

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

Esclerosis múltiple y embarazo. Análisis prospectivo de biomarcadores durante embarazo y puerperio

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Juan Pablo Cuello

DIRECTORES

Luisa María Villar Guimerans
Jesús Millán Núñez-Cortés
Francisco Javier Grandas Pérez

Madrid

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

Esclerosis múltiple y embarazo. Análisis prospectivo de
biomarcadores durante embarazo y puerperio

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Juan Pablo Cuello

DIRECTOR

Dra. Luisa María Villar Guimerans

Dr. Jesús Millán Nuñez-Cortés

Dr Francisco Javier Grandas Pérez

*“Confía en el tiempo,
que suele dar dulces salidas a muchas amargas dificultades”
Miguel de Cervantes Saavedra*

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, a mis directores de tesis por haberme facilitado la oportunidad de realizar esta tesis en esclerosis múltiple, por el entusiasmo transmitido hacia la investigación, por los consejos recibidos y por todo el apoyo que me han dado durante estos años. Mención especial para la Dra. May Villar, mujer con una capacidad intelectual que nunca había visto, que sumado a su calidez humana y cercanía, hizo que realmente disfrutara de este trabajo. Cuando llegue el momento de jubilarme y eche la vista atrás, todas las horas que pasamos en el despacho de May, conversando y dándole forma a este proyecto, seguramente estarán dentro de las mejores cosas que hice en mi carrera. May, estaré eternamente agradecido por todo lo que aprendí a tu lado.

En segundo lugar, a todos mis compañeros del servicio de Neurología del Hospital General Universitario Gregorio Marañón, y sobre todo a mis compañeros del equipo de EM, Marisa Martínez Ginés, José Manuel García Domínguez, Fernando Romero Delgado, Alberto Lozano Ros, Yolanda Higeras, Ariana Meldaña y Haydee Goicochea, que me han ayudado de forma inimaginable en el transcurso de esta investigación. Lo que aquí se presenta es el resultado de un trabajo en equipo. Ellos son mi equipo. Gestionar las visitas presenciales y el procesamiento de las muestras que las mujeres embarazadas requirieron durante los años que duró el estudio no ha sido fácil, sin su ayuda hubiera sido inviable. Haydee, me has ayudado mucho, te lo agradezco. En este punto, quiero hacer una alusión especial a la Dra. Clara de Andrés, quien me dio la primera oportunidad al acabar la residencia y quien me preguntó si me podría gustar esta línea de investigación. Clara, este proyecto es tuyo también.

En tercer lugar, al Servicio de ginecología, en especial a Juan De León, Santiago García Tizon y Virginia Ortega Abad, que me ayudaron varias en cosas, que van desde el reclutamiento de las pacientes y gestión de muestras hasta el asesoramiento y críticas de cada uno de los manuscritos. No quiero olvidarme de las participantes de este estudio en sí, que de un modo altruista se han ofrecido a colaborar en nuestra investigación.

Por último, agradecer a mi círculo de personas más íntimo. Agradecer a mis padres Isabel y Carlos, por haber confiado en mí desde el principio. A mi hermano Jerónimo, siempre un referente a quien seguir e imitar. A mi mujer, Diana, mi compañera, por su apoyo constante en este proyecto, en los anteriores, y en los que vendrán. Sin ella todo sería más difícil, o imposible. Y por último, a mis hijos Nico y Santi, sabiendo que algún día tendrán esto en sus manos y lo leerán: quiero que sepan que son lo mejor que me pasó en la vida.

ÍNDICE

Indice

ABREVIATURAS	7
RESUMEN	9
RESUMEN:	10
RESUMEN INGLÉS (ABSTRACT):	14
1. INTRODUCCIÓN:	18
1.1 HISTORIA DE LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE	20
1.2. EPIDEMIOLOGÍA	21
1.3 ETIOLOGÍA	22
1.3.1 Factores genéticos:	22
1.3.2 Factores medioambientales:	24
1.4 FORMAS CLÍNICAS DE LA ENFERMEDAD:	26
1.5 DIAGNÓSTICO	28
1.5.1 Resonancia magnética:	29
1.5.2 Potenciales evocados:	29
1.5.3 Análisis de LCR	30
1.5.4 Criterios diagnósticos:	31
1.6 NEUROPATOLOGÍA	32
1.6.2 Lesiones en la sustancia gris:	34
1.7 FISIOPATOLOGÍA	35
1.8 TRATAMIENTO	36
1.8.1 Fármacos Modificadores de la Enfermedad	36
1.8.2 Tratamientos de los distintos síntomas asociados con la EM	38
1.9 EMBARAZO Y ESCLEROSIS MÚLTIPLE	39
1.9.2 Mecanismos de defensa inmunitaria de la placenta y las membranas extraplacentarias	39
1.9.3 Mecanismos protectores inmunes específicos	40
1.9.4 Cambios inmunitarios del útero tras la implantación embrionaria	42
1.9.5. Embarazo y EM	44
1.9.6 Fármacos Modificadores de la Enfermedad y embarazo	44
2. OBJETIVOS:	49
3. MATERIALES Y MÉTODOS:	51
3.1 PACIENTES	52
3.2 MUESTRAS BIOLÓGICAS:	53
3.3 MÉTODOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE LAS CITOQUINAS ANALIZADAS Y NFL	54
3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	54
4. RESULTADOS	56
4.1 TIME TO PREGNANCY IN MULTIPLE SCLEROSIS: A CASE-CONTROL STUDY	57
4.2 EXPOSICION A FÁRMACOS MODIFICADORES DE LA ENFERMEDAD DURANTE EL EMBARAZO EN ESCLEROSIS MULTIPLE: ESTUDIO PROSPECTIVO	59
4.3 CYTOKINE PROFILE DURING PREGNANCY PREDICTS RELAPSES DURING PREGNANCY AND POSTPARTUM IN MULTIPLE SCLEROSIS ...	61

4.4 NEUROFILAMENT LIGHT CHAIN LEVELS IN PREGNANT MULTIPLE SCLEROSIS PATIENTS: A PROSPECTIVE COHORT STUDY.....	63
5. DISCUSION.....	65
5. DISCUSIÓN:	66
5.1 FERTILIDAD, RETRASO HASTA CONCEBIR Y SU INFLUENCIA EN LA EM.....	66
5.2 ESCLEROSIS MÚLTIPLE DURANTE EL EMBARAZO Y SU TRATAMIENTO	70
5.3 CAMBIOS INMUNOLÓGICOS DURANTE EL EMBARAZO	74
5.3.1 <i>Citoquinas durante el embarazo:</i>	77
5.5 ANÁLISIS DE LOS NEUROFILAMENTOS DURANTE EL EMBARAZO EN EM Y SU UTILIDAD	79
6. CONCLUSIONES	84
7. BIBLIOGRAFÍA	87
8. ANEXOS.....	107

ABREVIATURAS

ABREVIATURAS:

BHE: Barrera hematoencefálica

BOC: Bandas oligoclonales

EDSS: Escala expandida del estado de discapacidad

EM: Esclerosis múltiple

EMRR: Esclerosis múltiple remitente-recurrente

EMSP: Esclerosis múltiple secundaria-progresiva

EMPP: Esclerosis múltiple primaria-progresiva

IgG: Inmunoglobulina G

IL: Interleuquina

IFN: Interferón

LCR: Líquido cefalorraquídeo

SNA: Síndrome neurológico aislado

SNC: Sistema nervioso central

RM: resonancia magnética

TGF- β : Factor de crecimiento transformante β

Th: Linfocitos T colaboradores

TNF: Factor de necrosis tumoral

RESUMEN

Resumen:

Título: Esclerosis múltiple y embarazo. Análisis prospectivo de biomarcadores durante embarazo y puerperio

Introducción:

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad inflamatoria y neurodegenerativa del SNC. Su etiología aún es desconocida. No obstante, se sabe que la presencia de ciertos factores genéticos y ambientales pueden desencadenar la enfermedad en sujetos genéticamente predispuestos. Cuando una mujer con EM se embaraza, se modifica su tasa anual de brotes habitual, observándose una disminución en la incidencia de brotes durante el tercer trimestre del embarazo, con un aumento posterior durante el primer trimestre posparto. No obstante, estas fluctuaciones en la incidencia de brotes no parecen tener una influencia a largo plazo en la evolución de la paciente. Los mecanismos intrínsecos que explican la mejoría que experimenta una paciente durante el embarazo y su potencial empeoramiento en el puerperio continúan siendo desconocidos.

Objetivos:

- El primer objetivo del estudio fue analizar el retraso habitual para concebir en pacientes con EM, comparado con mujeres sanas.
- El segundo objetivo fue analizar la morbilidad materno-fetal que pueda suceder tras la exposición fetal a FME durante la gestación.
- En tercer lugar, estudiamos prospectivamente los títulos de distintas citoquinas proinflamatorias y reguladoras, con el objetivo de cuantificar si los cambios que se producen durante el embarazo pueden relacionarse con la evolución clínica experimentadas por las pacientes.

-En cuarto lugar, analizamos la cuantificación del daño axonal generado durante el embarazo y posparto mediante el análisis de los títulos de neurofilamentos en suero.

-Por último, estudiamos la correlación de los todos factores sanguíneos incluidos en el estudio con la evolución clínica experimentada por las pacientes.

Materiales y métodos:

Se incluyeron pacientes con EM, que hayan concluido un embarazo entre 2007 y 2018. Como grupo control se utilizó un grupo de mujeres embarazadas sanas, emparejadas por edad, elegidas al azar de nuestro centro. Tanto la cohorte de pacientes como el grupo control han sido valoradas prospectivamente durante el embarazo y el puerperio en el Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid, analizando las distintas variables clínicas planificadas de una manera estandarizada. Las evaluaciones neurológicas han sido trimestrales durante el embarazo, y semestrales tras el parto. En las pacientes con EM se incluyó edad, historial reproductivo, forma clínica de EM, años de evolución de la enfermedad, tasa anualizada de brotes (TAB) desde el inicio de la enfermedad, grado de discapacidad e historial de tratamiento farmacológico.

Dentro de los análisis de laboratorio, se analizaron los títulos de citoquinas específicas asociadas con los perfiles proinflamatorios y regulatorios, además de parámetros hormonales, en cada trimestre del embarazo y posparto. Dentro de los parámetros a estudiar, se incluyó IFN gamma, IL-4, IL-10, TNF-a, TGF-b y citoquinas placentarias. Se incluyó en el análisis además el perfil TH17 y el Factor Estimulante de Colonias de granulocitos y Macrófagos (GM-CSF). Por último, se analizó también prospectivamente el título de neurofilamentos.

Respecto a la metodología de análisis en sí, las citoquinas se analizaron mediante kits comerciales de ELISA específicos. Para el análisis estadístico, se utilizó el programa IBM SPSS Statistics 27 y el Graphpad Prism 5 (GraphPad software, La Jolla, USA).

Las características basales se compararon entre los grupos mediante la prueba de Kruskal Wallis para las variables continuas o la prueba exacta de Fisher para las variables categóricas. Los test estadísticos empleados para la comparación entre dos grupos fueron el test de U de Mann Whitney mientras que para la comparación de 3 o más grupos utilizamos la prueba de Kruskal-Wallis, o el análisis de la varianza (ANOVA, por sus siglas en inglés). Para el análisis de tablas de contingencia utilizamos el test exacto de Fisher. Para el análisis de curvas de supervivencia utilizamos el test de Kaplan-Meier. Se consideraron estadísticamente significativos los valores de p menores a 0.05. En cada una de las publicaciones aparece el método exacto utilizado en cada caso.

Resultados:

Los resultados de nuestro trabajo han mostrado que no hubo un retraso en el tiempo empleado hasta concebir en las pacientes con EM en comparación a las mujeres sanas, lográndose una tasa de concepción del 60% durante el primer trimestre de búsqueda, y elevándose al 70% a los 6 meses.

Así mismo, hemos visto que no hubo una mayor morbilidad materno-fetal en los casos de pacientes expuestas a FME durante el embarazo. En nuestra experiencia hospitalaria, las pacientes sufrieron exposiciones a los FME más seguros, y ello no significó un aparente mayor riesgo.

En nuestro estudio, encontramos una diferente concentración de citoquinas serológicas según la evolución clínica que presentaron las pacientes. En este sentido, encontramos un aumento de la concentración de Activina-A e IL-10 ($p=0.003$ y $p=0.02$, respectivamente) durante el primer trimestre de gestación en pacientes EM que no tuvieron brotes durante el embarazo-postparto, en comparación con las pacientes que tuvieron brotes.

Por último, hemos encontrado una relación estrecha entre los niveles de sNfL y la evolución clínica que una paciente con EM puede experimentar durante el embarazo. De esta manera, la medición de sNfL durante el embarazo puede servir para evidenciar la morbilidad asociada con los brotes durante este periodo, y pueden ayudar a futuro en la toma de diferentes decisiones terapéuticas.

Conclusiones:

Si bien el conocimiento de los mecanismos inmunológicos intrínsecos que suceden durante la gestación humana aún no están del todo esclarecidos, la evidencia científica sugiere que durante un embarazo coinciden factores inmunológicos proinflamatorios combinados con mecanismos regulatorios. Estos cambios que se generan cuando una mujer está embarazada han demostrado beneficiar la evolución de las pacientes con EM durante el embarazo, pasando a un empeoramiento durante el puerperio.

En nuestro estudio, no encontramos un mayor retraso en el tiempo hasta concebir en las pacientes con EM. No hubo una mayor morbilidad clínica-obstétrica en las pacientes expuestas a FME durante la gestación. Más importante, en nuestro estudio encontramos una diferente concentración basal de citoquinas en suero, según la presencia o no de brotes que hayan experimentado las pacientes. Por último, demostramos que los neurofilamentos pueden ser elementos útiles como marcador subrogado de daño neuro-axonal también durante el embarazo.

Profundizar en el conocimiento de los mecanismos tolerogénicos que ocurren durante el embarazo y su influencia en el curso de la EM podría ayudarnos a encontrar biomarcadores que ayuden a predecir el curso clínico de la enfermedad y orientar el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas, ya que podría brindarnos nuevas herramientas para controlar la actividad inflamatoria

Resumen Inglés (Abstract):

Title: Multiple sclerosis and pregnancy. Prospective analysis biomarkers during pregnancy and the puerperium

Background:

Multiple sclerosis (MS) is an inflammatory and neurodegenerative disease of the CNS. Its etiology remains unknown. However, it is known that the presence of specific genetic and environmental factors can trigger the disease in genetically predisposed subjects. When a woman with MS becomes pregnant, her usual annual relapse rate may change, with a decrease in relapses' incidence during the third trimester of pregnancy, with a subsequent increase during the first postpartum trimester. However, these fluctuations in disease activity do not appear to affect clinical evolution in the long term. The intrinsic mechanisms underlying the patient's improvement during pregnancy and its potential worsening in the puerperium remains unknown.

Objectives:

- The study's first objective was to analyze the usual time to pregnancy in patients with MS compared to healthy women.
- The second objective was to explore the maternal-fetal morbidity after fetal exposure to FME during pregnancy.
- Thirdly, we prospectively study the changes in different pro-inflammatory and regulatory cytokines to quantify whether the changes that occur during pregnancy can be related to the patients' clinical evolution.
- Fourthly, we analyze the axonal damage generated during pregnancy and postpartum by analyzing the serum neurofilament titers prospectively in patients and healthy controls.

-Finally, we study the correlation between all blood factors included in the study with the patients' clinical evolution.

Materials and methods:

Patients with MS, who were pregnant between 2007 and 2018, were included in our study. A group of healthy pregnant women, age-matched, randomly chosen from our center, was used as a control group. The patient cohort and the control group have been prospectively assessed during pregnancy and the puerperium at the Gregorio Marañón General University Hospital in Madrid. Neurological evaluations have been quarterly during pregnancy and six months after delivery. Age, reproductive history, clinical form of MS, years of disease evolution, annualized relapse rate (AAR) before pregnancy, disability degree, and treatment history were included in the assessment.

We also analyzed specific cytokine titers associated with the pro-inflammatory and regulatory immunological profiles during each trimester of pregnancy and postpartum. For the analysis, we included IFN gamma, IL-4, IL-10, TNF-a, TGF-b, TH17, the Granulocyte and Macrophage Colony Stimulating Factor (GM-CSF), and placental cytokines. Finally, the serum neurofilament titer was also prospectively analyzed.

Regarding the analysis methodology, the cytokines were analyzed using specific commercial ELISA kits. For statistical analysis, the IBM SPSS Statistics 27 program and Graphpad Prism 5 (GraphPad Software, La Jolla, USA) were used. Baseline characteristics were compared between groups using the Kruskal Wallis test for continuous variables or Fisher's exact test for categorical variables. The statistical tests used for the comparison between two groups were the Mann Whitney U test, while for the comparison of 3 or more groups, we used the Kruskal-Wallis test or ANOVA. P values less than 0.05 were considered statistically significant. The exact method used in each case appears in each of the publications.

Results

The results of our work show that there was no delay in the time taken to conceive in MS patients compared to healthy women, achieving a conception rate of 60% during the first search trimester, and rising to 70% at six months. Also, we have seen no more significant maternal-fetal morbidity in the cases of patients exposed to EMF during pregnancy. In our hospital experience, patients suffered exposures to the safest EMFs, which did not mean an apparent increased risk. In our study, we found a different concentration of serological cytokines according to the patients' clinical evolution. In this sense, we found an increase in the concentration of Activin-A and IL-10 (p: 0.003 and p: 0.02, respectively) during the first trimester of gestation in MS patients who did not have outbreaks during pregnancy-postpartum, in compared to patients who did have flare-ups. Finally, we have found a close relationship between sNfL levels and the clinical course that a patient with MS may experience during pregnancy. In this way, the measurement of sNfL during pregnancy can demonstrate the morbidity associated with flare-ups during this period and might help make further therapeutic decisions.

Conclusions:

Although the intrinsic immunological mechanisms that occur during human pregnancy has not yet been fully clarified, scientific evidence suggests that pro-inflammatory factors combined with immunological regulatory mechanisms coincide during pregnancy. These changes that are generated when a woman is pregnant have been shown to benefit MS patients' evolution during pregnancy. Our study did not find a more significant delay in time to pregnancy in patients with MS. There was no more significant clinical-obstetric morbidity in the patients exposed to FME during pregnancy. More importantly, in our study, we found a different basal concentration

of cytokines in serum, depending on the patients' presence or absence of relapses. Finally, we show that neurofilaments can be useful as a surrogate biomarker of neuroaxonal damage during pregnancy. Improving our knowledge of the different tolerogenic mechanisms that occur during pregnancy and their influence on the MS course could help us find specific biomarkers that help predict the disease's clinical evolution and might guide the development of new therapeutic strategies.

1. INTRODUCCIÓN:

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad autoinmune y neurodegenerativa crónica del sistema nervioso central (SNC). Es la enfermedad incapacitante no traumática más común que afecta a los adultos jóvenes,[1] con una prevalencia estimada de 2.5 millones de individuos afectados en todo el mundo. La EM se caracteriza por presentar inflamación, focos de desmielinización y neurodegeneración en el cerebro y médula espinal, causando una afectación clínica gradual y progresiva de los pacientes. La EM afecta principalmente a adultos jóvenes (rango de edad entre 20-40 años), y su prevalencia es mayor en mujeres, con un cociente aproximadamente de 2-3:1.

En las últimas décadas, se ha registrado una incidencia y prevalencia crecientes de EM, tanto en los países desarrollados como en los países en vías de desarrollo, y la causa subyacente a este fenómeno sigue siendo incierta.[2] El impacto social y económico de la enfermedad es muy alto, dado que afecta a los pacientes en una edad decisiva en la vida laboral y planificación familiar.

La mayor parte de los pacientes debutan con la forma recidivante-remitente de la esclerosis múltiple (EMRR), que se caracteriza por la aparición de episodios bien definidos de empeoramiento clínico, llamados brotes, seguidas por periodos de remisión completa o parcial. De los pacientes con EMRR, el 65% evoluciona con el paso del tiempo a una fase secundaria-progresiva (EMSP), caracterizada por un aumento progresivo de la discapacidad, con o sin brotes asociados. Por otro lado, un 10% de los pacientes con EM presenta un curso progresivo desde el diagnóstico (EMPP), sin presentar brotes, aunque si pueden tener actividad inflamatoria focal en la resonancia magnética (RM).[3, 4]

La sintomatología inicial de la EM es heterogénea, pudiendo iniciarse con síntomas sensitivos, trastornos visuales, déficits motores y trastornos urinarios.[5] Las

manifestaciones clínicas de la enfermedad se correlacionan muchas veces con la localización de las lesiones focales del SNC. Además, existe una gran disparidad en el curso evolutivo de la enfermedad entre distintos pacientes, pudiendo influir la frecuencia de brotes, su topografía y su gravedad. La heterogeneidad de la EM también puede observarse a nivel microscópico, dado que los patrones histológicos de desmielinización pueden ser diferentes en los distintos pacientes.[6]

1.1 HISTORIA DE LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE

Los primeros casos reportados de la EM se deben a Robert Carswell, en el año 1838 y a Jean Cruveilhier, en el año 1841.[7, 8] Sin embargo, fue Jean-Martin Charcot (1825-1893) quien realizó la primera descripción clínica completa de la enfermedad y la primera correlación entre los hallazgos vistos en la anatomía patológica y las manifestaciones clínicas de los pacientes afectados. En sus descripciones, tras la necropsia de un paciente afecto, Charcot detalló la presencia de unas "placas esclerosadas", que afectaban predominantemente la zona periventricular, la protuberancia anular y la médula espinal.[9] Posteriormente, en el año 1884, fue Pierre Marie quien sugirió un origen infeccioso de la EM, tras observar que los síntomas de la enfermedad podían empeorar después de un proceso infeccioso o un proceso febril.[10] El concepto de EM como enfermedad de etiología autoinmune lo introdujo inicialmente Thomas River, en el año 1935, tras desarrollar un modelo EM en animales de experimentación, denominado Encefalitis Autoinmune Experimental (EAE). En este modelo de la enfermedad, se lograba el desarrollo de hallazgos anatomopatológicos similares a la EM mediante la inoculación de tejido neural en animales de experimentación.[11] Dichas hipótesis se respaldaron tras el estudio del líquido cefalorraquídeo (LCR). El estudio sistemático del LCR mediante la punción lumbar en pacientes con EM fue introducido por Quinke y Winter a finales del siglo XIX.[12]

En 1942, Kabat fue el primero en utilizar la electroforesis en el LCR, encontrando un patrón oligoclonal de inmunoglobulinas de tipo IgG restringido al LCR de los pacientes con EM.[13] En 1955, Kurtzke propuso la introducción de una escala clínica que facilitaba la medición sistemática del grado de afectación clínica que podía tener un paciente. Esta escala fue de universal aceptación y facilitó tanto la valoración física en la práctica clínica diaria, como la comparación de pacientes entre diferentes centros para los ensayos clínicos.[14] Más adelante, la introducción de la RM significó uno de los avances más disruptivos en el conocimiento de la EM, permitiendo identificar las lesiones desmielinizantes del SNC conforme se iban produciendo.[15]

1.2. EPIDEMIOLOGÍA

La prevalencia de la enfermedad varía considerablemente en todo el mundo, y puede verse influida por la latitud de cada región estudiada en concreto. Se vio que la mayor frecuencia de la enfermedad se da entre los 40° y 60° de latitud norte, ocurriendo algo similar en el hemisferio sur. Así, entre las zonas de mayor prevalencia se encuentran los países del norte de Europa, los Estados Unidos, Japón, Australia y Nueva Zelanda. Kurtzke originalmente dividió la prevalencia de EM en 3 estratos, con zonas de riesgo alto (>30 casos/100.000 habitantes), de riesgo medio (de 5-25 casos/100.000 habitantes) y de riesgo bajo (<5 casos /100.000 habitantes).[16] La tasa de prevalencia ha aumentado desde esa primera clasificación, y actualmente se clasifica de la siguiente forma: alto >100/100.000 habitantes, medio de 50-100/100.000 habitantes y bajo <50/100.000 habitantes. En España, la incidencia se sitúa en torno a los 125 casos/100.000 habitantes, por lo que se lo incluye dentro de los países con una prevalencia alta.[17, 18] La proporción de afectados según el sexo también ha variado, estando ahora cerca del ratio 3:1 (mujeres: hombres) en la mayoría de los países desarrollados.[19]

Los estudios de migraciones poblacionales indican que el tiempo transcurrido desde la exposición a los factores de riesgo ambientales y el inicio de la enfermedad está en torno a los 10-20 años.[20]. Los estudios anatómo-patológicos indican que la fase preclínica de la EM podría durar varios años, incluso décadas. En esta línea, una serie danesa describió hallazgos en necropsia típicos de EM en hasta una cuarta parte de personas no diagnosticadas de EM en vida.[21] Los estudios de migración apoyan consistentemente que la EM esté relacionada con algún factor causal de tipo medioambiental, pero aún queda por determinar el agente involucrado.[22] Los adultos migrantes de países de bajo riesgo a Europa tienen un bajo riesgo de desarrollar EM; sin embargo, los niños nacidos de inmigrantes que han nacido en Europa están en alto riesgo.[23]

1.3 ETIOLOGÍA

La EM tiene una etiología aún desconocida. No obstante, la información de la que se dispone en la actualidad permite incluir a la EM dentro de las llamadas enfermedades con fisiopatología autoinmune. En este sentido, la EM se ha clasificado históricamente como una enfermedad autoinmune mediada por células T órgano-específicas. Sin embargo, el éxito de las terapias dirigidas a las células B desafía el dogma clásico que implicaba en la fisiopatología de la EM la participación exclusiva de las células T.[24] Además, se cree que el origen de la enfermedad es multifactorial, interviniendo factores tanto ambientales como genéticos. El virus Epstein Bar (EBV), la luz solar (UVB), el tabaquismo y la vitamina D, combinados con el perfil genético de un individuo, juegan un papel importante en el desarrollo de la EM.[25]

1.3.1 Factores genéticos

Los factores genéticos pueden estar involucrados en el desarrollo de la EM. [26] El riesgo de padecer EM de un familiar varía dependiendo del grado de parentesco con el paciente en cuestión.[27] Mientras que el riesgo de EM para la población general está en torno al 0,1%, los familiares en primer grado de un paciente con EM tienen un riesgo del 3 al 5%. [28] La afectación simultánea en gemelos monocigotos es del 30%, frente al 3 al 5% en gemelos dicigotos.[29] Los hijos adoptivos y los esposos de los sujetos afectados no tienen mayor riesgo de padecer EM que la población general.[30] La primera asociación genética documentada de la EM fue descrita con el complejo principal de histocompatibilidad, localizado en el cromosoma 6,[31] en particular el alelo HLA-DR2 y su haplotipo DR15.[32, 33] En el último estudio de asociación del genoma completo encontraron que el alelo HLA-DRB1*01 tenía la mayor asociación con la enfermedad.[34]

Con posterioridad, se describieron múltiples genes adicionales que se asociaron con la susceptibilidad de padecer la EM. La mayoría de los genes identificados están relacionados con el sistema inmunitario, sobre todo con moléculas que intervienen en la proliferación y activación de linfocitos T. Entre ellos destacan el receptor de TNF 1 (TNF-R1),[35] el gen que codifica la cadena α de la interleucina 2 (IL-2) [36–38] e IL-7,[35] o la señalización por el Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer Of Activated B Cells (Nf- κ B).[39]

El principal riesgo genético asociado con la EM reside en HLA-DRB1*15 y otros loci relacionados con este alelo.[40] Los heterocigotos para HLA-DRB1*15:01 tienen una odds ratio (OR)>3 para padecer EM, y los homocigotos una OR:6. [40] No obstante, el mecanismo implicado en esta predisposición es desconocido. Se presume que el papel de HLA-DRB1*15:01 se da a través de la presentación de antígenos; esto también podría explicar los efectos protectores que se ven en los alelos de clase 1 (por

ejemplo, HLA-A*02: 01).[41] Los estudios de asociación de todo el genoma han identificado más de 150 polimorfismos de un solo nucleótido asociados con la susceptibilidad a la EM.[34] De manera interesante, un trabajo reciente ha descrito diferencias genéticas entre la EMRR y la EM primaria progresiva (PPMS), no visto en estudios previos.[42] Como dato adicional que pudiera apoyar una influencia genética en la susceptibilidad a la EM; se describió que aproximadamente uno de cada ocho pacientes tiene antecedentes familiares de EM.[43]

1.3.2 Factores medioambientales

Los factores genéticos solo podrían explicar una pequeña proporción de las diferentes prevalencias geográficas que presenta la EM. En el desarrollo de la enfermedad puede intervenir la exposición a diversos factores medioambientales como puede ser la exposición solar, la infección previa por el virus Epstein Bar (VEB) o herpes virus 6 (HHV-6), el tabaquismo y los niveles en suero de vitamina D, entre otros.[44] El efecto del mes de nacimiento y el aumento de la prevalencia entre los gemelos dicigóticos, indica que el entorno intrauterino es importante para establecer el riesgo de EM. No obstante, aún no queda claro el mecanismo intrínseco que pueda explicar estos hechos.[25]

La vitamina D es de uno de los factores medioambientales más estrechamente asociados con el desarrollo de la EM.[45] Se cree que la vitamina D tiene un papel protector para padecer la enfermedad, ya que se ha observado que existe una correlación inversa entre la prevalencia de EM, la exposición solar del paciente y sus niveles séricos de vitamina D.[45] [46] Además, niveles bajos de vitamina D también se han asociado con mayor actividad inflamatoria y progresión de la enfermedad.[47, 48]

La prevalencia de la EM aumenta con la latitud; sin embargo, este gradiente está disminuyendo en Noruega y los EE.UU., los dos países donde se ha descrito este fenómeno originalmente.[49] El gradiente latitudinal en la prevalencia de EM está fuertemente relacionado con los rayos ultravioletas tipo B, que estimulan la producción cutánea de vitamina D. Los niveles bajos de vitamina D, ya sea debido a una baja exposición solar o bien a la presencia de distintos polimorfismos genéticos específicos, han incluido a la vitamina D como factor causal relacionado con la EM.[47][50]

Por otro lado, distintos estudios epidemiológicos mostraron una posible asociación de la enfermedad EM con infecciones virales que el paciente ya haya superado. En este sentido, la mayoría de estudios demuestran una asociación de la EM con el virus de Epstein-Barr (EBV). Aunque el 90% de la población general muestra anticuerpos frente EBV, títulos altos de estos anticuerpos se han asociado con un riesgo más elevado de padecer EM, al igual que el haber padecido una coinfección por dos cepas distintas del virus[51] o bien el haber tenido mononucleosis infecciosa.[52] Una hipótesis propuesta para explicar la posible influencia del EBV en la EM sugiere que la migración al SNC de los linfocitos B infectados por este virus activa a linfocitos T efectores en las meninges y espacios perivasculares.[53–55] Sin embargo, todavía hay controversia sobre la presencia de RNA del EBV en el tejido cerebral y LCR.[56] Una hipótesis alternativa postula que la infección por EBV provocaría una desregulación inmunitaria, ya que la infección por este virus también se ha vinculado con el riesgo a padecer otras enfermedades autoinmunes.[57] El ser seronegativo para EBV protege contra el desarrollo de la EM.[58] Padecer mononucleosis infecciosa, que es principal manifestación sintomática del EBV, duplica las posibilidades de ser diagnosticado de EM.[59] Más recientemente, se ha pensado que la inmortalización y/o transformación de células B inducida por EBV juega un papel importante en el desarrollo de la

enfermedad.[60] La EM también se ha asociado con el Virus Humano Herpes 6 (HHV-6). El DNA de este virus se ha detectado en el cerebro, LCR y suero de pacientes con EM.[61] Así mismo, los títulos de anticuerpos en suero de este virus se pueden correlacionar con la aparición de futuros brotes.[62, 63]

Otro factor medioambiental relacionado con la EM ha sido el tabaquismo. Fumar tabaco aumenta la susceptibilidad de padecer la enfermedad.[64] Además, los fumadores pueden tener una enfermedad más agresiva, con mayor incidencia de brotes y un mayor grado de discapacidad posterior.[65, 66] Así mismo, el riesgo de conversión a una forma de EMSP es mayor en los pacientes fumadores.[67] Se cree que el fumar puede explicar también hasta un 40% de la mayor incidencia de EM en mujeres.[68]

Por otra parte, la alimentación también puede relacionarse con la EM. La obesidad en concreto también es un factor de riesgo para desarrollar EM. Diversos estudios observacionales han demostrado que un índice de masa corporal (IMC) elevado en la niñez y adolescencia se asocia con un mayor riesgo a desarrollar la enfermedad con posterioridad.[69, 70] Otros hábitos alimenticios, como pueden ser un consumo de sal, también se han asociado también con la EM. En concreto, el consumo elevado de sal se ha correlacionado con un aumento en la actividad clínica y radiológica de pacientes adultos con EMRR.[71] Por el contrario, en la EM pediátrica no han encontrado asociación entre un consumo elevado de sal y la incidencia de brotes.[72]

1.4 FORMAS CLÍNICAS DE LA ENFERMEDAD

Aunque el curso de la enfermedad y la sintomatología pueden ser heterogéneos, se han descrito distintas formas de presentación y evolución bien caracterizados, que han permitido su clasificación en distintas formas.[73] De acuerdo con un consenso del 2013 respecto al curso clínico de la EM, a esta se la considera como una enfermedad

única, que puede evolucionar por fases según el estadio evolutivo en que se encuentre el paciente. En la mayoría de los pacientes suele predominar una fase inflamatoria, pasando con posterioridad a una fase neurodegenerativa.[74]

Las formas de presentación más frecuentes incluyen la neuritis óptica, la afectación troncoencefálica y los síndromes de la médula espinal; sin embargo, la EM puede debutar con una sintomatología clínica menos habitual, incluido los síntomas corticales. Los brotes de EM se desarrollan generalmente de forma progresiva y subaguda, necesitando días para llegar a su manifestación máxima. Los síntomas que presenta el brote suelen alcanzar una meseta, que dura varias semanas y luego merman gradualmente. La recuperación clínica tras un brote puede ser completa, sobre todo en aquellos pacientes jóvenes que están en una fase inicial de la enfermedad. Sin embargo, una recuperación clínica completa no significa que la ocurrencia de un brote sea inocua. Por ejemplo, tras una neuritis óptica aguda, pueden persistir secuelas como alteraciones de la visión cromática, la sensibilidad al contraste y la percepción de profundidad.[75] A nivel cerebral, a medida que se pierde la reserva neuronal, la recuperación de los brotes puede ser incompleta, acumulándose un déficit neurológicos que conduce gradual a una mayor discapacidad.

Previo al uso generalizado de los Fármacos modificadores de la Enfermedad (FME), la fase SP de la EM solía desarrollarse tras 10 a 15 años del debut de la enfermedad, combinando un lento acúmulo de discapacidad con la presencia de brotes leves. A nivel clínico, no existe una transición fácilmente discernible entre los distintos tipos de formas clínicas de la EM. La fase progresiva es más fácilmente diagnosticable de manera retrospectiva.

El 85% de los pacientes comienzan su EM con la llamada forma RR, que está caracterizada por la aparición de brotes de disfunción neurológica focal, más o menos

reversibles, que pueden repetirse en el tiempo. Dentro de este fenotipo se engloba el síndrome desmielinizante aislado, que consiste en un primer episodio agudo que afecta a una o varias áreas del SNC, y es la forma en la que debuta el 80% de los pacientes.[5] En 5% al 15% de los casos hay un inicio progresivo, la llamada EM primaria progresiva (PPMS), que típicamente cursa con una acumulación gradual de discapacidad. La presentación más común de esta forma de EM es mediante una paraparesia espástica progresiva, aunque la ataxia de la marcha, los fallos visuales y las alteraciones cognitivas también han sido descritos.

La EM se define como activa cuando se produce la aparición de un brote clínico, o bien cuando se objetiva la presencia de nuevas lesiones de RM en el transcurso del tiempo. Además, la EM se puede subclasificar según los pacientes hayan mostrado datos de progresión de la discapacidad en el tiempo, o no.[74]

Por último, se ha visto que el rendimiento escolar en niños que luego desarrollan EM es más pobre que el de sus compañeros[76], y una cuarta parte de los pacientes con RIS tienen un deterioro cognitivo significativo con un perfil similar a los pacientes con EM establecida.[77] Esto parece indicar que los cambios inflamatorios y neurodegenerativos típicos de la EM aparecen pueden ir apareciendo en el paciente mucho antes del momento en que se establece el diagnóstico.

1.5 DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de la EM sigue siendo esencialmente clínico, basado en la presencia de síntomas y signos típicos de su afectación en el SNC, que comprometen diversos territorios topográficos, y que dicha afectación sucede sumatoriamente en el tiempo (lo que se denomina diseminación espacial y temporal), siempre y cuando hayan sido excluidas otras distintas causas que pudieran explicar mejor los síntomas que padece el paciente. No existe ninguna prueba específica que determine el diagnóstico

inequívoco de la EM. Hay numerosas enfermedades que afectan al SNC que pueden dar una sintomatología clínica o unos hallazgos radiológicos similares a la EM, y pueden ser de causas infecciosas, autoinmunes, metabólicas o neurodegenerativas. Por esto, en el proceso diagnóstico a realizar ante sospecha de EM es necesario incluir pruebas diagnósticas complementarias de perfil inmunológico, microbiológico y bioquímico, para excluir la presencia de metabolopatías, infecciones y otras enfermedades autoinmunes que pudieran simular una EM.[78]

Por todo esto, ante un paciente con sospecha de EM, existen una serie de pruebas complementarias que son esenciales para facilitar un diagnóstico más precoz y preciso. Estas herramientas son el estudio del LCR, la RM cerebral y medular, y los potenciales evocados y la analítica sanguínea.

