

ORIGINAL

Cambios en las Subpoblaciones de Linfocitos B y T en el Título de Anticuerpos Anti-Acuaporina-4 tras el Tratamiento de un Brote Agudo con Inmunoglobulinas y Rituximab



C. de Andrés^{a,*}, R. Teijeiro^b, A. Saiz^c, P. Fernández^d y S. Sánchez-Ramón^b

^a Servicio de Neurología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, España

^b Servicio de Inmunología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, España

^c Servicio de Neurología, Hospital Clínico e Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, España

^d Servicio de Neuroradiología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, España

Recibido el 7 de agosto de 2013; aceptado el 29 de diciembre de 2013

Accesible en línea el 24 de marzo de 2014

PALABRAS CLAVE

Neuromielitis óptica;
Líquido
cefalorraquídeo;
Autoanticuerpos
Anti-acuaporina-4;
Subclases de células
B CD19⁺ y T CD8⁺

Resumen

Antecedentes: La neuromielitis óptica (NMO) es una enfermedad predominantemente humoral mediada por anticuerpos IgG-NMO/AQP-4. Sin embargo, no se conoce bien la contribución de las diferentes subpoblaciones de células B y T en su patogenia o en la respuesta a los tratamientos. **Objetivos:** Describir los cambios clínicos e inmunológicos asociados al tratamiento con inmunoglobulinas intravenosas (Ig-IV) y rituximab (RTX) en una paciente con un brote grave de NMO y síntesis intratecal de IgG-NMO/AQP-4 que no había respondido a metilprednisolona y recambio plasmático.

Métodos: Se analizaron, de forma secuencial en el LCR y en la sangre periférica (SP), las subpoblaciones linfocitarias mediante citometría de flujo multiparamétrica y los IgG-NMO/AQP-4, antes y después del tratamiento con Ig-IV y RTX.

Resultados: En el LCR antes del tratamiento, y comparado con la SP, predominaban las células T CD4⁺ y estaban menos representadas las T CD8⁺ y las B CD19⁺. Tras el tratamiento, el porcentaje de células T CD4⁺ se mantuvo alto, el de T CD8⁺ aumentó y el de B CD19⁺ disminuyó, aunque menos que en la SP. Al comparar los LCR se vio que tras la terapia el porcentaje de células T CD8⁺ memoria efectoras y efectoras había aumentado, y el de células B memoria IgM y el de células B con cambio de isotipos, disminuido. Los cambios observados fueron paralelos a la negativización de los IgG-NMO/AQP-4 y a la mejoría clínica.

Conclusiones: Nuestros hallazgos confirman que, además de una respuesta inmunitaria humoral intratecal durante el brote de NMO, subpoblaciones específicas de células B y T participan en la modulación de la inflamación dentro y fuera del sistema nervioso central.

© 2013 Sociedad Española de Neurología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: claradeandres@hotmail.com (C. de Andrés).

KEYWORDS

Neuromyelitis optica;
Cerebrospinal fluid;
Anti-aquaporin-4
autoantibodies;
CD19⁺ and CD8⁺ T cell
subsets

Changes in B and T-cell subsets and NMO-IgG levels after immunoglobulins and rituximab treatment for an acute attack of neuromyelitis optica

Abstract

Background: There is increasing evidence supporting that neuromyelitis optica (NMO) is an inflammatory humoral mediated disorder associated with NMO-IgG/AQP-4 antibodies. However, little is known about the subsets of B cells and T cells that contribute to the pathogenesis or therapy response.

Objectives: To describe the clinical and immunological changes associated with intravenous immunoglobulins (IV-Ig) plus rituximab (RTX) in a patient with a severe acute attack of NMO and intrathecal synthesis of NMO-IgG/AQP-4, who previously did not respond to intravenous methylprednisolone and plasma exchange.

Methods: We sequentially analysed the levels of NMO-IgG/AQP-4 by immunohistochemistry, and B and T cells subsets by multiparametric flow-cytometry, in the CSF and peripheral blood (PB), before and after IV-Ig plus RTX therapy.

Results: In the CSF before treatment, and compared with PB, there was a higher percentage of CD4⁺ T cells and a lower percentage of CD8⁺ T cells and CD19⁺ B cells. After therapy, the percentage of CD4⁺ T cells remained high, and that of CD8⁺ T cells increased. The observed decrease in the percentage of CD19⁺ B cells was lower than in the PB. When the CSF was compared, it was found that the percentage of effector-memory and effector CD8⁺ T cells had increased after therapy, and that of IgM memory B cells and switched-memory B cells decreased. The observed changes paralleled the decrease of NMO-IgG/AQP-4 results to negative and the clinical improvement.

