HDL en la articulación inflamada, con inhibición de la producción local de citoquinas proinflamatorias, por lo que el secuestro de Apo A-I en el tejido inflamado puede, en parte, explicar la reducción de HDL circulante (29). Aparentemente, según un modelo murino para EM [la encefalomiелitis alérgica experimental (EAE)], los ratones deficientes en Apo A-I sérica exhibieron peor enfermedad clínica, y más neurodegeneración, concurrente con mayores niveles de citoquinas proinflamatorias en comparación con los animales de tipo salvaje. Esto abre la posibilidad de que los agentes que aumentan los niveles de Apo A-I sean posibles terapias para la EM (23). En actualizaciones recientes sobre EM y Apo A-I se publicaron que mayores niveles de HDL séricos y apolipoproteínas asociadas a HDL estaban asociados con una mayor perfusión cerebral y un suministro de sangre cerebral más rápido (30). Otros autores estudiaron el papel de Apo A-I en el proceso inflamatorio que ocurre en los familiares de primer grado de los pacientes con EMRR, que mostró

una disminución significativa en este grupo, y concluyeron que puede considerarse como uno de los factores contribuyentes en la patogenia de la EMRR, aunque se necesita más investigación antes de asumirlos como biomarcadores predictivos (31). La Apo A-I también fue estudiada en otras patologías desmielinizantes, donde los niveles séricos fueron significativamente más bajos en pacientes con NMO en comparación con aquellos con mielitis transversa aguda, aunque la razón aún no está clara (32). En el presente trabajo, el único paciente con espectro de NMO presentó RFA, con predominio de Orosó y no se evidenció Apo A-I, lo que motiva para continuar estudiando si el nivel es bajo en plasma y también en LCR. Esto demostraría que el mecanismo sería distinto al de EM y sería una forma de diferenciar dichas patologías, un propósito fuertemente anhelado.

La Orosó es una proteína RFA positiva que es sintetizada por los astrocitos como principal fuente celular de Orosó2 en el cerebro de ratón inflamado y no en el normal (33). El tratamiento con proteína Orosó2 recombinante disminuyó la producción de mediadores proinflamatorios en la microglía y redujo la neurotoxicidad mediada por la microglía *in vitro*. La activación microglial inducida por lipopolisacáridos, las citoquinas proinflamatorias en el hipocampo y los déficits cognitivos asociados con la neuroinflamación también disminuyeron como resultado de la inyección intracerebro-ventricular de la proteína Orosó2 recombinante *in vivo* (33). Jo *et al.*, en 2017, encontraron los valores de Orosó elevados durante el ataque, y no en remisión; concluyeron que Orosó en el LCR podría usarse como un “marcador de estado” en la EM (34). En el presente trabajo, Orosó acompañó a Hapto y, además, ambas estuvieron elevadas en 6 pacientes sin daño en la BHE, salvo en un paciente tipo IV por IEE, donde se evidenció Orosó solamente, sin Hapto y sin lesión en BHE. En el paciente BAR (Fig. 4B), tipo I por IEE, se observó un predominio de Orosó frente a Hapto, en coincidencia con el paciente VER, con espectro de NMO. Tal vez, el predominio de aumento de concentración de Orosó sobre Hapto oriente hacia un daño en la BHE con mayor compromiso de astrocitos y síntesis de Orosó.

La Hapto es una proteína RFA positiva, sintetizada principalmente por el hepatocito y por el tejido adiposo blanco (35) y sus niveles en sangre varían según el volumen de adiposidad en el cuerpo (36). La Hapto es conocida hasta ahora por su capacidad de unirse a la hemoglobina libre, para transportarla al hígado y, por lo tanto, limitar su acción prooxidativa (35). Además, se demostró que la Hapto actúa como antiinflamatoria, inmunomoduladora y antioxidante al prevenir la oxidación de la Apo A-I (37) (38) (39). Aunque la presencia de Hapto en el cerebro se sugirió inicialmente como un marcador de disfunción de la barrera sangre-LCR (40), diferentes estudios demostraron que se produce en