1.5.1 Resonancia magnética

La RM cerebral tiene una sensibilidad en la detección de placas de desmielinización en torno al 95%. Sin embargo su eficacia está limitada por su baja especificidad, dado que no siempre se logra distinguir entre lesiones de distinta etiología. A pesar de ello, las imágenes de RM ayudan a evaluar la actividad de la enfermedad, su evolución clínica, la respuesta a tratamiento y sirven para correlacionarse con el grado de discapacidad de un paciente.[79] Se ampliará toda la información relacionada con la RM en el apartado de diagnóstico.

1.5.2 Potenciales evocados

Los potenciales evocados sirven para evaluar la transmisión de los impulsos eléctricos en el SNC tras la estimulación de un órgano sensitivo o sensorial periférico. La normal transmisión de estas señales eléctricas se ven comprometidas en presencia de lesiones

desmielinantes. De esta manera, los potenciales evocados de distintos sistemas sensitivos aferentes pueden encontrarse atenuados, ausentes o retrasados en presencia de placas de EM. Los potenciales evocados tampoco son específicos de ninguna enfermedad en concreto, pero su utilidad radica en que permiten la detección y determinación de lesiones asintomáticas del SNC.

1.5.3 Análisis de LCR

En EM, hasta en un 96% de los pacientes se detecta una síntesis inmunoglobulinas IgG dentro del SNC. La síntesis intratecal de IgG se puede estudiar por distintos métodos. Los métodos semicuantitativos se basan en la determinación de una serie de índices. Los más utilizados son el índice de Tourtellote [80] y los índices de Reiber[81] y de Tibbling [82]. El más sencillo es el índice de IgG, cuya fórmula es:

$$\text{Índice de IgG: } (\text{IgG-LCR/IgG-suero}) / (\text{Albúmina-LCR/Albúmina suero})$$

El uso del cociente de albúmina pretende ajustar la posible elevación de la IgG de LCR debida a un daño de la BHE, que puede generar sesgos, al permitir el paso de inmunoglobulinas séricas al espacio intratecal. En situaciones donde se produce una rotura de la BHE, aumenta tanto la cantidad de IgG como de albúmina intratecal, debido a su difusión desde el suero, sin que aumente el índice de IgG.

Los valores normales del Índice de IgG se sitúan entre 0,3-0,7. Valores superiores a 0.7 indican una síntesis intratecal de IgG. Este método presenta una alta especificidad pero baja sensibilidad ya que alrededor del 30% de pacientes con síntesis intratecal de IgG tienen valores normales según los métodos semicuantitativos.

Los métodos de detección de síntesis intratecal de inmunoglobulinas de tipo cualitativo son los más sensibles y se basan en la detección de bandas oligoclonales (BOC) en el LCR. Sin embargo, al igual que el resto de pruebas complementarias en EM, su

presencia no es patognomónica de la enfermedad. Por ejemplo, las BOC también se pueden encontrar en algunas infecciones del SNC.[83]

1.5.4 Criterios diagnósticos

A lo largo de los años, ha habido diferentes criterios diagnósticos para la EM, que se han ido actualizando conforme avanzaba el conocimiento de la enfermedad. Los más utilizados fueron los establecidos por Poser en el año 1983.[84] Ante la creciente evidencia científica que indicaba que el daño del SNC se producía ya desde etapas tempranas de la EM, surgió la necesidad de poner plantear un inicio precoz del tratamiento con FME, para prevenir la aparición posterior de un daño irreversible. En este contexto, en el año 2000, un comité internacional de expertos presidido por McDonald propuso una serie de nuevos criterios diagnósticos para la EM. La versión más actualizada de dichos criterios data del año 2017.[85] En esencia, para diagnosticar EM es necesario demostrar la ocurrencia de brotes a nivel clínico, y la presencia de lesiones en la RM cráneo-medular. En la RM, las lesiones deben cumplir criterios de diseminación espacial (DIS, por sus siglas en inglés), y de diseminación temporal (DIT, en inglés). La mayor disponibilidad universal de la RM ha facilitado un diagnóstico cada vez más precoz de la EM. El criterio de DIS se puede demostrarse con la presencia de 1 o 2 lesiones T2, con una característica típica de EM, que afecte topográficamente al menos dos territorios habituales en EM (localización yuxtacortical, periventricular, infratentorial y medular). La diseminación en el tiempo se demuestra mediante la aparición de una nueva lesión en T2 y/o una lesión captantes de gadolinio en las RM sucesivas, o bien por la coincidencia en una misma RM de lesiones captantes y no captantes.[86] En la última versión de los criterios diagnósticos de McDonald, se da una mayor importancia al análisis de LCR, dado que es la única

herramienta que ayuda a atribuir un origen inflamatorio de la enfermedad. El análisis inicial del LCR es útil tanto como factor diagnóstico de la EM, como factor de pronóstico.[87] En los criterios diagnósticos actuales, la presencia de BOC puede equipararse al criterio radiológico de DIT.[88]

1.6 NEUROPATOLOGÍA

La EM se caracteriza por la aparición de lesiones focales en la sustancia blanca, localizadas tanto en corteza cerebral como en región subcortical. En estas lesiones, existe una pérdida de mielina, asociando un grado variable de daño axonal.[89, 90]

1.6.1 Desmielinización en la sustancia blanca

En la EM, las lesiones de la sustancia blanca suelen ser múltiples, y se localizan topográficamente en zonas características del SNC: perivenulares, yuxtacorticales, en nervio óptico y médula espinal. Su tamaño es variable, generalmente son inferiores a 1,5 cm de diámetro, aunque pueden situarse cerca las unas de las otras, formando placas de un mayor tamaño.[91] El sello característico patológico de la EM son las lesiones inflamatorias perivenulares, que conducen a la formación de placas desmielinizantes.[92]

Las lesiones desmielinizantes pueden tener diferente clasificación, según su situación y estadio evolutivo. Así, puede haber placas con inflamación activa, placas inactivas y placas donde predomina la remielinización.[93] En las fases iniciales de la EMRR, se ven "lesiones desmielinizantes activas", donde predomina la inflamación local, con la participación de linfocitos activa. En la fase progresiva de la enfermedad, en cambio, las lesiones tienden a tener un núcleo de lesión inactivo rodeado por un borde estrecho de microglia y macrófagos activados.[94]

Las lesiones activas tienen un borde mal definido, y se caracterizan por un importante infiltrado inflamatorio, formado por linfocitos T CD8+ de MHC clase I, macrófagos y

microglía activada. Las células B y las células plasmáticas también están presentes en las placas desmielinizantes, aunque en menor proporción.[89] En estas lesiones pueden verse también restos de mielina, producto de la digestión por parte de macrófagos.[95] Como resultado de la inflamación local, se produce en el cerebro un daño en los oligodendrocitos, y existe una posterior desmielinización focal. En fases iniciales de la enfermedad, esta inflamación focal no afecta a los axones, que se mantienen indemnes. Sin embargo, a medida que la enfermedad progresa, se produce un daño axonal irreversible.[96]

La composición del infiltrado inflamatorio en la EMRR y progresiva es similar, aunque varía en proporción, siendo mayor la cantidad de células B y células plasmáticas en la EM progresiva.[97] Aún no está claro si el perfil de citocinas o la etapa de activación de las células T y las células B difieren entre los distintos tipos de formas clínicas de la EM.[89] La remielinización se observa en todas las etapas de la enfermedad, aunque es más común en la fase progresiva.[89]

No existe una diferencia histológica única entre los distintos subtipos de EM, sino que hay una diferente proporción de los componentes celulares a nivel microscópico. Por lo tanto, aunque se han definido distintas formas clínicas de EM, los cambios vistos en la anatomía patológica pueden ir progresando evolutivamente. Esto podría encajar con la evolución gradual clínica que pueden experimentar los pacientes, desde EMRR hasta la fase progresiva durante décadas.[98]

Las lesiones crónicas se caracterizan por tener poca actividad inflamatoria, y mantener márgenes bien definidos. A nivel histológico, existe una pérdida de vainas de mielina y de oligodendrocitos, viéndose axones desmielinizados. Además, en lesiones crónicas que presentan aún actividad inflamatoria, puede verse la microglía activada en la periferia de la lesión.[94] En algunos casos, puede existir una remielinización parcial,

observándose la existencia de oligodendrocitos y de axones débilmente mielinizados. Esto sucede en las placas “en sombra”. [99]

1.6.2 Lesiones en la sustancia gris

La afectación de la sustancia gris en EM comenzó a considerarse con más detenimiento en los últimos años, dado que ahora se sabe que el volumen global de desmielinización que afecta la zona cortical puede superar incluso al de la sustancia blanca. [69] Las lesiones neocorticales se pueden clasificar en tres tipos, en función de su localización y extensión: lesiones tipo I (o leucocorticales) que abarcan tanto la sustancia blanca como la sustancia gris; lesiones tipo II (o intracorticales), que son lesiones que se encuentran dentro de la sustancia gris, y las lesiones tipo III (o subpiales) que se extiende desde la pía hasta las láminas corticales. [100] La mayoría de las lesiones corticales son de tipo III (subpiales). [101] En comparación con las lesiones activas de la sustancia blanca, las lesiones corticales tienen menos células inflamatorias. [102] Este hecho podría explicarse por el estado crónico de dichas lesiones. Las lesiones corticales se asocian, además, con una inflamación contigua de las leptomeninges, generando así una afectación tanto difusa como focal, en forma de folículos linfoides ectópicos. [103] La presencia de lesiones corticales se asocia con una mayor morbilidad, gravedad en el curso y mortalidad de la EM. [104]

1.6.3 Sustancia blanca y gris aparentemente normal

En pacientes con EM, la sustancia blanca y gris pueden no mostrar placas desmielinizantes ni alteraciones patológicas a nivel microscópico, pero eso no significa que el parénquima no esté afecto. Se ha demostrado que la sustancia blanca y gris “aparentemente normal” también presentan cambios estructurales, tanto a nivel histológico como molecular, sugiriendo que existen también déficits asociados en el

transporte axonal.[105] A menudo, se encuentran cambios en los nódulos de Ranvier y datos de disfunción axonal. El daño neuronal en estas zonas “aparentemente normales” es independiente de la desmielinización local.[106, 107] Los análisis realizados hasta ahora sugieren que la disfunción axonal se podría deber a la activación de la microglía que causa estrés oxidativo y secreción de enzimas proteolíticos.[108]

1.7 FISIOPATOLOGÍA

La EM se considera una enfermedad de tipo autoinmune. La hipótesis más aceptada postula que linfocitos T autorreactivos desencadenarían una respuesta inflamatoria patológica dirigida hacia una diana intratecal que está aún sin identificar. La activación de estas células autorreactivas se podría generar mediante un mecanismo de mimetismo molecular (con epítopos compartidos por la mielina y posibles agentes infecciosos) o bien a través de superantígenos virales o bacterianos.

En los órganos linfoides periféricos, las células T CD4+ autorreactivas se activan tras interactuar con las células presentadoras de antígeno (CPA) e interactúan con las células B y los linfocitos T CD8+ induciendo su activación. Esto aumenta la expresión de moléculas de adhesión que les permiten traspasar la BHE. Ya en el sistema nervioso central, los linfocitos T CD4+ autoreactivos pueden iniciar una reacción inflamatoria local mediante la secreción de diversas citoquinas pro-inflamatorias como pueden ser el IFN- γ , TNF- α y la IL-17. Estas citoquinas, a su vez, desencadenan la activación de macrófagos y microglía, que inducen el reclutamiento de más linfocitos adicionales hacia el SNC (linfocitos T CD4+, linfocitos B, linfocitos T CD8 y monocitos). De esta manera, se promueve la desmielinización focal y el daño de neuronal. Estos procesos patológicos son mediados tanto por un mecanismo citotóxico directo (linfocitos T CD8+ citotóxicos), por el depósito de inmunoglobulina-complemento o bien a través de citoquinas inductoras de apoptosis como el TNF-alfa. Como consecuencia del daño

tisular cerebral sufrido, se expondrían a su vez nuevos antígenos adicionales, que producirían la diseminación de epítomos y se ampliaría así la respuesta de los linfocitos T. [109]

1.8 TRATAMIENTO

La EM es una enfermedad aún incurable. No obstante, en las últimas 2 décadas se han desarrollado numerosos tratamientos que demostraron ser efectivos en la reducción de brotes y de nuevas lesiones en RM, además de reducir la progresión de atrofia cerebral y discapacidad en general. El tratamiento de la EM se puede dividir en terapias modificadoras de la enfermedad, que tienden a ser específicas para la EM, y terapias sintomáticas, utilizadas para tratar los distintos síntomas que pudiera tener el paciente.

1.8.1 Fármacos Modificadores de la Enfermedad

Inicialmente, se disponía de los llamados FME solo para las formas en brotes de la EM. En la actualidad, existen FME también útiles en las formas progresivas de la misma. En sentido general, la aparición gradual de tratamientos para tratar la EM, sumado a una menor tolerancia de la comunidad médica a la presencia de actividad inflamatoria en el SNC, están cambiando la evolución a largo plazo de las personas con EM.

Históricamente, los primeros fármacos inmunomoduladores que se utilizaron para el tratamiento de la EM fueron el interferón beta (IFN-B) y el acetato de glatirámico. El mecanismo de acción del interferón beta es aún desconocido. No obstante, se sabe que modula la respuesta proinflamatoria hacia un perfil más antiinflamatorio, promoviendo distintos mecanismos reguladores.[110] Por otro lado, el acetato de glatirámico es un tetrapéptido sintético que demostró suprimir la inducción de EAE en

animales de experimentación. En humanos, se cree que su efecto terapéutico se produce a nivel periférico, gracias a una atenuación de la respuesta inflamatoria mediante la inducción de tolerancia a algunos antígenos de la mielina.[111]

Con el paso de los años, se desarrollaron diversas terapias para el tratamiento de la EM, que van dirigidas hacia diferentes dianas del sistema inmunitario, y tienen diferentes mecanismos de acción. De esta manera, en la actualidad se puede ofrecer un tratamiento más personalizado para esta enfermedad, pudiendo elegir incluso entre distintas posologías de un mismo tratamiento (ej en IFN-B). Dentro de las diferentes opciones de tratamiento, está el natalizumab, que es un anticuerpo monoclonal dirigido hacia la α 4-integrina linfocitaria e impide la migración de los linfocitos al SNC [112] o Alemtuzumab, que es un anticuerpo anti-CD52. El Alemtuzumab es un fármaco que induce una depleción de linfocitos hemáticos seguida de una repoblación que tiene como objeto la inducción de una “reprogramación” de la inmunidad adaptativa.[113]

En el tratamiento de la EM, uno de los hitos importantes de los últimos años fue la introducción de tratamientos orales, como fue el caso del fingolimod, que es un fármaco modulador del receptor de la esfingosina-1-fosfato y retiene a los linfocitos activados en los ganglios linfáticos periféricos.[114] Otra opción disponible por vía oral es la Teriflunomida, que disminuye la proliferación de linfocitos T y B activados mediante la inhibición de la enzima mitocondrial dihidroorotato deshidrogenasa.[115]

Además, el dimetil-fumarato también está disponible por vía oral, es un agente inmunomodulador que induce la inhibición de células de memoria y células efectoras y un aumento de células reguladoras por mecanismos aún no del todo conocidos entre los que podría estar la activación de factor nuclear kappa 2.[116] Más recientemente, se dispone de la cladribina, que es nucleósido análogo de la desoxiadenosina. Su mecanismo de acción radica en la inducción de la apoptosis linfocitaria, mediante

acciones directas e indirectas sobre la síntesis de DNA y la función mitocondrial del linfocito. El mecanismo mediante el que la cladribina ejerce sus efectos beneficiosos en la EM no está completamente esclarecido, pero se piensa que está relacionada con la depleción selectiva de los linfocitos B y T, influyendo en la cascada de eventos inmunitarios asociados a la EM.[117] [118] Además, más recientemente salió al mercado el ocrelizumab, que es un anticuerpo monoclonal anti-CD20, que produce una depleción específica de los linfocitos B. El ocrelizumab es la primera opción terapéutica disponible para las formas progresivas de la enfermedad.[110]

Debido al aumento en el arsenal terapéutico disponible, y a los efectos secundarios potenciales que pueden tener algunos tratamientos, es muy importante la búsqueda de biomarcadores que permitan identificar aquellos fármacos que presenten un mejor perfil de eficacia y seguridad para cada paciente en concreto, posibilitando así la terapia especializada en la enfermedad. Esta necesidad en EM está aún sin cubrir de manera universal.

1.8.2 Tratamientos de los distintos síntomas asociados con la EM

Los tratamientos sintomáticos son aquellas distintas terapias, tanto farmacológicas como no-farmacológicas, que van dirigidas a atenuar los síntomas distintos que produce la EM, sin afectar en su evolución. En términos generales, estos tratamientos no son específicos de la EM. Dentro de los fármacos sintomáticos disponibles, se encuentran los anticolinérgicos para la disfunción de la vejiga, aunque pueden contribuir por su mecanismo de acción, al deterioro cognitivo del paciente, o bien medicamentos para el dolor neuropático, que suelen ser generalmente antidepresivos tricíclicos o antiepilépticos a dosis bajas. El tratamiento del deterioro cognitivo en la EM es complejo y se centra en la prevención, la detección precoz y la

neuroestimulación. Además, varias terapias sintomáticas han sido autorizadas específicamente para su uso en la EM, como puede ser el cannabidiol para el tratamiento de la espasticidad y fampridina para mejorar la marcha en pacientes que experimentan dificultades al caminar

Respecto al tratamiento de los brotes, cabe destacar que los corticoides siguen siendo la opción más utilizada, dado que disminuyen la intensidad y la duración de los mismos. La metilprednisolona a dosis altas, tanto por vía intravenosa como por vía oral, suele ser el fármaco más utilizado.

1.9 EMBARAZO Y ESCLEROSIS MÚLTIPLE

1.9.1 Cambios inmunológicos durante el Embarazo

En las mujeres embarazadas, la adaptación local del sistema inmune materno permite una coexistencia exitosa entre la madre y la unión feto-placentaria, que expresa en su superficie los genes maternos (propios) y paternos (ajenos).[119, 120] Las respuestas inmunes adaptativas de tipo citotóxico se ven atenuadas durante este periodo, mientras que la inmunidad adaptativa tolerogénica puede aumentar.[121] Por el contrario, la inmunidad innata permanece intacta durante un embarazo. De esta manera, el sistema inmunitario continúa proporcionando una defensa adecuada del huésped contra diferentes infecciones, y permite la interacción del organismo materno con los tejidos fetales para promover una placentación exitosa y que el embarazo llegue a término. [122–125]

1.9.2 Mecanismos de defensa inmunitaria de la placenta y las membranas extraplacentarias

Las características únicas de las células que componen la unión madre-placenta explican la notable capacidad que tiene el tejido fetal para habitar el huésped materno, a pesar de ser genéticamente distinto. La inmunidad materna influye en la correcta implantación de la decidua.[126] De esta manera, la placenta está protegida del ataque por parte de las células del sistema inmune materno mediante la síntesis de receptores solubles de citoquinas proinflamatorias que inhiben su unión a la membrana celular, la expresión de receptores de apoptosis (Fas) no funcionales y la secreción de citocinas anti-inflamatorias.[127–130]

1.9.3 Mecanismos protectores inmunes específicos

1.9.3.1 Expresión alterada de HLA y moléculas relacionadas

La respuesta inmune primaria de tipo celular, que se desarrolla contra un tejido trasplantado, se dirige habitualmente contra las principales proteínas del complejo principal de histocompatibilidad del tejido donante.[131] En los humanos, estas proteínas se denominan Antígenos Leucocitarios Humanos (HLA). Si bien conceptualmente se ha comparado la unión madre-placenta con un trasplante alogénico, la placenta no se comporta exactamente como trasplante típico, ya que las proteínas derivadas de los genes HLA no se expresan de manera codominante en las membranas celulares del trofoblasto, a diferencia de las células de otro tipo de órganos.

-HLA clase I: se cree que la regulación estricta de la expresión de moléculas específicas de HLA clase I en el trofoblastos protege al feto contra la inmunidad materna dirigida contra el HLA de clase I extraño (en este caso, paterno). Respecto al HLA de clase Ia, los trofoblastos extravillosos no expresan HLA-A o B sino exclusivamente HLA-C, que juega un papel importante en la protección de infecciones y en la inducción de tolerancia interactuando con los receptores inhibidores de las

células NK.[119, 132] Además expresan moléculas HLA no clásicas, como son la clase Ib, HLA-E, y HLA-G[119, 133, 134] que también pueden modular la respuesta inmune materna mediante su interacción con los receptores inhibidores de las NK uterinas, de los macrófagos y de las células T CD8+ citotóxicas,[119] facilitando así la placentación.[134, 135]

-Familia B7: estas moléculas coestimuladoras se expresan en las células del trofoblasto y pueden desempeñar un papel fundamental en la tolerancia inmunológica del feto. En concreto, la proteína B7H1, que tiene propiedades inhibitoras de linfocitos, se expresa exclusivamente en el sincitiotrofoblasto y reduce la activación de los linfocitos maternos. Además, el trofoblasto expresa el receptor de muerte programada tipo 1 (PD-1) que, al interactuar con su ligando (PD-L1) de los linfocitos maternos, promueve la estimulación de las células T reguladoras (Treg) e inhiben la activación de células Th17.[136–138]

-Micropartículas: se cree que las micropartículas derivadas de la placenta desempeñan un papel importante en la regulación del sistema inmunitario materno durante el embarazo. Estas pueden ser las microvesículas y los exosomas, que contienen distintas proteínas placentarias, ARNm y microARN. Diversos estudios han demostrado que el trofoblasto segrega FasL activo a través de exosomas y microvesículas, que favorecerían su tolerancia por parte del sistema inmune materno.[139, 140]

-Superfamilia de TNF: inducen apoptosis y pueden tener un papel importante en la protección de la placenta, al inducir la apoptosis de células T citotóxicas.[127, 128, 141, 142]

-Proteínas reguladoras del Complemento: Las células de trofoblasto expresan diversas proteínas reguladoras del complemento: CD46 (proteína cofactor de membrana [MCP]), CD55 (factor acelerador de la descomposición del complemento) y CD59

(inhibidor de la membrana de lisis reactiva).[143, 144] Las proteínas reguladoras del complemento son fundamentales para proteger los tejidos extraembrionarios de los anticuerpos citotóxicos maternos, ya que la activación del complemento conduciría a una opsonización y lisis posterior. La evidencia que respalda el papel de las proteínas reguladoras del complemento en la tolerancia inmuno-placentaria viene dada por distintos estudios de delección genética. En ratones, la ausencia de la proteína reguladora del complemento derivada del gen *Crry* conduce a una afectación placentaria mediada por el depósito local de complemento, que lleva a la lisis celular en el sitio de implantación, seguido de una reacción inflamatoria intensa y la muerte fetal.[145]

1.9.3.2 Factores inmunomoduladores sanguíneos

La modulación del sistema inmune materno durante el embarazo también puede ser conferida mediante la síntesis de distintas moléculas inmunosupresoras o inmunorreguladoras. Como ejemplo, la placenta humana produce progesterona, prostaglandina E2 (PGE2) y citoquinas antiinflamatorias, como son la interleucina (IL) 10 y la IL-4.[146]. Por ejemplo, la IL-10 parece estimular la producción de HLA-G [147], y esta vía puede ser importante en situaciones patológicas como puede ser la preeclampsia.[148] Los estudios que utilizan ratones “knockout” para IL-10 han resaltado el papel potencialmente protector que tiene esta citoquina durante el embarazo.[149] La Linfopoyetina Estromal Tímica (TSLP en inglés, por Thymic Stromal Lymphopoietin) también puede desempeñar un papel regulatorio durante el embarazo. La TSLP secretada por las células del trofoblasto estimula las células dendríticas deciduales (dDC) para producir IL-10 y el ligando 17 de la quimiocina (CCL17).[150]

1.9.4 Cambios inmunitarios del útero tras la implantación embrionaria

Uno de los primeros cambios inmunológicos que se producen en el útero materno tras su fecundación es un cambio en la proporción de distintas subpoblaciones leucocitarias. La población de células NK endometriales cambia de células NK uterinas a células NK deciduales (CD56brightCD16-), que son menos citotóxicas durante embarazo, tanto en humanos como en roedores.[151] Además, distintos datos apuntan a que estas células son esenciales para el mantenimiento del embarazo,[152] desempeñando un papel en la invasión del trofoblasto, la angiogénesis decidual y placentaria, y posiblemente la vasculogénesis fetal y uterina.[125, 153, 154]

Los macrófagos deciduales pueden experimentar una variabilidad fenotípica, adaptándose a los cambios del microambiente local. Durante el período de implantación, muestran un fenotipo M1 (inflamatorio). Durante el período de placentación, hay una mezcla de macrófagos deciduales M1 (inflamatorios) y M2 (toleragénicos). Luego de la fase de placentación, predominan los macrófagos del fenotipo M2.[152, 155] La placenta puede promover estos cambios mediante la secreción de distintos factores solubles.[152]

-Prostaglandina E2: La prostaglandina E2 (PGE2) es producida por macrófagos uterinos y células deciduales. Su presencia dificulta la proliferación linfocitaria.

-Progesterona: La progesterona es la hormona dominante del embarazo. Es producida inicialmente por el cuerpo lúteo, siendo la placenta la responsable de casi toda su producción durante el resto del embarazo. Altas concentraciones de progesterona pueden suprimir la respuesta inmune materna.[156] En relación a esto, la progesterona puede alterar el equilibrio de las células T helper 1 (Th1) / células T helper 2 (Th2) e inhibir la producción del TNF-alfa, tanto en animales de experimentación como en humanos.[157, 158]

Además, la población de células T uterinas durante el embarazo son principalmente de naturaleza reguladora.[159] De hecho, si se da un aumento anómalo de células T CD4 + Th17, o bien un ratio inadecuado Th17-Tregs, aumenta el riesgo de complicaciones del embarazo, como son el aborto espontáneo, la preclamsia y el parto prematuro.[160, 161]

1.9.5. Embarazo y EM

Dado que la EM se diagnostica con mayor frecuencia en mujeres jóvenes, el embarazo y la planificación familiar forman parte del día a día de muchas mujeres con EM. La evidencia actual sugiere que el embarazo no aumenta el riesgo de discapacidad a largo plazo en la EM. Sin embargo, esto no significa necesariamente que no haya morbilidad en este periodo, especialmente en aquellas pacientes que traen una enfermedad muy activa.[162]

1.9.6 Fármacos Modificadores de la Enfermedad y embarazo

Ninguno de los FME utilizados para el tratamiento de la EM tiene indicación durante el embarazo. No obstante, en pacientes que mantienen actividad clínica previo a la concepción, la evidencia científica actual contempla el posible uso de los FME más seguros durante el embarazo.[163] La exposición a los FME durante el proceso de gestación conlleva distintos tipos de riesgo, que dependen de cada FME en concreto y del momento gestacional en el que ocurren.[164, 165] A nivel científico, existe una gran dificultad para realizar estudios farmacológicos aleatorizados durante el embarazo, debido al riesgo potencial que pueden asociar y la dificultad para estudiar posibles complicaciones en madre y neonato.[166] Ante esto, los estudios de tipo caso-control, las cohortes prospectivas o los programas de fármaco-vigilancia suelen ser la

mejor alternativa disponible para proporcionar evidencia científica en este contexto.[167]

En 1979, la FDA estableció cinco categorías de riesgo de letras, A, B, C, D o X, para indicar el potencial riesgo de un medicamento si se usa durante un embarazo, en base a lo estudiado en animales de experimentación y exposiciones en seres humanos. En 2015, la FDA reemplazó dichas categorías de riesgo por un resumen más descriptivo del riesgo, basado en los datos disponibles. De esta manera, todos los fármacos y tratamientos biológicos aprobados después del 2015 deben proporcionar en su ficha técnica toda la información disponible sobre el riesgo obstétrico, ya que de esta manera es más fácil de entender y facilita la toma de decisiones. Se cree que fármacos que aún mantienen la nomenclatura de riesgo obstétrico de tipo alfabética clásica, probablemente tengan que incorporar gradualmente los cambios en su ficha técnica en un futuro cercano.

Algunos FME necesitan un período de lavado obligatorio para evitar cualquier posible interferencia con el desarrollo fetal. De esta manera, a veces se requiere un período de lavado controlado, para evitar una reactivación de la EM y no interferir con el embarazo.[168] En sentido general, el período de lavado de DMT debe ser lo más corto posible, para evitar una reactivación de la enfermedad. En relación a esto, un grupo de consenso propuso el uso de corticosteroides mensuales hasta que se logre el embarazo en mujeres con EM muy activas o aquellas con antecedentes de concepción tardía. Actualmente, la disponibilidad de FME inductores de depleción linfocitaria de efecto prolongado puede suponer una alternativa viable para intentar concebir sin que la paciente discontinúe su tratamiento.[169]

El interferón-beta y el acetato de glatirámico han sido tratamientos de primera línea en la EM durante más de 2 décadas, por lo que disponen de los registros de exposición

durante el embarazo y seguridad más grandes. Los interferones pertenecen a la categoría C del embarazo. Algunos informes sugieren que la exposición materna humana al interferón-beta se asocia con menores pesos y estatura al nacer y una mayor incidencia de nacimientos prematuros, pero otros estudios no confirmaron estos hallazgos.[169, 170] El problema es que se hubo mayor tasa de abortos en modelos de primates, cuando se lo usó durante el primer trimestre, pero con una dosis de 2,8 a 40 veces mayor a la recomendada en humanos.[171] El acetato de glatirámico es de categoría B para el embarazo, siendo el que tiene la mejor calificación entre los FME. No atraviesa la barrera placentaria y no se ha asociado con efectos negativos en el embarazo en animales de experimentación ni en humanos.[169] La teriflunomida es el FME con peor riesgo, dado que tiene una categoría X. Mostró efectos teratogénicos y mayor tasa de abortos en embriones de múltiples especies animales, y lo hizo a dosis inferiores de las utilizadas clínicamente. En este fármaco, existe un protocolo de eliminación rápida para reducir rápidamente los niveles de Teriflunomida a menos de 0,02 µg / ml (utilizando colestiramina oral durante varios días); de lo contrario, puede persistir en el cuerpo hasta por 2 años. El Fingolimod tiene categoría de riesgo C para embarazo, es teratogénico en ratas y está asociado con malformaciones fetales, muerte y retraso del crecimiento en modelos de conejo y rata. Además, cuando se discontinúa su tratamiento, la eliminación del Fingolimod tarda aproximadamente dos meses, por lo que este es el período de lavado recomendado previo a concebir. El dimetilfumarato pertenece a la categoría C de riesgo en embarazos. Hasta la fecha, no se han notificado malformaciones en seres humanos. En ratas, si se asoció con embriotoxicidad y teratogenicidad, observándose malformaciones cóccix y huesos del cráneo, sucediendo a dosis dos veces superiores a recomendada en humanos. En base a su vida media corta, se da la posibilidad de evitar un período de lavado.[172]

Natalizumab, categoría de embarazo C, se ha utilizado durante embarazos humanos sin teratogenicidad notable, pero los recién nacidos pueden experimentar anomalías hematológicas transitorias que incluyen anemia y trombocitopenia. En cobayas, se ha asociado con una menor supervivencia de las crías cuando se la probó a una dosis 7 veces mayor de la usada en humanos. En primates, hubo anomalías hematológicas fetales reversibles, cuando se probó a dosis 2,3 veces de la recomendada en humanos. Cuando se planifica un embarazo en pacientes que reciben natalizumab, el período de lavado debe ser lo más breve posible para evitar la reactivación de la EM, con recomendaciones que oscilan entre 6-8 semanas. Actualmente, su ficha técnica contempla el uso mantenido del Natalizumab durante el embarazo, espaciando un poco sus dosis, en pacientes con alto riesgo de reactivación de la enfermedad. Basándose en la fisiología del embarazo, se sugirió que se podría justificar la ausencia de lavado, ya que los anticuerpos monoclonales no atraviesan la placenta hasta el segundo trimestre, por lo que el riesgo teratogénico es poco probable.[173] La justificación se basa en que la IgG es el único tipo de anticuerpo que atraviesa significativamente la placenta y esta transferencia no comienza hasta la semana 13, alcanzando su punto máximo en el tercer trimestre.[174] Alemtuzumab pertenece a la categoría C del embarazo. Es letal para los embriones en ratones y puede reducir el recuento de linfocitos al nacer. Existe un mayor riesgo de hipotiroidismo y enfermedad de Graves neonatal. No obstante, estudios recientes sobre la exposición involuntaria al alemtuzumb durante su periodo de desarrollo clínico no mostraron una mayor morbilidad obstétrica ni mayor tasa de abortos en comparación con la población general.[175] La mitoxantrona, categoría D del embarazo, se asoció con retraso del crecimiento y parto prematuro en modelos animales, y hubo un caso de síndrome de

Pierre Robin en exposiciones humanas. Por esto, se recomienda un período de lavado de al menos 6 meses previo al embarazo.

Para la paciente embarazada con EM, la mejor opción siendo la de evitar los FME durante la concepción, siempre que sea posible. No obstante, el acetato de glatirámico y el interferón-beta han recibido recientemente el visto bueno para ser utilizados durante la concepción, basándose en la experiencia acumulada de casos reportados.[176] De esta manera, en la actualidad se recomienda no utilizar periodos de lavado en estos dos fármacos, y considerar mantenerlos durante todo el embarazo en pacientes con una alta actividad clínica.

2. OBJETIVOS:

Objetivos:

1. Analizar el retraso habitual que pueda experimentar una paciente con EM hasta lograr un embarazo.
2. Analizar la morbilidad materno-fetal que pueda haber ocasionado, en nuestra serie, la exposición a FME durante la gestación.
3. Analizar prospectivamente los títulos de distintas citoquinas, tanto de funciones proinflamatorias y como de funciones reguladoras, durante el embarazo y puerperio. Se incluyó en el análisis el IFN gamma, IL-4, IL-10, TNFa, TGFb y citoquinas placentarias. Se incluyó en el análisis además el perfil TH17 y el Factor Estimulante de Colonias de granulocitos y Macrofagos (GM-CSF).
4. Cuantificar el eventual daño axonal generado durante el embarazo y posparto mediante el análisis de los títulos de neurofilamentos en suero.
5. Analizar la correlación de los todos factores sanguíneos incluidos en el estudio con la clínica evolución clínica experimentada por las pacientes.

3. MATERIALES Y MÉTODOS:

3.1 Pacientes

Se incluyeron pacientes con diagnóstico de EM, que hayan completado su embarazo y que hayan otorgado su consentimiento informado para participar en el estudio. La fecha del parto se produjo entre enero de 2007 y julio de 2018. Para el diagnóstico de EM se utilizaron los criterios de McDonald, actualizados según la fecha en la que se produjo el embarazo.[85, 177] Como grupo control se utilizó un grupo de mujeres embarazadas sanas, emparejadas por edad, elegidas al azar de nuestro centro. Tanto la cohorte de pacientes como el grupo control han sido valoradas prospectivamente durante el embarazo y en el puerperio en el Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid (HGUGM) con los cuidados prenatales, gestacionales y posparto pertinentes. El HGUGM es un hospital público perteneciente al Servicio Madrileño de Salud, con 1.671 camas instaladas para pacientes hospitalizados y una población asignada de 317.940 personas. En el presente estudio se excluyeron aquellas participantes que desearon realizar el seguimiento evolutivo de su embarazo en otro centro hospitalario y se excluyeron también del análisis las pacientes que abortaron. Todas las pacientes con EM, una vez confirmado el embarazo y tras obtener su consentimiento informado, fueron valoradas prospectivamente en consulta, analizando las distintas variables clínicas planificadas de una manera estandarizada. Las valoraciones neurológicas han sido trimestrales durante el embarazo, y semestrales tras el parto, hasta completar los 2 años.

En las pacientes con EM, los datos fueron recogidos de manera sistemática, y se incluyó edad, historial reproductivo, forma clínica de EM, años de evolución de la enfermedad, tasa anualizada de brotes (TAB) desde el inicio de la enfermedad, grado de discapacidad mediante la Escala Expandida del Estado de Discapacidad de Kurtzke (EDSS, por sus siglas en inglés) y el historial de tratamiento farmacológico recibido.

Se utilizaron las características de la propia cohorte de pacientes en estudio como autocontrol del número de brotes y grado de discapacidad entre los períodos preembarazo, embarazo y posparto. Se consideró como brote la aparición, reaparición o empeoramiento de signos de disfunción neurológica focal, de más de 24 h de duración, en ausencia de fiebre.

Una parte de los resultados clínicos de esta cohorte fueron publicados como un estudio observacional descriptivo, antes del inicio del presente estudio.[178] (ANEXO). En dicho momento, pudimos comprobar que nuestra cohorte de pacientes EM experimentó, durante el embarazo y posparto, los cambios clínicos esperables para este periodo, y que estaban en línea con lo publicado al respecto.[179] Para la realización del presente trabajo, se amplió el reclutamiento de pacientes, para mejorar la potencia estadística.

3.2 Muestras biológicas:

El análisis bioquímico e inmunológico se realizó en el suero de pacientes EM embarazadas y en su grupo control. Las muestras sanguíneas se obtuvieron entre las semanas 8-12 del primer trimestre de embarazo, entre las semanas 13-28 del segundo, y entre las semanas 29-37 del tercero. En el puerperio, las muestras se obtuvieron dentro del primer trimestre posparto. Después de la recolección, las muestras se dividieron en alícuotas y se almacenaron a -80°C hasta su análisis. Al finalizar el periodo de reclutamiento, las alícuotas fueron descongeladas, procesadas y analizadas todas a la vez. La mediana de tiempo desde la última muestra sanguínea en cada paciente hasta su análisis fue de 3,1 años, la media fue de 4,38 años y el rango intercuartílico: 1,7 a 7,5 años.