Conclusions: Our findings confirm that, besides intrathecal humoral immune response against AQP4, B and T cell subsets are involved in the modulation of inflammation within and outside the central nervous system.

© 2013 Sociedad Española de Neurología. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

La neuromielitis óptica (NMO) es una enfermedad inflamatoria desmielinizante del SNC que afecta de forma predominante al nervio óptico y a la médula. El curso de la enfermedad es habitualmente recidivante, con acumulación rápida de discapacidad relacionada con los brotes y una alta tasa de mortalidad temprana^{1,2}. La mayoría de los pacientes presentan autoanticuerpos, IgG-NMO/AQP-4, dirigidos contra un canal acuoso, la acuaporina-4 (AQP-4), que se expresa principalmente en los podocitos de los astrocitos¹⁻⁵. Diferentes hallazgos apoyan el papel patogénico de los IgG-NMO/AQP-4, tales como la pérdida selectiva de AQP-4 en las lesiones del SNC⁶, la correlación de los títulos de anticuerpos con la actividad de la enfermedad^{7,8}, y el que se pueda reproducir lesiones de tipo NMO mediante la transferencia pasiva de anticuerpos de pacientes con NMO en modelos animales¹. El papel predominante de las células B y de la respuesta inmunitaria humoral también se apoya en el hecho de que citocinas que promueven la activación de las células B y la producción de anticuerpos, como BAFF y la interleucina-6, están incrementadas en el líquido cefalorraquídeo (LCR) y en el suero de los pacientes con NMO^{9,10}. Este hecho es importante pues, al igual que en los pacientes con esclerosis múltiple (EM), las células B de memoria, tras cruzar la barrera hematoencefálica, son reestimuladas dentro del SNC por su afinidad frente al antígeno, maduran, se expanden clonalmente y se diferencian en células plasmáticas secretoras de anticuerpos¹¹.

No se conoce bien cuál debe de ser la actitud terapéutica ante pacientes con brotes graves de NMO que no responden a la terapia convencional, incluyendo los ciclos de metilprednisolona intravenosa (MPIV) y el recambio plasmático (RP). En este trabajo presentamos a una paciente con un brote grave de NMO y síntesis intratecal de IgG-NMO/AQP-4, que no respondió al tratamiento con MPIV y RP. Sin embargo, la paciente presentó una buena respuesta al tratamiento con inmunoglobulinas por vía intravenosa (Ig-IV) y rituximab (RTX). Describimos los cambios que se produjeron en la distribución de las subpoblaciones de células B y T, y de los títulos de IgG-NMO/AQP-4 en el LCR y en la sangre periférica (SP) tras el tratamiento.

Caso clínico

Una mujer de 17 años fue valorada en otro centro, el 28 de septiembre del 2009, por pérdida de visión subaguda en el ojo derecho que le llevó hasta la ceguera completa. Una resonancia magnética (RM) cerebral y medular fueron normales. Se excluyeron causas autoinmunes e infecciones responsables del cuadro. Tras tratamiento con MPIV 1 g/día/7 días, seguido de prednisona por vía oral descendente, la paciente recuperó la agudeza visual en 3 semanas. Un mes después, presentó vómitos y disestesias dolorosas en los pies, que se siguieron de síntomas progresivos de mielitis transversa con cuadriplejía y nivel sensitivo C2, y visión dolorosa en el ojo izquierdo. La paciente tuvo que ser ingresada el 27 de noviembre del 2009 en la UCI por

Tabla 1 Cambios en los porcentajes de células T y B en el líquido cefalorraquídeo (LCR) y en sangre periférica (SP) y en el título de IgG-NMO/AQP-4 antes y después del tratamiento con inmunoglobulinas intravenosas (Ig-IV) y rituximab (RTX)

	Antes de Ig-IV + RTX (09/12/2009)		Después de Ig-IV + RTX (29/12/2009)	
	LCR	SP	LCR	SP
CD4 ⁺ T cells	66,56	44,80	54,17	51,27
CD8 ⁺ T cells	16,35	24,87	50,72	22,27
CD45RA ⁻ CCR7 ⁻	8,80	3,31	19,11	0,14
D19 ⁺ CD27 ⁺ IgD ⁻	4,02	1,59	7,55	0,2
CD19 ⁺ B cells	10,27	22,00	2,97	< 1
CD19 ⁺ CD27 ⁺ IgD ⁺	2,65	3,47	0,91	0,03
D19 ⁺ CD27 ⁺ IgD ⁻	3,07	7,05	1,65	0,43
IgG-NMO/AQP-4 ^a	+ (1:2)	—	—	—
EDSS	9,0	6,5		

Los números están expresados en porcentajes del total de linfocitos.