este compartimento, en respuesta a estímulos de estrés (41) (42) (43), así como por astrocitos humanos *in vitro* (44). La Hapto se observa en el 86% de los pacientes con sospecha de enfermedad desmielinizante, en mayor porcentaje que la Orosó, teniendo un peso molecular aún mayor que la Orosó, por lo que respaldaría su síntesis en SNC, en forma inespecífica. En particular, en modelos animales de EM, al inhibir la síntesis de Hapto (modelo murino de EAE, Hapto *knockout*), se observó que la enfermedad era mucho más grave, lo que indica que los niveles de Hapto en sangre tienen un papel destacado en la progresión de enfermedades autoinmunes y específicamente en EM (38). Esto llevaría a pensar que la presencia de Hapto en un comienzo de la EM en LCR, ayuda a modular la reacción inmune. Se ha tenido acceso a 7 estudios de RMN, en la muestra de 37 pacientes con sospecha de enfermedad desmielinizante: 4 tenían lesiones por RMN sin captación con gadolinio y no se observaron Hapto, Orosó ni Apo A-I, lo que confirmaría la inactividad de la reacción inflamatoria en el mismo momento de la punción y de la RMN. Por lo tanto, dichas proteínas estarían evidenciando “un estado” de lesión inflamatoria activa. Solo el paciente MEZ no tuvo lesiones marcadas con contraste y se observó un débil aumento de la Hapto; esto tal vez podría ocurrir si se tiene en cuenta la diferencia de tiempo entre la punción y el estudio de RMN, el cual fue de 4 meses aproximadamente. Se conoce que el realce con gadolinio en la RMN es un predictor de la aparición de recaídas, pero no es un predictor fuerte del desarrollo de deterioro o discapacidad acumulada. Esta discrepancia apoya la idea de que, en la ocurrencia de recaídas y en el desarrollo de discapacidad a largo plazo en la EM, operan mecanismos patogénicos distintos (4). Con esto, Hapto, Orosó y Apo A-I estarían involucradas en la aparición de las recaídas. Singh *et al.* reconocieron que Hapto también podría ser utilizada como marcador pronóstico para terapias modificadoras de la enfermedad, como el natalizumab. La Hapto, la región C de la cadena  $\mu$  de Ig y la CHI3L1 (*chitinase-3-like protein 1*) se hallaron significativamente más bajas en el LCR de pacientes con EM después de un año de tratamiento con natalizumab (45). En trabajos futuros habría que comparar el grado de discapacidad entre pacientes que presenten lesiones activas con y sin presencia de Apo A-I en LCR en el momento del diagnóstico, y su evolución, para evaluarlo como marcador pronóstico.

Por otro lado, Chang *et al.* (46) publicaron que la Hapto se encontró elevada en el LCR en pacientes con NMO en comparación con los controles y con pacientes que padecían EM, enfermedad de Alzheimer o enfermedades neurológicas no inflamatorias (46), mientras que en el presente trabajo, la Hapto estuvo presente en 30/37 muestras y en todos los LCR con Apo A-I. Se tuvo un solo paciente con espectro de NMO que presentó Hapto y Orosó con predominio de