3.3 Métodos para la cuantificación de las citoquinas analizadas y

NfL

En el presente estudio se analizó, en cada trimestre del embarazo y posparto, los títulos de citoquinas específicas asociadas con los perfiles proinflamatorios y regulatorios. Dentro de los parámetros a estudiar, se incluyó IFN gamma, IL-4, IL-10, TNF- α , TGF- β y citoquinas placentarias. Se incluyó en el análisis además el perfil TH17 y el Factor Estimulante de Colonias de granulocitos y Macrofagos (GM-CSF). Además, se incluyó en el análisis la determinación del perfil de inmunoglobulinas, el título de cadenas ligeras libres y los niveles de la proteína C reactiva, Vitaminas D, estrógenos, progesterona y prolactina. Por último, se analizó también prospectivamente el título de neurofilamentos.

Respecto a la metodología de análisis en sí, el PD-L1 se evaluó mediante un kit ELISA de R & D Systems™. Se exploraron GM-CSF e IL-17 con kits de ELISA de BioLegend™. Finalmente, se evaluaron IFN- γ , IL-10 y TNF- α utilizando kits de ELISA de Elabscience™. Por último, los niveles de la cadena ligera de los neurofilamentos se determinaron mediante ELISA (UmanDiagnostics, Umea, Sweden) según las indicaciones del fabricante.

3.4 Análisis estadístico

Las metodología específica utilizada para el análisis estadístico de cada publicación realizada aparece en la sección Material y Métodos de cada manuscrito. Globalmente, para el análisis estadístico se utilizó el programa IBM SPSS Statistics 27 y el Graphpad Prism 5 (GraphPad software, La Jolla, USA). Las características basales se compararon entre los grupos mediante la prueba de Kruskal Wallis para las variables continuas o la prueba exacta de Fisher para las variables categóricas. Los test

estadísticos empleados para la comparación entre dos grupos fueron el test de U de Mann Whitney mientras que para la comparación de 3 o mas grupo utilizamos la prueba de Kruskal-Wallis, o el análisis de la varianza (ANOVA, por sus siglas en inglés). Para el análisis de tablas de contingencia utilizamos el test exacto de Fisher. Para el análisis de curvas de supervivencia utilizamos el test de Kaplan-Meier. Se consideraron estadísticamente significativos los valores de p menores a 0.05.

4. RESULTADOS

Compendio de publicaciones

4.1 TIME TO PREGNANCY IN MULTIPLE SCLEROSIS: A CASE-CONTROL STUDY

Cuello JP*, Romero Delgado F, Lozano Ros A, Salgado Camara P, Garcia Dominguez JM, Higuera Y, Goicochea Briceño H, Garcia-Tizon Larroca S, De Leon-Luis J, Martinez Gines ML. Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Spain
DOI: [10.26420/austinjclinneurol.2017.1123](https://doi.org/10.26420/austinjclinneurol.2017.1123)

Objetivos y justificación del estudio:

La esclerosis múltiple (EM) es el trastorno neurológico degenerativo más común en adultos jóvenes, con un predominio claro en el sexo femenino. Por otro lado, la fertilidad potencial de cualquier pareja es impredecible y potencialmente incierta. El Tiempo Empleado Hasta Lograr Un Embarazo (TTP, por sus siglas en inglés) es un parámetro utilizado para calcular el retraso habitual que puede requerir una pareja para lograr la fecundación. Se refiere a la cantidad tiempo, medido en meses, que una pareja requiere hasta la concepción, al mantener relaciones sexuales sin protección. En parejas normales, la tasa porcentual de concepción después de 6 meses es cercana al 75%. Con el aumento del TTP, hay una disminución importante en la tasa de concepción por ciclo menstrual. En la EM, el TTP se puede utilizar para una mejor planificación del embarazo y para lograr una mejor estrategia farmacológica.

Métodos:

Fue un estudio longitudinal de casos y controles. Se incluyeron pacientes con EM, que hayan estado embarazadas, entre los periodos de 2007 y 2016. Como grupo control se incluyeron pacientes sanas, elegidas al azar de nuestro centro. Los datos demográficos y las características clínicas de las pacientes con EM se realizaron mediante el análisis de sus historias clínicas y se complementó la posible información faltante con entrevistas sistematizadas a los pacientes.

Resultados:

Se incluyeron de forma consecutiva 54 pacientes con EM embarazadas y 64 controles sanos. No se encontraron diferencias en los datos demográficos, excepto por una mayor proporción de primíparas en el grupo control. No hubo diferencias en el TTP entre ambos grupos. La mayoría de los embarazos ocurrieron durante los primeros 6 meses (75%).

Discusión:

Ninguno de los DMT está aprobado durante el embarazo y algunos necesitan un período de lavado obligatorio para evitar daño fetal. Este período de lavado conlleva el riesgo de reactivación de la EM. No encontramos diferencias significativas en TTP entre pacientes con EM y controles, ocurriendo la mayoría de los embarazos durante los primeros seis meses de su búsqueda. Nuestros resultados sugieren además que no existe un impacto directo de la EM sobre la fecundidad, comparado con mujeres sanas de la misma edad. En pacientes con EM, conocer el TTP habitual podría ser importante, ya que permite planificar mejor el periodo de lavado que ciertos FME puedan requerir.

Special Article - Multiple Sclerosis

Time to Pregnancy in Multiple Sclerosis: A Case-Control Study

Cuello JP^{*,}, Romero Delgado F¹, Lozano Ros A¹, Salgado Camara P¹, Garcia Dominguez JM¹, Higuera Y¹, Goicochea Briceño H¹, Garcia-Tizon Larroca S², De Leon-Luis J², Martinez Gines ML¹

¹Department of Neurology, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Spain

²Department of Gynecology, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Spain

***Corresponding author:** Cuello Juan Pablo, Department of Neurology, Juan Pablo, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Calle Doctor Esquerdo 47, Madrid, CP 28007, Spain

Received: July 14, 2017; **Accepted:** August 17, 2017;

Published: September 05, 2017

Abstract

Multiple sclerosis (MS) is the most common degenerative neurologic disorder in young adults, with a female predominance. A couple's fertility is inherently uncertain. Time to Pregnancy (TTP) refers to the number of menstrual cycles exposed to unprotected intercourse until conception. In normal couples, the cumulative pregnancy rate after 6 months is near 75%. With increasing TTP, there is an important decline in conception rate per cycle. In MS, TTP can be used to a better birth planning regarding pharmacotherapy.

Methods: Case-control, longitudinal study. Pregnancies between 2007-2016 was included. Demographical data and clinical characteristics of MS patients were analyzed by medical records and patients interview.

Results: 54MS patients and 64 controls were included consecutively. No differences in demographical data were found, except for a higher proportion of primiparous in the control group. We found no differences in TTP between groups. The majority of pregnancies occur during the first 6 months (75%).

Discussion: None of the DMT is approved during pregnancy, and some need a mandatory washout period, to avoid fetal harm. The washout period entails the risk of MS reactivation. We found no significant difference in TTP between MS patients and controls, occurring the majority of the pregnancies during the first six months. These results further suggest that there is no direct impact of MS on fecundity when comparing to healthy age-matched women. In MS patients, knowing the usual TTP could be important, because there is an increased risk of relapse in those patients where the DMT were withdrawn.

Keywords: Multiple sclerosis; Pregnancy; Time to pregnancy; DMT; Washout period

Introduction

Multiple sclerosis (MS) is the most common degenerative neurologic disorder in young adults, with at least 2.5 million individuals affected worldwide. The disease shows a female predominance that now approximates 3 to 1. Nowadays, pharmacotherapy is probably one of the most important issues regarding pregnancy in MS [1]. Fecundity refers to the biological ability to give birth. It is estimated for a population by the Time to Pregnancy (TTP), which refers to the number of menstrual cycles exposed to unprotected intercourse until conception. In normal couples, the fecundity, or the chance to achieve a pregnancy within one cycle, is 20% [2,3]. While the process of attempted conception over time can be modeled as occurring in continuous time, it has been proposed to model the process as one that occurs over successive discrete menstrual cycles [4]. This is because most of the pregnancies occur within the first six menstrual cycles. In fact, in normal fertile couples, the cumulative pregnancy rate after 6 months ranges from 75 to 90% [2,5,6]. A TTP of 12 months or more is often used as a measure of sub fecundity [7]. TTP estimations are important to find suitable thresholds to determine the prevalence of subfertility. These thresholds are used as the major indicator for timing routine infertility investigations and eventually starting treatment [5]. In MS, TTP can be used to a better birth planning regarding pharmacotherapy. Nowadays there are distinct

approved disease-modifying therapies (DMT) for relapsing forms of MS, which encompass many different mechanisms of action. None of the DMTs are approved for use in women who are actively trying to become pregnant and most of them are not recommended for use in patients who are pregnant or trying to become pregnant. In addition, none of the DMTs are approved during lactation. The use of DMT before pregnancy is now common in many MS patients, and it has been suggested that its use might affect postpartum relapses incidence [8,9]. A study, using the MS Base global registry, reported that prior DMT use, any time in the 2 years before pregnancy, resulted in a 45% decreased risk for postpartum relapse [10]. Our aim is to analyze TTP in an MS cohort and to compare their results with healthy age-matched controls. Knowing the usual TTP in MS could help us planning an appropriate personalized strategy, which may include an adequate DMT washout period to minimize the risk of a relapse rebound and to avoid iatrogenic harm.

Material and Methods

We conducted a retrospective case-control, longitudinal study. Patients with diagnosis of MS admitted at the Hospital General Universitario Gregorio Marañón of Madrid, Spain, who have had a pregnancy between 2007 to 2016, have been included [11]. MS diagnosis was based on the McDonald criteria and the 2010 revisions to these criteria, depending on the date of diagnosis [12].

Table 1: Demographical data.

	MS group (54 patients)	Control (64 patients)	P value
Age at conception	32.7 YO (SD 4,3)	34,8 YO (SD 4,8)	>0.05
Prior pregnancies	Primiparous 10 (18.5 %) Multiparous 44 (81.5 %)	Primiparous 27 (42.1 %) Multiparous 37 (57.9 %)	0.02
Abortions	1 previous abortion: 14 (26%) ≥2 previous abortions: 3 (5%)	1 previous abortion: 13 (20%) ≥2 previous abortions 2 (3%)	>0.05
Unplanned pregnancy	9 (16.6 %)	8 (12.5%)	>0.05
Infertility diagnosis work up	10 (18.5 %)	12 (18.7 %)	>0.05

All patients were evaluated at our MS clinic once pregnancy was confirmed. Neurological assessments were conducted every 3 months during pregnancy and at 3 months after delivery. During this period, patients were evaluated for the appearance of any worsening in their neurological status, suggestive of relapse or disease progression. Besides, they were instructed to report any symptoms that could arise in between the scheduled visits. The appearance, reappearance or worsening of focal neurological signs lasting more than 24 hours in the absence of fever was regarded as a relapse. Demographical data and clinical characteristics of MS patients were collected from their medical files, and gathered the following data: maternal age at conception, clinical form of MS, disease progression in years, annualized relapse rate (ARR) 2 years prior conception, the degree of disability according to the Kurtz ke EDSS, and history of pharmacological treatment [13]. All neurologists with Neurostatus e-Test certification performed the neurological examination on each visit [14]. Reproductive history and potential confounders were also analyzed by medical records or using self-questionnaires that were completed during the outpatient appointment and included the number of prior pregnancies, prior live births and if the pregnancy was planned. Time to Pregnancy was assessed by a retrospective recall. The control group was randomly selected from among all pregnant women attended at our institution during the study period. All participants were attended by the hospital's gynecology department and received the standard prenatal and postnatal care. All patients were informed and approved to participate in this study prior inclusion. Each patient signed an informed consent form for participation in the study. Our hospital ethical committee approved the realization of this study. Continuous variables were expressed as either means \pm SD or means and ranges. Normal distribution was assessed with the Kolmogorov-Smirnov test. To compare means between 2 groups, we used parametric (*t*-test) and non-parametric tests (Mann-Whitney *U* test), depending on whether or not data was normally distributed and on the total number of patients of each group. TTP was recorded as months, and its distribution was described as the cumulative proportion of pregnancies occurring up to a given waiting time. Statistical analysis was conducted using SPSS version 21.0 and statistical significance was set at $p < 0.05$.

Results

Fifty-four women with MS were included consecutively and 64 controls. Demographical data and reproductive history of the MS patients and the controls group are shown in (Table 1). No differences in the general demographical data were found between both groups, except for the proportion of primiparous, being higher in the control group ($p 0.02$), which might reflect that the MS patients prefer to start earlier their reproductive life planning. The clinical characteristics of

Table 2: Clinical characteristics of the MS group.

	MS group (54 patients)
Clinical form of MS	50 (92,5%)RRMS 3 (5.5%) PRMS 1 (2%) PPMS
Disease evolution (years)	9 YO (SD 5,2)
EDSS at pregnancy	0.7 (range 0-6)
ARR 2 years before pregnancy	0.4 (range 0-1,5)
N° of treated patients with DMT prior pregnancy	27 (50%)

the MS group are shown in (Table 1 and 2). Twenty seven (50%) MS patients were treated with DMT prior pregnancy, most of them with Interferon Beta formulations. Eight (14.8%) patients were treated with subcutaneous Interferon Beta-1a, 6 (11%) with intramuscular Interferon Beta-1a, 5 (9%) with Interferon Beta-1b, 6 (11%) with Glatiramer Acetate, 1(2%) with Fingolimod and 1 (2%) with Natalizumab. Mean time on DMT was of 20 months (range 2-130 months). All MS patients who had a planned pregnancy underwent a controlled wash out strategy, depending on which DMT they were on. They were instructed to wait at least 1 menstrual cycle until start conception in all DMT cases, except the patient on Fingolimod, who completed a wash out period of 2 cycles. After the treatment withdrawn, the mean delay until having a positive pregnancy test was of 3 months (range 1-24 months). Nine (16%) MS patients presented an unplanned pregnancy during DMT treatment, being 3 (5%) patient sunder Glatiramer acetate, 2 (4%) on subcutaneous Interferon Beta-1a, 2 (4%) on intramuscular Interferon Beta-1a, 1 (2%) on Interferon Beta-1b and 1 (2%) on Natalizumab. No serious adverse effects were reported in any of their 9 cases. Their pregnancies developed without complications, deliveries were normal and newborns were healthy. After analyzing the TTP in MS patients and the control groups with the Kolmogorov-Smirnov test, we found that the parameters have a not normally distribution, so we used the Mann-Whitney *U* test for comparing them. We found no differences in TTP between both groups. The majority of pregnancies occur during the first 6 months (70-75%), as it is shown by the cumulative distribution of TTP (Table 3).

Discussion

Our study showed that there is no significant difference in TTP between MS patients and controls, with up to 70% of pregnancies occurring during the first six months. These results further suggest that there is no direct impact of MS on fecundity when comparing to healthy age-matched women. Human reproduction is a matter of chance depending on sequential processes that may lead to a pregnancy and to the birth of a healthy child. These processes include oogenesis and spermatogenesis, sexual intercourse and

Table 3: Time to pregnancy.

TTP	MS patients (54)	Control group (64)	P value
≤3° months	34 (62.9%)	39 (60.9%)	>0.05
≤6° months	38 (70.3%)	48 (75%)	>0.05
≤12 months	48 (88.8%)	51 (80%)	>0.05
≤24 months	54 (100%)	64 (100%)	>0.05

transport of gametes, fertilization, and migration of the embryo to the uterus and its subsequent implantation, and finally intrauterine tolerance and development of the fetus [15]. A couple's fertility is inherently uncertain [4]. Empirical models to predict a couple's chance of conceiving spontaneously are complex and may include the duration of non-conception, female age, previous fertility status and percentage of motile sperm [4]. With age, cumulative probabilities of conception decline because of heterogeneity in fecundity increases due to a higher proportion of infertile couple [5]. The duration of infertility, or TTP, is usually used as a major factor for timing routine exploration and infertility treatment. Prospective population-based studies demonstrated that the TTP in most women is not longer than 6 months [3]. Considering the influence of extreme scores, Mean value in TTP might not be the best way to accurately reflect the typical delay in conceiving a pregnancy. Despite this, in a French study analyzing TTP in a multiple sclerosis cohort, they found an average of 7.53 months [17]. Another study demonstrates substantial variations in fecundity between different European centers, as estimated by the monthly TTP distribution. In that study, the French center had the longest TTP and Southern Italy the shortest [7]. With increasing TTP there is an important decline in conception rate per cycle, so it has been proposed to raised the question of subfertility after six cycles of unprotected intercourse without conception, and not to wait until the 12 months [5]. In MS, knowing the usual TTP could be an important factor to take into consideration for the management of female patients when planning a pregnancy. For a personalized planning strategy, in addition to TTP, it must be considered the disease activity, disability status, personal preferences and the patient's risk tolerance. One of the most important decisions the neurologist must face is whether treatment should be discontinued, maintained, or changed by another one that has a better side effects profile. The decision must be balanced against the risk of relapse in those patients were the DMT is withdrawn, or the eventual risk of fetal harm when maintaining it [6].

DMT washout periods

None of the DMTs are approved during pregnancy, and some of them need a mandatory washout period, to avoid any possible interference with the fetal development. According to this, a controlled washout period is sometimes required, to prevent an MS reactivation and not to interfere with conception [18,19]. The DMT washout period should be as short as possible. One consensus group proposed monthly pulsed corticosteroids until pregnancy is achieved in very active MS women or those with a history of delayed conception [20]. In 1979, the FDA established five letter risk categories-A, B, C, D or X - to indicate the potential of a drug to cause birth defects if used during pregnancy, based on what was known from human and animal data. In 2015, the FDA replaced the former pregnancy risk letter categories on prescription and biological drug labeling with a narrative risk summary based on available data. Prescription drugs

and biologic products approved after June 2015 now have the new labeling information. Previously approved prescription products may have to progressively incorporate the labeling changes in the near future. The Interferon Beta (IFN β) and Glatiramer Acetate (GA) have been the first-line treatment for MS for more than 2 decades, so they have the largest accumulated pregnancy exposures registries and global safety databases. The IFN β are pregnancy category C. Some reports suggest human maternal IFN β exposure is associated with lower infant birth weights and length, and a higher incidence of premature births, but other analyses do not confirm these findings [20,21]. The problem is that they have shown dose-dependent first-trimester abort effects in primate models at 2.8 to 40 times the recommended human dose [1]. GA is pregnancy category B, the best pregnancy rating among the DMTs. It does not cross the placental barrier and has not been associated with negative pregnancy effects in either animal or human studies [20]. Teriflunomide has the most profound warning, being X category. It shows selected teratogenic and embryo lethal effects in multiple animal species, at doses below those used clinically. When necessary, there is a rapid elimination protocol (using oral cholestyramine over several days) to quickly lower Teriflunomide levels to less than 0.02 $\mu\text{g/ml}$; otherwise, it can persist in the body for up to 2 years. Fingolimod, pregnancy category C, is teratogenic in rats, and it is associated with fetal malformations, death and growth retardation in rabbit and rat models. When treatment is stopped, elimination of Fingolimod takes approximately two months, so the recommended washout period is 2 months. Dimethyl fumarate is pregnancy category C. Not reported malformations in humans to date. In rats, it is associated with embryotoxicity and teratogenicity, with malformations observed in organs, coccyx and skull bones, at doses two times higher than the approved human dose. Based on its short half-life, there is an author opinion that a washout period is probably not necessary [1].

Natalizumab, pregnancy category C, has been used during human pregnancies without notable teratogenicity, but newborns may experience transient hematologic abnormalities including anemia and thrombocytopenia. In guinea pigs, it has been associated with decreased pup survival at 7 times the human dose, and in primates with reversible fetal hematologic abnormalities, at doses 2.3 times the human dose. When planning a pregnancy in patients on Natalizumab, washout should be as short as possible to avoid MS reactivation, with recommendations ranging from 1 to 3 months. A recent report suggested one could justify no washout since monoclonal antibodies do not cross the placenta until the second trimester, so the teratogenic risk is unlikely [22]. The rationale is based on that IgG is the only antibody isotype to significantly cross the placenta, and this transfer does not start until week 13, and peaks in the third trimester [23]. Alemtuzumab is pregnancy category C. It is embryo lethal in mice, and can lower offspring lymphocyte count. There is a higher risk of hypothyroidism and neonatal Graves' disease with thyroid storm. The recommended washout period is 4 month.

Mitoxantrone, pregnancy category D, is associated with growth retardation and premature delivery in animal models, and there is one case of Pierre Robin syndrome in human exposures. It is recommended a 6 months washout period before pregnancy. For the pregnant MS patient, the appropriate counseling remains that the preferred option is not to use any DMT. However, GA, and to

a lesser extent IFNb, have been used during pregnancy for women in whom there is concern about extended treatment-free periods [24-26]. Based on this, there is increasing consensus that GA and the IFNb do not require washouts, and can be continued until pregnancy is confirmed, but definitive data is lacking [1]. The limitations of this study are related to been a single-center study. Recall bias must be considered as well. Recall bias interpretation of the TTP distribution in a pregnancy-based study is complex since the pregnancy-based TTP distribution is conditional on a pregnancy actually occurring [7]. At long-term recall, TTP may sometimes only be roughly estimated [27]. However, it has been published that, in this area, data can be satisfactorily derived retrospectively by using a short questionnaire [28]. Infertile couples were excluded from our study, and we did not consider all the different issues related to subfertility, such body mass index, smoking habits, intercourse frequency or the different fertility conditions commonly associated with infertility such as low sperm counts or pelvic pathology.

Conclusion

This study showed that there is no significant difference in TTP between MS patients and controls, occurring majority of the pregnancies during the first six months. In those couples where a prolonged TTP would be expected, based on their previous reproductive history, female age and obstetrics comorbid status, a preventive treatment until conception could be necessary [29]. Glatiramer Acetate and IFNb seem to be a feasible option during the TTP, but definitive data is lacking. More research is needed to establish the best strategy when an MS patient decides to conceive a pregnancy.

References

- Coyle PK. Management of women with multiple sclerosis through pregnancy and after childbirth. *Ther Adv Neurol Disord*. 2016; 9: 198-210.
- Evers JL. Female subfertility. *Lancet* 2002; 360: 151-159.
- Brosens I, Gordts S, Valkenburg M, Puttemans P, Campo R, Gordts S. Investigation of the infertile couple: When is the appropriate time to explore female infertility? *Hum Reprod*. 2004; 19: 1689-1692.
- Sozou PD, Hartshorne GM. Time to Pregnancy: A Computational Method for Using the Duration of Non-Conception for Predicting Conception. *PLoS One*. 2012; 7: e46544.
- Gnoth C, Godehardt E, Frank-Herrmann P, Friol K, Tigges J, Freundl G. Definition and prevalence of subfertility and infertility. *Hum Reprod*. 2005; 20: 1144-1147.
- Wang X, Chen C, Wang L, Chen D, Guang W, French J. Conception, early pregnancy loss, and time to clinical pregnancy: a population-based prospective study. *Fertil Steril*. 2003; 79: 577-584.
- Juul S, Karmaus W, Olsen J. Regional differences in waiting time to pregnancy: pregnancy-based surveys from Denmark, France, Germany, Italy and Sweden. *Hum Reprod*. 1999; 14: 1250-1254.
- Vukusic S, Marignier R. Multiple sclerosis and pregnancy in the 'treatment era'. *Nat Rev Neurol*. 2015; 11: 280-289.
- Fragoso YD, Boggild M, Macias-Islas MA, Carra A, Schaerer KD, Aguayo A, et al. The effects of long-term exposure to disease-modifying drugs during pregnancy in multiple sclerosis. *Clin Neurol Neurosurg*. 2013; 115: 154-159.
- Hughes SE, Spelman T, Gray OM, Boz C, Trojano M, Lugaresi A, et al. Predictors and dynamics of postpartum relapses in women with multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2014; 20: 739-746.
- Cuello JP, Martínez Ginés ML, Martín Barriga ML. Esclerosis múltiple y embarazo: estudio unicéntrico prospectivo y comparativo. *Neurología* 2017; 32: 92-98.
- Polman CH, Reingold SC, Banwell B, Clanet M, Cohen JA, Filippi M, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol*. 2011; 69: 292-302.
- Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*. 1983; 33: 1444-1452.
- D'Souza M, Yaldizli Ö, John R, Vogt DR, Papadopoulou A, Lucassen E, et al. Neurostatus e-Scoring improves consistency of Expanded Disability Status Scale assessments: A proof of concept study. *Mult Scler*. 2017; 23: 597-603.
- Haramburu F, Miremont-Salamé G, Moore N. Good and bad drug prescription in pregnancy. *Lancet* 2000; 356: 1704.
- Hunault CC, Habbema JD, Eijkemans MJ, Collins JA, Evers JL, te Velde ER. Two new prediction rules for spontaneous pregnancy leading to live birth among subfertile couples, based on the synthesis of three previous models. *Hum Reprod*. 2004; 19: 2019-2026.
- Roux T, Courtillot C, Debs R, Touraine P, Lubetzki C, Papeix C. Fecundity in women with multiple sclerosis: an observational mono-centric study. *J Neurol*. 2015; 262: 957-960.
- Martinelli V, Colombo B, Dalla Costa G, Dalla Libera D, Moiola L, Falini A, Comi G, et al. Recurrent disease-activity rebound in a patient with multiple sclerosis after natalizumab discontinuations for pregnancy planning. *Mult Scler*. 2016; 22: 1506-1508.
- Sempere AP, Berenguer-Ruiz L, Feliu-Rey E. Rebound of disease activity during pregnancy after withdrawal of fingolimod. *Eur J Neurol*. 2013; 20: e109-e110.
- Cree BA. Update on reproductive safety of current and emerging disease-modifying therapies for multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2013; 19: 835-843.
- Thiel S, Langer-Gould A, Rockhoff M, Haghikia A, Queisser-Wahrendorf A, Gold R, et al. Interferon-beta exposure during first trimester is safe in women with multiple sclerosis-A prospective cohort study from the German Multiple Sclerosis and Pregnancy Registry. *Mult Scler*. 2016; 22: 801-809.
- De Giglio L, Gasperini C, Tortorella C, Trojano M, Pozzilli C. Natalizumab discontinuation and disease restart in pregnancy: a case series. *Acta Neurol Scand*. 2015; 131: 336-340.
- Palmeira P, Quinello C, Silveira-Lessa AL, Cláudia Augusta Zago, Magda Carneiro-Sampaio. IgG Placental Transfer in Healthy and Pathological Pregnancies. *Clin Dev Immunol*. 2012; 2012: 1-13.
- Fragoso YD, Adoni T, Alves-Leon S V, Azambuja ND Jr, Barreira AA, Brooks JB, et al. Long-Term Effects of Exposure to Disease-Modifying Drugs in the Offspring of Mothers with Multiple Sclerosis: A Retrospective Chart Review. *CNS Drugs*. 2013; 27: 955-961.
- Fragoso YD, Finkelsztejn A, Kaimen-Maciel DR, Grzesiuk AK, Gallina AS, Lopes J, et al. Long-Term Use of Glatiramer Acetate by 11 Pregnant Women with Multiple Sclerosis: a retrospective, multicentre case series. *CNS Drugs*. 2010; 24:1.
- Hellwig K, Haghikia A, Rockhoff M, Ralf Gold. Multiple sclerosis and pregnancy: experience from a nationwide database in Germany. *Ther Adv Neurol Disord*. 2012; 5: 247-253.
- Cooney MA, Buck Louis GM, Sundaram R, McGuinness BM and Lynch CD. Validity of Self-Reported Time to Pregnancy. *Epidemiology*. 2009; 20: 56-59.
- Joffe M, Villard L, Li Z, Rosalind Plowman and Martin Vessey. A time to pregnancy questionnaire designed for long term recall: validity in Oxford, England. *J Epidemiol Community Heal*. 1995; 49: 314-319.
- Bove R, Alwan S, Friedman JM, Hellwig K, Houtchens M, Koren G, et al. Management of Multiple Sclerosis During Pregnancy and the Reproductive Years. *Obstet Gynecol*. 2014; 124: 1157-1168.

4.2 EXPOSICIÓN A FÁRMACOS MODIFICADORES DE LA ENFERMEDAD DURANTE EL EMBARAZO EN ESCLEROSIS MÚLTIPLE: ESTUDIO PROSPECTIVO

Juan Pablo Cuello, Paula Salgado Cámara, José Manuel García Domínguez, Alberto Lozano Ros, Miguel Mas Serrano y María Luisa Martínez Ginés
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2019.05.026>

Introducción:

En esclerosis múltiple (EM), la exposición a fármacos modificadores de la enfermedad (FME) durante la concepción conlleva distintos grados de riesgo, que varían según el FME en cuestión, el tiempo de exposición y el momento de la gestación en la que ocurre.

Objetivo:

El objetivo del presente trabajo fue analizar la evolución clínica y los datos de seguridad ginecológica y obstétrica en relación a los casos de exposición fetal a FME ocurridos en nuestro centro.

Pacientes y métodos:

El presente fue un estudio observacional. Se analizaron los datos clínicos y obstétricos de una cohorte de pacientes con EM, con embarazos ocurridos entre 2007 y 2017. En el presente estudio consistió de un grupo a estudio y dos controles para comparación. El grupo a estudio eran pacientes con EM, con embarazos expuestos a FME. Como control se utilizó un grupo de pacientes con EM no expuestas y otro grupo de mujeres embarazadas sanas.

Resultados:

Hubo un total de 68 embarazos en pacientes con EM y 56 mujeres sanas. Grupo de pacientes con EM expuestas a FME durante embarazo: 13; hubo bajo peso al nacer en

2 (15%) y ningún parto pretérmino. Grupo de pacientes con EM no expuestas a FME: 55; 22 (40%) de ellas suspendieron el FME previo embarazo; 33 (60%) eran naïve. Hubo bajo peso al nacer en 5 (9%); parto pretérmino en 7 (12%). Grupo mujeres sanas: bajo peso al nacer en 6 (11%); hubo partos pretérmino en 6 (11%). No encontramos diferencias clínicas estadísticamente significativas entre al comparar pacientes EM. Tampoco hubo diferencias significativas en las principales variables relacionadas con la morbilidad obstétricas al analizar las pacientes con EM expuestas a FME, como son el peso al nacer, tiempo de gestación o morbilidad obstétrica.

Conclusiones:

No hubo diferencias clínicas estadísticamente significativas, ni mayor morbilidad obstétrica, entre pacientes expuestas a FME, no expuestas y embarazadas sanas.



Original breve

Exposición a fármacos modificadores de la enfermedad durante el embarazo en esclerosis múltiple: estudio prospectivo



Juan Pablo Cuello*, Paula Salgado Cámara, José Manuel García Domínguez, Alberto Lozano Ros, Miguel Mas Serrano y María Luisa Martínez Ginés

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

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 22 de enero de 2019

Aceptado el 16 de mayo de 2019

On-line el 13 de agosto de 2019

Palabras clave:

Esclerosis múltiple

Embarazo

Fármacos modificadores enfermedad

Riesgo obstétrico

Tratamiento

Riesgo fetal

R E S U M E N

Introducción: En esclerosis múltiple (EM), la exposición fetal a fármacos modificadores de la enfermedad (FME) conlleva distintos grados de riesgo. **Objetivo:** analizar nuestra experiencia en relación con los casos de exposición fetal involuntaria a FME.

Pacientes y métodos: Estudio observacional. Se analizaron los datos clínico-obstétricos de una cohorte de pacientes con EM, entre 2007 y 2017. Grupo EM: pacientes con EM con embarazos expuestos a FME. Grupo control: pacientes con EM no expuestas y embarazadas sanas.

Resultados: Hubo un total de 68 embarazos en pacientes con EM. Control: 56 mujeres sanas. Grupo EM expuestas a FME durante embarazo: 13; bajo peso al nacer: 2(15%); parto pretérmino: 0. Grupo EM no expuestas a FME: 55; 22 (40%) suspendieron FME previo embarazo; 33 (60%) naïve; bajo peso al nacer: 5 (9%); pretérmino: 7 (12%). Grupo mujeres sanas: bajo peso al nacer, 6 (11%); parto pretérmino, 6 (11%). No hubo diferencias clínicas estadísticamente significativas entre pacientes EM. Tampoco hubo diferencias en peso al nacer, tiempo de gestación o morbilidad obstétrica en expuestas a FME.

Conclusiones: No hubo diferencias clínicas estadísticamente significativas, ni mayor morbilidad obstétrica, entre pacientes expuestas a FME, no expuestas y embarazadas sanas.

© 2019 Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Pregnancy exposure to disease-modifying drugs in multiple sclerosis: a prospective study

A B S T R A C T

Introduction: In multiple sclerosis (MS), foetal exposure to disease-modifying drugs (DMDs) carries varying degrees of risk. We sought to analyse the clinical and obstetric outcomes of MS patients (MSp) exposed to DMDs during pregnancy.

Patients and methods: Observational study. We analysed the clinical-obstetric data of a cohort MSp, who became pregnant between 2007–2017. They were prospectively followed up during pregnancy and postpartum. Control group: healthy pregnant women (HPW) and MSp unexposed to DMDs.

Results: Sixty-eight pregnancies in MSp. Fifty-six HPW. Thirteen MSp were exposed to DMDs during pregnancy. Obstetric outcome: 2 (15%) infants had low birth weight, no preterm deliveries. Fifty-five MSp were not exposed to DMDs: 22 (40%) discontinued DMD before pregnancy, 33(60%) naïve. Five infants (9%) had low birth weight and 7 (12%) were preterm. HPW: 56. Low birth weight 6 (11%), preterm delivery 6 (11%). There were no differences in relapse incidence during pregnancy-puerperium between MSp groups. There were no differences in birth weight, gestation time, delivery-caesarean section. We found no special obstetric morbidity in women exposed to DMDs.

Conclusions: There were no significant differences in the clinical and obstetric variables analysed between pregnant women exposed to DMDs, unexposed, and HPW.

© 2019 Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Keywords:

Multiple sclerosis

Pregnancy

Disease modifying treatment

Obstetric Risk

Treatment

Foetal risk

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: juancuelloneuro@gmail.com (J.P. Cuello).

Introducción

Ninguno de los fármacos modificadores de la enfermedad (FME) utilizados en esclerosis múltiple (EM) tiene indicación durante el embarazo. No obstante, en casos concretos de pacientes con alta actividad clínica, la evidencia científica actual contempla el posible uso de los FME más seguros durante la gestación¹. La exposición fetal a los FME conlleva distintos grados de riesgo, que dependen del tipo de fármaco y del tiempo de exposición^{2,3}. Existe una gran dificultad para realizar estudios farmacológicos aleatorizados durante el embarazo, debido al riesgo potencial que pueden asociar⁴. Ante esto, los estudios caso-control, las cohortes prospectivas o los programas de farmacovigilancia se posicionan como la mejor alternativa para proporcionar evidencia científica en este contexto⁵. El objetivo del presente estudio es analizar nuestra experiencia en los casos de pacientes con EM expuestas a FME durante el embarazo, y comparar sus resultados con 2 grupos control: uno de pacientes EM embarazadas no expuestas y otro de embarazadas sanas.

Material y métodos

Estudio descriptivo realizado en el Hospital General Gregorio Marañón de Madrid, de diseño longitudinal prospectivo. Se analizaron los datos globales de una cohorte de pacientes con EM, atendidas regularmente en nuestro centro y que dieron a luz entre 2007 y 2017. Todas las pacientes incluidas en nuestro estudio fueron diagnosticadas de EM usando los criterios de McDonald⁶.

Las pacientes se seleccionaron consecutivamente, y se las evaluó neurológicamente durante cada trimestre del embarazo y en el puerperio. Las principales variables obstétricas estudiadas fueron: semanas de gestación, peso al nacer, necesidad de reanimación neonatal y posibles complicaciones gestacionales. Se definió como bajo peso para la edad gestacional aquellos nacidos vivos de más de 37 semanas gestacionales completas y peso fetal < 2.500 g. El parto prematuro se definió como nacimiento vivo menor de 37 semanas. Además, como variables secundarias se analizaron las distintas características neurológicas de la enfermedad e historial reproductivo, junto con la eventual exposición a otros medicamentos durante el embarazo, incluida la exposición a glucocorticoides. Respecto al grupo control, fueron mujeres sanas, reclutadas del Servicio de Ginecología-Obstetricia de nuestro centro, donde realizaron los cuidados prenatales protocolares.

En relación con la exposición fetal a FME, se tomaron en cuenta tanto factores farmacocinéticos como las recomendaciones específicas de cada fármaco en particular. Se consideró que un embrión no tuvo exposición farmacológica cuando pasaron más de 5 vidas media tras la última dosis de tratamiento recibida. En el caso específico de teriflunomida, se consideró que hubo exposición si se administró hasta 2 años antes de la fecha de la última regla (FUR), siempre y cuando no se hubiera efectuado un proceso de eliminación acelerada del fármaco. Además, teniendo en cuenta la ficha técnica, se consideró que hubo exposición a natalizumab si este se administró en los 3 meses previos a la FUR; 2 meses en el caso de fingolimod, y 4 meses en alemtuzumab. En los casos en que las pacientes recibieron el FME tras la FUR, se contabilizó las semanas de exposición sufrida.