EDSS: Expanded disability Status Scale; Ig-IV: inmunoglobulinas por vía intravenosa; LCR: líquido cefalorraquídeo; SP: sangre periférica; RTX: rituximab.

^a Dilución de cribado en suero 1:250 y en LCR 1:1.

dificultad respiratoria, voz hipotónica y discapacidad en la escala ampliada de Kurtzke (EDSS)¹² de 9,0. El hemograma, las pruebas de función hepática, los electrolitos, el nitrógeno ureico en sangre, la creatinina, las serologías de hepatitis, los anticuerpos para enfermedades autoinmunes, los marcadores tumorales, la prueba de la tuberculina, el electrocardiograma, el ecocardiograma y las pruebas microbiológicas se encontraban dentro de los rangos normales. La RM cerebral fue normal excepto por captación de gadolinio (Gd) en el nervio óptico izquierdo y la medular mostró una lesión extensa edematosa continua desde C1 a D10 captante de Gd (fig. 1). El LCR mostró 53 linfocitos/mm³, 62 mg/dl de proteínas e índice de IgG de 0,84 (normal, < 0,70). Se detectó mediante inmunohistoquímica^{13,14} IgG-NMO/AQP-4 en el suero (título de 1:2.000) y en el LCR (título 1:128), y una síntesis intratecal específica de IgG-NMO/AQP-4. La paciente fue tratada con MPIV 1 g/día/5 días sin mejoría, seguida de 500 mg/d 5 días y de RP durante 5 días consecutivos. Dos días después de la última sesión de RP, la paciente había mejorado levemente de la capacidad respiratoria y solo era capaz de realizar leves desplazamientos con los dedos de la mano izquierda. Un nuevo LCR (9 de diciembre del 2009) reveló 43 linfocitos/mm³, 28 mg/dl de proteínas y el índice de IgG era de 1,48. Los IgG-NMO/AQP-4 continuaban siendo positivos en el LCR (título de 1:2), pero negativos en suero. Dado el efecto beneficioso de las Ig-IV en algunos casos de NMO¹⁵, la hipogammaglobulinemia sérica que presentaba la paciente (probablemente relacionada con el tratamiento previo de RP) y el alto riesgo que amenazaba su vida, se le propuso tratar con Ig-IV y RTX. Se empezó el 11 de diciembre del 2009 a la dosis de 400 mg/kg durante 5 días consecutivos y a las 72 h de la última dosis se añadió RTX, 375 mg por m²/semanal, durante 2 semanas. Un nuevo LCR (29 de diciembre del 2009) mostró 15 linfocitos/mm³, 31 mg/dl de proteínas, y un índice de IgG de 0,48. Los IgG-NMO/AQP-4 eran negativos tanto en el suero como en el LCR. Una RM cerebral, incluyendo estudio de nervios ópticos, fue normal y la medular mostró un aspecto de adelgazamiento continuo desde C1 a D10 sin captación de Gd. La paciente había mejorado y era capaz de caminar con 2 ayudas distancias cortas (EDSS 6,5). La mejoría clínica posterior

fue notable y progresiva en los siguientes 2 meses, de forma que 4 meses más tarde la exploración neurológica era normal. Una RM medular de control mostró la desaparición de la hiperintensidad en secuencias de supresión grasa (STIR) y que el adelgazamiento del cordón medular era más evidente (fig. 2). Desde entonces, la paciente ha recibido 2 ciclos anuales de RTX para la prevención de los brotes, no ha vuelto a presentar nuevos episodios, la exploración neurológica continúa siendo normal y los IgG-NMO/AQP-4 son positivas en suero aunque a título bajo (agosto del 2013).

Métodos

Se obtuvieron simultáneamente muestras de LCR y SP, y se analizaron las subpoblaciones de linfocitos B y T mediante citometría de flujo multiparamétrica, tal como hemos descrito previamente¹⁶⁻¹⁸ y los títulos de NMO-IgG/AQP4 por inmunohistoquímica.