esta última. Varios informes indicaron que la inmunidad humoral participaba en la patogenia de la NMO, y el descubrimiento de anticuerpos NMO IgG, que se dirigen contra la acuaporina-4 (AQP4) es una prueba sólida. Un subconjunto de células B en los tejidos periféricos es estimulado para producir anticuerpos IgG anti-AQP4, lo que da como resultado una gran pérdida de astrocitos en regiones específicas del SNC a través de la citotoxicidad mediada por el complemento (47). Se sabe que existen diferentes mecanismos patogénicos que conducen a la desmielinización (48). Tal vez el paciente BAR sin BO (tipo I) presentaba un síndrome desmielinizante aislado, que podría estar indicando mecanismos distintos de desmielinización. Por todo esto son necesarios más casos para el estudio. Uher *et al.*, en 2015, asociaron el cociente de albúmina con la progresión de la discapacidad clínica y con medidas de lesión y neurodegeneración por RMN cerebral. Un valor inicial se asoció con el empeoramiento de la discapacidad medida en la escala de estado de discapacidad ampliada (EDSS) y la escala de gravedad durante los 4 años posteriores al evento desmielinizante inicial de la EM (49). Se supuso que, si bien el compartimiento de HDL es importante para proteger contra el aumento de la permeabilidad de BHE en las primeras etapas de la EM, los compartimientos de colesterol LDL, colesterol total y Apo B se asociaron con un mayor número de “lesiones T2” en RMN, después de 2 años (50). Las intervenciones farmacológicas dirigidas a la homeostasis de los lípidos pueden ser clínicamente beneficiosas para interrumpir los procesos neurodegenerativos (51). Fellows *et al.* indicaron un papel protector para el colesterol de HDL en la lesión fisiopatológica de BHE que precede a la formación de lesiones de EM (24). La Apo A-I en LCR se identificó principalmente en pacientes con BO positivas, con o sin compromiso de la BHE y acompañada de proteínas RFA; dicho secuestro del plasma a través de receptores en BHE, estaría respondiendo a necesidades específicas de remielinización y modulación de la reacción inflamatoria en el SNC. La Apo A-I se observó en el 65% de los pacientes con BO positivas, con significación estadística de  $p=0,001$ , 87% de sensibilidad y 68% de especificidad, VPP 65% y VPN 88%. Si la Apo A-I ejerciera un papel protector, pero a su vez la lesión en la BHE se asociara con progresión de la enfermedad, habría que considerar a la Apo A-I presente en LCR como factor pronóstico beneficioso en pacientes que no presentan aún lesión en la BHE. En el presente trabajo, las proteínas Hapto y Orosó se observaron en los LCR aún sin presentar lesión en la BHE en los pacientes con sospecha de enfermedades desmielinizantes, con BO positivas y negativas, y no se observaron cuando las lesiones por RMN no captaron el contraste con gadolinio; esto concuerda con Jo *et al.* (34), con respecto a la Orosó, cuyos valores elevados en LCR se encontraron en la EM durante el ataque y

no en remisión, lo que podría suponer que dichas proteínas mostrarían un proceso inflamatorio activo del SNC, independientemente de la evolución o de la gravedad de la patología. Por lo tanto, el perfil proteico en LCR en pacientes con BO en el comienzo de la enfermedad, donde se prioriza la reacción inflamatoria frente a la neurodegenerativa, evidenció la presencia de Apo A-I en el 65% de los LCR con BO, Hapto y/u Orosó. Hasta el momento se podría suponer que la presencia de Apo A-I en LCR en pacientes con sospecha clínica de EM, podría ser indicativa de lesión desmielinizante activa.

## Fuentes de financiación

El presente trabajo fue realizado sin haberse recibido una financiación específica.

## Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses respecto del presente trabajo.

## Correspondencia

Dra. MARÍA LAURA FACIO

Laboratorio de Proteínas, Departamento de Bioquímica Clínica, Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica (INFIBIOC), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Hospital de Clínicas José de San Martín, Universidad de Buenos Aires. Junín 954 Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. C1113AAD. Fax (+5411) 52875000.