Tabla 1
Datos demográficos generales y situación neurológica en pacientes con EM

	Embarazos de pacientes EM expuestas a FME (n = 13)	Embarazos de pacientes EM no expuestas a FME (n = 55)	Grupo control sano (n = 56)	p
<i>Edad al embarazo, media (mín-máx), años</i>	32 (25-39)	33 (20-41)	34 (20-48)	0,3
<i>N.º gestaciones</i>				0,5
Primíparas	5 (40%)	19 (35%)	22 (40%)	
Múltiparas	8 (60%)	36 (65%)	34 (60%)	
<i>Abortos previos</i>	4 (30%)	13 (23%)	14 (25%)	0,9
<i>Fecundación asistida</i>	0	7 (37%)	3 (5%)	0,2
<i>Forma clínica de EM</i>			n.a.	0,5
EMRR	12 (92%)	52 (94,5%)		
EMPR	1 (8%)	2 (3,7%)		
EMSP	0	1 (1,8%)		
<i>Tiempo evolución de su enfermedad, media (mín-máx), años</i>	9 (3-18)	8 (1-22)	n.a.	0,4
<i>EDSS al concebir, media (mín-máx)</i>	1 (0-4)	1 (0-6)	n.a.	0,2
<i>FME utilizado</i>			n.a.	0,5
Interferón beta 1a-30 µg/0,5 ml	3 (20%)	5 (10%)		
Interferón beta 1b-250 µg/ml	1 (10%)	5 (10%)		
Interferón beta 1a-44 µg	3 (20%)	6 (10%)		
Acetato de glatirámico	3 (20%)	3 (5%)		
Natalizumab	1 (10%)	0		
Fingolimod	1 (10%)	2 (3%)		
Alemtuzumab	1 (10%)	0		
Dimetilfumarato	0	1 (2%)		
Sin tratamiento	0	33 (60%)		
<i>Uso de GC durante embarazo</i>	1 (10%)	3 (2%)	n.a.	0,2
<i>Brotos 2 años previo embarazo</i>			n.a.	0,3
Sin brotes	7 (53,8%)	21 (38,1%)		
≥ 1 brotes	6 (46,2%)	34 (61,9%)		
<i>TAB en los 2 años previos, media (mín-máx)</i>	0 (0-1)	0,5 (0-1,5)	n.a.	0,2
<i>N.º brotes durante embarazo</i>			n.a.	0,2
Sin brotes	9 (69,2%)	49 (89%)		
≥ 1 brotes	4 (30,8%)	6 (11%)		
<i>N.º brotes durante puerperio</i>			n.a.	0,7
Sin brotes	10 (76,9%)	40 (72,7%)		
Con brotes	3 (23,1%)	15 (27,3%)		

EDSS: Expanded Disability Status Scale de Kurtzke; EM: esclerosis múltiple; EMPR: esclerosis múltiple progresiva recidivante; EMRR: esclerosis múltiple remitente-recurrente; EMSP: esclerosis múltiple secundaria-progresiva; FME: fármacos modificadores enfermedad; GC: glucocorticoides; n.a.: no aplica; TAB: tasa anualizada de brotes.

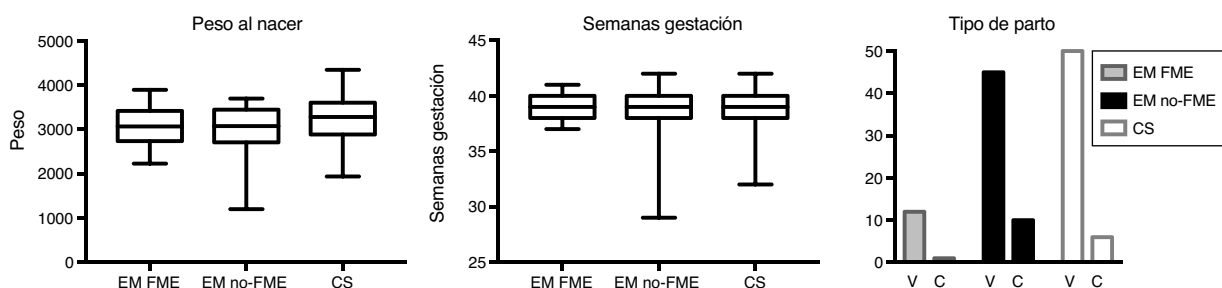


Figura 1. Principales resultados obstétricos. C: parto por cesárea; CS: grupo control sano; EM FME: grupo de embarazadas con esclerosis múltiple expuestas a fármacos modificadores de la enfermedad; EM no-FME: grupo de embarazadas con esclerosis múltiple no expuestas a fármacos modificadores de la enfermedad; V: parto vaginal.

Tabla 2

Resultados obstétricos de pacientes expuestas a FME

Medicación EM que tomaba	Tiempo medicada (meses)	FME recibido tras FUR (semanas)	Brotos durante embarazo	Complicaciones embarazo	Semanas gestación	Parto	Sexo hijo	Peso al nacer (g)	Test Apgar 1-5 min	Complicaciones parto
Acetato glatirámico	132	5	Sin brote	No	38	Cesárea	Mujer	3.140	8-9	Anemia puerperal
Acetato glatirámico	13	10	2.º trimestre	No	40	Parto	Mujer	3.070	9-9	Ninguna
Acetato glatirámico	26	4	Sin brote	No	38	Parto	Varón	2.850	9-10	Ninguna
Alemtuzumab	12	6	Sin brote	No	40	Parto	Varón	2.480	9-10	Preeclampsia
Fingolimod	3	6	Sin brote	No	38	Parto	Varón	2.810	9-10	Ninguna
Interferón beta 1b-250 µg/ml	120	7	Sin brote	Oligoamnios	37	Parto	Varón	2.230	9-10	Ninguna
Interferón beta 1a-30 µg/0,5 ml	2	6	Sin brote	APP	37	Parto	Varón	2.920	9-10	Ninguna
Interferón beta 1a-30 µg/0,5 ml	84	3	1.º trimestre	No	40	Parto	Varón	3.150	9-10	Patología funicular
Interferón beta 1a-30 µg/0,5 ml	60	8	Sin brote	No	39	Parto	Varón	3.900	9-9	Ninguna
Interferón beta 1a-22 µg	18	5	1.º trimestre	No	38	Parto	Varón	3.320	7-9	Ninguna
Interferón beta 1a-22 µg	51	6	Sin brote	No	39	Parto	Varón	3.520	9-10	Ninguna
Interferón beta 1a-22 µg	60	6	Sin brote	No	41	Parto	Varón	3.800	9-10	Ninguna
Natalizumab	29	6	2.º trimestre	No	40	Parto	Varón	2670	10-10	Ninguna

APP: amenaza de parto prematuro; EM: esclerosis múltiple; FME: fármacos modificadores de la enfermedad; FUR: fecha de la última regla.

El presente estudio ha obtenido la aceptación del comité de ética de nuestro centro. Todas las participantes dieron su consentimiento para participar.

Las variables continuas se presentaron mediante su media y rango mínimo-máximo. Para comparar medias entre 2 grupos, se utilizó Mann-Whitney-Wilcoxon. La asociación entre variables cualitativas se estudió mediante la prueba ji-cuadrado de Pearson. El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS versión 21.0. Se consideraron como estadísticamente significativos aquellos resultados con una $p < 0,05$.

Resultados

Se obtuvieron 58 pacientes con EM, con 68 embarazos registrados durante el periodo de estudio. Hubo 13 (19%) casos de embarazos expuestos a FME, ocurriendo en todos ellos de forma involuntaria. Se compararon con 55 embarazos de pacientes con EM no expuestas y 56 mujeres sanas como controles. En el grupo de EM, hubo 2 casos de embarazos gemelares, uno de ellos tras fecundación in vitro. En el grupo control, hubo 4 gemelares, uno tras fecundación in vitro.

Los datos demográficos y las características clínicas de las pacientes con EM se presentan en la [tabla 1](#). Los principales resultados obstétricos se presentan en la [figura 1](#). En relación con la morbilidad obstétrica, en el grupo de embarazadas con EM expuestas a FME ($n = 13$), hubo 2 (15%) casos de bajo peso al nacer, un (8%) caso de preeclampsia y un (8%) caso con patología funicular. En

el grupo de embarazadas con EM no expuestas a FME ($n = 55$), hubo 5 (9%) casos de bajo peso al nacer y 7 (12%) casos de parto pretérmino. Además, hubo 5 (9%) casos de partos instrumentalizados (fórceps-ventosa): 3 (6%) con patología funicular y un (2%) caso de presentación podálica. En el grupo control sano ($n = 56$), hubo 6 (11%) casos de bajo peso al nacer y 6 (11%) de parto pretérmino. Hubo 7 (13%) casos de partos instrumentalizados, 9 (15%) con patología funicular, uno (2%) con presentación podálica y 3 (5%) mujeres con complicaciones hemorrágicas posparto. Al comparar grupos, no hubo diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,5$).

Los resultados obstétricos detallados sobre las 13 pacientes expuestas a distintos FME se exponen en la [tabla 2](#). La totalidad de pacientes suspendieron los FME tras confirmar el embarazo, siendo en todos los casos durante el primer trimestre de gestación. En nuestra experiencia, no se encontró diferencias significativas en las distintas variables clínicas, ginecológicas y obstétricas analizadas entre pacientes expuestas, no expuestas y mujeres sanas. Se observó una mayor tendencia a utilizar técnicas de fecundación in vitro en el grupo de pacientes con EM no expuestas a FME, pero sin llegar a ser estadísticamente significativa.

Discusión

En el presente estudio no obtuvimos ningún impacto negativo en los parámetros obstétricos analizados tras la exposición fetal a FME, comparado con pacientes EM no expuestas y mujeres sanas. Las pacientes analizadas tuvieron una edad y situación

ginecológica similar. Entre las pacientes EM, predominaron las formas remitente-recurrente, con un grado de invalidez bajo al momento del embarazo. No hubo diferencias en semanas de gestación y peso al nacer en los casos expuestos a FME durante la gestación, respecto a los grupos control.

En EM, suspender los FME previamente al embarazo se asocia a una mayor tasa de brotes durante el primer trimestre del mismo, y este hecho aumenta las posibilidades de que las pacientes reciban glucocorticoides, que es un fármaco con riesgo obstétrico confirmado⁷. En nuestra serie, hubo 40 casos de brotes ocurridos durante el embarazo, 6 (15%) de ellos del grupo de pacientes expuestas a FME durante la gestación y 34 (85%) del grupo de pacientes no expuestas. A pesar de esto, solo 4 (10%) recibieron glucocorticoides como tratamiento sintomático. En nuestra serie, la exposición fetal a FME fue siempre debido a utilizar el fármaco tras la FUR. En todos los casos, el FME se suspendió durante el primer trimestre de la gestación, al confirmar el embarazo. No tuvimos casos de exposiciones farmacológicas por no respetar el periodo de lavado recomendado. Respecto a los resultados obstétricos, nuestros resultados coinciden globalmente con los registros de exposiciones ocurridas a distintos FME⁸⁻¹⁰.

Las limitaciones del presente estudio se relacionan con el hecho de que no se recogieron datos sobre incidencia de tabaquismo, exposición solar y nivel socioeconómico, que podrían afectar los resultados obstétricos. No obstante, en caso de presencia de dichos factores de confusión, estos podrían afectar negativamente el resultado de todos los grupos.

En conclusión, analizamos 13 casos de pacientes expuestas a FME durante el primer trimestre del embarazo. Encontramos que no hubo mayor morbilidad clínica ni obstétrica en los casos expuestos, respecto a los grupos control. Son escasos los estudios observacionales sobre exposición a FME durante el embarazo, y no hay evidencia científica suficiente para considerarlos seguros. De

este modo, se mantiene la recomendación de que una paciente con EM debe evitar los FME al concebir, siempre que su situación clínica lo permita.

Conflicto de intereses

Ninguno.

Bibliografía

1. Dobson R, Dassan P, Roberts M, Giovannoni G, Nelson-Piercy C, Brex PA. UK consensus on pregnancy in multiple sclerosis: «Association of British Neurologists» guidelines. *Pract Neurol*. 2019;19:106–14.
2. Fragoso YD, Boggild M, Macias-Islas MA, Carra A, Schaerer KD, Aguayo A, et al. The effects of long-term exposure to disease-modifying drugs during pregnancy in multiple sclerosis. *Clin Neurol Neurosurg*. 2013;115:154–9.
3. Lu E, Wang BW, Guimond C, Synnes A, Sadovnick D, Tremlett H. Disease-modifying drugs for multiple sclerosis in pregnancy: a systematic review. *Neurology*. 2012;79:1130–5.
4. Howard TB, Tassinari MS, Feibus KB, Mathis LL. Monitoring for teratogenic signals: Pregnancy registries and surveillance methods. *Am J Med Genet Semin Med Genet*. 2011;157:209–14.
5. Alwan S, Chambers CD, Armenti VT, Sadovnick AD. The need for a disease-specific prospective pregnancy registry for multiple sclerosis (MS). *Mult Scler Relat Disord*. 2015;4:6–17.
6. Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, Carroll WM, Coetzee T, Comi G, et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol*. 2018;17:162–73.
7. Alroughani R, Alowayesh MS, Ahmed SF, Behbehani R, Al-Hashel J. Relapse occurrence in women with multiple sclerosis during pregnancy in the new treatment era. *Neurology*. 2018;90:e840–6.
8. Lu E, Dahlgren L, Sadovnick A, Sayao A, Synnes A, Tremlett H. Perinatal outcomes in women with multiple sclerosis exposed to disease-modifying drugs. *Mult Scler J*. 2012;18:460–7.
9. Thiel S, Langer-Gould A, Rockhoff M, Haghikia A, Queisser-Wahrendorf A, Gold R, et al. Interferon-beta exposure during first trimester is safe in women with multiple sclerosis — A prospective cohort study from the German Multiple Sclerosis and Pregnancy Registry. *Mult Scler J*. 2016;22:801–9.
10. Cree BA. Update on reproductive safety of current and emerging disease-modifying therapies for multiple sclerosis. *Mult Scler J*. 2013;19:835–43.

4.3 CYTOKINE PROFILE DURING PREGNANCY PREDICTS

RELAPSES DURING PREGNANCY AND POSTPARTUM IN

MULTIPLE SCLEROSIS

Juan Pablo Cuello, María Luisa Martínez Ginés, Amalia Tejeda-Velarde, Silvia Medina Heras, José Manuel García Domínguez, José Ignacio Fernández Velasco, Alberto Lozano Ros, Yolanda Higuera, Ariana Meldaña Rivera, Haydee Goicochea Briceño, Santiago Garcia-Tizon Larroca, Juan De León-Luis, Clara de Andrés, Roberto Álvarez Lafuente, Luisa María Villar

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jns.2020.116811>

Objetivos:

Estudiar el perfil de citoquinas séricas asociado con la actividad en la EM durante el embarazo y el posparto, y evaluar la presencia de posibles biomarcadores que predigan la ocurrencia de brotes durante este período.

Métodos:

Incluimos 53 embarazadas con EM reclutadas entre 2007 y 2018. Se analizaron prospectivamente los niveles séricos de Interferón-gamma, factor de necrosis tumoral alfa, interleucina-17, factor estimulante de colonias de granulocitos/macrófagos, activina-A, interleucina-10 y ligando de muerte programada -1 (PD-L1). Para su análisis, se utilizó test de ELISA.

Resultados:

Diecisiete pacientes (32%) experimentaron brotes durante el embarazo o postparto y 37 (68%) no tuvieron. No hubo diferencias en las características clínicas basales o el porcentaje pacientes bajo tratamiento con FME en ambos grupos. Sin embargo, las pacientes con brotes mostraron en el primer trimestre del embarazo niveles más bajos de Activina-A sérica (336,4 pg / dl [289,6-491,7], mediana [IQR] frente a 760,0 pg / dl [493,2-1108,0], $p = 0,003$), que se correlacionó positivamente con los valores séricos de PD-L1 ($r = 0.53$, $p = .0005$) e IL-10 ($r = 0.43$, $p = .004$). Los niveles de

activina-A inferiores a 515 pg / ml en el primer trimestre identificaron a pacientes con alta probabilidad de brotes durante el embarazo y el posparto (OR = 13,75, IC: 2,5–76,8, p = 0,001).

Conclusiones:

Las pacientes con EM sin brotes durante el embarazo y puerperio mostraron un inicio más precoz de una respuesta inmune innata, de perfil más tolerogénico, evidenciada por concentraciones séricas altas de Activina-A durante el primer trimestre de la gestación. Por tanto, consideramos que los niveles séricos de Activina-A puede ser un biomarcador útil para predecir la presencia de actividad clínica durante el periodo de embarazo y postparto.



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Journal of the Neurological Sciences

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jns

Cytokine profile during pregnancy predicts relapses during pregnancy and postpartum in multiple sclerosis

Juan Pablo Cuello^{a,*}, María Luisa Martínez Ginés^a, Amalia Tejada-Velarde^c, Silvia Medina Heras^c, José Manuel García Domínguez^a, José Ignacio Fernández Velasco^c, Alberto Lozano Ros^a, Yolanda Higuera^{a,d}, Ariana Meldaña Rivera^a, Haydee Goicochea Briceño^a, Santiago Garcia-Tizon Larroca^a, Juan De León-Luis^a, Clara de Andrés^a, Roberto Álvarez Lafuente^b, Luisa María Villar^c

^a Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, España, C/ Dr. Esquerdo 46, Madrid, Spain

^b Grupo de Investigación de Esclerosis Múltiple, Instituto de Investigación Sanitaria San Carlos (IdISSC), Hospital Clínico San Carlos, Madrid, Spain

^c Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, España, Ctra. Colmenar Viejo, km. 9, 100, 28034 Madrid, Spain

^d Facultad de Psicología, Universidad Complutense de Madrid, Spain

ARTICLE INFO

Keywords:

Multiple sclerosis
Pregnancy
Postpartum relapses
Cytokine
PD-L1

ABSTRACT

Objective: To explore the serum cytokine profile associated with disease activity during pregnancy and postpartum in MS, and to assess any potential biomarkers predicting the occurrence of relapses during this period. **Methods:** We included 53 MS pregnant women recruited between 2007 and 2018. Interferon-gamma, Tumor necrosis factor-alpha, interleukin-17, granulocyte/macrophage-colony stimulating factor, Activin-A, interleukin-10, and programmed-death-ligand-1 (PD-L1) were measured quarterly in serum by ELISA.

Results: Seventeen patients (32%) experienced relapses during pregnancy or puerperium and 37(68%) did not. We did not find differences in clinical characteristics or treatment status between the two groups. However, relapsing patients showed at the first trimester of pregnancy considerably lower levels of serum Activin-A (336.4 pg/dl [289.6–491.7], median [IQR] vs. 760.0 pg/dl [493.2–1108.0], $p = .003$), which correlated positively with serum PD-L1 ($r = 0.53, p = .0005$) and IL-10 ($r = 0.43, p = .004$) values. Activin-A levels lower than 515 pg/ml at the first trimester identified patients with high probability of relapsing during pregnancy and postpartum (OR = 13.75, CI: 2.5–76.8, $p = .001$).

Conclusions: MS patients with no relapses during pregnancy and puerperium showed an early triggering of a tolerogenic innate immune response evidenced by high serum Activin-A concentrations during the first trimester of pregnancy. Thus, serum Activin-A can be a useful biomarker to predict clinical activity during this period.

1. Introduction

Pregnancy represents an immunological challenge because the fetus must be supported within a genetically distinct environment during the gestational period. A bias to a tolerogenic status is needed to avoid recognition of the fetoplacental unit as a foreign entity by the maternal immune system. The mechanisms associated with this immune tolerance remain partially unknown [1–4]. The maternal-fetal interface plays a crucial role in balancing maternal tolerance against rejection and preventing microbial infections [5]. In fact, altered immunological tolerance has been directly involved in recurrent pregnancy losses and pregnancy disorders [6–8].

Pregnancy is associated with clinical improvement of different inflammatory autoimmune diseases, as rheumatoid arthritis or multiple sclerosis. However, other autoimmune disorders have a higher risk of exacerbations during pregnancy [9].

In MS, pregnancy reduces the annualized relapse rate, especially during the 3rd trimester, whereas relapse rate temporarily increases during puerperium [10]. The exact mechanism underlying this clinical observation remains unknown. However, this pattern can be changing actually because of the use of DMT in women with MS. Many patients have a stable disease before and after pregnancy. By contrast, the withdrawal of some treatments before pregnancy can augment the appearance of relapses during gestation [11–14]. However, these

* Corresponding author at: Hospital General Gregorio Marañón, Neurology Department, Calle Dr. Esquerdo 46, Madrid, Spain.

E-mail addresses: juancuelloneuro@gmail.com, juanpablo.cuello@salud.madrid.org (J.P. Cuello).

<https://doi.org/10.1016/j.jns.2020.116811>

Received 28 October 2019; Received in revised form 28 February 2020; Accepted 27 March 2020

Available online 30 March 2020

0022-510X/ © 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.

changes do not seem to affect disability progression in the long term, although more evidences are needed to definitely demonstrate this [15].

Changes in the decidua and peripheral blood immune cell subsets were explored and no differences in absolute cell counts were found between healthy women and MS patients. This suggests that disease improvement during pregnancy may be due to functional changes in the immune cells rather than to their numbers [16]. We aimed to explore the serum cytokine profiles in a prospective cohort of pregnant MS patients to investigate any possible correlation with the occurrence of relapses during pregnancy and postpartum. We selected cytokines representative of Th1 and Th17 responses [Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- α), Interferon-Gamma (IFN- γ) and Interleukin (IL) 17]; cytokines involved in the activation of innate cells by the adaptive immune cells [Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF)], regulatory cytokines (IL-10), and two molecules closely implicated in the pregnancy-induced tolerance [Programmed Death-Ligand-1 (PD-L1) and Activin-A] [17–20].

2. Patients and methods

2.1. Patients

This was a prospective, longitudinal study conducted at Hospital General Universitario Gregorio Marañón (Madrid, Spain). During the last 11 years, 89 relapsing remitting (RR) MS patients diagnosed using the McDonald criteria [21,22], got pregnant in our hospital (8.09 pregnancies per year). Seventy four gave their informed consent to participate in the study and were consecutively included. Twenty-one patients were excluded due to abortions (11 patients), moving to other town (5 patients), and missing blood samples (5 cases). We finally studied 53 pregnant MS patients, who gave birth between January 2007 and July 2018 in our hospital.

Patients were evaluated every trimester and during puerperium, with additional visits when a relapse was suspected. During the first visit, we studied demographic and clinical variables including age, disease duration, reproductive history, annualized relapse rate before pregnancy, disability status according to the EDSS scale, and previous treatments [23]. During follow-up, we monitored disease activity by exploring the presence of relapses. Neurologists were blind to laboratory results during the study. A relapse was defined as the appearance or worsening of focal neurological dysfunction lasting more than 24 h, in the absence of fever [24]. We classified patients according to the appearance of relapses during pregnancy or postpartum (six months). The study was approved by the ethics committee of Hospital General Universitario Gregorio Marañón, and written informed consent was obtained from all participating patients.

2.2. Samples

Serum samples of MS pregnant women were obtained during the first (weeks 8–12), second (weeks 13–28), and third (weeks 29–37) trimesters and within the first trimester of postpartum (P). After collection, samples were aliquoted and stored at -80°C until analysis. They were thawed, processed and analyzed all at once when all samples had been collected. The median time from last sample collection in every patient to analysis was 3.1 years, the mean was 4.38 years and the interquartile range: 1.7–7.5 years.

2.3. Sample analyses

We prospectively studied levels of IFN- γ , TNF- α , IL-17, IL-10, GM-CSF, Activin-A, and PD-L1. PD-L1 was assessed by an ELISA kit from R&D Systems™. GM-CSF and IL-17 were explored with ELISA kits from BioLegend™. Finally, IFN- γ , IL-10, and TNF- α were evaluated using ELISA kits from Elabscience™.

2.4. Statistical analyses

Descriptive, non-parametric analyses were performed. Non-parametric analyses were made using Mann Whitney *U* test. When needed, cut off values were established using ROC curves. Then we converted continuous variables to categorical ones by classifying patients according to the established cut-off values (Higher and lower values) and analyzed odd ratios by Fisher exact tests. Correlations were studied by Spearman non-parametric test. All studies were conducted with STATA statistical package, and *p* values below 0.05 were considered significant. The artworks of this paper were created by using Prism® 7 GraphPad Software (La Jolla, CA, USA).

3. Results

Fifty-three pregnant MS patients were included in the study. Sixteen (30%) of them experienced relapses during pregnancy or puerperium (P-MS-R group), and 37 (70%) did not (P-MS-NR group). Five of the patients with relapses had them only during pregnancy, other six only in the postpartum, and the remaining five had relapses in both pregnancy and postpartum. Thus 50% of women having relapses in pregnancy also had relapses in the postpartum. This coincidence made us think that these were not independent phenomena, and we decided to analyze patients having relapses during pregnancy and postpartum as a whole.

No differences in the obstetrical characteristics were found, except for age that was slightly lower in the P-MS-NR group (Table 1). We did not find either differences in clinical characteristics or treatment status between the two groups of patients (Table 2). We did not find differences either between the time elapsed from treatment withdrawal to pregnancy in patients having relapses [2 (0–8) weeks; median (IQR)] or in non-relapsing patients [4 (0–21) weeks, *p* = .90].

We next studied their cytokine profiles. Low levels of Activin-A (*p* = .003) and IL-10 (*p* = .02) during the first trimester, and of Activin-A during the second trimester (*p* = .030) associated with the occurrence of relapses during pregnancy and post-partum (Fig. 1). When exploring separately levels of activin and IL-10 of patients having relapses during pregnancy or during postpartum no significant differences were found (Supp. Table 1). We did not find differences either in the levels of activin-A and IL-10 in the first trimester of pregnancy of treatment naïve patients and those receiving previously DMT (Suppl. Table 2). No additional association between cytokine values and the onset of relapses during pregnancy were observed, although a trend for higher PD-L1 values was noted in the P-MS-NR group during the first trimester (*p* = .06, Table 3). We next explored the correlation among values of these three variables in the first trimester. We found a clear association between Activin-A, and both PD-L1 (*r* = 0.53, *p* = .0005) and IL-10 (*r* = 0.43, *p* = .004, Table 3).

We established a cut-off value of 515 pg/dl for Activin-A using a

Table 1
Reproductive and obstetric information.

	P-MS-R (n: 16)	P-MS-NR (n: 37)	<i>p</i> value
Age (y) (median [IQR])	32 (30–34)	35 (32–37)	0.01
Abortion history. n (%)	6 (37.5%)	11 (29.7%)	0.9
Primiparous. n (%)	9 (56%)	30 (81%)	0.08
Delivery mode: Vaginal. n (%)	16 (100%)	29 (78%)	0.08
GA at birth, weeks (median [IQR])	40 (38.25–40.25)	39 (38–40)	0.2
Birthweight in g (median [IQR])	3335 (2790–3574)	2930 (2675–3540)	0.2

g: grams; GA: gestational age; IQR: interquartile range; P-MS-R: Pregnant multiple sclerosis patients, with relapses during pregnancy or puerperium; P-MS-NR: Pregnant multiple sclerosis patients, with no relapses during pregnancy or puerperium; Y: years.

Table 2
Baseline clinical characteristics of MS patients.

	P-MS-R (n:16)	P-MS NR (n:37)	p value
Disease duration (years, median [IQR])	9 (4.2–14.5)	7.5 (5–12.7)	0.6
EDSS score (median [IQR])	0–5 (0–1.5)	1 (0–1)	0.8
ARR two years before pregnancy (median [IQR])	0.5 (0–0.5)	0.5 (0–0.5)	0.3
Last relapse before pregnancy (months, median [IQR])	22 (10–32)	23 (14–59)	0.2
Patients with relapses only during pregnancy	5 (31.25%)	0	na
Patients with relapses only during postpartum	6 (37.5%)	0	na
Patients with relapses during pregnancy AND puerperium	5 (31.25%)	0	na
Treatment Status before pregnancy:			
Treatment naïve. n (%)	7 (43%)	13 (35%)	0.55
Patients on DMT before pregnancy. n (%)	9 (57%)	24 (65%)	
Patients on DMT after pregnancy. n (%)	8 (50%)	30 (81%)	0.1
DMT initiation after delivery (weeks, median [IQR])	13 (5.5–46.5)	20.5 (2–43)	0.1
Treatment cessation before pregnancy: (median in weeks [IQR])	2 (0–8)	4 (0–21)	0.9
First line treatment:	APD: 4 APT: 3	APD: 16 APT: 5	0.2
Second line treatment: Wash-out period in weeks	APD: 1 (fingolimod, 8) APT: 1 (natalizumab)	APD: 1 (fingolimod, 4) APT: 2 (fingolimod - alemtuzumab)	0.2

APD: at pregnancy desire (pregnancy occurred with DMT washout period); APT: at positive pregnancy test (pregnancy occurred with no DMT washout period); DMT: disease modifying treatment; IFN: interferon; na: not applicable; ARR: annualized relapse rate; EDSS: Expanded Disability Status Scale; IQR: interquartile range; P-MS-R: Pregnant multiple sclerosis patients, with relapses during pregnancy or puerperium; P-MS-NR: Pregnant multiple sclerosis patients, with no relapses during pregnancy or puerperium.

ROC curve (AUC = 0.79, $p = .004$) (Fig. 2A). We then assessed the value of this variable to predict the appearance of relapses during pregnancy and postpartum. Patients with Activin-A higher than the cut-off value showed high probability of having no relapses during this period (OR = 13.75, confidence interval: 2.5–76.8, $p = .001$) (Fig. 2B). These data strongly suggest that the activation of a tolerogenic innate immune response is crucial to inhibit MS activity during pregnancy and postpartum.

Since the range of sample collection was wide, we further studied if the week in which the samples were collected within trimesters could

influence the cytokine values. This was only found in activin A. The best periods for sample collection seem to be from week 9 to 12 in the first trimester, from 20 to 24 in the second one and from 34 to 37 in the third trimester (Supplementary Fig. 1). However these changes did not alter the cut-off value obtained with the whole patient cohort.

4. Discussion

Different studies addressed the value of specific cytokines and checkpoint molecules during pregnancy [25,26]. Regulatory B cells

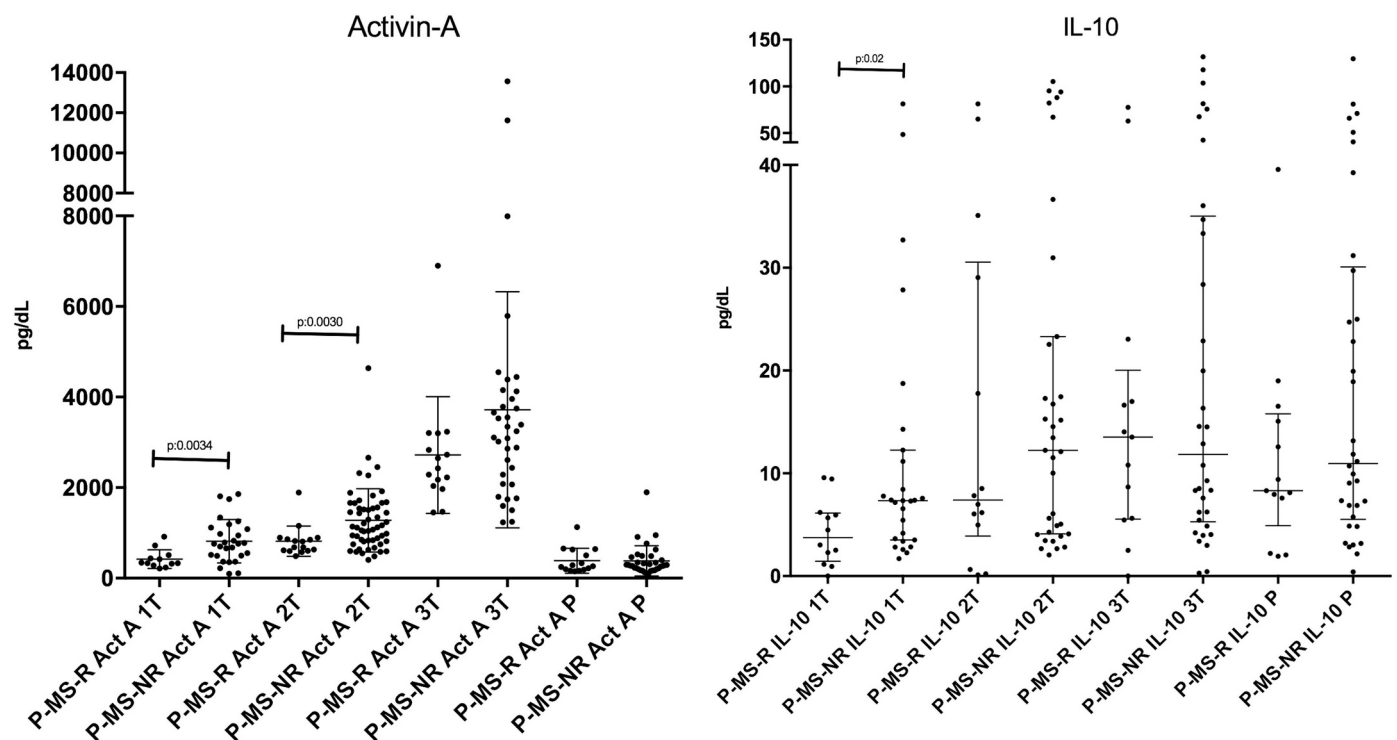


Fig. 1. Differences in serum Activin-A and IL-10 during conception and puerperium. Patients with pregnancy or postpartum relapses (P-MS-R) showed a lower serum values of Activin-A (Act-A) at first trimester ($p = .0034$) and second trimester ($p = .003$) of pregnancy, and a low interleukin 10 (IL-10) value at first trimester ($p = .02$) compared to patients free of relapses during this period (P-MS-NR). 1 T: first trimester of pregnancy; 2 T: second trimester of pregnancy; 3 T: third trimester of pregnancy; P: puerperium.

Table 3
Cytokine and programmed dead ligand 1 levels during pregnancy and puerperium.

Proteins	P-MS-R median (IQR) pg/mL (n: 16)	P-MS-NR median (IQR) pg/mL (n: 37)	p value
1st trimester			
Activin-A	336.4 (289.6–491.7)	760 (493.2–1108)	0.003
PD-L1	54.92 (33.8–72.34)	70.61 (51.44–98.77)	0.06
TNF- α	24.35 (2.175–290.5)	31.25 (6.08–56.59)	0.9
IFN- γ	0 (0–486.3)	21.89 (0–331.1)	0.8
IL-10	3.755 (1.443–6.135)	7.34 (3.52–12.27)	0.02
IL-17	0 (0–3.135)	0 (0–0)	0.1
GM-CSF	0 (0–0.15)	0 (0–0.15)	0.90
2nd trimester			
Activin-A	746.2 (606.6–884.9)	1123 (817.5–1560)	0.003
PD-L1	196.7 (157.4–241.6)	208.6 (152.8–335)	0.5
TNF- α	189.1 (36.81–220.6)	52.71 (16.63–125.9)	0.1
IFN- γ	302.5 (13.44–636.9)	195.4 (0–689.8)	0.8
IL-10	7.41 (3.895–30.56)	12.23 (4.11–23.3)	0.57
IL-17	0 (0–1.19)	0 (0–2.7)	0.7
GM-CSF	0 (0–0.81)	0 (0–0.1)	0.3
3rd trimester			
Activin-A	2428 (2034–3201)	3246 (2083–4127)	0.06
PD-L1	449.4 (362.1–558.5)	424.8 (308.8–545)	0.4
TNF- α	149.8 (17.07–265.6)	54.91 (12.99–144.7)	0.2
IFN- γ	561.4 (0–854.5)	370.3 (0–659)	0.5
IL-10	13.52 (5.54–20.03)	11.83 (5.29–35.03)	0.82
IL-17	0 (0–0.645)	0 (0–1.948)	0.8
GM-CSF	0 (0–0.72)	0 (0–0.53)	0.9
Puerperium			
Activin-A	263.3 (187.4–630.1)	285.6 (196.8–463.9)	0.97
PD-L1	36.63 (31.15–47.87)	41.44 (26.99–63)	0.7
TNF- α	89.64 (37.04–204.9)	62.96 (17.82–125.5)	0.2
IFN- γ	139.6 (0–627.3)	213.5 (9.068–547.1)	0.6
IL-10	8.32 (4.9–15.8)	10.94 (5.528–30.09)	0.3
IL-17	0 (0–0)	0 (0–0.975)	0.3
GM-CSF	0 (0–0.17)	0 (0–0)	0.8

GM-CSF: Granulocyte macrophage colony stimulating factor; IFN- γ : interferon gamma; IL-10: interleukin 10; IL-17: interleukin 17; PD-L1: programmed dead ligand 1; P-MS-R: Pregnant multiple sclerosis patients, with relapses during pregnancy or puerperium; P-MS-NR: Pregnant multiple sclerosis patients, with no relapses during pregnancy or puerperium.