Resultados

Porcentaje de las subpoblaciones de células B y T

Antes del tratamiento con Ig-IV y RTX: en el LCR, y comparado con la SP, predominaban las células T CD4⁺ (66,56% vs. 44,80%), mientras que las T CD8⁺ y las células B CD19⁺ estaban menos representadas (16,35% vs. 24,87% y 10,27% vs. 22,00%, respectivamente). También era inferior el porcentaje de células B memoria (CD19⁺, CD27⁺, IgD⁺) (2,65% vs. 3,47%) y el de células B con cambios de isotipo («class-switched») (CD19⁺, CD27⁺, IgD⁻) (3,07% vs. 7,05%). Por el contrario, el porcentaje de células T CD8⁺ memoria efectoras (CD45RA⁻, CCR7⁻) (8,80% vs. 3,3%) y el de efectoras (CD45RA⁺, CCR7⁻) era mayor (tabla 1). También estaban más representadas las células T CD4⁺ reguladoras (CD4⁺, CD25^{hi} y CD4⁺, CD25⁺, Foxp3⁺ (2,25% vs. 0,40% y 3,25% vs. 0,12%, respectivamente) y las T CD8⁺ reguladores/supresores (CD8⁺, CD25⁺, CD28⁻) (5,56% vs. 2,40%). Los



Figura 1 Resonancia magnética al ingreso. A) Sección sagital en secuencia de supresión grasa (STIR): se observa un aumento de señal difusa que se extiende longitudinalmente a lo largo de la médula. B) Secuencia potenciada en T1: captación de contraste parcheada a lo largo de la médula e hipointensidades centrales sugestivas de lesiones necróticas. C) Sección axial potenciada en T2: se observa la localización central de la lesión. D) Sección coronal en secuencia potenciada en T1: se observa la marcada captación de gadolinio en el nervio óptico izquierdo (flecha).

anticuerpos NMO-IgG eran positivos en el LCR (título 1:2) y negativos en el suero (tabla 1).

Después del tratamiento con Ig-IV y RTX: en el LCR, y comparado con la SP, las células T CD4⁺ persistían más altas (54,17% vs. 51,27%), las T CD8⁺ habían aumentado (50,72% vs. 22,27%) y las células B CD19⁺ habían disminuido (2,97% vs. < 1%) (tabla 1). Cuando se comparó el LCR con el de pretratamiento, se observó que había disminuido el porcentaje de células B de memoria (98% de IgM) (del 2,65 al 0,91%) y el de células B con cambios de isotipo (del 3,07% al 1,65%) y que había aumentado el de células T CD8⁺ de memoria efectoras (CD45RA⁻, CCR7⁻) (del 8,80 al 19,11%) y el de las efectoras (CD45RA⁺, CCR7⁻) (del 4,02 al 7,55%) (tabla 1 y figs. 3 y 4). Cuando se comparó en SP respecto a antes de la

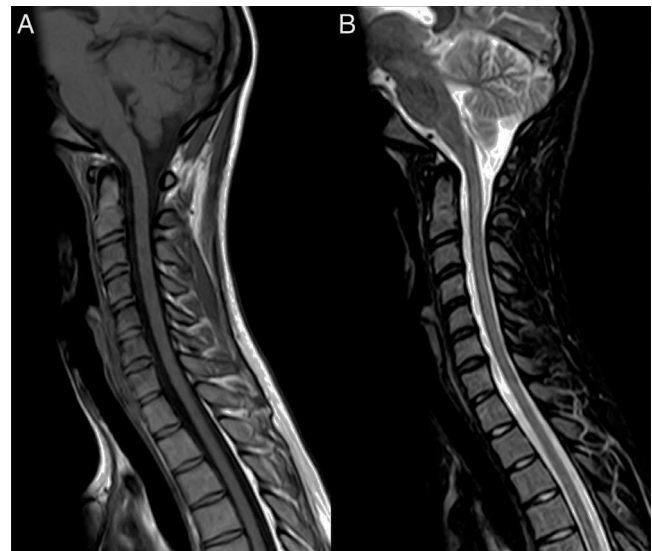


Figura 2 Resonancia magnética de seguimiento. A) Sección sagital en secuencia potenciada en T1: se observa el adelgazamiento del cordón medular. B) Sección sagital en secuencia de supresión grasa (STIR): se observa que ha desaparecido la hiperintensidad medular.

terapia, también habían disminuido las células B de memoria (del 3,47 al 0,03%) y las B con cambios de isotipo (del 7,05 al 0,43%) y, a diferencia del LCR, habían disminuido las células T CD8⁺ de memoria efectoras (CD45RA⁻, CCR7⁻) (del 3,31 al 0,14%) y las efectoras (CD45RA⁺, CCR7⁻) (del 1,59 al 0,20%) (tabla 1 y figs. 3 y 4). Los IgG-NMO/AQP-4 eran negativos, tanto en el suero como en el LCR (tabla 1).