Correo electrónico: mlfacio@hotmail.com

## Referencias bibliográficas

- Sellebjerg F, Christiansen M. Qualitative assessment of intrathecal IgG synthesis by isoelectric focusing and immunodetection: interlaboratory reproducibility and interobserver agreement. *Scand J Clin Lab Invest* 1996; 56 (2): 135-43.
- Reich DS, Lucchinetti CF, Calabresi PA. Multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2018; 378 (2): 169-80.
- Tullman MJ. Overview of the epidemiology, diagnosis, and disease progression associated with multiple sclerosis. *Am J Manag Care* 2013; 19 (2 Suppl): S15-20.
- Kappos L, Moeri D, Radue EW, Schoetzau A, Schweikert K, Barkhof F, *et al.* Predictive value of gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging for relapse rate and changes in disability or impairment in multiple sclerosis: a meta-analysis. *Lancet* 1999; 353: 964-9.
- Barkhof F, Held U, Simon J, Daumer M, Fazekas F, Filipi M, *et al.* Predicting gadolinium enhancement status in MS patients eligible for randomized clinical trials. *Neurology* 2005; 65: 1447-54.
- Facio ML, Madalena L, Fraind S, Alejandro M, Bresciani P, Pizzolato M. Electroforesis bidimensional en orina: una alternativa para el laboratorio clínico. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2013; 47 (1): 37-46.
- Yasuda E, González Abbati S, Recalde R, Ane F, Bresciani P, Facio ML. ¿Es posible diferenciar líquido cefalorraquídeo de otras secreciones? Utilidad de la proteína *beta trace* como biomarcador de fístulas de líquido cefalorraquídeo. *Rev Argent Neuroc* 2018; 32 (4): 217-21.
- Tietz NW. *Clinical guide to laboratory tests*. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1995: 518-23.
- Arrambide G, Tintoré M, Espejo C, Auger C, Castillo M, Río J, *et al.* The value of oligoclonal bands in the multiple sclerosis diagnostic criteria. *Brain* 2018; 141 (4): 1075-84.
- Hegen H, Zinganell A, Auer M, Deisenhammer F. The clinical significance of single or double bands in cerebrospinal fluid isoelectric focusing. A retrospective study and systematic review. *PLoS One* 2019; 14 (4): e0215410.
- Switzer RC, Merrill CR, Shifrin S. A highly sensitive silver stain for detecting proteins and peptides in polyacrylamide gels. *Anal Biochem* 1979; 98: 323-7.
- Facio ML, Madalena L, Bresciani P, Alejandro M, Angerosa M, Pizzolato M, *et al.* Evaluación del perfil tubular renal mediante electroforesis en gel de poliácridamida. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2006; 40 (3): 383-90.
- Gordon SM, Hofmann S, Askew D, Davidson WS. High density lipoprotein: it's not just about lipid transport anymore. *Trends Endocrinol Metab* 2011; 22: 9-15.
- Roheim PS, Carey M, Forte T, Vega GL. Apolipoproteins in human cerebrospinal fluid. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76 (9): 4646-9.
- Gelman BB, Goodrum J, Bouldin TW. Macrophage apolipoprotein synthesis and endoneurial distribution as a response to segmental demyelination. *J Neuropathol Exp Neurol* 1991; 50 (4): 383-407.
- Stukas S, Robert J, Lee M, Kulic I, Carr M, Tourigny K, *et al.* Intravenously injected human apolipoprotein A-I rapidly enters the central nervous system via the choroid plexus. *J Am Heart Assoc* 2014; 3 (6): e001156.
- Zhou AL, Swaminathan SK, Curran GL, Poduslo JF, Lowe VJ, Li L, *et al.* Apolipoprotein A-I crosses the blood-brain barrier through clathrin-independent and cholesterol-mediated endocytosis. *J Pharmacol Exp Ther* 2019; 369: 481-8.
- Karasinska JM, Rinninger F, Lutjohann D, Ruddle P, Franciosi S, Kruit JK, *et al.* Specific loss of brain ABCA1 increases brain cholesterol uptake and influences neuronal structure and function. *J Neurosci* 2009; 29 (11): 3579-89.
- Gardner LA, Levin MC. Importance of apolipoprotein A-I in multiple sclerosis. *Front Pharmacol* 2015; 6: 278.
- Li L, Li R, Zacharek A, Wang F, Landschoot-Ward J, Chopp M, *et al.* ABCA1/ApoE/HDL signaling pathway