(Breg) are involved in tolerance occurring during pregnancy through secretion of IL-10 [18]. Another protein playing an important role in pregnancy is Activin-A. It is expressed in the decidua, syncytiotrophoblast, cytotrophoblast, and fetal membranes, and is one of the primary placental proteins formed and secreted into the maternal circulation. Its levels increase during gestation and become negligible postpartum. One of the major roles of Activin-A during pregnancy is the modulation of inflammatory responses by regulating the function of neutrophils, monocytes, and lymphocytes. [20,27,28] This control is important since high levels of TH-1 cells producing IFN- γ are associated with implantation failure [29]. However, there is only limited information on the cytokine profile of pregnant MS women. In a small cohort of 15 MS patients followed during pregnancy and puerperium, it was suggested that the decline in T lymphocytes producing IFN- γ after CD3/CD28 stimulation, is associated with a higher risk of postpartum relapses [30]. Unfortunately, there is a lack of newly published data on this field. However, to explore the immunological changes occurring in MS during pregnancy would be of great interest to understand the pathological changes during in this particular period of the disease, which often coincides with a clear improvement of the natural course of the disease. Furthermore, the interaction of the checkpoint molecule PD-L1 with its ligand PD-1 during pregnancy can modify the maternal decidua cytokine secretion profile. The syncytiotrophoblast employs PD-L1 as the immune checkpoint to inactivate PD-1 expressing immune cells [26], facilitating thus a local immune suppression [17] and probably a more tolerogenic systemic environment [19]. To deepen in the understanding of the tolerogenic mechanisms that occur during

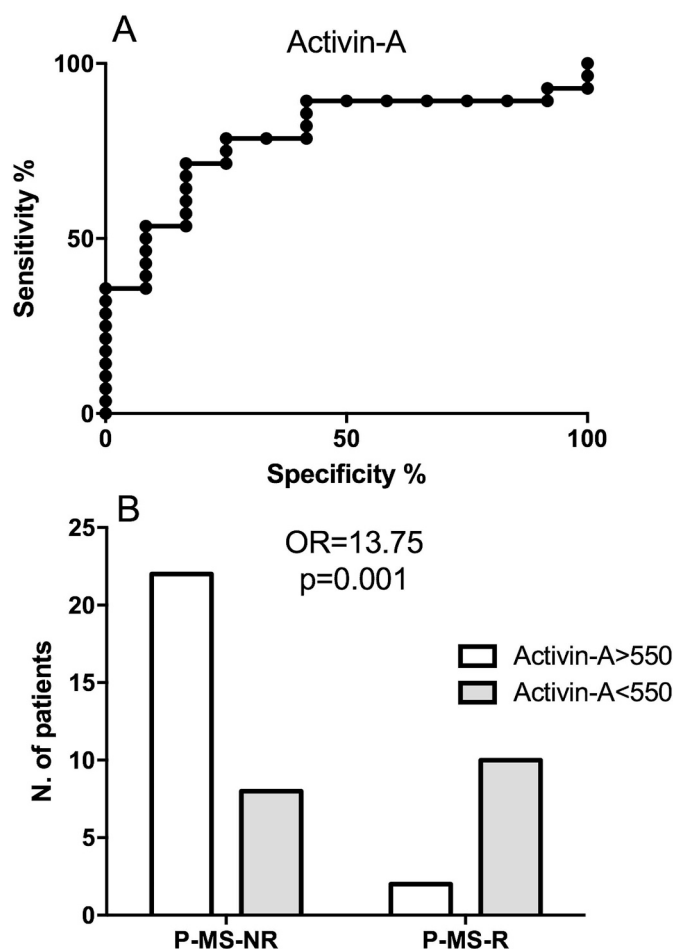


Fig. 2. Activin A values in the first trimester of pregnancy predict the appearance of relapses during pregnancy and postpartum. (A) We established a cut-off value of 515 pg/dl for Activin-A using a ROC curve (AUC = 0.79, $p = .004$). (B). A higher proportion of patients showing activin A lower than 550 pg/dl was found in those having relapses during pregnancy (P-MS-R) than in non-relapsing ones (P-MS-NR).

pregnancy and their impact on the autoimmune process would guide the development of novel treatment strategies since it could give us new tools for controlling MS activity. In addition, it could provide us with biomarkers to predict disease course during this period.

The natural history of MS has changed with the onset of disease modifying treatments in the last years, and so the concept of pregnancy being a particularly benign period is changing too, with relapses increasing during pregnancy probably due to treatment withdrawn before conception [31]. However, classically pregnancy and postpartum have been considered to have a different outcome in MS and studied separately. Intriguingly, we found that 31.25% of patients having relapses in our cohort, experienced them during both periods. In addition, relapses associate in pregnant MS women with increased neurofilament light chains, which associate with disease activity both in pregnancy and postpartum [32]. Thus, we decided to evaluate both periods together. Clinical predictors of postpartum relapses have been described in larger series of patients [33], but the finding of biological biomarkers can be important to predict patient outcome in individual cases. We quantified serum levels of different proinflammatory and regulatory cytokines during pregnancy and postpartum and did not find association with previous treatment status or clinical characteristics. However, we found increased Activin-A and IL10 during the first trimester of pregnancy in patients showing no relapses. A trend to an increase of PD-L1 was also observed in this group and a clear correlation between these variables was observed in the whole cohort, thus strongly suggesting that they

associate with patient outcome during pregnancy.

In the second trimester, a discrete increase of Activin-A remained in pregnant MS patients not suffering relapses, but values were similar in both groups at the third trimester. This could contribute to the disease amelioration during this period [34,35]. No differences in other pro and anti-inflammatory cytokines were observed in the study.

The main limitations of our study are related with being a single center study, and with the broad range of sample collection. Although the relatively low numbers of patients did not allow us to clearly define the optimal collection periods, our results strongly suggests weeks from nine to twelve in the first trimester, and from 20 to 24 in the second one as the optimal ones. Future multi-center studies with larger numbers of patients are needed to further demonstrate these results.

5. Conclusions

Although these results should be validated in multi-center cohorts, we consider our findings as clinically relevant since the values of serum Activin-A soon after conception could identify patients at high risk of suffering relapses during pregnancy or postpartum, to tailoring treatment decisions in MS women during this period.

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.jns.2020.116811>.

Declaration of Competing Interest

None.

Acknowledgements

This study was funded by Biogen.

References

- [1] L. Sagrillo-Fagundes, J. Bienvenue-Pariseault, P. Legembre, et al., An insight into the role of the death receptor CD95 throughout pregnancy: Guardian, facilitator, or foe, *Birth Defects Res.* 111 (2019) 197–211, <https://doi.org/10.1002/bdr2.1470>.
- [2] K. Patas, J.B. Engler, M.A. Friese, et al., Pregnancy and multiple sclerosis: fetomaternal immune cross talk and its implications for disease activity, *J. Reprod. Immunol.* 97 (2013) 140–146, <https://doi.org/10.1016/j.jri.2012.10.005>.
- [3] A. Finkelsztejn, J.B.B. Brooks, F.M. Paschoal, et al., What can we really tell women with multiple sclerosis regarding pregnancy? A systematic review and meta-analysis of the literature, *BJOG Int. J. Obstet. Gynaecol.* 118 (2011) 790–797, <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2011.02931.x>.
- [4] K. Qiu, Q. He, X. Chen, et al., Pregnancy-related immune changes and demyelinating diseases of the central nervous system, *Front. Neurol.* 10 (2019) 1070, <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.01070>.
- [5] S.E. Ander, M.S. Diamond, C.B. Coyne, Immune responses at the maternal-fetal interface, *Sci. Immunol.* 4 (2019), <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aat6114> eaat6114.
- [6] J. Kwak-Kim, S. Bao, S.K. Lee, et al., Immunological modes of pregnancy loss: inflammation, immune effectors, and stress, *Am. J. Reprod. Immunol.* 72 (2014) 129–140, <https://doi.org/10.1111/aji.12234>.
- [7] M.E. Solano, Decidual immune cells: guardians of human pregnancies, *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 60 (2019) 3–16, <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2019.05.009>.
- [8] L. Teirilä, J. Heikkinen-Eloranta, J. Kotimaa, et al., Regulation of the complement system and immunological tolerance in pregnancy, *Semin. Immunol.* 45 (2019) 101337, <https://doi.org/10.1016/j.smim.2019.101337>.
- [9] J.P. Buyon, The effects of pregnancy on autoimmune diseases, *J. Leukoc. Biol.* 63 (1998) 281–287.
- [10] C. Confavreux, M. Hutchinson, M.M. Hours, et al., Rate of pregnancy-related relapse in multiple sclerosis. Pregnancy in multiple sclerosis group, *N. Engl. J. Med.* 339 (1998) 285–291, <https://doi.org/10.1056/NEJM199807303390501>.
- [11] A.M. Langer-Gould, Pregnancy and family planning in multiple sclerosis, *Contin.* Minneap. Minn. 25 (2019) 773–792, <https://doi.org/10.1212/CON.0000000000000745>.
- [12] K. Hellwig, A. Haghikia, M. Rockhoff, et al., Multiple sclerosis and pregnancy: experience from a nationwide database in Germany, *Ther. Adv. Neurol. Disord.* 5 (2012) 247–253, <https://doi.org/10.1177/1756285612453192>.
- [13] M.K. Houtchens, N.C. Edwards, A.L. Phillips, Relapses and disease-modifying drug treatment in pregnancy and live birth in US women with MS, *Neurology* 91 (2018) e1570–e1578, <https://doi.org/10.1212/WNL.000000000000382>.
- [14] E. Portaccio, P. Annovazzi, A. Ghezzi, et al., Pregnancy decision-making in women with multiple sclerosis treated with natalizumab: I: Fetal risks, *Neurology* 90 (2018) e823–e831, <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000005067>.
- [15] V.G. Jokubaitis, T. Spelman, T. Kalincik, et al., Predictors of long-term disability accrual in relapse-onset multiple sclerosis, *Ann. Neurol.* 80 (2016) 89–100, <https://doi.org/10.1002/ana.24682>.
- [16] M. Spadaro, S. Martire, L. Marozio, et al., Immunomodulatory effect of pregnancy on leukocyte populations in patients with multiple sclerosis: a comparison of peripheral blood and decidual placental tissue, *Front. Immunol.* 10 (2019) 1935, <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01935>.
- [17] E.S. Taglauer, A.S. Trikhacheva, J.G. Slusser, et al., Expression and function of PDCD1 at the human maternal-fetal interface, *Biol. Reprod.* 79 (2008) 562–569, <https://doi.org/10.1095/biolreprod.107.066324>.
- [18] M. Ghaebi, M. Nouri, A. Ghasemzadeh, et al., Immune regulatory network in successful pregnancy and reproductive failures, *Biomed. Pharmacother.* 88 (2017) 61–73, <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.01.016>.
- [19] Y.-H. Zhang, M. Tian, M.-X. Tang, et al., Recent insight into the role of the PD-1/PD-L1 pathway in fetomaternal tolerance and pregnancy, *Am. J. Reprod. Immunol.* 74 (2015) 201–208, <https://doi.org/10.1111/aji.12365>.
- [20] E. Bloise, P. Ciarmela, C. Dela Cruz, et al., Activin a in mammalian physiology, *Physiol. Rev.* 99 (2019) 739–780, <https://doi.org/10.1152/physrev.00002.2018>.
- [21] C.H. Polman, S.C. Reingold, G. Edan, et al., Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the “McDonald criteria”, *Ann. Neurol.* 58 (2005) 840–846, <https://doi.org/10.1002/ana.20703>.
- [22] C.H. Polman, S.C. Reingold, B. Banwell, et al., Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria, *Ann. Neurol.* 69 (2011) 292–302, <https://doi.org/10.1002/ana.22366>.
- [23] J.F. Kurtzke, Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS), *Neurology* 33 (1983) 1444–1452, <https://doi.org/10.1212/WNL.33.11.1444>.
- [24] T. Kalincik, Multiple sclerosis relapses: epidemiology, outcomes and management. A systematic review, *Neuroepidemiology* 44 (2015) 199–214, <https://doi.org/10.1159/000382130>.
- [25] A. Schumacher, A.C. Zenclussen, Regulatory T cells: regulators of life, *Am. J. Reprod. Immunol.* 72 (2014) 158–170, <https://doi.org/10.1111/aji.12238>.
- [26] E. Veras, R.J. Kurman, T.-L. Wang, et al., PD-L1 expression in human placentas and gestational trophoblastic diseases, *Int. J. Gynecol. Pathol.* 36 (2017) 146–153, <https://doi.org/10.1097/PGP.0000000000000305>.
- [27] A. Dillenburg, G. Ireland, R.K. Holloway, et al., Activin receptors regulate the oligodendrocyte lineage in health and disease, *Acta Neuropathol. (Berl)* 135 (2018) 887–906, <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1813-3>.
- [28] V.E. Miron, A. Boyd, J.-W. Zhao, et al., M2 microglia and macrophages drive oligodendrocyte differentiation during CNS remyelination, *Nat. Neurosci.* 16 (2013) 1211–1218, <https://doi.org/10.1038/nn.3469>.
- [29] P.-Y. Liang, L.-H. Diao, C.-Y. Huang, et al., The pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokine profile in peripheral blood of women with recurrent implantation failure, *Reprod. BioMed. Online* 31 (2015) 823–826, <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2015.08.009>.
- [30] A. Langer-Gould, R. Gupta, S. Huang, et al., Interferon-gamma-producing T cells, pregnancy, and postpartum relapses of multiple sclerosis, *Arch. Neurol.* 67 (2010) 51–57, <https://doi.org/10.1001/archneurol.2009.304>.
- [31] R. Alroughani, M.S. Alowayesh, S.F. Ahmed, et al., Relapse occurrence in women with multiple sclerosis during pregnancy in the new treatment era, *Neurology* 90 (2018) e840–e846, <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000005065>.
- [32] J.P. Cuello, M.L. Martínez Ginés, J. Kuhle, et al., Neurofilament light chain levels in pregnant multiple sclerosis patients: a prospective cohort study, *Eur. J. Neurol.* 26 (2019) 1200–1204, <https://doi.org/10.1111/ene.13965>.
- [33] S.E. Hughes, T. Spelman, O.M. Gray, et al., Predictors and dynamics of postpartum relapses in women with multiple sclerosis, *Mult. Scler. Houndmills Basingstoke Engl.* 20 (2014) 739–746, <https://doi.org/10.1177/1352458513507816>.
- [34] M.-P. Piccinni, L. Lombardelli, F. Logiodice, et al., How pregnancy can affect autoimmune diseases progression? *Clin. Mol. Allergy* 14 (2016) 11, <https://doi.org/10.1186/s12948-016-0048-x>.
- [35] R. Wijayarathna, D.M. de Kretser, Activins in reproductive biology and beyond, *Hum. Reprod. Update* 22 (2016) 342–357, <https://doi.org/10.1093/humupd/dmv058>.

4.4 NEUROFILAMENT LIGHT CHAIN LEVELS IN PREGNANT MULTIPLE SCLEROSIS PATIENTS: A PROSPECTIVE

COHORT STUDY

J. P. Cuello , M. L. Martínez Ginés, J. Kuhle, J. M. García Domínguez, A. Lozano Ros, F. Romero Delgado, Y. Higuera, A. Meldaña Rivera, H. Goicochea Briceño, S. García-Tizon Larroca, J. De León-Luis, Z. Michalakb, C. Barro, R. Alvarez Lafuentec, S. Medina Heras, J. I. Fernández Velasco, A. Tejada-Velarde, M. I. Domínguez-Mozo, A. Muriel, C. de Andrés and L. M. Villar

DOI: [10.1111/ene.13965](https://doi.org/10.1111/ene.13965)

Introducción y objetivos:

La cadena ligera de los neurofilamentos (NfL) es una proteína que forma parte del citoesqueleto de las neuronas. Su medición en LCR y suero demostraron ser útiles como marcadores subrogados de daño axonal. El objetivo del presente estudio fue analizar los niveles séricos de las cadenas ligeras de neurofilamentos (sNfL) durante el embarazo y el puerperio, en pacientes con esclerosis múltiple (EM) y controles sanos.

Métodos:

Se realizó un estudio prospectivo, longitudinal y unicéntrico. La concentración de sNfL se evaluó utilizando un test de matriz de molécula única (single-molecule array, SIMOA, en inglés) durante el embarazo y el puerperio, en una cohorte de 39 pacientes embarazadas con esclerosis múltiple remitente-recurrente. Como grupo control, se incluyeron 21 mujeres embarazadas sanas. Ocho pacientes con EM sufrieron brotes durante el embarazo (P-MS-R), tanto en el primer como en el segundo trimestre. Ninguna paciente de nuestro estudio sufrió un brote durante el 3º trimestre.

Resultados:





No se observaron diferencias en los resultados obstétricos entre las pacientes con EM y sus controles sanos. Las pacientes con EM tuvieron valores de sNfL más altos

durante el 1° trimestre de gestación en comparación a los controles sanos, independientemente de la presencia ($P = 0,002$) o no ($P = 0,02$) de brotes durante el embarazo. Sin embargo, en el tercer trimestre, solo las pacientes con EM que tuvieron brotes durante el embarazo tuvieron valores de sNfL más altos que los controles sanos ($P = 0,001$). Estas diferencias se extendieron al puerperio, donde las pacientes EM con brotes tuvieron valores de sNfL más altos que aquellos sin brotes durante la gestación ($P = 0.02$).

Conclusión:

Nuestros hallazgos sugieren que los niveles de sNfL reflejan la actividad de la EM durante el embarazo. Además, la ausencia de brotes durante el embarazo puede tener un efecto beneficioso sobre la neurodegeneración durante el puerperio.

Neurofilament light chain levels in pregnant multiple sclerosis patients: a prospective cohort study

J. P. Cuello^a , M. L. Martínez Ginés^a, J. Kuhle^b, J. M. García Domínguez^a, A. Lozano Ros^a, F. Romero Delgado^a, Y. Higuera^a, A. Meldaña Rivera^a, H. Goicochea Briceño^a, S. García-Tizon Larroca^a, J. De León-Luis^a, Z. Michalak^b, C. Barro^b, R. Álvarez Lafuente^c , S. Medina Heras^d, J. I. Fernández Velasco^d, A. Tejada-Velarde^d , M. I. Domínguez-Mozo^c, A. Muriel^d, C. de Andrés^a and L. M. Villar^d 

^aHospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, España; ^bNeurologic Clinic and Policlinic, Departments of Medicine, Biomedicine and Clinical Research, University Hospital Basel, University of Basel, Basel, Switzerland; ^cGrupo de Investigación de Esclerosis Múltiple, Instituto de investigación Sanitaria San Carlos (IdISSC)/Hospital Clínico San Carlos, Madrid; and ^dHospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, España

Keywords:

light chain, multiple sclerosis, neurofilament, pregnancy, puerperium

Received 15 January 2019

Accepted 3 April 2019

European Journal of Neurology 2019, **0**: 1–5

doi:10.1111/ene.13965

Background and purpose: Neurofilament light chain is a cytoskeletal protein of neurons. Its levels are increasingly recognized as measures of neuroaxonal damage. The aim of this study was to explore serum neurofilament light chain (sNfL) levels in multiple sclerosis (MS) patients and healthy controls during pregnancy and puerperium.

Methods: This was a prospective, longitudinal, single-center study. sNfL concentration was assessed using a highly sensitive single-molecule array during pregnancy and in puerperium, in a cohort of 39 pregnant patients with relapsing multiple sclerosis (P-MS). Twenty-one healthy pregnant women (HPW) served as a control group. Eight P-MS suffered relapses during pregnancy (P-MS-R) in the first or second trimesters.

Results: No differences in pregnancy and delivery data were observed between P-MS and HPW. P-MS showed higher sNfL values than HPW in the first trimester, independently of the presence ($P = 0.002$) or not ($P = 0.02$) of relapses during pregnancy. However, in the third trimester, only P-MS-R showed higher sNfL values than HPW ($P = 0.001$). These differences extended to the puerperium, where P-MS-R showed higher sNfL values than those with no relapses during gestation ($P = 0.02$).

Conclusion: These data strongly suggest that sNfL levels reflect MS activity during pregnancy. Additionally, the absence of relapses during pregnancy may have a beneficial effect on neurodegeneration during puerperium.

Introduction

The annualized relapse rate (ARR) is reduced during pregnancy in multiple sclerosis (MS), especially during the third trimester, whilst it is temporarily increased during puerperium [1]. Despite this, pregnancy does not seem to affect disability progression in the long term. However, to what extent pregnancy itself and the occurrence of relapses during pregnancy and puerperium is associated with neuroaxonal injury is yet to

Correspondence: J. P. Cuello, Neurology Department, Hospital General Gregorio Marañón, Calle Dr. Esquerdo 46, Madrid, Spain (tel./fax: +34 915868339; e-mail: juancuelloneuro@gmail.com).

be determined. It is also necessary to investigate whether reducing the ARR during pregnancy and postpartum could be associated with a better long-term outcome.

Neurofilaments are highly specific structural neuronal proteins composed of heteropolymers of neurofilament (Nf) heavy chain, Nf medium chain and Nf light chain (NfL) polypeptides together with alpha-internexin in the central nervous system (CNS) [2]. Cerebrospinal fluid NfL quantification is considered a specific biomarker for neuroaxonal injury in different neurological diseases, which include MS, amyotrophic lateral sclerosis, neurodegenerative disorders, and

acute brain and spinal cord injury [3–5]. Recently, a new method has been developed to measure serum NfL (sNfL) levels using highly sensitive single-molecule array (Simoa, Lexington, MA, USA) technology [6,7]. It has been shown in several studies that sNfL levels are closely associated with cerebrospinal fluid NfL values, arguing for a release within the CNS [6,8].

In MS, sNfL levels are associated with disability and disease activity and predict patient outcome [9,10]. However, little is known about the levels of this protein during pregnancy. The aim was to explore sNfL levels during pregnancy and puerperium in an MS cohort and to assess whether they are associated with disease activity.

Patients and methods

Patients

This was a prospective, longitudinal study conducted at Hospital General Universitario Gregorio Marañón (Madrid, Spain) between January 2007 and July 2017. During the study period, 58 patients with MS had a pregnancy in our center and were examined for eligibility. The 47 patients who gave their informed consent to participate were consecutively included. Three patients were lost during follow-up, and an additional five with missing blood samples were excluded. Finally 39 pregnant MS patients (P-MS) were included. MS was diagnosed according to the McDonald criteria [11,12]. As a control group, 21 healthy age-matched pregnant women (HPW) were included.

Pregnant MS patients were clinically evaluated every trimester and at puerperium, with additional visits in the case of suspected relapse. At first visit, demographic and clinical variables including age, disease duration, reproductive history, clinical form of MS, ARR before pregnancy, disability status according to the Expanded Disability Status Scale (EDSS) score [13] and previous treatments were recorded. During the follow-up disease activity was monitored by exploring changes in the EDSS score and the presence of relapses. Relapses were defined as the appearance or worsening of focal neurological dysfunction of more than 24 h duration, in the absence of fever or signs of infection. The Ethics Committee of our center approved the study protocol and written informed consent was obtained from all participating women.

Samples

Serum samples of MS patients and HPW were obtained during the first (weeks 8–12) and third (weeks 29–37) trimesters and within the first trimester

postpartum. After collection, samples were aliquoted and stored at -80°C until analysis. The sNfL concentration was determined using a highly sensitive single-molecule array (Simoa) assay [6]. Neurologists were blind to laboratory results during the study.

Statistical analyses

Descriptive and multivariate analyses were performed. The results of the continuous variables are presented as median and interquartile range 25%–75% (IQR). Analyses were made using the Mann–Whitney *U* test or chi-squared test for categorical analysis. All analyses were conducted with the Stata statistical package (College Station, TX, USA), and *P* values below 0.05 were considered significant.

Results

Thirty-nine consecutive pregnancies in patients with relapsing MS and 21 HPW were analyzed. Baseline clinical characteristics of the MS group are shown in Table 1. No differences in pregnancy and delivery data were observed between the two groups, except for a higher percentage of primiparas in the control group (Table 2).

Twenty-one (53%) of the P-MS had received previous disease modifying treatment (DMT), which was suspended at pregnancy desire in 14 cases (median washout time 34 weeks, IQR 11–57). In the remaining seven cases DMT was maintained until a positive pregnancy test and then stopped (Table 3). The P-MS group was subdivided into two subgroups according to the presence of relapses during pregnancy: eight (20%) patients suffered relapses (P-MS-R) and 31 (80%) did not (P-MS-NR). Relapses occurred in the first trimester in five patients, in the second trimester in one, and in both first and second trimesters in two patients (Table 3).

Serum NfL values of the different groups are depicted in Fig. 1. *P* values lower than 0.05 are

Table 1 Baseline clinical characteristics of MS patients

	P-MS (<i>n</i> = 39)
Age (years, median, IQR)	33 (31–36)
Disease duration (years)	9 (5–13)
ARR 2 years before pregnancy (median, IQR)	0.6 (0.3–0.8)
EDSS score	1 (0–1)
Time from last relapse until sNfL determination (months)	22 (15.7–42.5)

ARR, annualized relapse rate; EDSS, Expanded Disability Status Scale; IQR, interquartile range; P-MS, pregnant multiple sclerosis group; sNfL: serum neurofilament light chain.

Table 2 Reproductive and obstetric information

	P-MS (<i>n</i> = 39)	HPW (<i>n</i> = 21)	<i>P</i> value
Age (years, median, IQR)	33 (31–36)	35 (30–37)	0.6
Abortion history	14 (35%)	4 (19%)	0.15
Primiparous	9 (23%)	8 (38%)	0.04
Delivery mode: vaginal	33 (84%)	18 (85%)	0.7
GA at birth (weeks, median, IQR)	39 (38–40)	39 (38–40)	0.8
Birthweight (g, median, IQR)	3145 (2717–3462)	3150 (2330–3600)	0.6

GA, gestational age; HPW, healthy pregnant women; IQR, interquartile range; P-MS, pregnant multiple sclerosis group.

Table 3 Treatment status previous to pregnancy in MS patients

	P-MS-R (<i>n</i> = 8)	P-MS-NR (<i>n</i> = 31)	<i>P</i> value
Age (years, median, IQR)	32 (30–32)	34 (31–37)	0.1
ARR 1 year before pregnancy (median, IQR)	0.5 (0–1)	0.5 (0–1)	0.3
Time from last relapse until sNfL determination (months)	20 (11–48)	22 (16–42)	0.5
Treatment status			
Treatment naïve, <i>n</i> (%)	3 (40%)	15 (50%)	0.1
Patients on DMT before pregnancy, <i>n</i> (%)	5 (60%)	16 (50%)	0.2
Treatment cessation			
First line treatment	APD 2/APT 1	APD 12/APT 4	0.09
Second line treatment	APT 2 (40%)	NA	0.09

APD, at pregnancy desire; APT, at positive pregnancy test; ARR, annualized relapse rate; DMT, disease modifying treatment; IQR, interquartile range; NA, not applicable; P-MS-NR, pregnant multiple sclerosis women who had no relapse during pregnancy; P-MS-R, pregnant multiple sclerosis women who suffered relapse during pregnancy; sNfL, serum neurofilament light chain.

shown. MS patients showed higher sNfL levels than HPW in the first trimester, independently of the presence ($P = 0.002$) or not ($P = 0.02$) of relapses during pregnancy. However, in the third trimester, only MS women who suffered relapses showed higher sNfL values compared to the HPW group ($P = 0.001$).

Next sNfL values during puerperium were explored. Both relapsing ($P = 0.04$) and non-relapsing ($P = 0.02$) MS patients showed higher sNfL values

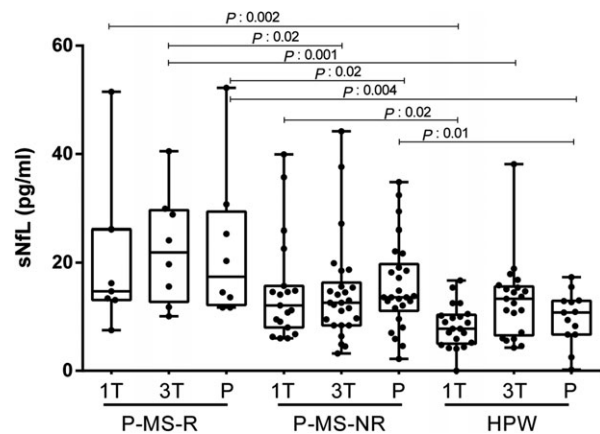


Figure 1 Serum neurofilament light chain levels during pregnancy and puerperium in pregnant MS patients and healthy controls. 1T, first trimester; 3T, third trimester; HPW, healthy pregnant women; P, postpartum; P-MS-R, pregnant multiple sclerosis women who suffered relapse during pregnancy; P-MS-NR, pregnant multiple sclerosis women who had no relapse during pregnancy.

than healthy women at that point, with levels higher in P-MS-R than in P-MS-NR ($P = 0.02$), thus showing that the beneficial effect of having no relapses during pregnancy extended to the postpartum period.

Discussion

High sNfL levels are increasingly recognized as measures of acute or chronic neuroaxonal damage [5,14]. In MS, they are affected by the EDSS score and the occurrence of relapses, whilst storage time and sex do not influence sNfL levels [6,10]. Thus, sNfL measurement can be used to indicate recent neuronal damage or silent clinical activity.

Serum NfL levels increase during pregnancy in healthy women, have a positive correlation with maternal age and can be significantly higher in pre-eclampsia [15]. However, there is a lack of published information about sNfL in MS and the putative correlation with clinical activity during gestation. The aim was to explore this by measuring the concentration of this protein in MS patients during pregnancy and postpartum, using as a control group age-matched HPW. No MS patient showed pre-eclampsia during pregnancy, so our results were not affected by this factor.

In the first trimester of pregnancy, sNfL values were higher in MS patients compared to healthy women. These data agree with prior reports indicating that the protective effect of pregnancy in MS is higher in the third trimester of gestation [1]. By contrast, in the third trimester, changes in this protein were associated

with the patient's clinical status. Hence, patients suffering relapses (all of them occurred within the first and second trimesters) experienced a clear increase compared to healthy women at that point. However, those not suffering relapses during pregnancy showed sNfL values similar to those of healthy women. These data confirm the protective effect of pregnancy in MS during the third trimester of gestation, with this protection being abrogated in the case of relapses during pregnancy. Of note, the increase showed by P-MS-R was evident at the third trimester of pregnancy, more than 3 months after the last relapse occurred, and in the postpartum period. An association of sNfL levels with MS attacks was previously described, with values normalized 3 months after relapses [6]. Our data showing a more prolonged increase in sNfL values after relapses in P-MS may indicate an extended axonal injury, possibly due to the lack of any DMT during this period. Reducing relapses during pregnancy and puerperium can result in a better long-term benefit, mostly by lowering the axonal damage. However, the best strategy to reduce the relapse rate in this context is yet to be established. Published data showed that the relapse rate during pregnancy is higher nowadays, mostly because of DMT cessation and long washout periods before pregnancy [16]. On the other hand, there is increasing clinical experience in the use of some DMT during pregnancy, although the long-term safety is unknown [17–23]. When planning a pregnancy in MS patients, the best strategy may be achieved by a personalized DMT washout cessation before conception, and even by establishing in which cases it is preferable to maintain the safest DMT options throughout the pregnancy in patients at highest risk.

Although these results should be validated in multicenter cohorts, our data strongly suggest that during pregnancy sNfL levels in MS patients depend on their clinical status. High values at the third trimester may indicate the presence of silent clinical activity during pregnancy. These data could give a clue for future clinical decisions in P-MS.

Acknowledgements

This study was supported by Biogen®.

Disclosure of conflicts of interest

All authors except Jens Kuhle report no disclosures. Jens Kuhle, MD, received speaker fees, research support, travel support and/or served on advisory boards byECTRIMS, Swiss MS Society, Swiss National Research Foundation (320030_160221), University of

Basel, Bayer, Biogen, Genzyme, Merck, Novartis, Protagen AG, Roche, Teva. The authors declare that there is no conflict of interest.

References

1. Confavreux C, Hutchinson M, Hours MM, *et al.* Rate of pregnancy-related relapse in multiple sclerosis. Pregnancy in Multiple Sclerosis Group. *N Engl J Med* 1998; **339**: 285–291.
2. Yuan A, Rao MV, Veeranna, Nixon RA. Neurofilaments at a glance. *J Cell Sci* 2012; **125**: 3257–3263.
3. Teunissen CE, Khalil M. Neurofilaments as biomarkers in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2012; **18**: 552–556.
4. Bielekova B, McDermott MP. Will CSF biomarkers guide future therapeutic decisions in multiple sclerosis? *Neurology* 2015; **84**: 1620–1621.
5. Khalil M, Teunissen CE, Otto M, *et al.* Neurofilaments as biomarkers in neurological disorders. *Nat Rev Neurol* 2018; **14**: 577–589.
6. Disanto G, Barro C, Benkert P, *et al.* Serum neurofilament light: a biomarker of neuronal damage in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2017; **81**: 857–870.
7. Gisslén M, Price RW, Andreasson U, *et al.* Plasma concentration of the neurofilament light protein (NFL) is a biomarker of CNS injury in HIV infection: a cross-sectional study. *EBioMedicine* 2016; **3**: 135–140.
8. Barro C, Leocani L, Leppert D, *et al.* Fluid biomarker and electrophysiological outcome measures for progressive MS trials. *Mult Scler* 2017; **23**: 1600–1613.
9. Disanto G, Adiutori R, Dobson R, *et al.* Serum neurofilament light chain levels are increased in patients with a clinically isolated syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2016; **87**: 126–129.
10. Barro C, Benkert P, Disanto G, *et al.* Serum neurofilament as a predictor of disease worsening and brain and spinal cord atrophy in multiple sclerosis. *Brain* 2018; **141**: 2382–2391.
11. Polman CH, Reingold SC, Edan G, *et al.* Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the 'McDonald Criteria'. *Ann Neurol* 2005; **58**: 840–846.
12. Sadaka Y, Verhey LH, Shroff MM, *et al.* 2010 McDonald criteria for diagnosing pediatric multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2012; **72**: 211–223.
13. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 1983; **33**: 1444–1452.
14. Comabella M, Montalban X. Body fluid biomarkers in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2014; **13**: 113–126.
15. Evers KS, Atkinson A, Barro C, *et al.* Neurofilament as neuronal injury blood marker in preeclampsia. *Hypertension* 2018; **71**: 1178–1184.
16. Alroughani R, Alowayesh MS, Ahmed SF, *et al.* Relapse occurrence in women with multiple sclerosis during pregnancy in the new treatment era. *Neurology* 2018; **90**: e840–e846.
17. Haghikia A, Langer-Gould A, Rellensmann G, *et al.* Natalizumab use during the third trimester of pregnancy. *JAMA Neurol* 2014; **71**: 891–895.
18. Hellwig K, Haghikia A, Gold R. Pregnancy and natalizumab: results of an observational study in 35 accidental pregnancies during natalizumab treatment. *Mult Scler* 2011; **17**: 958–963.

19. Thiel S, Langer-Gould A, Rockhoff M, *et al.* Interferon-beta exposure during first trimester is safe in women with multiple sclerosis – a prospective cohort study from the German Multiple Sclerosis and Pregnancy Registry. *Mult Scler* 2016; **22**: 801–809.
20. Fragoso YD, Boggild M, Macias-Islas MA, *et al.* The effects of long-term exposure to disease-modifying drugs during pregnancy in multiple sclerosis. *Clin Neurol Neurosurg* 2013; **115**: 154–159.
21. Giannini M, Portaccio E, Ghezzi A, *et al.* Pregnancy and fetal outcomes after glatiramer acetate exposure in patients with multiple sclerosis: a prospective observational multicentric study. *BMC Neurol* 2012; **12**: 124.
22. Sandberg-Wollheim M, Neudorfer O, Grinspan A, *et al.* Pregnancy outcomes from the branded glatiramer acetate pregnancy database. *Int J MS Care* 2018; **20**: 9–14.
23. Lu E, Dahlgren L, Sadovnick A, *et al.* Perinatal outcomes in women with multiple sclerosis exposed to disease-modifying drugs. *Mult Scler* 2012; **18**: 460–467.

5. DISCUSSION

5. Discusión:

En el presente estudio, nuestro objetivo fue analizar las distintas variables principales que puedan relacionarse con el embarazo en una paciente con EM. De esta manera, estudiamos inicialmente la fertilidad de nuestra cohorte en condiciones fisiológicas, el retraso habitual para concebir que puedan haber experimentado, y cómo esto puede influir en el curso de la enfermedad, tanto en las posibilidades de una eventual reactivación de la actividad inflamatoria de la EM, cómo en las distintas elecciones terapéuticas al planificar el embarazo. Además, nos propusimos analizar los distintos factores bioquímicos e inmunológicos que pudieran influir en las fluctuaciones clínicas que experimenta una paciente con EM durante el embarazo-puerperio, y buscar un posible biomarcador sanguíneo que sirva para correlacionarse con la evolución clínica, e incluso poder predecir la actividad inflamatoria que puedan experimentar las pacientes durante este periodo de tiempo. Por último, incluimos en análisis del título de neurofilamentos en suero, ya que pensábamos que su utilidad como marcador subrogado de daño neuro-axonal nos podría ayudar a valorar mejor la actividad inflamatoria y el daño subclínico producido durante este periodo específico donde la EM puede presentar fluctuaciones clínicas importantes en un periodo corto de tiempo.

5.1 Fertilidad, retraso hasta concebir y su influencia en la EM

La reproducción humana es una cuestión de azar, que depende de la consecución de una serie de procesos secuenciales que conducen a lograr un embarazo a término y al nacimiento de un niño sano. Esta secuencia de distintos procesos fisiológicos requeridos para una normal reproducción incluyen la ovogénesis y la espermatogénesis, las relaciones sexuales eficaces, el correcto transporte de gametos,

la fertilización del embrión, su migración al útero y posterior implantación y, finalmente, una correcta tolerancia intrauterina y desarrollo del feto.[180] La fertilidad potencial en una pareja es inherentemente incierta e impredecible.[181] Los modelos empíricos para predecir las posibilidades de que una pareja para concebir espontáneamente son complejos, y toman en consideración el retraso experimentado hasta concebir, la edad femenina, los antecedentes de fertilidad previa y el porcentaje de espermatozoides móviles.[181] Con una mayor edad materna, las probabilidades de lograr una concepción y mantenimiento del embarazo disminuyen debido a una heterogeneidad de factores, resultando en una mayor prevalencia de infertilidad en parejas de mayor edad.[182]

El Tiempo Empleado Hasta Lograr Un Embarazo (TTP, por sus siglas en inglés) es un parámetro clínico utilizado habitualmente ante sospecha infertilidad. Este parámetro ayuda a determinar cuál es el momento más oportuno para iniciar los diversos estudios reglados que se realizan ante problemas de fertilidad. Diversos estudios poblacionales demostraron que el TTP no supera los 6 meses en la mayoría de las parejas.[183] Con el aumento del TTP hay una importante disminución porcentual en la tasa de concepción por ciclo menstrual. De esta manera, en la práctica clínica diaria, se puede plantear la posibilidad de iniciar estudios de infertilidad después de seis ciclos menstruales en los que la pareja tenga relaciones sexuales sin protección y no hayan logrado la concepción.[182] No obstante, el inicio de un estudio de fertilidad puede estar muy influenciado por la edad materna. De esta manera, el estudio de infertilidad se puede poner en marcha más precozmente en casos donde la edad materna se acerque a los 40 años.