Discusión

El tratamiento estándar de los brotes de NMO suele ser MPIV a dosis altas y cuando la respuesta no es adecuada, hasta un 50%-75% de los pacientes se pueden beneficiar del RP^{1,19-21}. Sin embargo, no hay ensayos controlados y aleatorizados que hayan evaluado terapias encaminadas a la prevención de las recaídas de NMO y las opciones de tratamiento se basan en pequeños estudios observacionales en los que se han utilizado inmunosupresores como la azatioprina, la mitoxantrona, el micofenolato mofetilo y más recientemente el rituximab¹.

En este trabajo, describimos a una paciente con un segundo episodio grave de NMO, poco después de su comienzo, y con síntesis intratecal de IgG-NMO/AQP-4, que no respondió al tratamiento con MPIV y el RP. La escasa mejoría clínica y la persistencia de IgG-NMO/AQP-4 en el LCR, a pesar del RP, nos llevó a decidir tratarla con Ig-IV y RTX. Las Ig-IV inhiben la presentación antigénica mediada por células B y la proliferación de células T²². El RTX es un anticuerpo monoclonal que se dirige contra el marcador CD20 e induce una depleción de células B CD20⁺, incluyendo las células pre-B, naïve y memoria⁹. Ambos fármacos se han mostrado eficaces en la prevención de brotes de NMO^{1,9,15,23}.

Antes del tratamiento con Ig-IV y RTX, observamos que en el LCR había un alto porcentaje de células B y el reclutamiento de células B de memoria, predominantemente IgM,