- facilitates myelination and oligodendrogenesis after stroke. *Int J Mol Sci* 2020; 2: 4369-87.
21. Ganesan LP, Mates JM, Cheplowitz AM, Avila CL, Zimmerman JM, Yao Z, *et al.* Scavenger receptor B1, the HDL receptor, is expressed abundantly in liver sinusoidal endothelial cells. *Sci Rep* 2016; 6: 20646.
  22. Tsujita M, Vaisman B, Chengyu L, Vickers KC, Okuhira K, Braesch-Andersen S, *et al.* Apolipoprotein A-I in mouse cerebrospinal fluid derives from the liver and intestine via plasma high-density lipoproteins assembled by ABCA1 and LCAT. *FEBS Lett* 2021; 595 (6): 773-88.
  23. Meyers L, Groover JC, Douglas J, Lee S, Brand D, Levin MC, *et al.* A role for apolipoprotein A-I in the pathogenesis of multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2014 Dec 15; 277 (1-2): 176-85.
  24. Fellows K, Uher T, Browne RW, Weinstock-Guttman B, Horakova D, Posova H, *et al.* Protective associations of HDL with blood-brain barrier injury in multiple sclerosis patients. *J Lipid Res* 2015; 56 (10): 2010-8.
  25. Baker PW, Rye KA, Gamble JR, Vadas MA, Barter PJ. Ability of reconstituted high-density lipoproteins to inhibit cytokine-induced expression of vascular cell adhesion molecule-1 in human umbilical vein endothelial cells. *J Lipid Res* 1999; 40: 345-53.
  26. Calabresi PA, Prat A, Biernacki K, Rollins J, Antel JP. T lymphocytes conditioned with interferon-beta induce membrane and soluble VCAM on human brain endothelial cells. *J Neuroimmunol* 2001; 115: 161-7.
  27. Burger D, Dayer JM. Inhibitory cytokines and cytokine inhibitors. *Neurology* 1995; 45: S39-S43.
  28. Yin K, Deng X, Mo ZC, Zhao GJ, Jiang J, Cui LB, *et al.* Tristetraprolin-dependent post-transcriptional regulation of inflammatory cytokine mRNA expression by apolipoprotein A-I. *J Biol Chem* 2011; 286: 13834-45.
  29. Oliviero F, Sfriso P, Baldo G, Dayer JM, Giunco S, Scanu A, *et al.* Apolipoprotein A-I and cholesterol in synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis and osteoarthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2009; 27 (1): 79-83.
  30. Jakimovskia D, Zivadinova R, Dwyera MG, Bergslanda N, Ramasamy DP, Browne RW, *et al.* High density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein A-I are associated with greater cerebral perfusion in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2020; 15 (418): 117120.
  31. Samangoei M, Farjam M, Etemadifar M, Taheri A, Meshkibaf MH, Movahedi B, *et al.* Evaluation of S100A12 and Apo-A1 plasma level potency in untreated new relapsing-remitting multiple sclerosis patients and their family members. *Sci Rep* 2022; 12: 2160.
  32. Zhong YH, Liu J, Li M, Wang X, Yuan Y, Zhong XF, *et al.* Distinct serum apolipoprotein A-I levels in neuromyelitis optica and acute transverse myelitis. *Lipids Health Dis* 2013; 12: 150-6.
  33. Adam P, Sobek O, Taborsky L, Hildebrand T, Tutterova O, Petr Z. CSF and serum orosomucoid ( $\alpha$ -1-acid glycoprotein) in patients with multiple sclerosis: a comparison among particular subgroups of MS patients. *Clin Chim Acta* 2003; 334: 107-10.
  34. Jo M, Kim JH, Song GJ, Seo M, Hwang EM, Suk K. Astrocytic orosomucoid-2 modulates microglial activation and neuroinflammation. *J Neurosci* 2017; 37 (11): 2878-94.
  35. Quaye IK. Haptoglobin, inflammation and disease. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2008; 102: 735-42.