En la EM, conocer el TTP habitual podría ser un factor importante a tener en cuenta al momento de planificar un embarazo, dado que puede ayudar en la toma de decisiones

de cara al tratamiento de las pacientes. Para una estrategia de planificación del embarazo personalizada, además del TTP, se debe considerar la actividad inflamatoria de la enfermedad previa a concebir, el grado de discapacidad que presenta la paciente, las preferencias personales y la distinta tolerancia al riesgo que pueda tener una paciente y su pareja. En relación a esto, un estudio francés que analizó el TTP en pacientes con EM y describieron un TTP medio de 7,5 meses.[184] La metodología de este estudio fue criticada, ya que los embarazos puede lograrse rápidamente en algunas parejas, o bien retrasarse mucho en otras, de modo que el cálculo de la media del TTP no es la mejor manera para reflejar el retraso típico en concebir. En EM, el TTP también puede variar según las zonas geográficas estudiadas. En este sentido, hay un estudio multicéntrico europeo que mostró variaciones sustanciales en el retraso para lograr la fecundidad entre diferentes centros europeos, analizando su TTP. En este estudio, el centro francés tenía el TTP más prolongado, y el centro localizado en el sur de Italia tuvo el TTP más corto.[185] A nivel clínico, una de las decisiones más importantes que debe afrontar el neurólogo cuando se planifica un embarazo en una paciente con EM es determinar si debe interrumpirse el FME durante el embarazo, mantenerse o bien cambiar de tratamiento, eligiendo las opciones que tengan un mejor perfil de efectos secundarios. La decisión debe sopesarse con el riesgo de brotes en aquellos pacientes en los que se retira el FME, o el riesgo eventual de daño fetal si se decide mantenerlo durante la gestación.[186] Además, las pacientes con una EM muy activa previo al embarazo, si suspenden los tratamientos de segunda línea para concebir, pueden experimentar un aumento en la actividad inflamatoria de la enfermedad durante el propio embarazo, siendo este un factor de importante morbilidad que debe ser tenido en cuenta.[187]

En este estudio hemos analizado el TTP usando un abordaje distinto a los previamente publicados. En nuestro estudio realizamos un análisis acumulativo del porcentaje de mujeres que lograron la concepción por ciclo menstrual, comparándolas con un grupo de mujeres sanas emparejadas por edad. Encontramos que no hubo una diferencia significativa en el TTP entre pacientes con EM y mujeres sanas, demostrándose que hasta un 70% de los embarazos ocurrieron durante los primeros seis ciclos menstruales.[188] Nuestros resultados mostraron que no existe un impacto importante de la EM sobre la fecundidad, dado que no hubo diferencias al comparar con mujeres sanas de edades similares. Basándonos en nuestros resultados, es importante saber que un 60% de parejas logra su embarazo durante los primeros 3 meses de búsqueda, y que dicho porcentaje asciende al 70% a los 6 meses. Esto plantearía un periodo de seis meses como un tiempo razonable para esperar tras la retirada de la medicación, sobre todo en pacientes con una actividad leve-moderada. El 30% restante de mujeres puede tener que esperar hasta dos años para conseguir un embarazo. Esto haría necesario una reevaluación de la situación transcurrido este periodo. Estos datos por tanto aportan una información que nos puede ayudar a una mejor planificación terapéutica del embarazo. Así mismo, en aquellas parejas donde se esperaría un TTP prolongado, basado en su historial reproductivo previo, edad femenina y eventuales comorbilidades obstétricas, podría ser necesario un tratamiento preventivo hasta la concepción.[187]

Al momento de redactar la presente tesis, los FME de tipo interferón-beta y el acetato de glatirámico tienen permitido su uso durante la gestación, si la situación clínica de las pacientes lo requiere.[187] Otra estrategia que se está planteando en los últimos tiempos es usar fármacos que tienen un mecanismo inductor como pueden ser la Cladribina o el Alemtuzumab, cuyo efecto terapéutico excede el tiempo de permanencia del FME en el cuerpo de la madre. Dichos fármacos pueden representar

una buena opción al planificar el embarazo.[189] Sin embargo en casos de mujeres de una edad cercana a la cuarentena que han retrasado la decisión de embarazo, el tiempo de demora que requieren los fármacos inductores antes de concebir puede ser un problema. En todo caso, el conocimiento del TTP esperable en una paciente con EM que hemos descrito en nuestro trabajo brinda una información importante al clínico, que ayuda a una mejor planificación del embarazo.

5.2 Esclerosis múltiple durante el embarazo y su tratamiento

Como se ha comentado en la introducción, en una mujer con EM, durante el proceso del embarazo se modifica la incidencia habitual de su tasa anualizada de brotes (TAB), observándose una disminución gradual en la frecuencia de brotes, llegando a una incidencia mínima durante el tercer trimestre. Esto puede dar lugar a un aumento compensatorio de la incidencia de brotes durante el primer trimestre posparto.[179] Para una mujer con EM, la decisión de quedarse embarazada puede estar muy influenciada por la actividad inflamatoria de su enfermedad y su grado de discapacidad previo al embarazo. El embarazo y el periodo postparto modifica el riesgo de padecer brotes, pero no hay evidencia científica que asocie este periodo con un mayor el grado de invalidez de la enfermedad a largo plazo. Tampoco se ha confirmado que el hecho de embarazarse en sí le genere a una paciente con EM una mayor discapacidad posterior.[179, 190, 191]

En nuestra experiencia, las pacientes con EM tuvieron al concebir una media de edad que no mostró diferencias significativas, con una media (min – máx) de 32 años en el grupo de pacientes EM (25-39) contra 34 años (20-48) en el grupo control. Además, entre ambos grupos hubo el mismo porcentaje de primíparas-multíparas (aproximadamente 40% - 60%, respectivamente, p:0.5). Es decir, las pacientes de nuestra cohorte y su grupo control tuvieron una edad y situación ginecológica similar

al momento de concebir. De esta manera, encontramos que el hecho de padecer EM no influyó en la edad en que nuestras pacientes se plantearon su primer embarazo, ni influyó en el número de hijos planificado.

En nuestra cohorte, entre las pacientes con EM predominaron las formas remitentes-recurrentes, teniendo la mayoría de las pacientes un grado de invalidez muy bajo al momento del embarazo (EDSS media de 1). Solo una paciente de nuestra cohorte utilizaba bastón para desplazarse (EDSS 6), estando la mayoría de las mujeres con una EDSS entre 0 y 1. Creemos que el grado bajo de invalidez global de todas nuestras pacientes puede haber influenciado el deseo gestacional materno, explicando así la falta de diferencias en edad e historial obstétrico comparado con las mujeres sanas.

En nuestra serie, hubo 40 casos de brotes ocurridos durante el embarazo, 6 (15%) de ellos del grupo de pacientes expuestas a FME durante la gestación y 34 (85%) del grupo de pacientes no expuestas. A pesar de esto, solo 4 (10%) pacientes recibieron glucocorticoides como tratamiento sintomático, debido a la escasa repercusión funcional que generaron los brotes sobre las otras pacientes.

Por otro lado, uno de los problemas más importantes de la medicina perinatal en la actualidad se relaciona con el riesgo de malformaciones fetales atribuidas al uso de fármacos durante la gestación. Una malformación congénita en sí puede originarse por múltiples mecanismos patogénicos y distintos agentes extrínsecos, incluidos los fármacos. El mecanismo patogénico que puede dar lugar a una malformación fetal depende también de factores como la edad embrionaria a la que se administra el fármaco, la dosis y duración de la exposición y la susceptibilidad genética individual. Siempre que sea posible, debe evitarse el uso de fármacos durante el primer trimestre de la gestación, para disminuir riesgos de efectos adversos. No obstante, la necesidad de utilizar medicamentos durante el embarazo es inevitable en muchos casos, ya sea

por seguridad materna, para disminuir el riesgo obstétrico o por la seguridad del recién nacido. Además, en los embarazos no deseados, la exposición farmacológica fetal puede ser frecuente, al no haber existido una planificación previa.[192]

En nuestro estudio, no obtuvimos ningún impacto negativo en los parámetros obstétricos analizados tras la exposición fetal a FME, comparado con pacientes EM no expuestas y mujeres sanas. En nuestra serie, la exposición fetal a FME debido a utilizar el fármaco tras la FUR en todas las pacientes. No hubo casos de exposiciones farmacológicas dadas por no respetar el periodo de lavado recomendado en ficha técnica. En todas nuestras pacientes expuestas a FME durante la gestación, este se suspendió al confirmar el embarazo, y esto ocurrió durante el primer trimestre de la gestación. Respecto a los resultados obstétricos, nuestros resultados están en línea con los registros de exposiciones fetales ocurridas en distintos FME, [169, 193, 194] sin mostrar una morbilidad excepcional.

El feto es más susceptible a la teratogénesis durante la fase de organogénesis, que ocurre desde la implantación hasta 60 días después de la concepción.[195] El efecto teratogénico de un fármaco depende de la exposición embrionaria al medicamento durante la fase de organogénesis en sí, aunque también puede estar mediada por otros factores. En muchos casos, el riesgo teratogénico de los fármacos es desconocido al momento de ser comercializado, debido sobre todo a una falta de estudios específicos. En este sentido, más del 90% de los tratamientos farmacológicos aprobados en los EE. UU. durante las últimas décadas han salido al mercado con un riesgo teratogénico indeterminado para seres humanos.[196] Existen seis mecanismos básicos propuestos para explicar la posible teratogenicidad farmacológica durante el embarazo[197]: el antagonismo del metabolismo del folato, el estrés oxidativo, la inhibición de la Enzima Convertidora De Angiotensina y antagonismo del receptor de angiotensina II, la

inhibición de ciclooxigenasa 1 y 2, la inhibición de la receptación de 5-hidroxitriptamina y, por último, la propia presencia de fármacos en el embrión. Muchos medicamentos clasificados como clase X están asociados con al menos uno de los mecanismos antes descritos. En la actualidad, el estudio de posibles polimorfismos en las proteínas transportadoras de membrana de la placenta tiene un gran interés, ya que diferentes configuraciones estructurales de estas proteínas pueden favorecer el paso de fármacos desde la madre al embrión, y este hecho podría interferir en una normal organogénesis.[198] En nuestra cohorte, en relación a la exposición farmacológica durante la gestación, no hubo ningún caso de malformaciones fetales. Además, tampoco hubo diferencias significativas en los dos principales indicadores obstétricos analizados, como son las semanas de gestación y el peso al nacer, entre las mujeres gestantes expuestas a FME respecto a los grupos control. Las semanas de gestación y el peso al nacer son dos parámetros utilizados con frecuencia en obstetricia y salud pública, ya que se relacionan estrechamente con la viabilidad fetal, el porcentaje de complicaciones neurológicas perinatales graves, y la mortalidad neonatal en general.

En resumen, en nuestra experiencia analizamos 13 casos de pacientes expuestas a FME durante el primer trimestre del embarazo. Encontramos que no hubo mayor morbilidad clínica ni obstétrica en los casos expuestos respecto a los grupos control. Son escasos los estudios observacionales sobre exposición a FME durante el embarazo, y no hay evidencia científica suficiente para considerarlos seguros. De este modo, se mantiene la recomendación de que una paciente con EM debe evitar los FME al concebir, siempre que su situación clínica lo permita. No obstante, este es un área en continuo cambio, y en los últimos años se ha permitido el uso de FME durante el embarazo en

situaciones clínicas concretas, utilizando siempre las opciones de menor riesgo obstétrico.

5.3 Cambios inmunológicos durante el embarazo

En nuestra cohorte encontramos que cerca del 30% de las pacientes que presentaron brotes durante el periodo de estudio, los presentaron tanto en el periodo de embarazo como en el periodo postparto. Estos hallazgos están en línea con publicaciones previas, que sugieren que la actividad inflamatoria experimentada durante el embarazo en sí puede influir en la propia incidencia de brotes en el periodo postparto. Además, como hemos visto previamente, se han descrito solamente factores clínicos que se pueden relacionar con la aparición de brotes en el periodo postparto, sin disponer de información sobre factores serológicos.[223] Por esa razón, en nuestro trabajo decidimos evaluar los periodos embarazo-puerperio de manera conjunta, es decir, hemos considerado que una paciente tuvo actividad inflamatoria cuando los brotes ocurrieron tanto en el embarazo como en el posparto.

En sentido general, las enfermedades autoinmunes son más frecuentes en el sexo femenino, y las razones de esta diferente prevalencia entre sexos aún no están aclaradas.[199] Las hormonas sexuales femeninas y la expresión de los distintos genes ligados a estas hormonas podrían ser responsables de una mayor predisposición femenina a las patologías autoinmunes.[200]

En relación al embarazo, desde un punto de vista inmunológico, el feto se comporta en el útero como un aloinjerto, ya que alberga antígenos diferentes a los de la madre. De esta manera, durante un embarazo ocurre una inmunotolerancia materna hacia antígenos ajenos que son expuestos en la unidad feto-placentaria, antígenos que pueden ser paternos, o incluso de otra mujer en casos de gestación subrogada. Por lo tanto, para que un embarazo llegue a término, se piensa que debe existir un cambio en

la respuesta inmune materna para evitar el rechazo fetal.[201] Por ejemplo, niveles elevados de citoquinas inflamatorias en el líquido cérvico-vaginal y amniótico se asociaron con la ocurrencia de abortos espontáneos.[202] Además, los niveles elevados de IL-1-beta y TNF-alfa en el líquido amniótico, ambos de perfil pro-inflamatorio, también están asociados con mayor tasa de partos prematuros.[203, 204] En la esclerosis múltiple, diferentes estudios han abordado el valor de citoquinas específicas y mediadores inflamatorios durante el embarazo.[220, 221]. Sin embargo la información sobre el perfil habitual de citoquinas serológicas que tiene una mujer durante el embarazo aún es limitada. En este sentido, creemos que explorar los cambios inmunológicos que ocurren durante el embarazo en la EM es de gran importancia, ya que su conocimiento nos ayudaría a comprender mejor las fluctuaciones clínicas que ocurren en la enfermedad durante este período de tiempo, y podría explicar el porqué de la mejoría experimentada en el curso natural de la enfermedad mientras una mujer está embarazada.

Desde el punto de vista inmunológico, existen al menos dos mecanismos básicos para controlar la magnitud de una respuesta inmune: el primer mecanismo es la supresión activa de la respuesta inflamatoria y el otro mecanismo implica una mayor tolerancia inmunológica. En el caso de un embarazo, los mecanismos responsables de la tolerancia materna hacia el feto no están del todo aclarados. Las teorías iniciales se basaban en los hallazgos derivados de animales de experimentación, que postulaban que esta tolerancia materna se podría lograr mediante un cambio global en la secreción de citoquinas provenientes de los linfocitos T activados, con una disminución del perfil inmunológico TH1 (inmunidad celular) y un aumento relativo del perfil tolerogénico. En este sentido, en ratones se ve un claro aumento en los niveles de citoquinas del perfil Th2 durante el embarazo.[205, 206] Por el contrario, en seres humanos esta

supuesta predominancia global TH2 durante el embarazo no está tan clara. Con el paso del tiempo, distintos estudios de inmunidad durante el embarazo han mostrado información potencialmente contradictoria, reportando una disminución en la capacidad proinflamatoria en algunos casos, mientras que otros estudios mostraron una mayor prevalencia de la capacidad tolerogénica materna.[207–209] En la actualidad, se cree que en la mujer gestante existe una inmunosupresión selectiva o inmunomodulación, en lugar de una inmunosupresión generalizada. De esta manera, el sistema inmune materno durante el embarazo presentaría una combinación tanto de marcadores de activación inmune, como de inmunotolerancia, variando según la etapa gestacional en que lo considere. Respecto a los distintos mecanismos tolerogénicos que se ponen en marcha durante el embarazo, las células T reguladoras (Tregs), que intervienen habitualmente en los mecanismos de tolerancia inmunológica, se vuelven más numerosas durante la gestación en respuesta a la presencia de antígenos fetales.[210] Estas células T reguladoras producen IL-10, que desempeñan un papel importante en el mantenimiento del embarazo, dado que su función parece ser la de suprimir las respuestas inmunes patológicas de las células T maternas. En los animales de experimentación, el bloqueo específico de la producción de IL-10 aumentó la incidencia de abortos, aunque se logró completar el embarazo en muchos otros casos,[211] lo que parece sugerir que esta citoquina actúa en combinación con otros factores. En la misma línea, además de las células T, durante el embarazo se describió también una expansión de la población de las células B reguladoras (Breg) CD19+ CD24hi CD27+, que también producen IL-10.[212]

De manera adicional, dentro de las modificaciones inmunológicas producidas durante el embarazo, se debe considerar también la influencia que pueden ejercer las diferentes moléculas inhibitorias de punto de control inmunitario (en inglés, immune checkpoint

inhibitor). Por ejemplo, la interacción durante el embarazo del ligando de muerte programada 1 (PD-L1, derivado del inglés Programmed Dead Ligand 1) con su receptor PD-1 puede modificar el perfil de secreción de citoquinas deciduales en suero de la madre. De este modo, el sincitiotrofoblasto emplea PD-L1 como inhibidor del punto de control inmunológico, inactivando las células inmunitarias maternas que expresan PD-1,[213] facilitando un estado de inmunosupresión local[214] que evite su rechazo. Esto se cree que puede favorecer también un entorno materno global más tolerogénico.[215]

5.3.1 Citoquinas durante el embarazo:

Durante el curso de un embarazo, una de las proteínas que juegan un papel más importante es la Activina-A. Se expresa en la decidua, el sincitiotrofoblasto, el citotrofoblasto y en las membranas fetales, siendo una de las proteínas placentarias más importantes que se forman y secretan a la circulación materna. Sus niveles aumentan progresivamente durante la gestación y se vuelven insignificantes en el posparto. Una de las funciones principales de la Activina-A durante el embarazo es la modulación de las respuestas inflamatorias, regulando la función de neutrófilos, monocitos y linfocitos.[216–218] Este control de la respuesta inflamatoria mostró ser fundamental para viabilidad del embarazo, ya que se demostró que niveles elevados de células proinflamatorias (por ejemplo que producen IFN- γ) están asociados con el fracaso de la implantación embrionaria y con la ocurrencia de abortos.[219]

En nuestro estudio, cuantificamos niveles séricos de distintas citoquinas proinflamatorias e inmuno-reguladoras, durante el periodo de embarazo y en primer trimestre tras el parto. Como primer dato importante, no encontramos que el nivel basal de las distintas proteínas analizadas pudiera haber estado influido por la situación

clínica de la paciente previa al embarazo o el uso de los distintos FME. Sin embargo, encontramos un aumento de Activina-A y de la IL10 ($p=0,003$ y $p=0,02$, respectivamente) durante el primer trimestre del embarazo en pacientes que no tuvieron brotes durante el periodo embarazo-postparto. Además, las pacientes que no tuvieron brotes durante el periodo embarazo-postparto mostraron unos niveles de PD-L1 más elevados en el primer trimestre en comparación a las mujeres con brotes, aunque sin alcanzar significación estadística ($p: 0,06$) durante este periodo. Estos hallazgos sugieren que la determinación de IL-10, activina-A y PD-L1 al inicio del embarazo podrían ser útiles para ayudar a predecir la evolución clínica de las pacientes EM durante el embarazo. En el segundo trimestre de gestación, se mantuvo un aumento discreto de Activina-A en pacientes EM embarazadas que no tuvieron brotes ($p:0.003$). Ya en el tercer trimestre, los distintos valores analizados en ambos grupos no mostraron diferencias estadísticamente significativas. Estos datos no habían sido explorados con anterioridad. Solo en una pequeña cohorte de 15 pacientes con EM evaluadas durante el embarazo y el puerperio, se sugirió que la disminución de los linfocitos T, productores de IFN- γ después de la estimulación con CD3/CD28, se asociaba con un mayor riesgo de brotes posparto.[222] Desafortunadamente, estos datos no se han replicado con posterioridad y la información adicional publicada en dicha línea de trabajo es limitada.

Nuestros hallazgos muestran que distintos niveles basales de citoquinas específicas se asociaron con una distinta evolución de la paciente. Las citoquinas que han mostrado una correlación con la evolución de las pacientes EM han sido la Activina A y la IL-10 que, como hemos visto son, citoquinas clave para la normal evolución de un embarazo. Dichas citoquinas tienen un origen diferente, teniendo la Activina-A un origen placentario y la IL-10 un origen en células T y B regulatorias maternas. Ambas

juegan un rol fundamental en la tolerancia materna hacia la unidad feto-placentaria. Así, las distintas concentraciones basales que vimos en estas citoquinas puede haber jugado un papel clave en la regulación de los distintos procesos inflamatorios subyacentes, y en la diferente evolución clínica. De esta manera, nuestros hallazgos podrían contribuir a explicar uno de los mecanismos responsables de la mejoría clínica que experimenta la EM durante la gestación.[224, 225] Por último, como se ha visto en la tabla del manuscrito publicado, no se observaron diferencias en otras citoquinas proinflamatorias y reguladoras analizadas en nuestro estudio.

5.5 Análisis de los neurofilamentos durante el embarazo en EM y su utilidad

La cuantificación del nivel sérico de la cadena ligera de los neurofilamentos (sNfL) se utilizan actualmente como un marcador subrogado de daño neuroaxonal, siendo útil su determinación distintas enfermedades neurológicas, sirviendo así para situaciones en donde ocurre un daño neuronal agudo (por ejemplo ictus, traumatismos craneoencefálicos, infecciones) como en casos de neurodegeneración crónica (por ejemplo distintas demencias).[226, 227] En el caso de la EM en concreto, los niveles de sNfL se pueden ver correlacionar tanto con la invalidez que presente un paciente en concreto cuantificada mediante la escala EDSS, y con la ocurrencia de actividad inflamatoria.[228, 229] Por tanto, en EM, la medición de sNfL se está convirtiendo en un parámetro de gran utilidad, ya que ha demostrado ser un biomarcador de utilidad que se correlaciona con la presencia de daño neuronal agudo y actividad clínica silente, la respuesta terapéutica en tiempo real al distintos FME,[230] o bien indicar la presencia de daño neurodegenerativo progresivo.[231] Como dato positivo adicional que ayuda a evitar sesgos en la práctica clínica diaria, los niveles de sNfL no se relacionan con el

genero del paciente ni con el tiempo de almacenamiento de la muestra sanguínea previo a su análisis [232].

En relación al embarazo en concreto, se ha visto que los niveles séricos de NFL aumentan progresivamente durante el embarazo incluso en mujeres sanas, tienen una correlación positiva con la edad materna y pueden ser significativamente más altos en los casos de preeclampsia.[233] En el caso de la EM, sin embargo, no se disponía de publicaciones que indicaran el patrón de comportamiento de del título de sNFL durante el curso normal de un embarazo y el periodo postparto, ni su eventual correlación con la actividad clínica durante este periodo donde la incidencia en la actividad inflamatoria puede ser potencialmente fluctuante. Al incluir el análisis de los sNFL en nuestra cohorte prospectiva, nuestro objetivo fue el cubrir esta necesidad. Para eso, se analizó la concentración de esta proteína en pacientes con EM durante el embarazo y el posparto, utilizando como grupo de control a mujeres sanas, emparejadas por edad para evitar sesgos. En nuestro estudio, ninguna paciente con EM presentó preeclampsia durante el embarazo, por lo que nuestros resultados tampoco se vieron afectados por dicho sesgo potencial.

En nuestro trabajo, los valores de sNFL fueron más altos durante el primer trimestre del embarazo en pacientes con EM, en comparación con mujeres sanas. Esto puede deberse a que las pacientes con EM sufren un daño neuroaxonal preexistente, que es producto de la propia enfermedad, y esto se refleja ya al comienzo del embarazo. Por otro lado, el efecto protector del embarazo en el curso de EM predomina recién en el tercer trimestre de la gestación.[179] Por esta razón, los cambios en los niveles de sNFL del tercer trimestre que vimos en nuestras cohorte de pacientes con EM se vieron condicionados por la evolución clínica experimentada durante el propio embarazo. En este sentido, las pacientes que tuvieron brotes durante el embarazo, mostraron en su

tercer trimestre un claro aumento en el título de sNfL en comparación con las pacientes EM sin brotes (p: 0.02) y con las mujeres sanas (p: 0,001). Cabe recordar que, en nuestra cohorte, todas las pacientes con EM tuvieron sus brotes durante el primer y/o segundo trimestre; ninguna sufrió brotes en el 3° trimestre. Por otro lado, las pacientes que no sufrieron brotes durante el embarazo mostraron al 3° trimestre valores de sNfL similares a los de las mujeres sanas (p: 0,4). De esta manera, hubo un grupo de pacientes EM que comenzaron el embarazo con niveles de sNfL superiores a las mujeres sanas (p: 0.02), pero la ausencia de brotes durante la gestación hizo que no se vean diferencias entre sus niveles al medirlo en el tercer trimestre. Estos datos confirman que el embarazo produce un efecto neuroprotector, que no solo se relacionaría con una baja incidencia de brotes, siendo evidente durante el tercer trimestre de gestación. Dicho efecto protector, como es lógico, se vio anulado en las pacientes que si sufrieron brotes. Es de destacar que el aumento en los títulos de sNfL generado por los brotes sufridos en el primer y segundo trimestre del embarazo se mantuvieron incluso en el tercer trimestre y en el período posparto, lo que significa que persistieron elevados más de 3 a 6 meses tras la ocurrencia de los brotes. En estudios previos que analizaron la asociación entre los niveles de sNfL y la presencia de brotes en EM, se vio que los títulos de sNfL llegaban a normalizarse a los 3 meses tras la ocurrencia del brote.[232] De esta manera, nuestros datos mostraron entonces una persistencia más elevada de los valores sanguíneos de sNfL tras los brotes, hecho que puede indicar una lesión neuroaxonal más acusada, quizá debido a la falta de tratamiento con FME durante este período.

La reducción de los brotes durante el embarazo y el puerperio puede resultar en un mejor beneficio clínico de la paciente a largo plazo, dado que se reduce el daño axonal, mejorando así la reserva neuronal a futuro. Sin embargo, la mejor estrategia terapéutica

para reducir la incidencia de brotes durante el embarazo no está aún establecida. Como hemos visto, datos publicados más recientemente mostraron que la tasa de brotes durante el embarazo podría ser mayor hoy en día, debido a que la interrupción de los FME previo a concebir, hecho que puede generar una reactivación compensatoria de actividad inflamatoria de la enfermedad.[234]. Aunque nuestros resultados deben validarse en estudios más extensos y con cohortes multicéntricas, nuestros resultados indican que, durante el embarazo de una paciente con EM, los niveles de sNfL se correlacionan con su situación clínica. Los valores altos en el tercer trimestre podrían indicar también la presencia de actividad clínica silente durante el embarazo. De esta manera, conocer las distintas fluctuaciones en los niveles de sNfL durante el embarazo podría ayudar en la toma de decisiones clínicas a futuro.

Para concluir, deseamos destacar que si bien el conocimiento de los mecanismos inmunológicos intrínsecos que suceden durante la gestación humana aún no están del todo esclarecidos, la evidencia científica actual sugiere que durante el curso de un embarazo coinciden mecanismos inmunológicos de tipo proinflamatorios combinados mecanismos regulatorios. Esta combinación de mecanismos inmunológicos potencialmente antagónicos varía según la etapa de la gestación que se considere. Profundizar en el conocimiento de los mecanismos tolerogénicos que ocurren durante el embarazo y su influencia en el curso de la EM podría orientar el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas, ya que ayudaría a brindarnos nuevas herramientas para controlar la actividad inflamatoria. Además, el conocimiento de la influencia de distintos factores inmunológicos en la actividad de la EM durante embarazo podría proporcionarnos distintos biomarcadores, que servirán para predecir el curso de la enfermedad durante este período tan especial. A pesar de que las fluctuaciones que sufre una paciente con EM durante el embarazo y el postparto se conocen desde hace

décadas, el riesgo de padecer un brote posparto en una paciente en concreto sigue siendo incierto y no existe en la actualidad ninguna manera de predecirlo. Este hecho genera distintas dificultades en la práctica clínica diaria. En el presente estudio hemos analizado distintos factores relacionados con la EM y el embarazo, proporcionando nueva evidencia científica en puntos clave que van desde el retraso a concebir, la morbilidad potencial de los FME, distintos marcadores serológicos que predicen la aparición de brotes y la utilidad de las cadenas ligeras de neurofilamentos durante el embarazo, que creemos ayudarán al clínico a una correcta planificación global del embarazo, que resulte en beneficio de sus pacientes.

6. CONCLUSIONES

1. No encontramos un retraso en el tiempo empleado hasta concebir en las paciente con EM en comparación a las mujeres sanas. Estos datos sugieren que no existe una influencia negativa de la EM en la fertilidad.
2. La tasa de concepción fue del 60% durante el primer trimestre de búsqueda y se elevó al 70% en ambos grupos a los seis ciclos menstruales, dando al neurólogo clínico una idea del retraso habitual que se puede requerirse hasta lograr un embarazo.
3. Trece pacientes sufrieron exposiciones a FME durante el primer trimestre de embarazo. No encontramos una mayor morbilidad materno-fetal en los casos de pacientes expuestas.
4. La evolución clínica durante el embarazo influyó en el perfil de citoquinas en suero de las pacientes. Los pacientes con brotes en el embarazo mostraron niveles bajos de Activina-A e IL-10.
5. Niveles de Activina-A mayores de 550 pg/dl durante el primer trimestre de gestación en pacientes EM predijeron un bajo riesgo de aparición de brotes durante el embarazo-postparto.
6. Los niveles de neurofilamentos en pacientes con EM durante el primer trimestre del embarazo estaban elevados en comparación con mujeres sanas en el mismo periodo del embarazo.
7. Las pacientes con EM que tuvieron brotes durante los dos primeros trimestres del embarazo tenían valores aumentados de sNfL en el tercer trimestre de embarazo en comparación con las pacientes sin brotes en el embarazo y las mujeres sanas. No hubo diferencias entre los dos últimos grupos entre los niveles de neurofilamentos en el tercer trimestre del embarazo.

8. Las diferencias encontradas en los valores de sNfL durante el embarazo entre las pacientes con EM con y sin brotes, se mantuvieron en el postparto.
9. Nuestros datos indican que la inducción precoz de citoquinas tolerogénicas se asocia con un buen pronóstico en mujeres con esclerosis múltiple durante el embarazo y el puerperio y que la presencia de brotes en los primeros trimestres del embarazo se asocian con mayor inflamación subclínica y daño axonal a lo largo del embarazo y el postparto.

7. BIBLIOGRAFÍA

Bibliografia:

1. Kobelt G, Thompson A, Berg J, et al (2017) New insights into the burden and costs of multiple sclerosis in Europe. *Mult Scler* Houndmills Basingstoke Engl 23:1123–1136. <https://doi.org/10.1177/1352458517694432>
2. Browne P, Chandraratna D, Angood C, et al (2014) Atlas of Multiple Sclerosis 2013: A growing global problem with widespread inequity. *Neurology* 83:1022–1024. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000000768>
3. Leray E, Yaouanq J, Le Page E, et al (2010) Evidence for a two-stage disability progression in multiple sclerosis. *Brain J Neurol* 133:1900–1913. <https://doi.org/10.1093/brain/awq076>
4. Coles AJ, Cox A, Le Page E, et al (2006) The window of therapeutic opportunity in multiple sclerosis: evidence from monoclonal antibody therapy. *J Neurol* 253:98–108. <https://doi.org/10.1007/s00415-005-0934-5>
5. Compston A, Coles A (2008) Multiple sclerosis. *Lancet Lond Engl* 372:1502–1517. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)61620-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61620-7)
6. Lassmann H, Brück W, Lucchinetti C (2001) Heterogeneity of multiple sclerosis pathogenesis: implications for diagnosis and therapy. *Trends Mol Med* 7:115–121. [https://doi.org/10.1016/s1471-4914\(00\)01909-2](https://doi.org/10.1016/s1471-4914(00)01909-2)
7. Cruveilhier J (1829) *Anatomie pathologique du corps humain*. J. B. Baillière, Paris
8. Carswell R (1838) *Illustrations of the elementary forms of disease*. Longman, Orme, Brown, Green and Longman, London
9. Pearce JMS (2005) Historical descriptions of multiple sclerosis. *Eur Neurol* 54:49–53. <https://doi.org/10.1159/000087387>
10. Pierre M (1884) La sclerose en plaques et maladies infectieuses. *Progres Medicales* 12:287–9
11. Rivers TM, Schwentker FF (1935) Encephalomyelitis accompanied by myelin destruction experimentally produced in monkeys. *J Exp Med* 61:689–702
12. Essex Wynter W (1891) Four Cases of Tubercular Meningitis in Which Paracentesis of the Theca Vertebralis Was Performed for the Relief of Fluid Pressure. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(02\)16784-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(02)16784-5)
13. Kabat EA, Moore DH, Landow H (1942) An electrophoretic study of the protein components in cerebrospinal fluid and their relationship to the serum proteins 1. *J Clin Invest* 21:571–577
14. Kurtzke JF (1955) A new scale for evaluating disability in multiple sclerosis. *Neurology* 5:580–583. <https://doi.org/10.1212/wnl.5.8.580>

15. Young IR, Hall AS, Pallis CA, et al (1981) Nuclear magnetic resonance imaging of the brain in multiple sclerosis. *Lancet Lond Engl* 2:1063–1066. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(81\)91273-3](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(81)91273-3)
16. Kurtzke JF (1975) A Reassessment of the Distribution of Multiple Sclerosis. *Acta Neurol Scand* 51:137–157. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.1975.tb01365.x>
17. Fernández O, Fernández V, Guerrero M, et al (2012) Multiple sclerosis prevalence in Malaga, Southern Spain estimated by the capture-recapture method. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl* 18:372–376. <https://doi.org/10.1177/1352458511421917>
18. Otero-Romero S, Ramió-Torrentà L, Pericot I, et al (2015) Onset-adjusted incidence of multiple sclerosis in the Girona province (Spain): Evidence of increasing risk in the south of Europe. *J Neurol Sci* 359:146–150. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2015.10.042>
19. Orton S-M, Herrera BM, Yee IM, et al (2006) Sex ratio of multiple sclerosis in Canada: a longitudinal study. *Lancet Neurol* 5:932–936. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(06\)70581-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(06)70581-6)
20. Kurtzke JF (2000) Multiple sclerosis in time and space--geographic clues to cause. *J Neurovirol* 6 Suppl 2:S134-140
21. Engell T (1989) A clinical patho-anatomical study of clinically silent multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 79:428–430. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.1989.tb03811.x>
22. Kurtzke JF (2013) Epidemiology in multiple sclerosis: a pilgrim's progress. *Brain J Neurol* 136:2904–2917. <https://doi.org/10.1093/brain/awt220>
23. Barnett MH, McLeod JG, Hammond SR, Kurtzke JF (2016) Migration and multiple sclerosis in immigrants from United Kingdom and Ireland to Australia: a reassessment. III: risk of multiple sclerosis in UKI immigrants and Australian-born in Hobart, Tasmania. *J Neurol* 263:792–798. <https://doi.org/10.1007/s00415-016-8059-6>
24. Greenfield AL, Hauser SL (2018) B-cell Therapy for Multiple Sclerosis: Entering an era. *Ann Neurol* 83:13–26. <https://doi.org/10.1002/ana.25119>
25. Ramagopalan SV, Dobson R, Meier UC, Giovannoni G (2010) Multiple sclerosis: risk factors, prodromes, and potential causal pathways. *Lancet Neurol* 9:727–739. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70094-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70094-6)
26. Mackay RP (1950) The familial occurrence of multiple sclerosis and its implications. *Ann Intern Med* 33:298–320. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-33-2-298>
27. Sadovnick AD, Baird PA, Ward RH (1988) Multiple sclerosis: updated risks

- for relatives. *Am J Med Genet* 29:533–541.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.1320290310>
28. Dyment DA, Ebers GC, Sadovnick AD (2004) Genetics of multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 3:104–110. [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(03\)00663-x](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(03)00663-x)
29. Sadovnick AD, Armstrong H, Rice GP, et al (1993) A population-based study of multiple sclerosis in twins: update. *Ann Neurol* 33:281–285.
<https://doi.org/10.1002/ana.410330309>
30. Westerlind H, Ramanujam R, Uvehag D, et al (2014) Modest familial risks for multiple sclerosis: a registry-based study of the population of Sweden. *Brain* 137:770–778. <https://doi.org/10.1093/brain/awt356>
31. Hillert J (1994) Human leukocyte antigen studies in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 36:S15–S17. <https://doi.org/10.1002/ana.410360706>
32. Fogdell A, Hillert J, Sachs C, Olerup O (1995) The multiple sclerosis- and narcolepsy-associated HLA class II haplotype includes the DRB5*0101 allele. *Tissue Antigens* 46:333–336. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.1995.tb02503.x>
33. Gregersen JW, Kranc KR, Ke X, et al (2006) Functional epistasis on a common MHC haplotype associated with multiple sclerosis. *Nature* 443:574–577.
<https://doi.org/10.1038/nature05133>
34. International Multiple Sclerosis Genetics Consortium (IMSGC), Beecham AH, Patsopoulos NA, et al (2013) Analysis of immune-related loci identifies 48 new susceptibility variants for multiple sclerosis. *Nat Genet* 45:1353–1360.
<https://doi.org/10.1038/ng.2770>
35. Gregory SG, Schmidt S, Seth P, et al (2007) Interleukin 7 receptor alpha chain (IL7R) shows allelic and functional association with multiple sclerosis. *Nat Genet* 39:1083–1091. <https://doi.org/10.1038/ng2103>
36. Hartmann FJ, Khademi M, Aram J, et al (2014) Multiple sclerosis-associated IL2RA polymorphism controls GM-CSF production in human TH cells. *Nat Commun* 5:5056. <https://doi.org/10.1038/ncomms6056>
37. Dendrou CA, Plagnol V, Fung E, et al (2009) Cell-specific protein phenotypes for the autoimmune locus IL2RA using a genotype-selectable human bioresource. *Nat Genet* 41:1011–1015. <https://doi.org/10.1038/ng.434>
38. International Multiple Sclerosis Genetics Consortium, Hafler DA, Compston A, et al (2007) Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genome-wide study. *N Engl J Med* 357:851–862. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa073493>
39. Taşan M, Musso G, Hao T, et al (2015) Selecting causal genes from genome-wide association studies via functionally coherent subnetworks. *Nat Methods* 12:154–159. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3215>
40. Hollenbach JA, Oksenberg JR (2015) The immunogenetics of multiple

sclerosis: A comprehensive review. *J Autoimmun* 64:13–25.
<https://doi.org/10.1016/j.jaut.2015.06.010>

41. Moutsianas L, Jostins L, Beecham AH, et al (2015) Class II HLA interactions modulate genetic risk for multiple sclerosis. *Nat Genet* 47:1107–1113.
<https://doi.org/10.1038/ng.3395>

42. Jia X, Madireddy L, Caillier S, et al (2018) Genome sequencing uncovers phenocopies in primary progressive multiple sclerosis. *Ann Neurol* 84:51–63.
<https://doi.org/10.1002/ana.25263>

43. Harirchian MH, Fatehi F, Sarraf P, et al (2018) Worldwide prevalence of familial multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis. *Mult Scler Relat Disord* 20:43–47. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2017.12.015>

44. Belbasis L, Bellou V, Evangelou E, et al (2015) Environmental risk factors and multiple sclerosis: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *Lancet Neurol* 14:263–273. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70267-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70267-4)

45. Simpson S, Blizzard L, Otahal P, et al (2011) Latitude is significantly associated with the prevalence of multiple sclerosis: a meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 82:1132–1141. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2011.240432>

46. Munger KL, Levin LI, Hollis BW, et al (2006) Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *JAMA* 296:2832–2838.
<https://doi.org/10.1001/jama.296.23.2832>

47. Ascherio A, Munger KL (2007) Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part I: the role of infection. *Ann Neurol* 61:288–299.
<https://doi.org/10.1002/ana.21117>

48. Thouvenot E, Orsini M, Daures J-P, Camu W (2015) Vitamin D is associated with degree of disability in patients with fully ambulatory relapsing-remitting multiple sclerosis. *Eur J Neurol* 22:564–569. <https://doi.org/10.1111/ene.12617>

49. Koch-Henriksen N, Sørensen PS (2010) The changing demographic pattern of multiple sclerosis epidemiology. *Lancet Neurol* 9:520–532.
[https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70064-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70064-8)

50. Sintzel MB, Rametta M, Reder AT (2018) Vitamin D and Multiple Sclerosis: A Comprehensive Review. *Neurol Ther* 7:59–85. <https://doi.org/10.1007/s40120-017-0086-4>

51. Santón A, Cristóbal E, Aparicio M, et al (2011) High frequency of co-infection by Epstein-Barr virus types 1 and 2 in patients with multiple sclerosis. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl* 17:1295–1300.
<https://doi.org/10.1177/1352458511411063>

52. Operskalski EA, Visscher BR, Malmgren RM, Detels R (1989) A case-control study of multiple sclerosis. *Neurology* 39:825–829.