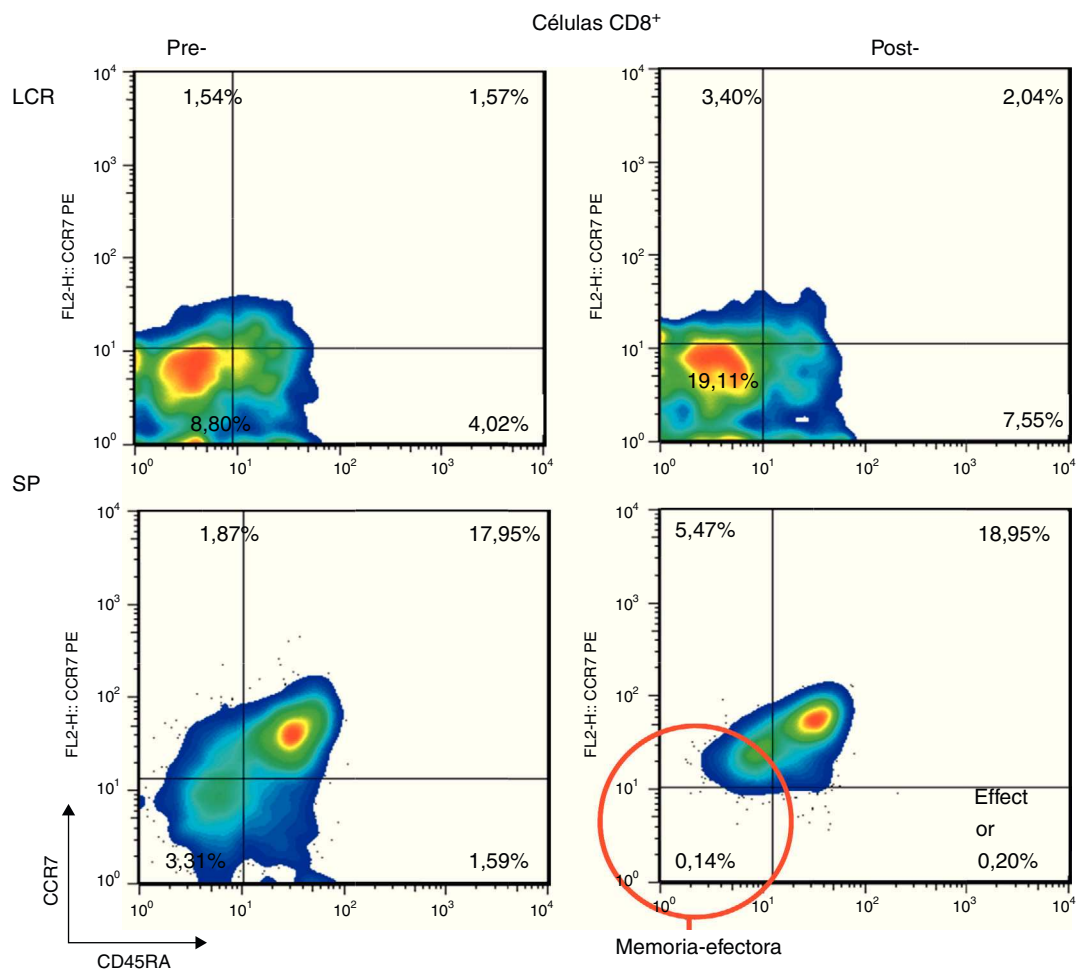


Figura 3 Distribución de las subpoblaciones de linfocitos T CD8⁺ en el LCR y sangre periférica (SP) antes y después del tratamiento con inmunoglobulinas por vía intravenosa (Ig-IV) y rituximab (RTX). Los números de los cuadrantes están en porcentajes del total de linfocitos.

y con cambio de isotipos. Este hecho, asociado a la síntesis intratecal de IgG-NMO/AQP-4, corroboraría el papel predominante de la inmunidad humoral en la NMO^{1,24}. Se sabe que durante la neuroinflamación el acúmulo de células B de memoria en el LCR se debe de forma mayoritaria a su reclutamiento por parte de las células B con cambio de isotipos²⁵. Además, las células B de memoria pueden diferenciarse rápidamente en células secretoras de anticuerpos tras el reconocimiento antigénico y la colaboración de células T²⁶. Un hallazgo no descrito previamente fue la detección de un mayor porcentaje de células CD8⁺ memoria efectoras y efectoras en el LCR que en la SP. La razón de este reclutamiento no está clara. Podría deberse a la secreción de quimiocinas por parte de las células B NMO-específicas dentro del SNC, lo que llevaría a su reclutamiento desde la periferia, y a su activación y proliferación. O bien podría tratarse de células T CD8⁺ reguladoras/supresoras que podrían contribuir a la resolución del proceso inflamatorio²⁵⁻²⁷. En cualquier caso, su presencia es un dato indicativo de que las células T participan en la patogenia de la NMO²⁸.

Tras el tratamiento con Ig-IV y RTX, y como era de esperar, observamos una importante depleción de las células B CD19⁺, así como de los subtipos de células memoria y las de cambios de isotipo, aunque todavía persistían más altas

en el LCR que en la periferia. Hay que tener en cuenta que el análisis se hizo tras 2 dosis de RTX y la depleción completa se suele observar tras 4 dosis^{29,30}. El incremento en el porcentaje de células CD8⁺ en el LCR es sorprendente, pues en la EM se ha descrito su descenso³¹, aunque incrementos transitorios también se han observado en otras enfermedades autoinmunes³². El que no analizáramos si estas células CD8⁺ de memoria efectoras y efectoras se correspondían con células citotóxicas o reguladoras no nos permite dilucidar su posible papel en este contexto. Aunque se ha visto en algunos estudios que el título de IgG-NMO/AQP-4 puede disminuir tras RTX^{9,33}, y se ha indicado que la depleción de células B de memoria afecta al reaprovisionamiento a partir de las células plasmáticas de corta duración, la completa desaparición de los anticuerpos en nuestra paciente cuando todavía persistían células B de memoria nos habla de la compleja interrelación entre las diferentes subpoblaciones de células B y T. De hecho, se ha sugerido la reaparición de las células B CD19⁺ o de memoria CD27⁺ en la SP (que suele ocurrir a los 6-9 meses) como marcadores para readministrar un nuevo ciclo de RTX^{9,33}. En cualquier caso, en nuestra paciente los cambios inmunológicos fueron paralelos a la observación de una rápida y notable mejoría clínica, aunque es difícil determinar si en la magnitud del

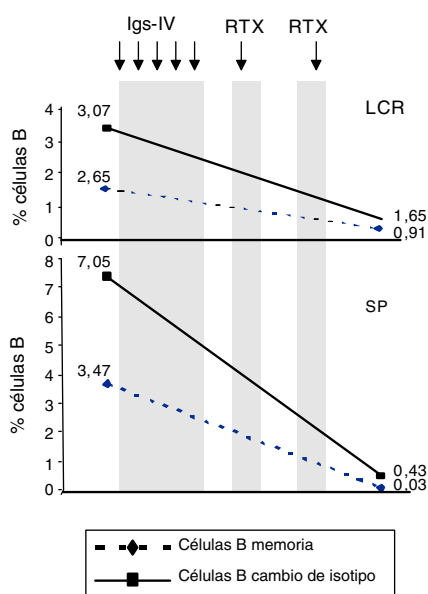


Figura 4 Cambios en las subpoblaciones de células B (memoria y con cambio de isotipos) en el LCR y en sangre periférica (SP) antes y después del tratamiento con inmunoglobulinas por vía intravenosa (Ig-IV) y rituximab (RTX).

efecto también contribuyó el tratamiento previo con MPIV y RP.