  36. Chiellini Ci, Bertacca A, Novelli S, Görgün C, Ciccarone A, Giordano A, *et al.* Obesity modulates the expression of haptoglobin in the white adipose tissue via TNF- $\alpha$ . *J Cell Phys* 2002; 190: 251-8.
  37. Salvatore A, Cigliano L, Carlucci A, Buccin EM, Abrescia P. Haptoglobin binds apolipoprotein E and influences cholesterol esterification in the cerebrospinal fluid. *J Neurochem* 2009; 110: 255-63.
  38. Galicia G, Maes W, Verbinnen B, Kasran A, Bullens D, Arredouani M, *et al.* Haptoglobin deficiency facilitates the development of autoimmune inflammation. *Eur J Immunol* 2009; 39 (12): 3404-12.
  39. Huntoon KM, Wang Y, Eppolito CA, Barbour KW, Berger FG, Shrikant PA, *et al.* The acute phase protein haptoglobin regulates host immunity. *J Leukoc Biol* 2008; 84 (1): 170-81.
  40. Chamoun V, Zeman A, Blennow K, Fredman P, Wallin A, Keir G, *et al.* Haptoglobin as markers of blood-CSF barrier dysfunction: the findings in normal CSF. *J Neurol Sci* 2001; 182: 117-21.
  41. Lee MY, Kim SY, Choi JS, Lee IH, Choi YS, Jin JY, *et al.* Upregulation of haptoglobin in reactive astrocytes after transient forebrain ischemia in rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 2002; 22: 1176-80.
  42. Borsody M, Burke A, Coplin W, Miller-Lotan R, Levy A. Haptoglobin and the development of cerebral artery vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Neurology* 2006; 66: 634-40.
  43. Zhao X, Song S, Sun G, Strong R, Zhang J, Grotta JC, *et al.* Neuroprotective role of haptoglobin after intracerebral hemorrhage. *J Neurosci* 2009; 29: 15819-27.
  44. Maresca B, Spagnuolo MS, Cigliano L. Haptoglobin modulates beta-amyloid uptake by U-87 MG astrocyte cell line. *J Mol Neurosci* 2015; 56: 35-47.
  45. Kappos DL, Moeri D, Radue EW, Schoetzau A, Schweikert K, Barkhof F, *et al.* Predictive value of gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging for relapse rate and changes in disability or impairment in multiple sclerosis: a meta-analysis. *Gadolinium MRI Meta-analysis Group. Lancet* 1999; 353 (9157): 964-9.
  46. Chang KH, Tseng MY, Ro LS, Lyu RK, Tai YH, Chang HS, *et al.* Analyses of haptoglobin level in the cerebrospinal fluid and serum of patients with neuromyelitis optica and multiple sclerosis. *Clin Chim Acta* 2013; 417: 26-30.
  47. Bukhari W, Barnett MH, Prain K, Broadley S. Molecular pathogenesis of neuromyelitis optica. *Int J Mol Sci* 2012; 13: 12970-93.
  48. Lucchinetti C, Brück W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann H. Heterogeneity of multiple

- sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol* 2000; 47 (6): 707-17.
49. Uher T, Horakova D, Tyblova M, Zeman D, Krasulova E, Mrazova K, *et al.* Increased albumin quotient (QA1b) in patients after first clinical event suggestive of multiple sclerosis is associated with development of brain atrophy and greater disability 48 months later. *Mult Scler* 2016; 22 (6): 770-81.
50. Tettey P, Simpson S, Taylor B, Blizzard L, Ponsonby AL, Dwyer T, *et al.* An adverse lipid profile is associated with disability and progression in disability, in people with MS. *Mult Scler* 2014; 20: 1737-44.
51. Uher T, Fellows K, Horakova D, Zivadinov R, Vaneckova M, Sobisek L, *et al.* Serum lipid profile changes predict neurodegeneration in interferon- $\beta$ 1a-treated multiple sclerosis patients. *J Lipid Res* 2017; 58 (2): 403-11.

**Recibido: 10 de agosto de 2022**  
**Aceptado: 15 de febrero de 2023**