<https://doi.org/10.1212/wnl.39.6.825>

53. Lossius A, Johansen JN, Vartdal F, et al (2014) High-throughput sequencing of TCR repertoires in multiple sclerosis reveals intrathecal enrichment of EBV-reactive CD8+ T cells. *Eur J Immunol* 44:3439–3452.
<https://doi.org/10.1002/eji.201444662>
54. Serafini B, Severa M, Columba-Cabezas S, et al (2010) Epstein-Barr virus latent infection and BAFF expression in B cells in the multiple sclerosis brain: implications for viral persistence and intrathecal B-cell activation. *J Neuropathol Exp Neurol* 69:677–693. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e3181e332ec>
55. Serafini B, Rosicarelli B, Franciotta D, et al (2007) Dysregulated Epstein-Barr virus infection in the multiple sclerosis brain. *J Exp Med* 204:2899–2912.
<https://doi.org/10.1084/jem.20071030>
56. Sargsyan SA, Shearer AJ, Ritchie AM, et al (2010) Absence of Epstein-Barr virus in the brain and CSF of patients with multiple sclerosis(e-Pub ahead of print). *Neurology* 74:1127–1135. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181d865a1>
57. Münz C, Lünemann JD, Getts MT, Miller SD (2009) Antiviral immune responses: triggers of or triggered by autoimmunity? *Nat Rev Immunol* 9:246–258.
<https://doi.org/10.1038/nri2527>
58. Pakpoor J, Disanto G, Gerber JE, et al (2013) The risk of developing multiple sclerosis in individuals seronegative for Epstein-Barr virus: a meta-analysis. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl* 19:162–166.
<https://doi.org/10.1177/1352458512449682>
59. Handel AE, Williamson AJ, Disanto G, et al (2010) An updated meta-analysis of risk of multiple sclerosis following infectious mononucleosis. *PloS One* 5:. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012496>
60. Tracy SI, Kakalacheva K, Lünemann JD, et al (2012) Persistence of Epstein-Barr Virus in Self-Reactive Memory B Cells. *J Virol* 86:12330–12340.
<https://doi.org/10.1128/JVI.01699-12>
61. Leibovitch EC, Jacobson S (2014) Evidence linking HHV-6 with Multiple Sclerosis: An Update. *Curr Opin Virol* 0:127–133.
<https://doi.org/10.1016/j.coviro.2014.09.016>
62. Simpson S, Taylor B, Dwyer DE, et al (2012) Anti-HHV-6 IgG titer significantly predicts subsequent relapse risk in multiple sclerosis. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl* 18:799–806.
<https://doi.org/10.1177/1352458511428081>
63. Alvarez-Lafuente R, García-Montojo M, De Las Heras V, et al (2008) Herpesviruses and human endogenous retroviral sequences in the cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl* 14:595–601.
<https://doi.org/10.1177/1352458507086425>

64. Degelman ML, Herman KM (2017) Smoking and multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis using the Bradford Hill criteria for causation. *Mult Scler Relat Disord* 17:207–216. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2017.07.020>
65. Hernán MA, Jick SS, Logroscino G, et al (2005) Cigarette smoking and the progression of multiple sclerosis. *Brain J Neurol* 128:1461–1465. <https://doi.org/10.1093/brain/awh471>
66. Manouchehrinia A, Tench CR, Maxted J, et al (2013) Tobacco smoking and disability progression in multiple sclerosis: United Kingdom cohort study. *Brain J Neurol* 136:2298–2304. <https://doi.org/10.1093/brain/awt139>
67. Wingerchuk DM (2012) Smoking: effects on multiple sclerosis susceptibility and disease progression. *Ther Adv Neurol Disord* 5:13–22. <https://doi.org/10.1177/1756285611425694>
68. Palacios N, Alonso A, Brønnum-Hansen H, Ascherio A (2011) Smoking and increased risk of multiple sclerosis: parallel trends in the sex ratio reinforce the evidence. *Ann Epidemiol* 21:536–542. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2011.03.001>
69. Munger KL, Chitnis T, Ascherio A (2009) Body size and risk of MS in two cohorts of US women. *Neurology* 73:1543–1550. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181c0d6e0>
70. Mokry LE, Ross S, Timpson NJ, et al (2016) Obesity and Multiple Sclerosis: A Mendelian Randomization Study. *PLoS Med* 13:e1002053. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002053>
71. Farez MF, Fiol MP, Gaitán MI, et al (2015) Sodium intake is associated with increased disease activity in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 86:26–31. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2014-307928>
72. Nourbakhsh B, Graves J, Casper TC, et al (2016) Dietary salt intake and time to relapse in paediatric multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 87:1350–1353. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2016-313410>
73. Lublin FD, Reingold SC, Cohen JA, et al (2014) Defining the clinical course of multiple sclerosis. *Neurology* 83:278–286. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000000560>
74. Lublin FD, Reingold SC, Cohen JA, et al (2014) Defining the clinical course of multiple sclerosis: the 2013 revisions. *Neurology* 83:278–286. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000000560>
75. Abel A, McClelland C, Lee MS (2019) Critical review: Typical and atypical optic neuritis. *Surv Ophthalmol* 64:770–779. <https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2019.06.001>
76. Sinay V, Perez Akly M, Zanga G, et al (2015) School performance as a

marker of cognitive decline prior to diagnosis of multiple sclerosis. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl* 21:945–952.
<https://doi.org/10.1177/1352458514554054>

77. Amato MP, Hakiki B, Goretti B, et al (2012) Association of MRI metrics and cognitive impairment in radiologically isolated syndromes. *Neurology* 78:309–314.
<https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31824528c9>

78. Solomon AJ, Naismith RT, Cross AH (2019) Misdiagnosis of multiple sclerosis: Impact of the 2017 McDonald criteria on clinical practice. *Neurology* 92:26–33. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000006583>

79. Gasperini C, Prosperini L, Tintoré M, et al (2019) Unraveling treatment response in multiple sclerosis: A clinical and MRI challenge. *Neurology* 92:180–192.
<https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000006810>

80. Tourtellotte WW, Potvin AR, Fleming JO, et al (1980) Multiple sclerosis: measurement and validation of central nervous system IgG synthesis rate. *Neurology* 30:240–244. <https://doi.org/10.1212/wnl.30.3.240>

81. Reiber H (1979) [Calculation of the IgG fraction of cerebrospinal fluid locally synthesized in the central nervous system (author's transl)]. *J Clin Chem Clin Biochem Z Klin Chem Klin Biochem* 17:587–591

82. Link H, Tibbling G (1977) Principles of albumin and IgG analyses in neurological disorders. III. Evaluation of IgG synthesis within the central nervous system in multiple sclerosis. *Scand J Clin Lab Invest* 37:397–401.
<https://doi.org/10.1080/00365517709091498>

83. Abraira V, Alvarez-Cermeño JC, Arroyo R, et al (2011) Utility of oligoclonal IgG band detection for MS diagnosis in daily clinical practice. *J Immunol Methods* 371:170–173. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2011.06.009>

84. Poser CM, Paty DW, Scheinberg L, et al (1983) New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Ann Neurol* 13:227–231.
<https://doi.org/10.1002/ana.410130302>

85. Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, et al (2018) Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol* 17:162–173.
[https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30470-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30470-2)

86. Sastre-Garriga J, Pareto D, Battaglini M, et al (2020) MAGNIMS consensus recommendations on the use of brain and spinal cord atrophy measures in clinical practice. *Nat Rev Neurol* 16:171–182. <https://doi.org/10.1038/s41582-020-0314-x>

87. Kuhle J, Disanto G, Dobson R, et al (2015) Conversion from clinically isolated syndrome to multiple sclerosis: A large multicentre study. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl* 21:1013–1024.
<https://doi.org/10.1177/1352458514568827>

88. Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, et al (2018) Diagnosis of multiple

sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol* 17:162–173.
[https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30470-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30470-2)

89. Lassmann H, Vass K (1995) Are current immunological concepts of multiple sclerosis reflected by the immunopathology of its lesions? *Springer Semin Immunopathol* 17:77–87. <https://doi.org/10.1007/bf00194101>

90. Ferguson B, Matyszak MK, Esiri MM, Perry VH (1997) Axonal damage in acute multiple sclerosis lesions. *Brain J Neurol* 120 (Pt 3):393–399.
<https://doi.org/10.1093/brain/120.3.393>

91. Frohman EM, Racke MK, Raine CS (2006) Multiple sclerosis--the plaque and its pathogenesis. *N Engl J Med* 354:942–955.
<https://doi.org/10.1056/NEJMra052130>

92. Karussis D (2014) The diagnosis of multiple sclerosis and the various related demyelinating syndromes: a critical review. *J Autoimmun* 48–49:134–142.
<https://doi.org/10.1016/j.jaut.2014.01.022>

93. Kutzelnigg A, Lucchinetti CF, Stadelmann C, et al (2005) Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. *Brain J Neurol* 128:2705–2712. <https://doi.org/10.1093/brain/awh641>

94. Prineas JW, Kwon EE, Cho ES, et al (2001) Immunopathology of secondary-progressive multiple sclerosis. *Ann Neurol* 50:646–657.
<https://doi.org/10.1002/ana.1255>

95. Brück W, Porada P, Poser S, et al (1995) Monocyte/macrophage differentiation in early multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 38:788–796.
<https://doi.org/10.1002/ana.410380514>

96. Trapp BD, Peterson J, Ransohoff RM, et al (1998) Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N Engl J Med* 338:278–285.
<https://doi.org/10.1056/NEJM199801293380502>

97. Lucchinetti C, Brück W, Parisi J, et al (2000) Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol* 47:707–717. [https://doi.org/10.1002/1531-8249\(200006\)47:6<707::aid-ana3>3.0.co;2-q](https://doi.org/10.1002/1531-8249(200006)47:6<707::aid-ana3>3.0.co;2-q)

98. Patani R, Balaratnam M, Vora A, Reynolds R (2007) Remyelination can be extensive in multiple sclerosis despite a long disease course. *Neuropathol Appl Neurobiol* 33:277–287. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2990.2007.00805.x>

99. Patrikios P, Stadelmann C, Kutzelnigg A, et al (2006) Remyelination is extensive in a subset of multiple sclerosis patients. *Brain J Neurol* 129:3165–3172.
<https://doi.org/10.1093/brain/awl217>

100. Matthews PM, Roncaroli F, Waldman A, et al (2016) A practical review of the neuropathology and neuroimaging of multiple sclerosis. *Pract Neurol* 16:279–

287. <https://doi.org/10.1136/practneurol-2016-001381>

101. Bø L, Vedeler CA, Nyland HI, et al (2003) Subpial demyelination in the cerebral cortex of multiple sclerosis patients. *J Neuropathol Exp Neurol* 62:723–732. <https://doi.org/10.1093/jnen/62.7.723>

102. Peterson JW, Bø L, Mörk S, et al (2001) Transected neurites, apoptotic neurons, and reduced inflammation in cortical multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 50:389–400. <https://doi.org/10.1002/ana.1123>

103. Magliozzi R, Howell O, Vora A, et al (2007) Meningeal B-cell follicles in secondary progressive multiple sclerosis associate with early onset of disease and severe cortical pathology. *Brain J Neurol* 130:1089–1104. <https://doi.org/10.1093/brain/awm038>

104. Magliozzi R, Howell OW, Reeves C, et al (2010) A Gradient of neuronal loss and meningeal inflammation in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 68:477–493. <https://doi.org/10.1002/ana.22230>

105. Moll NM, Rietsch AM, Thomas S, et al (2011) Multiple Sclerosis Normal-Appearing White Matter: Pathology-Imaging Correlations. *Ann Neurol* 70:764–773. <https://doi.org/10.1002/ana.22521>

106. Lassmann H (2014) Mechanisms of white matter damage in multiple sclerosis. *Glia* 62:1816–1830. <https://doi.org/10.1002/glia.22597>

107. Zeis T, Graumann U, Reynolds R, Schaeren-Wiemers N (2008) Normal-appearing white matter in multiple sclerosis is in a subtle balance between inflammation and neuroprotection. *Brain J Neurol* 131:288–303. <https://doi.org/10.1093/brain/awm291>

108. Howell OW, Reeves CA, Nicholas R, et al (2011) Meningeal inflammation is widespread and linked to cortical pathology in multiple sclerosis. *Brain J Neurol* 134:2755–2771. <https://doi.org/10.1093/brain/awr182>

109. McMahon EJ, Bailey SL, Castenada CV, et al (2005) Epitope spreading initiates in the CNS in two mouse models of multiple sclerosis. *Nat Med* 11:335–339. <https://doi.org/10.1038/nm1202>

110. Markowitz CE (2007) Interferon-beta: mechanism of action and dosing issues. *Neurology* 68:S8-11. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000277703.74115.d2>

111. Lovett-Racke AE, Trotter JL, Lauber J, et al (1998) Decreased dependence of myelin basic protein-reactive T cells on CD28-mediated costimulation in multiple sclerosis patients. A marker of activated/memory T cells. *J Clin Invest* 101:725–730

112. Polman CH, O'Connor PW, Havrdova E, et al (2006) A randomized, placebo-controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 354:899–910. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa044397>

113. Brown JW, Coles AJ (2013) Alemtuzumab: evidence for its potential in

- relapsing-remitting multiple sclerosis. *Drug Des Devel Ther* 7:131–138.
<https://doi.org/10.2147/DDDT.S32687>
114. Kappos L, Radue E-W, O'Connor P, et al (2010) A placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 362:387–401.
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa0909494>
115. Papadopoulou A, Kappos L, Sprenger T (2012) Teriflunomide for oral therapy in multiple sclerosis. *Expert Rev Clin Pharmacol* 5:617–628.
<https://doi.org/10.1586/ecp.12.56>
116. Linker RA, Gold R (2013) Dimethyl fumarate for treatment of multiple sclerosis: mechanism of action, effectiveness, and side effects. *Curr Neurol Neurosci Rep* 13:394. <https://doi.org/10.1007/s11910-013-0394-8>
117. Giovannoni G (2017) Cladribine to Treat Relapsing Forms of Multiple Sclerosis. *Neurotherapeutics* 14:874–887. <https://doi.org/10.1007/s13311-017-0573-4>
118. Leist TP, Comi G, Cree BAC, et al (2014) Effect of oral cladribine on time to conversion to clinically definite multiple sclerosis in patients with a first demyelinating event (ORACLE MS): a phase 3 randomised trial. *Lancet Neurol* 13:257–267. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70005-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70005-5)
119. Hunt JS (2006) Stranger in a strange land. *Immunol Rev* 213:36–47.
<https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2006.00436.x>
120. Robertson SA (2010) Immune regulation of conception and embryo implantation—all about quality control? *J Reprod Immunol* 85:51–57.
<https://doi.org/10.1016/j.jri.2010.01.008>
121. Guerin LR, Prins JR, Robertson SA (2009) Regulatory T-cells and immune tolerance in pregnancy: a new target for infertility treatment? *Hum Reprod Update* 15:517–535. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmp004>
122. Barrientos G, Tirado-González I, Klapp BF, et al (2009) The impact of dendritic cells on angiogenic responses at the fetal-maternal interface. *J Reprod Immunol* 83:85–94. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2009.07.011>
123. Dekel N, Gnainsky Y, Granot I, Mor G (2010) Inflammation and implantation. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989 63:17–21.
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2009.00792.x>
124. Nagamatsu T, Schust DJ (2010) The contribution of macrophages to normal and pathological pregnancies. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989 63:460–471.
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2010.00813.x>
125. Zhang J, Chen Z, Smith GN, Croy BA (2011) Natural killer cell-triggered vascular transformation: maternal care before birth? *Cell Mol Immunol* 8:1–11.
<https://doi.org/10.1038/cmi.2010.38>

126. Miller D, Gershater M, Slutsky R, et al (2020) Maternal and fetal T cells in term pregnancy and preterm labor. *Cell Mol Immunol* 17:693–704. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-0471-2>
127. Phillips TA, Ni J, Pan G, et al (1999) TRAIL (Apo-2L) and TRAIL receptors in human placentas: implications for immune privilege. *J Immunol Baltim Md* 1950 162:6053–6059
128. Phillips TA, Ni J, Hunt JS (2001) Death-inducing tumour necrosis factor (TNF) superfamily ligands and receptors are transcribed in human placentae, cytotrophoblasts, placental macrophages and placental cell lines. *Placenta* 22:663–672. <https://doi.org/10.1053/plac.2001.0703>
129. Austgulen R, Johnsen H, Kjøllesdal AM, et al (1993) Soluble receptors for tumor necrosis factor: occurrence in association with normal delivery at term. *Obstet Gynecol* 82:343–347
130. Payne SG, Smith SC, Davidge ST, et al (1999) Death receptor Fas/Apo-1/CD95 expressed by human placental cytotrophoblasts does not mediate apoptosis. *Biol Reprod* 60:1144–1150. <https://doi.org/10.1095/biolreprod60.5.1144>
131. Tilburgs T, Scherjon SA, Claas FHJ (2010) Major histocompatibility complex (MHC)-mediated immune regulation of decidual leukocytes at the fetal-maternal interface. *J Reprod Immunol* 85:58–62. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2010.01.005>
132. Papúchová H, Meissner TB, Li Q, et al (2019) The Dual Role of HLA-C in Tolerance and Immunity at the Maternal-Fetal Interface. *Front Immunol* 10:2730. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02730>
133. Hackmon R, Pinnaduwege L, Zhang J, et al (2017) Definitive class I human leukocyte antigen expression in gestational placentation: HLA-F, HLA-E, HLA-C, and HLA-G in extravillous trophoblast invasion on placentation, pregnancy, and parturition. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989 77:.. <https://doi.org/10.1111/aji.12643>
134. Ferreira LMR, Meissner TB, Tilburgs T, Strominger JL (2017) HLA-G: At the Interface of Maternal-Fetal Tolerance. *Trends Immunol* 38:272–286. <https://doi.org/10.1016/j.it.2017.01.009>
135. Gregori S, Amodio G, Quattrone F, Panina-Bordignon P (2015) HLA-G Orchestrates the Early Interaction of Human Trophoblasts with the Maternal Niche. *Front Immunol* 6:128. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00128>
136. Petroff MG, Chen L, Phillips TA, et al (2003) B7 family molecules are favorably positioned at the human maternal-fetal interface. *Biol Reprod* 68:1496–1504. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.102.010058>
137. Petroff MG, Perchellet A (2010) B7 family molecules as regulators of the

maternal immune system in pregnancy. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989 63:506–519. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2010.00841.x>

138. Linscheid C, Petroff MG (2013) Minor histocompatibility antigens and the maternal immune response to the fetus during pregnancy. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989 69:304–314. <https://doi.org/10.1111/aji.12075>

139. Abrahams VM, Straszewski-Chavez SL, Guller S, Mor G (2004) First trimester trophoblast cells secrete Fas ligand which induces immune cell apoptosis. *Mol Hum Reprod* 10:55–63. <https://doi.org/10.1093/molehr/gah006>

140. Frängsmyr L, Baranov V, Nagaeva O, et al (2005) Cytoplasmic microvesicular form of Fas ligand in human early placenta: switching the tissue immune privilege hypothesis from cellular to vesicular level. *Mol Hum Reprod* 11:35–41. <https://doi.org/10.1093/molehr/gah129>

141. Hunt JS, Chen HL, Miller L (1996) Tumor necrosis factors: pivotal components of pregnancy? *Biol Reprod* 54:554–562. <https://doi.org/10.1095/biolreprod54.3.554>

142. Runic R, Lockwood CJ, Ma Y, et al (1996) Expression of Fas ligand by human cytotrophoblasts: implications in placentation and fetal survival. *J Clin Endocrinol Metab* 81:3119–3122. <https://doi.org/10.1210/jcem.81.8.8768884>

143. Hsi BL, Hunt JS, Atkinson JP (1991) Differential expression of complement regulatory proteins on subpopulations of human trophoblast cells. *J Reprod Immunol* 19:209–223. [https://doi.org/10.1016/0165-0378\(91\)90036-p](https://doi.org/10.1016/0165-0378(91)90036-p)

144. Holmes CH, Simpson KL, Okada H, et al (1992) Complement regulatory proteins at the feto-maternal interface during human placental development: distribution of CD59 by comparison with membrane cofactor protein (CD46) and decay accelerating factor (CD55). *Eur J Immunol* 22:1579–1585. <https://doi.org/10.1002/eji.1830220635>

145. Xu C, Mao D, Holers VM, et al (2000) A critical role for murine complement regulator *crry* in fetomaternal tolerance. *Science* 287:498–501. <https://doi.org/10.1126/science.287.5452.498>

146. Erlebacher A (2013) Immunology of the maternal-fetal interface. *Annu Rev Immunol* 31:387–411. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032712-100003>

147. Moreau P, Adrian-Cabestre F, Menier C, et al (1999) IL-10 selectively induces HLA-G expression in human trophoblasts and monocytes. *Int Immunol* 11:803–811. <https://doi.org/10.1093/intimm/11.5.803>

148. Hennessy A, Pilmore HL, Simmons LA, Painter DM (1999) A deficiency of placental IL-10 in preeclampsia. *J Immunol Baltim Md 1950* 163:3491–3495

149. Thaxton JE, Sharma S (2010) Interleukin-10: a multi-faceted agent of pregnancy. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989 63:482–491.

<https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2010.00810.x>

150. Guo P-F, Du M-R, Wu H-X, et al (2010) Thymic stromal lymphopoietin from trophoblasts induces dendritic cell-mediated regulatory TH2 bias in the decidua during early gestation in humans. *Blood* 116:2061–2069. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-11-252940>

151. Le Bouteiller P (2013) Human Decidual NK Cells: Unique and Tightly Regulated Effector Functions in Healthy and Pathogen-Infected Pregnancies. *Front Immunol* 4:. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00404>

152. Zhang Y-H, He M, Wang Y, Liao A-H (2017) Modulators of the Balance between M1 and M2 Macrophages during Pregnancy. *Front Immunol* 8:120. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00120>

153. Parr EL, Chen HL, Parr MB, Hunt JS (1995) Synthesis and granular localization of tumor necrosis factor-alpha in activated NK cells in the pregnant mouse uterus. *J Reprod Immunol* 28:31–40. [https://doi.org/10.1016/0165-0378\(94\)00905-m](https://doi.org/10.1016/0165-0378(94)00905-m)

154. Stallmach T, Ehrenstein T, Isenmann S, et al (1995) The role of perforin-expression by granular metrial gland cells in pregnancy. *Eur J Immunol* 25:3342–3348. <https://doi.org/10.1002/eji.1830251221>

155. Ning F, Liu H, Lash GE (2016) The Role of Decidual Macrophages During Normal and Pathological Pregnancy. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989 75:298–309. <https://doi.org/10.1111/aji.12477>

156. Hall OJ, Klein SL (2017) Progesterone-based compounds affect immune responses and susceptibility to infections at diverse mucosal sites. *Mucosal Immunol* 10:1097–1107. <https://doi.org/10.1038/mi.2017.35>

157. Szekeres-Bartho J, Wegmann TG (1996) A progesterone-dependent immunomodulatory protein alters the Th1/Th2 balance. *J Reprod Immunol* 31:81–95. [https://doi.org/10.1016/0165-0378\(96\)00964-3](https://doi.org/10.1016/0165-0378(96)00964-3)

158. Miller L, Hunt JS (1998) Regulation of TNF-alpha production in activated mouse macrophages by progesterone. *J Immunol Baltim Md* 1950 160:5098–5104

159. Tilburgs T, Claas FHJ, Scherjon SA (2010) Elsevier Trophoblast Research Award Lecture: Unique properties of decidual T cells and their role in immune regulation during human pregnancy. *Placenta* 31 Suppl:S82-86. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2010.01.007>

160. Schumacher A, Zenclussen AC (2014) Regulatory T cells: regulators of life. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989 72:158–170. <https://doi.org/10.1111/aji.12238>

161. Saito S, Nakashima A, Shima T, Ito M (2010) Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989 63:601–610. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2010.00852.x>

162. Amato MP, Bertolotto A, Brunelli R, et al (2017) Management of pregnancy-related issues in multiple sclerosis patients: the need for an interdisciplinary approach. *Neurol Sci Off J Ital Neurol Soc Ital Soc Clin Neurophysiol* 38:1849–1858. <https://doi.org/10.1007/s10072-017-3081-8>
163. Dobson R, Dassan P, Roberts M, et al (2019) UK consensus on pregnancy in multiple sclerosis: “Association of British Neurologists” guidelines. *Pract Neurol* 19:106–114. <https://doi.org/10.1136/practneurol-2018-002060>
164. Charles JA, Tremlett H, Lu E, et al (2013) Disease-modifying drugs for multiple sclerosis in pregnancy: a systematic review. *Neurology* 80:1068–1069. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000428359.07207.f6>
165. Fragoso YD, Boggild M, Macias-Islas MA, et al (2013) The effects of long-term exposure to disease-modifying drugs during pregnancy in multiple sclerosis. *Clin Neurol Neurosurg* 115:154–159. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2012.04.024>
166. Howard TB, Tassinari MS, Feibus KB, Mathis LL (2011) Monitoring for teratogenic signals: pregnancy registries and surveillance methods. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 157C:209–214. <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.30304>
167. Alwan S, Chambers CD, Armenti VT, Sadovnick AD (2015) The need for a disease-specific prospective pregnancy registry for multiple sclerosis (MS). *Mult Scler Relat Disord* 4:6–17. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2014.10.001>
168. Martinelli V, Colombo B, Dalla Costa G, et al (2016) Recurrent disease-activity rebound in a patient with multiple sclerosis after natalizumab discontinuations for pregnancy planning. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl* 22:1506–1508. <https://doi.org/10.1177/1352458513492246>
169. Cree BAC (2013) Update on reproductive safety of current and emerging disease-modifying therapies for multiple sclerosis. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl* 19:835–843. <https://doi.org/10.1177/1352458512471880>
170. Thiel S, Langer-Gould A, Rockhoff M, et al (2016) Interferon-beta exposure during first trimester is safe in women with multiple sclerosis-A prospective cohort study from the German Multiple Sclerosis and Pregnancy Registry. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl* 22:801–809. <https://doi.org/10.1177/1352458516634872>
171. Hellwig K, Duarte Caron F, Wicklein E-M, et al (2020) Pregnancy outcomes from the global pharmacovigilance database on interferon beta-1b exposure. *Ther Adv Neurol Disord* 13:1756286420910310. <https://doi.org/10.1177/1756286420910310>
172. Coyle PK (2016) Management of women with multiple sclerosis through pregnancy and after childbirth. *Ther Adv Neurol Disord* 9:198–210. <https://doi.org/10.1177/1756285616631897>
173. De Giglio L, Gasperini C, Tortorella C, et al (2015) Natalizumab

discontinuation and disease restart in pregnancy: a case series. *Acta Neurol Scand* 131:336–340. <https://doi.org/10.1111/ane.12364>

174. Palmeira P, Quinello C, Silveira-Lessa AL, et al (2012) IgG Placental Transfer in Healthy and Pathological Pregnancies. *Clin Dev Immunol* 2012:1–13. <https://doi.org/10.1155/2012/985646>

175. Oh J, Achiron A, Celiuș EG, et al (2020) Pregnancy outcomes and postpartum relapse rates in women with RRMS treated with alemtuzumab in the phase 2 and 3 clinical development program over 16 years. *Mult Scler Relat Disord* 43:102146. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2020.102146>

176. Fragoso YD, Adoni T, Alves-Leon SV, et al (2013) Long-Term Effects of Exposure to Disease-Modifying Drugs in the Offspring of Mothers with Multiple Sclerosis: A Retrospective Chart Review. *CNS Drugs* 27:955–961. <https://doi.org/10.1007/s40263-013-0113-7>

177. Polman CH, Reingold SC, Banwell B, et al (2011) Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol* 69:292–302. <https://doi.org/10.1002/ana.22366>

178. Cuello JP, Martínez Ginés ML, Martín Barriga ML, de Andrés C (2017) Esclerosis múltiple y embarazo: estudio unicéntrico prospectivo y comparativo. *Neurología* 32:92–98. <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2014.12.015>

179. Confavreux C, Hutchinson M, Hours MM, et al (1998) Rate of pregnancy-related relapse in multiple sclerosis. Pregnancy in Multiple Sclerosis Group. *N Engl J Med* 339:285–291. <https://doi.org/10.1056/NEJM199807303390501>

180. Haramburu F, Miremont-Salamé G, Moore N (2000) Good and bad drug prescription in pregnancy. *The Lancet* 356:1704–1704. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)03202-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)03202-5)

181. Sozou PD, Hartshorne GM (2012) Time to Pregnancy: A Computational Method for Using the Duration of Non-Conception for Predicting Conception. *PLoS ONE* 7:e46544–e46544. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046544>

182. Gnoth C (2005) Definition and prevalence of subfertility and infertility. *Hum Reprod* 20:1144–1147. <https://doi.org/10.1093/humrep/deh870>

183. Brosens I, Gordts S, Valkenburg M, et al (2004) Investigation of the infertile couple: When is the appropriate time to explore female infertility? *Hum Reprod* 19:1689–1692. <https://doi.org/10.1093/humrep/deh314>

184. Roux T, Courtillot C, Debs R, et al (2015) Fecundity in women with multiple sclerosis: an observational mono-centric study. *J Neurol* 262:957–960. <https://doi.org/10.1007/s00415-015-7663-1>

185. Juul S (1999) Regional differences in waiting time to pregnancy: pregnancy-based surveys from Denmark, France, Germany, Italy and Sweden. *Hum Reprod*

14:1250–1254. <https://doi.org/10.1093/humrep/14.5.1250>

186. Wang X, Chen C, Wang L, et al (2003) Conception, early pregnancy loss, and time to clinical pregnancy: a population-based prospective study. *Fertil Steril* 79:577–584. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(02\)04694-0](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(02)04694-0)

187. Vukusic S, Michel L, Leguy S, Lebrun-Frenay C (2020) Pregnancy with multiple sclerosis. *Rev Neurol (Paris)*. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2020.05.005>

188. Cuello JP RDF, Lozano Ros A, Salgado Cámara P, Garcia Dominguez JM, Higuera Y, Goicochea Briceño H, Garcia-Tizon Larroca S, De León-Luis J, Martínez Ginés ML (2017) Time to Pregnancy in Multiple Sclerosis : A Case-Control Study. *Austin J Clinical Neurol* 4:4–7

189. Giovannoni G, Galazka A, Schick R, et al (2020) Pregnancy Outcomes During the Clinical Development Program of Cladribine in Multiple Sclerosis: An Integrated Analysis of Safety. *Drug Saf* 43:635–643. <https://doi.org/10.1007/s40264-020-00948-x>

190. Ramagopalan S, Yee I, Byrnes J, et al (2012) Term pregnancies and the clinical characteristics of multiple sclerosis: a population based study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 83:793–795. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2012-302848>

191. Sadovnick AD, Eisen K, Hashimoto SA, et al (1994) Pregnancy and multiple sclerosis. A prospective study. *Arch Neurol* 51:1120–4

192. Finer LB, Henshaw SK (2006) Disparities in rates of unintended pregnancy in the United States, 1994 and 2001. *Perspect Sex Reprod Health* 38:90–96. <https://doi.org/10.1363/psrh.38.090.06>

193. Lu E, Dahlgren L, Sadovnick A, et al (2012) Perinatal outcomes in women with multiple sclerosis exposed to disease-modifying drugs. *Mult Scler J* 18:460–467. <https://doi.org/10.1177/1352458511422244>

194. Thiel S, Langer-Gould A, Rockhoff M, et al (2016) Interferon-beta exposure during first trimester is safe in women with multiple sclerosis-A prospective cohort study from the German Multiple Sclerosis and Pregnancy Registry. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl* 22:801–809. <https://doi.org/10.1177/1352458516634872>

195. Nava-Ocampo AA, Koren G (2007) Human teratogens and evidence-based teratogen risk counseling: the Motherisk approach. *Clin Obstet Gynecol* 50:123–131. <https://doi.org/10.1097/GRF.0b013e31802f1880>

196. van Gelder MMHJ, van Rooij IALM, Miller RK, et al (2010) Teratogenic mechanisms of medical drugs. *Hum Reprod Update* 16:378–394. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmp052>

197. Wilffert B, Altena J, Tijink L, et al (2011) Pharmacogenetics of drug-induced birth defects: what is known so far? *Pharmacogenomics* 12:547–558.