En conclusión, nuestros hallazgos confirman que durante el brote de NMO hay una respuesta inmunitaria humoral contra la AQP-4 e indican que la respuesta inmunitaria es compartimental, inducida por el antígeno y dependiente de células B y T. Un mejor conocimiento de la fisiopatología de la NMO puede ser de utilidad a la hora de desarrollar estrategias terapéuticas que sean más precisas y específicas para la enfermedad.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Wingerchuk DM, Lennon VA, Lucchinetti CF, Pittock SJ, Weinstock-Guttman B. The spectrum of neuromyelitis optica. *Lancet Neurol.* 2007;6:805–15.
- Jacob A, McKeon A, Nakashima I, Kazutoshi Sato D, Elson L, Fujihara K, et al. Current concept of neuromyelitis optica (NMO) and NMO spectrum disorders. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2013;84:922–30.
- Lennon VA, Kryzer TJ, Pittock SJ, Verkman AS, Hinson SR. IgG marker of optic-spinal multiple sclerosis binds to the aquaporin-4 water channel. *J Exp Med.* 2005;202:473–7.
- Waters P, Vincent A. Detection of anti-aquaporin-4 antibodies in neuromyelitis optica: current status of the assays. *Int MS J.* 2008;15:99–105.
- Wingerchuk DM, Lennon VA, Pittock SJ, Lucchinetti CF, Weinstock-Guttman B. Revised diagnostic criteria for neuromyelitis optica. *Neurology.* 2006;66:1485–9.

- Misu T, Fujihara K, Kakitja A, Konno H, Nakamura M, Watanabe S, et al. Loss of aquaporin 4 in lesions of neuromyelitis optica: Distinction from multiple sclerosis. *Brain.* 2007;130:1224–34.
- Jarius S, Aboul-Enein F, Waters P, Kuenz B, Hauser A, Berger T, et al. Antibody to aquaporin-4 in the long-term course of neuromyelitis optica. *Brain.* 2008;131:3072–80.
- Weinstock-Guttman B, Miller C, Yeh EA, Stosic M, Umhauer M, Batra N, et al. Neuromyelitis optica immunoglobulins as a marker of disease activity and response to therapy in patients with neuromyelitis optica. *Mult Scler.* 2008;14:1061–7.
- Pellkofer HL, Krumbholz M, Berthele A, Hemmer B, Gerdes LA, Havla J, et al. Long-term follow-up of patients with neuromyelitis optica after repeated therapy with rituximab. *Neurology.* 2011;76:1310–5.
- Quan C, Yu H, Qiao J, Xiao B, Zhao G, Wu Z, et al. Impaired regulatory function and enhanced intrathecal activation of B cells in neuromyelitis optica: Distinct from multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2013;19:289–98.
- Colombo M, Dono M, Gazzola P, Roncella S, Valetto A, Chiorazzi N, et al. Accumulation of clonally related B lymphocytes in the cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients. *J Immunol.* 2000;164:2782–9.
- Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis. An expanded disability status scale (EDSS). *Neurology.* 1983;33:1444–52.
- Saiz A, Zuliani L, Blanco Y, Tavolato B, Giometto B, Graus F, for the Spanish-Italian NMO study group. Revised diagnostic criteria for optic neuromyelitis (NMO): Application in a series of suspected patients. *J Neurol.* 2007;254:1233–7.
- Blanco Y, Hankiewicz K, Llufríu S, Sabater L, Graus F, Saiz A, et al., por el Grupo Español de Neuromielitis Óptica. Espectro clínico asociado a anticuerpos contra acuaporina 4 (Ig-NMO). *Neurología.* 2010;25:5–12.
- Bakker J, Metz L, Devis C. Neuromyelitis optica treated with intravenous gamma globulins (IVIg). *Can J Neurol.* 2004;31:265–7.
- de Andrés C, Aristimuño C, Bartolomé M, de las Heras V, Martínez-Ginés ML, Arroyo R, et al. Clinical response to interferon-beta-1a may be linked to low baseline circulating BDCA1 myeloid dendritic cells. Differential role of circulating dendritic cells and CD4+ regulatory T-cells in relapsing-remitting multiple sclerosis: A 1-year longitudinal study. *J Neuroimmunol.* 2009;212:112–20.
- Aristimuño C, de Andrés C, Bartolomé M, de las Heras V, Martínez-Ginés ML, Arroyo R, et al. IFNbeta-1a therapy for multiple sclerosis expands regulatory CD8 (+) T cells and decreases memory CD8(+) subset: A longitudinal 1-year study. *Clin Immunol.* 2010;34:148–57.
- Sanchez-Ramon S, Radigan L, Yu JE, Bard S, Cunningham-Rundles C. Memory B cells in common variable immunodeficiency: Clinical associations and sex differences. *Clin Immunol.* 2008;128:314–21.
- Bonnan M, Valentin R, Olindo S, Mehdaoui H, Smadja D, Cabre P, et al. Plasma exchange in severe spinal attacks associated with neuromyelitis optica spectrum disorder. *Mult Scler.* 2009;15:489–92.
- Llufríu S, Castillo SJ, Blanco Y, Ramió-Torrentà L, Rio J, Vallés M, et al. Plasma exchange for acute attacks of CNS demyelination Predictors of improvement at 6 months. *Neurology.* 2009;73:949–53.
- De Andrés C, Anaya F, Giménez-Roldán S. Tratamiento con plasma inmuoadsorción en brotes severos y prolongados de esclerosis múltiple maligna. *Rev Neurol.* 2000;30:601–5.
- MacMillan HF, Lee T, Issekutz AC. Intravenous immunoglobulin G-mediated inhibition of T-cell proliferation reflects an endogenous mechanism by which IgG modulate T-cell activation. *Clinical Immunol.* 2009;132:222–33.
- Elson L, Panicker J, Mutch K, Boggild M, Appleton R, Jacson A. Role of intravenous immunoglobulin in the treatment of acute

- relapses of neuromyelitis optica: Experience in 10 patients. *Mult Scler*. 2013, published online 28 August.
24. Benet JL, Lam C, Kalluri SR, Saikali P, Bautista K, Dupree C, et al. Intrathecal pathogenic anti-aquaporin-4 antibodies in early neuromyelitis optica. *Ann Neurol*. 2009;66:617–29.
 25. Cepok S, von Geldern G, Grummel V, Hochgesand S, Celik H, Hartung H, et al. Accumulation of class switched IgD-IgM- memory B cells in the cerebrospinal fluid during neuroinflammation. *J Neuroimmunol*. 2006;180:33–9.
 26. Meinel E, Krumbholz M, Hohlfeld R. B lineage cells in the inflammatory central nervous system environment: migration, maintenance, local antibody production, and therapeutic modulation. *Ann Neurol*. 2006;59:880–92.
 27. Jilek S, Schlupe M, Rossetti AO, Guignard L, Le Goff G, Pantaleo G, et al. CSF enrichment of highly differentiated CD8+ T cells in early multiple sclerosis. *Clin Immunol*. 2007;123:105–13.
 28. Kieseier BC, Stüve O, Dehmel T, Goebels N, Leussink VI, Mausberg AK, et al. Disease amelioration with tocilizumab in a treatment-resistant patient with neuromyelitis optica Implication for cellular immune responses. *JAMA Neurol*. 2013;70:390–3.
 29. Cross AH, Stark JL, Lauber J, Ramsbottom MJ, Lyons JA. Rituximab reduces B cells and T cells in cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients. *J Neuroimmunol*. 2006;180:63–70.
 30. Bar-Or A, Calabresi PAJ, Arnold D, Markowitz C, Shafer S, Kasper LH, et al. Rituximab in relapsing-remitting multiple sclerosis: A 72-week, open-label, phase I trial. *Ann Neurol*. 2008;63:395–400.
 31. Piccio L, Naismith RT, Trinkaus K, Klein R, Parks BJ, Lyons JA, et al. Changes in B and T lymphocyte and chemokine levels with rituximab treatment in multiple sclerosis. *Arch Neurol*. 2010;67:707–14.
 32. Pranzatelli MR, Tate ED, Travelstead AL, Colliver JA. Long-term cerebrospinal fluid and blood lymphocyte dynamics after rituximab for pediatric opsoclonus myoclonus. *J Clin Immunol*. 2010;30:106–13.
 33. Kim SH, Kim W, Feng Li X, Jung IJ, Kim HJ. Repetitive treatment with rituximab based on the assessment of peripheral circulating memory B cells in patients with relapsing neuromyelitis optica over 2 years. *Arch Neurol*. 2011;68:1412–20.