<https://doi.org/10.2217/pgs.10.201>

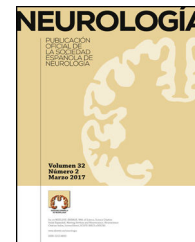
198. Daud ANA, Bergman JEH, Bakker MK, et al (2014) Pharmacogenetics of drug-induced birth defects: the role of polymorphisms of placental transporter proteins. *Pharmacogenomics* 15:1029–1041. <https://doi.org/10.2217/pgs.14.62>
199. Rogers MAM, Levine DA, Blumberg N, et al (2012) Antigenic Challenge in the Etiology of Autoimmune Disease in Women. *J Autoimmun* 38:J97–J102. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2011.08.001>
200. Voskuhl R (2011) Sex differences in autoimmune diseases. *Biol Sex Differ* 2:1–1. <https://doi.org/10.1186/2042-6410-2-1>
201. Patas K, Engler JB, Friese MA, Gold SM (2013) Pregnancy and multiple sclerosis: fetomaternal immune cross talk and its implications for disease activity. *J Reprod Immunol* 97:140–146. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2012.10.005>
202. Wei S-Q, Fraser W, Luo Z-C (2010) Inflammatory cytokines and spontaneous preterm birth in asymptomatic women: a systematic review. *Obstet Gynecol* 116:393–401. <https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e3181e6dbc0>
203. Romero R, Mazor M, Brandt F, et al (1992) Interleukin-1 alpha and interleukin-1 beta in preterm and term human parturition. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989 27:117–123. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.1992.tb00737.x>
204. Romero R, Mazor M, Sepulveda W, et al (1992) Tumor necrosis factor in preterm and term labor. *Am J Obstet Gynecol* 166:1576–1587. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(92\)91636-o](https://doi.org/10.1016/0002-9378(92)91636-o)
205. Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mosmann TR (1993) Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? *Immunol Today* 14:353–356. [https://doi.org/10.1016/0167-5699\(93\)90235-D](https://doi.org/10.1016/0167-5699(93)90235-D)
206. Lin H, Mosmann TR, Guilbert L, et al (1993) Synthesis of T helper 2-type cytokines at the maternal-fetal interface. *J Immunol Baltim Md* 1950 151:4562–4573
207. Luppi P, Haluszczak C, Betters D, et al (2002) Monocytes are progressively activated in the circulation of pregnant women. *J Leukoc Biol* 72:874–884
208. Amoudruz P, Minang JT, Sundström Y, et al (2006) Pregnancy, but not the allergic status, influences spontaneous and induced interleukin-1beta (IL-1beta), IL-6, IL-10 and IL-12 responses. *Immunology* 119:18–26. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2006.02400.x>
209. Veenstra van Nieuwenhoven AL, Bouman A, Moes H, et al (2003) Endotoxin-induced cytokine production of monocytes of third-trimester pregnant women compared with women in the follicular phase of the menstrual cycle. *Am J Obstet Gynecol* 188:1073–1077. <https://doi.org/10.1067/mob.2003.263>
210. Normal Human Pregnancy Is Associated With an Elevation in the Immune

Suppressive CD25+ CD4+ Regulatory T-cell Subset - PubMed

211. Su D, Zhang Y, Wang Q, et al (2016) Association of interleukin-10 gene promoter polymorphisms with recurrent miscarriage: a meta-analysis. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989 76:172–180. <https://doi.org/10.1111/aji.12531>
212. Ghaebi M, Nouri M, Ghasemzadeh A, et al (2017) Immune regulatory network in successful pregnancy and reproductive failures. *Biomed Pharmacother Biomedecine Pharmacother* 88:61–73. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.01.016>
213. Veras E, Kurman RJ, Wang T-L, Shih I-M (2017) PD-L1 Expression in Human Placentas and Gestational Trophoblastic Diseases. *Int J Gynecol Pathol Off J Int Soc Gynecol Pathol* 36:146–153. <https://doi.org/10.1097/PGP.0000000000000305>
214. Taglauer ES, Trikhacheva AS, Slusser JG, Petroff MG (2008) Expression and function of PDCD1 at the human maternal-fetal interface. *Biol Reprod* 79:562–569. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.107.066324>
215. Zhang Y-H, Tian M, Tang M-X, et al (2015) Recent Insight into the Role of the PD-1/PD-L1 Pathway in Feto-Maternal Tolerance and Pregnancy. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989 74:201–208. <https://doi.org/10.1111/aji.12365>
216. Bloise E, Ciarmela P, Dela Cruz C, et al (2019) Activin A in Mammalian Physiology. *Physiol Rev* 99:739–780. <https://doi.org/10.1152/physrev.00002.2018>
217. Dillenburg A, Ireland G, Holloway RK, et al (2018) Activin receptors regulate the oligodendrocyte lineage in health and disease. *Acta Neuropathol (Berl)* 135:887–906. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1813-3>
218. Miron VE, Boyd A, Zhao J-W, et al (2013) M2 microglia and macrophages drive oligodendrocyte differentiation during CNS remyelination. *Nat Neurosci* 16:1211–1218. <https://doi.org/10.1038/nn.3469>
219. Liang P-Y, Diao L-H, Huang C-Y, et al (2015) The pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokine profile in peripheral blood of women with recurrent implantation failure. *Reprod Biomed Online* 31:823–826. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2015.08.009>
220. Schumacher A, Zenclussen AC (2014) Regulatory T cells: regulators of life. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989 72:158–170. <https://doi.org/10.1111/aji.12238>
221. Veras E, Kurman RJ, Wang T-L, Shih I-M (2017) PD-L1 Expression in Human Placentas and Gestational Trophoblastic Diseases. *Int J Gynecol Pathol Off J Int Soc Gynecol Pathol* 36:146–153. <https://doi.org/10.1097/PGP.0000000000000305>
222. Langer-Gould A, Gupta R, Huang S, et al (2010) Interferon-gamma-producing T cells, pregnancy, and postpartum relapses of multiple sclerosis. *Arch Neurol* 67:51–57. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2009.304>

223. Hughes SE, Spelman T, Gray OM, et al (2014) Predictors and dynamics of postpartum relapses in women with multiple sclerosis. *Mult Scler J* 20:739–746. <https://doi.org/10.1177/1352458513507816>
224. Piccinni M-P, Lombardelli L, Logiodice F, et al (2016) How pregnancy can affect autoimmune diseases progression? *Clin Mol Allergy CMA* 14:11. <https://doi.org/10.1186/s12948-016-0048-x>
225. Wijayarathna R, de Kretser DM (2016) Activins in reproductive biology and beyond. *Hum Reprod Update* 22:342–357. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmv058>
226. Khalil M, Teunissen CE, Otto M, et al (2018) Neurofilaments as biomarkers in neurological disorders. *Nat Rev Neurol* 1. <https://doi.org/10.1038/s41582-018-0058-z>
227. Comabella M, Montalban X (2014) Body fluid biomarkers in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 13:113–126. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(13\)70233-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70233-3)
228. Barro C, Benkert P, Disanto G, et al (2018) Serum neurofilament as a predictor of disease worsening and brain and spinal cord atrophy in multiple sclerosis. *Brain J Neurol* 141:2382–2391. <https://doi.org/10.1093/brain/awy154>
229. Disanto G, Adiutori R, Dobson R, et al (2016) Serum neurofilament light chain levels are increased in patients with a clinically isolated syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 87:126–129. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2014-309690>
230. Rotstein D, Montalban X (2019) Reaching an evidence-based prognosis for personalized treatment of multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol* 15:287–300. <https://doi.org/10.1038/s41582-019-0170-8>
231. Kapoor R, Smith KE, Allegretta M, et al (2020) Serum neurofilament light as a biomarker in progressive multiple sclerosis. *Neurology*. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000010346>
232. Disanto G, Barro C, Benkert P, et al (2017) Serum Neurofilament light: A biomarker of neuronal damage in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 81:857–870. <https://doi.org/10.1002/ana.24954>
233. Evers KS, Atkinson A, Barro C, et al (2018) Neurofilament as Neuronal Injury Blood Marker in Preeclampsia. *Hypertens Dallas Tex* 1979 71:1178–1184. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.10314>
234. Alroughani R, Alowayesh MS, Ahmed SF, et al (2018) Relapse occurrence in women with multiple sclerosis during pregnancy in the new treatment era. *Neurology* 90:e840–e846. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000005065>

8. ANEXOS



ORIGINAL

Esclerosis múltiple y embarazo: estudio unicéntrico prospectivo y comparativo[☆]



J.P. Cuello^{*}, M.L. Martínez Ginés, M.L. Martín Barriga y C. de Andrés

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

Recibido el 29 de noviembre de 2014; aceptado el 29 de diciembre de 2014
Accesible en línea el 27 de febrero de 2015

PALABRAS CLAVE

Esclerosis múltiple;
Embarazo;
Terapia
inmunomoduladora;
Lactancia;
Fecundación in vitro;
Inseminación
artificial

Resumen

Introducción: La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad autoinmune que afecta preferentemente a mujeres en edad fértil. Durante el embarazo y puerperio, cambia la tasa anual de brotes (TAB) de EM, sin modificar la evolución a largo plazo. Analizamos la repercusión del embarazo en pacientes con EM, y comparamos sus resultados obstétricos con embarazos de mujeres sanas.

Métodos: Estudio unicéntrico, observacional descriptivo, de diseño longitudinal prospectivo. Se analizan los datos globales de una cohorte de pacientes con EM que han dado a luz entre enero de 2007 y julio de 2012, con un seguimiento de 2 años posparto. Los resultados obstétricos se compararon con un grupo control de 58 embarazadas sanas, elegidas al azar de nuestro centro durante el mismo período de tiempo.

Resultados: Un total de 35 pacientes con EM, 40 partos. Grupo control: 58 mujeres, 60 partos. EDSS preembarazo: 0,7. TAB 2 años preembarazo: 0,5. Durante el embarazo: 0,3, a los 2 años posparto: 0,4. Doce pacientes recibían FME previo al embarazo, 4 iniciaron la gestación con FME. No hubo diferencias estadísticamente significativas en la TAB ni en la EDSS entre períodos preembarazo, embarazo y posparto. Al comparar con grupo control, no hubo diferencias en edad materna, semanas de gestación, peso al nacer, porcentaje de cesáreas, ni complicaciones obstétricas. En pacientes con EM hubo mayor porcentaje de tratamientos por infertilidad y menor porcentaje de lactancia, ambos estadísticamente significativos.

Conclusiones: Nuestro trabajo confirma que el embarazo no repercute negativamente en el curso de la EM y que no existe mayor morbilidad obstétrica comparado con mujeres sanas.

© 2014 Sociedad Española de Neurología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

[☆] Una versión reducida de este trabajo ha sido presentado en formato póster en la LXIV Reunión Anual de la Sociedad Española de Neurología, en Barcelona en 2012 y en la 65th Annual Meeting of the American Academy of Neurology, en San Diego en 2013.

^{*} Autor para correspondencia.

Correo electrónico: cuellojp@yahoo.es (J.P. Cuello).

KEYWORDS

Multiple sclerosis;
Pregnancy;
Immunomodulatory
therapy;
Breastfeeding;
In vitro fertilization;
Artificial insemination

Multiple sclerosis and pregnancy: a single-centre prospective comparative study**Abstract**

Introduction: Multiple sclerosis (MS) is a autoimmune disorder which preferentially affects young women of childbearing age. During pregnancy, the annualized relapse rate (AAR) is modified, but pregnancy has no harm effect on the long-term course of the disease. We aimed to study the clinical course of our MS patients during pregnancy, and compare their obstetrics outcomes with a control group of non-MS patients.

Methods: A single centre prospective observational study was conducted. We assessed the reproductive history, MS history, pregnancy course and new-born outcome of a cohort of MS patients who had had a pregnancy between January 2007 and July 2012. We compared the global outcomes with a control cohort of 58 age-matched healthy pregnancies.

Results: Complete data from 35 consecutive women were analyzed, 40 deliveries. Control groups: 58 patients, 60 deliveries. EDSS at pregnancy 0,7. ARR before pregnancy 0,5. During pregnancy 0,3, after pregnancy 0,4. Twelve patients were on disease-modifying drugs (DMD) before pregnancy, 4 prenatal exposure occurs. The comparison between relapse rate and EDSS before, during and after delivery showed no statistically significant difference. In addition, compared to control group, there were also no differences in the obstetric outcomes. In MS cohort, we found a higher incidence of assisted reproductive treatments and lower breastfeeding rate, both statistically significant.

Conclusions: Our series confirms that pregnancy has no negative long term impact on the progression of MS and also suggest that there is no additional morbidity in the pregnancy, comparing to the rest of the population.

© 2014 Sociedad Española de Neurología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad autoinmune crónica del sistema nervioso central, que afecta predominantemente a mujeres en edad fértil¹. Se considera que la susceptibilidad de padecer EM depende de factores medioambientales en sujetos con un perfil genético predisponente²⁻⁶.

Cuando una mujer con EM se embaraza, se modifica su tasa anual de brotes (TAB) habitual, observándose una disminución en la incidencia de brotes durante el tercer trimestre del embarazo, con un aumento posterior durante el primer trimestre postparto⁷. A largo plazo, la TAB y la discapacidad global no parecen estar afectadas por las modificaciones en la incidencia de brotes producidos durante el embarazo. Con respecto a otros parámetros analizados en embarazadas con EM o sus recién nacidos, tales como la duración del período gestacional, el porcentaje de cesáreas realizadas, el peso del recién nacido y la incidencia de complicaciones obstétricas, los resultados de los diferentes estudios realizados al respecto no siempre son comparables, con resultados a veces contradictorios⁸.

Actualmente, no se dispone de un consenso internacional que guíe el proceder clínico cuando una paciente con EM planea concebir, por lo que se suelen encontrar diferencias según distintos países. La planificación del embarazo y un adecuado control de la EM son de gran importancia para este grupo de pacientes. El uso de fármacos modificadores de la enfermedad (FME) durante el embarazo

está desaconsejado, debido al desconocimiento de los efectos que estos fármacos puedan tener sobre el feto¹. No obstante, a menudo ocurren exposiciones prenatales involuntarias a FME, sobre todo en los casos de embarazos no planificados, de modo que cada vez se dispone de más evidencia en este contexto^{9,10}.

El objetivo del presente trabajo es analizar la experiencia clínica de nuestro centro en el manejo de pacientes con EM cuando se produce un embarazo, y comparar los resultados ginecológicos y obstétricos con embarazos de mujeres sanas.

Material y métodos

Estudio observacional descriptivo realizado en el Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid (HGUGM), diseñado con un seguimiento longitudinal prospectivo. El HGUGM es un hospital público perteneciente al Servicio Madrileño de Salud, con 1.671 camas instaladas para pacientes hospitalizados y una población asignada de 317.940 personas¹¹. Se analizan los datos globales de una cohorte de pacientes diagnosticadas de EM, que dieron a luz entre enero de 2007 y julio de 2012. Para el diagnóstico de EM se utilizaron los criterios de McDonald, actualizados según la fecha en la que se realizó¹².

Todas las pacientes, una vez confirmado el embarazo y tras obtener su consentimiento, fueron valoradas prospectivamente en consulta, analizando las distintas variables clínicas de manera estandarizada. Las valoraciones han sido

trimestrales durante el embarazo, y semestrales tras el parto, hasta completar los 2 años.

En el estudio de las pacientes con EM se incluyó edad, historial reproductivo, forma clínica de EM, años de evolución de la enfermedad, TAB desde el inicio de la enfermedad, grado de discapacidad mediante escala EDSS de Kurtzke y el historial de tratamiento farmacológico recibido¹³. Se utilizaron las características previas de la cohorte de pacientes con EM bajo estudio como autocontrol del número de brotes y grado de discapacidad entre los períodos preembarazo, embarazo y posparto. Se consideró como brote la aparición, reaparición o empeoramiento de signos de disfunción neurológica focal, de más de 24 h de duración, en ausencia de fiebre.

Con respecto al embarazo y parto, los resultados globales de las pacientes con EM se compararon con un grupo control de 58 embarazadas sanas, elegidas al azar de nuestro centro durante el mismo período de tiempo. Todas las pacientes del presente estudio fueron asistidas en el Servicio de Ginecología de nuestro centro hospitalario, con los cuidados prenatales, gestacionales y posparto pertinentes.

Finalmente, se realizaron entrevistas personalizadas a la cohorte de pacientes con EM, utilizando cuestionarios semi-estructurados, con el fin de completar la información que pudiera faltar.

Análisis estadístico

Los resultados de las variables continuas se presentaron mediante su media y desviación típica, o bien mediante media y rango mínimo-máximo. El análisis de normalidad se estudió con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Para comparar medias entre 2 grupos, se utilizaron pruebas paramétricas (t de Student) o pruebas no paramétricas (Mann-Whitney), eligiendo la más adecuada en cada caso en función de la normalidad de los datos y del número total de pacientes de cada grupo. Para estudiar TAB a lo largo del tiempo en las comparaciones previas al embarazo, durante el mismo y tras el parto, se han utilizado la prueba de Wilcoxon, la prueba de McNemar, y la prueba t de Student de medidas repetidas. La asociación entre variables cualitativas se estudió mediante la prueba ji-cuadrado de Pearson o exacta de Fisher. El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS versión 21.0. Se consideraron como estadísticamente significativos aquellos resultados con una $p < 0,05$.

Resultados

Se obtuvieron 39 embarazos en mujeres con EM durante el período de tiempo analizado, con el último parto ocurrido en mayo de 2012. Hubo una pérdida de seguimiento en 4 pacientes. De las 35 mujeres con EM analizadas, se obtuvieron 40 partos: 4 (11,4%) pacientes dieron a luz en 2 ocasiones durante el estudio, y una (2,8%) tuvo un embarazo gemelar. Del grupo control, se obtuvieron 60 partos de 58 mujeres (2 gemelares).

Características epidemiológicas de las mujeres con esclerosis múltiple

La totalidad de la cohorte de pacientes con EM había experimentado brotes por su enfermedad, con la forma remitente-recurrente en 32 (91,4%) pacientes, forma progresiva con brotes 2 (5,7%) pacientes y forma secundaria progresiva una (2,8%) paciente. La media de tiempo de evolución de la enfermedad fue de 8,55 años (2-22). El grado de discapacidad global de la cohorte al momento del embarazo era de 0,7 en la EDSS (0-5), 23 (65,8%) pacientes con EDSS=0; 6 (17,1%) pacientes con EDSS=1, y las restantes 6 (17,1%) con EDSS entre 2 y 5. La TAB global desde el inicio de la enfermedad fue de 0,7 (0,1-2,5), la TAB en los 2 años previos al embarazo fue 0,5 (0,3-0,6). Diez (28,5%) pacientes no habían tenido brotes en los 2 años previos al embarazo.

Al momento de iniciar la gestación, 23 (65,8%) pacientes no recibían tratamiento inmunomodulador para EM. Las otras 12 (34,2%) pacientes recibían tratamiento con FME: 4 con Rebif® (interferón beta-1^a), 2 con Avonex® (interferón beta-1^a), 4 con Betaferon® (interferón beta 1^b) y 2 con Copaxone® (acetato de glatirámico). La duración media del tratamiento con FME fue de 43,4 meses (1-120). Ocho pacientes suspendieron los FME al planificar el embarazo, permaneciendo sin medicación una media de 25,5 semanas (8-64) antes de la fecha de última menstruación. Cuatro pacientes quedaron embarazadas mientras tomaban FME: una con Avonex®, otra con Copaxone®, otra con Rebif® y otra con Betaferon®. En estas 4 pacientes, los FME se suspendieron inmediatamente al diagnosticar el embarazo, y en todos los casos la suspensión se realizó durante el primer trimestre, con una media de 6,5 semanas (3-10) tras la fecha de la última menstruación. Recibieron tratamiento por infertilidad 5 (14,2%) pacientes con EM.

Situación funcional de la cohorte con esclerosis múltiple durante el embarazo (tabla 1)

La TAB durante el período de 2 años previos al embarazo fue de 0,5 (0,3-0,6). Durante el embarazo fue de 0,3 (0,07-0,52), y en el período de 2 años de seguimiento posparto de 0,4 (0,24-0,56). El análisis mediante pruebas paramétricas de Wilcoxon no encontró diferencias estadísticamente significativas en las TAB entre los períodos preembarazo, embarazo y posparto. Al analizar la TAB previa al embarazo y la TAB durante el embarazo, la prueba paramétrica t de Student mostró que la TAB disminuye durante el embarazo, pero sin alcanzar significación estadística ($p = 0,23$). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la TAB preembarazo y postembarazo. [tabla 1](#).

De las 35 mujeres analizadas, 25 (71,4%) tuvieron brotes en los 2 años previos al embarazo, 7 (20%) tuvieron brotes durante el embarazo y 18 (51,4%) tuvieron al menos un brote en el período de seguimiento de 2 años tras el parto. En los casos de brotes posparto, el primer brote ocurrió dentro del primer trimestre posparto en el 94,4% de las pacientes.

Según la incidencia de brotes previos al embarazo, se analizó la posibilidad de tener brotes en el período posparto. La prueba de McNemar mostró que no hay diferencias estadísticamente significativas entre la incidencia de brotes previos y posteriores al embarazo ($p = 0,14$), si se toma en

Tabla 1 Incidencia de brotes por EM en período preembarazo, embarazo y posparto

Brotos 2 años preembarazo (n: 35)	Brotos durante embarazo	Brotos 2 años posparto
Sí: 25 pacientes	Sí: 6 pacientes	Sí: 13 pacientes
No: 10 pacientes	No: 19 pacientes	No: 12 pacientes
TAB 0,5 (0,3-0,6)	Sí: 1 paciente	Sí: 5 pacientes
25 pacientes con brotes en los 2 años previos	No: 9 pacientes	No: 5 pacientes
	TAB 0,3 (0,07-0,52)	TAB 0,4 (0,24-0,56)
	7 pacientes con brotes durante el embarazo	18 pacientes con brotes en el posparto

cuenta un período de 2 años. La comparación de la EDSS preembarazo con la EDSS a los 2 años posparto no mostró diferencias estadísticamente significativas.

Características del parto en la cohorte con esclerosis múltiple

De los 40 partos producidos, 35 (87,5%) fueron por vía natural y 5 (12,5%) por cesárea. La paciente con embarazo gemelar tuvo un parto por vía natural y otro por cesárea. El sexo del recién nacido fue masculino en 23 (57,5%) casos. El peso medio al nacer fue de 3.012,8 g (1.200-3.800). Solo un recién nacido fue prematuro y requirió reanimación. Se observaron las siguientes complicaciones médicas: un caso de oligoamnios, 2 casos de anemia gestacional, un caso de diabetes gestacional, un caso de placenta previa y un caso de trisomía XXY. En el caso de oligoamnios, la madre recibió Betaferón® hasta la séptima semana de embarazo. En el resto de complicaciones, ninguna madre había recibido FME previamente al embarazo.

Comparación de embarazos entre mujeres con esclerosis múltiple y mujeres sanas (tabla 2)

Al comparar las características del embarazo y parto de la cohorte de mujeres con EM y el grupo control de 58 mujeres sanas, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la edad materna al concebir, historial reproductivo, presencia de abortos previos, semanas de gestación, peso al nacer, porcentaje de cesáreas ni complicaciones obstétricas. [tabla 2](#).

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de mujeres que recibieron tratamiento por infertilidad ($p < 0,05$). De las 5 (13,5%) mujeres con EM que recibieron tratamiento, en 4 se usó fecundación in vitro (FIV) y una recibió inseminación artificial. En el grupo control, 2 (3,3%) pacientes recibieron tratamiento mediante FIV en ambos casos.

También se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la lactancia. En el período posnatal inmediato, iniciaron lactancia 26 (74%) mujeres del grupo con EM. De las 9 (26%) mujeres que no iniciaron lactancia, en 5 casos se debió al inicio inmediato de FME en el período posparto. Del grupo control, iniciaron lactancia en período posparto inmediato 56 (96,5%) mujeres.

Discusión

Las enfermedades autoinmunes son más frecuentes en el sexo femenino, y las razones de esta diferencia en la prevalencia entre ambos sexos aún no están aclaradas¹⁴. Las hormonas sexuales femeninas y la expresión de los distintos genes ligados a estas hormonas podrían ser responsables del aumento en la susceptibilidad. Durante el embarazo, se producen modificaciones hormonales que pueden influir en el curso de distintas enfermedades autoinmunes, como es el caso de EM, artritis reumatoide y psoriasis, cuyas pacientes experimentan una mejoría durante el embarazo, con un empeoramiento en los primeros meses posparto¹⁵. Desde un punto de vista inmunológico, el feto se comporta en el útero como un aloinjerto, ya que alberga antígenos heredados del padre. Por lo tanto, se piensa que un cambio en la respuesta inmune es necesario para evitar el rechazo del feto¹⁶⁻¹⁸. Esto se logra mediante un cambio en la secreción de citocinas por los linfocitos T activados, con una disminución del perfil inmunológico TH1 (inmunidad celular) y un aumento relativo del perfil TH2 (inmunidad humoral). Se cree que este cambio en la respuesta inmune podría ser la base de la mejoría vista en la EM durante el embarazo.

Tradicionalmente, se ha pensado que los anticonceptivos orales y el número de embarazos podrían tener un papel en el desarrollo de un primer episodio sugestivo de enfermedad desmielinizante, mostrando los diferentes estudios realizados al respecto resultados contradictorios, según la época de publicación y la metodología de estudio empleada^{19,20}. El uso de anticonceptivos orales o la gestación previa no tienen un efecto protector en el desarrollo de EM^{21,22}.

La fertilidad parece no verse mayormente afectada en las mujeres con EM. Sin embargo, infertilidad y EM pueden coincidir y, por lo tanto, los pacientes con EM pueden verse en la necesidad de seguir tratamientos de reproducción asistida. En este contexto, al realizar los distintos procedimientos de preparación para la fertilización, existe un mayor riesgo de brotes de EM, y esto parece ser independiente de la estrategia hormonal utilizada para favorecer la ovulación y de su intervalo de aplicación²³. Los supuestos mecanismos implicados en el aumento de la tasa de brotes incluyen fundamentalmente la interrupción temporal de FME y los cambios inmunológicos inducidos por las hormonas sexuales usadas como tratamiento, que pueden producir un aumento en las citocinas proinflamatorias y un aumento en la migración de las células inmunológicas a través de la barrera hematoencefálica^{24,25}.

Para una mujer con EM, la decisión de quedarse embarazada está muy influida por la actividad de su enfermedad y

Tabla 2 Datos generales y obstétricos comparativos entre pacientes con EM y grupo control mujeres sanas

	Esclerosis múltiple (n = 35) n (%)	Control (n = 58) n (%)	p
Edad al concebir en años (rango)	32,3 (20-40)	33,05 (17-43)	>0,05
Primíparas	22 (62,8)	29 (50)	>0,05
Secundíparas	9 (25,7)	19 (32,7)	>0,05
Múltiparas	4 (11,4)	10 (17,3)	>0,05
Antecedentes de un aborto previo	5 (14,2)	6 (10,3)	>0,05
Antecedentes de 2 o más abortos	3 (8,5)	6 (10,3)	>0,05
Tratamiento por infertilidad	5 (14,2)	2 (3,44)	<0,05
Semanas de gestación (rango)	38,9 (29-42)	38,1 (28-41)	>0,05
Peso al nacer (en gramos)	3.012 (1.200-3.800)	3.141 (1.025-4.170)	>0,05
Lactancia en posparto inmediato	26 (74)	56 (96,5)	<0,05

su grado de discapacidad⁷. El embarazo a término modifica el riesgo de padecer brotes, pero no tiene influencia en la evolución de la enfermedad a largo plazo, ni favorece una mayor discapacidad^{7,26-28}. El desarrollo de brotes posparto no depende de la lactancia materna, anestesia epidural, edad de inicio de EM, duración de la enfermedad, número total de brotes previo al embarazo, número de embarazos o del sexo del recién nacido^{26,29}. A pesar del reconocido aumento en la incidencia de brotes durante el primer trimestre posparto, en la cohorte del estudio PRIMs hasta el 72% de los pacientes no experimentaron ningún brote en dicho período²⁶. Las posibilidades de tener un brote posparto aumentan cuanto mayor es la TAB previamente al embarazo, si hay brotes durante el embarazo, y posiblemente en los casos donde hay una mayor EDSS preembarazo. Si se analiza conjuntamente la disminución en la incidencia de brotes ocurrida durante los 9 meses del embarazo más el aumento posterior durante el primer trimestre posparto, se encuentra que la incidencia de brotes en esos 12 meses no difiere de la TAB habitual de los años previos al embarazo²⁶. Siguiendo esta línea, un estudio mostró que, de 33 pacientes que tuvieron al menos un brote en el año preembarazo o durante el embarazo, solo 13 (39%) experimentaron un brote en el primer trimestre posparto. Según este estudio, el riesgo de padecer un brote posparto en una paciente en concreto no puede predecirse mediante un algoritmo matemático, lo que dificulta la elección de pacientes para un eventual tratamiento empírico²⁶. Una vez superado el primer trimestre posparto, la TAB no difiere significativamente del período anual preembarazo. En nuestra serie, destacó el alto porcentaje de pacientes con EM asintomáticas o levemente sintomáticas al momento de iniciar la gestación: 65,8% de las pacientes tenían EDSS=0 y 17,1% tenían EDSS=1. Respecto a los brotes, se observó una disminución en la TAB durante el embarazo, pero sin alcanzar significación estadística. Este hallazgo puede atribuirse tanto a la EDSS como a la TAB previa al embarazo, aunque no se puede descartar que el bajo número de pacientes de nuestra serie haya producido un sesgo. En el puerperio, se apreció un aumento en la TAB, ocurriendo el primer brote durante el primer trimestre posparto en el 94,4% de los casos. Analizando la incidencia de brotes producidos, nuestra serie no mostró diferencias estadísticamente significativas en la TAB entre los 2 años preembarazo y los 2 años posparto. Además, en nuestros casos, no se encontró ningún factor en particular que ayude a predecir la incidencia de brotes en el período posparto.

FME durante el embarazo

A las mujeres con EM se les recomienda interrumpir el tratamiento con FME previamente a concebir para minimizar el riesgo potencial de daño fetal. Suspender el tratamiento puede tener consecuencias en el curso de la EM, con la posibilidad de modificar la estabilidad alcanzada hasta entonces. Un estudio analiza retrospectivamente 152 embarazos de 132 mujeres con EM, en donde 61 (40,1%) de ellos ocurrieron con al menos 8 semanas de exposición a FME. La tasa de complicaciones obstétricas y neonatales resultó similar en ambos grupos, excepto por peso al nacer y estatura, que fueron menores en los casos donde la madre recibió FME. Por contrapartida, la tasa de brotes posparto y la EDSS fue mayor en las pacientes que no recibieron FME previamente al inicio de la gestación³⁰.

Según la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos de América (FDA por sus siglas en inglés) los FME tienen la siguiente categoría de seguridad: acetato de glatirámico categoría B, ya que los estudios indican que no existe riesgo para el feto animal, pero no se dispone de estudios en humanos. Interferón beta, natalizumab y fingolimod categoría C: se notificaron efectos adversos en fetos animales, sin información sobre estudios en humanos. Mitoxantrona categoría D, ya que se ha informado posible riesgo fetal en seres humanos. En este sentido, recientemente se realizó un análisis sistemático sobre el uso de FME durante el embarazo, utilizando los resultados de 15 estudios publicados¹⁰. Se obtuvieron 761 casos de mujeres expuestas a interferones beta, 97 a acetato de glatirámico y 35 a natalizumab. Tras analizar los resultados, se propuso la siguiente clasificación: interferón beta y mitoxantrona en clase III ya que hay evidencia de algunos estudios que sugieren riesgo potencial, específicamente bajo peso al nacer y mayor porcentaje de partos pretérmino. Al acetato de glatirámico, natalizumab y Fingolimod les asignaron clase indeterminada, al mostrar los estudios analizados resultados no convincentes. A pesar de esto, se mantiene la recomendación de evitar los FME en las mujeres con EM que deseen concebir¹⁰. En nuestros casos, hemos seguido la recomendación de suspender los FME al planificar el embarazo. No obstante, hemos tenido 4 casos de embarazos durante el tratamiento con FME, en los cuales no se ha visto una mayor morbilidad.

Prevención de brotes en período posparto

El aumento de la incidencia de brotes posparto es uno de los principales riesgos tras el embarazo de una mujer con EM, por lo cual interesa determinar la mejor manera de prevenirlos y tratarlos. Un estudio analizó la efectividad de utilizar glucocorticoides (GC) intravenosos posparto para reducir la incidencia de brotes. En 20 mujeres se administró un gramo de metilprednisolona intravenosa mensual, durante 6 meses tras el parto, y se las comparó con 22 controles históricos de mujeres que no habían recibido dicho tratamiento. En ambos grupos aumentó la tasa de brotes posparto, siendo menor en el grupo tratado con GC, lo que sugiere un posible efecto beneficioso de los GC mensuales empíricos posparto³¹. Sin embargo, los GC posparto pueden asociar un mayor riesgo de infecciones, e interferir con la cicatrización de las heridas^{32,33}. Una alternativa en la prevención de los brotes posparto pueden ser las inmunoglobulinas intravenosas (IGIV). Un estudio retrospectivo comparó la eficacia de IGIV para prevenir los brotes posparto. El grupo 1 eran pacientes no tratadas, el grupo 2 eran pacientes que recibieron IGIV 0,4g/kg peso por 5 días consecutivos durante la primer semana posparto, con una dosis adicional a las 6 y a las 12 semanas posparto. Un grupo 3 recibió tratamiento con IGIV durante el embarazo y en el período posparto (dosis en la primeras 8 semanas de gestación, con nuevas dosis cada 6 semanas hasta la semana 12 posparto). Se encontró una reducción significativa en la tasa de brotes durante el embarazo y posparto, sin mayor evidencia de comorbilidad asociada al uso de IGIV³⁴. Otra opción en la prevención puede ser el inicio precoz de FME, en los casos donde la madre no desee lactancia³⁵. En nuestra serie, iniciamos FME inmediatamente tras el parto en 5 mujeres, recomendando evitar la lactancia. Esta puede ser la explicación del menor porcentaje de lactancia visto en la cohorte con EM.

Como limitaciones de nuestro estudio se encuentra el haber sido realizado en un único centro universitario de referencia para EM y con un número limitado de pacientes, lo que puede dar lugar a sesgos y limitar la capacidad de generalización de resultados a otras poblaciones.

Conclusiones

En nuestra experiencia, destaca el gran porcentaje de mujeres con EM asintomáticas o levemente sintomáticas al momento de planificar el embarazo. Nuestra serie confirma que la TAB disminuye durante el embarazo y aumenta en el primer trimestre del puerperio, pero no hay diferencias estadísticamente significativas en la TAB si se considera un período de 2 años previo y posterior al embarazo. Por último, nuestro estudio mostró que las mujeres con EM no tienen una mayor morbilidad obstétrica respecto a mujeres sanas.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Agradecimientos

A nuestra compañera H. Goicoechea Briceño por su ayuda constante en la gestión asistencial de nuestros pacientes.

Bibliografía

- Houtchens MK. Pregnancy and multiple sclerosis. *Semin Neurol*. 2007;27:434–41.
- Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet*. 2008;372:1502–17.
- Ebers GC. Environmental factors and multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 2008;7:268–77.
- Ascherio A, Munger KL. Environmental risk factors for multiple sclerosis Part II: Noninfectious factors. *Ann Neurol*. 2007;61:504–13.
- Simpson S, Blizzard L, Otahal P, van der Mei I, Taylor B. Latitude is significantly associated with the prevalence of multiple sclerosis: A meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2011;82:1132–41.
- Alonso A, Hernán MA. Temporal trends in the incidence of multiple sclerosis: A systematic review. *Neurology*. 2008;71:129–35.
- Confavreux C, Hutchinson M, Hours MM, Cortinovis-Tourniaire P, Moreau T. Rate of pregnancy-related relapse in multiple sclerosis. *Pregnancy in Multiple Sclerosis Group*. *N Engl J Med*. 1998;339:285–91.
- Finkelsztein A, Brooks JB, Paschoal FM, Fragoso YD. What can we really tell women with multiple sclerosis regarding pregnancy? A systematic review and meta-analysis of the literature. *BJOG*. 2011;118:790–7.
- De Las Heras V, de Andrés C, Téllez N, Tintoré M. Pregnancy in multiple sclerosis patients treated with immunomodulators prior to or during part of the pregnancy: A descriptive study in the Spanish population. *Mult Scler*. 2007;13:981–4.
- Lu E, Wang BW, Guimond C, Synnes A, Sadovnick D, Tremlett H. Disease-modifying drugs for multiple sclerosis in pregnancy: A systematic review. *Neurology*. 2012;79:1130–5.
- Rodríguez Cruz PM, Pérez Sánchez JR, Cuello JP, Sobrino García P, Vicente Peracho G, García Arratibel A, et al. Workload of on-call emergency room neurologists in a Spanish tertiary care centre. A one-year prospective study. *Neurología*. 2014;29:193–9.
- Polman CH, Reingold SC, Banwell B, Clanet M, Cohen J a, Filippi M, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol*. 2011;69:292–302.
- Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: An expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*. 1983;33:1444–52.
- Rogers MA, Levine DA, Blumberg N, Fisher GG, Kabeto M, Langa KM. Antigenic challenge in the etiology of autoimmune disease in women. *J Autoimmun*. 2012;38:J97–102.
- Voskuhl R. Sex differences in autoimmune diseases. *Biol Sex Differ*. 2011;2:1.
- Patas K, Engler JB, Friese MA, Gold SM. Pregnancy and multiple sclerosis: Feto-maternal immune cross talk and its implications for disease activity. *J Reprod Immunol*. 2013;97:140–6.
- Sánchez-Ramón S, Navarro AJ, Aristimuño C, Rodríguez-Mahou M, Bellón JM, Fernández-Cruz E, et al. Pregnancy-induced expansion of regulatory T-lymphocytes may mediate protection to multiple sclerosis activity. *Immunol Lett*. 2005;96:195–201.
- Valor L, Teijeiro R, Aristimuño C, Faure F, Alonso B, de Andrés C, et al. Estradiol-dependent perforin expression by human regulatory T-cells. *Eur J Clin Invest*. 2011;41:357–64.
- Alonso A, Jick SS, Olek MJ, Ascherio A, Jick H, Hernán MA. Recent use of oral contraceptives and the risk of multiple sclerosis. *Arch Neurol*. 2005;62:1362–5.

20. Ponsonby A-L, Lucas RM, van der Mei IA, Dear K, Valery PC, Pender MP, et al. Offspring number, pregnancy, and risk of a first clinical demyelinating event: The Ausimmune Study. *Neurology*. 2012;78:867–74.
21. Hernán MA, Hohol MJ, Olek MJ, Spiegelman D, Ascherio A. Oral contraceptives and the incidence of multiple sclerosis. *Neurology*. 2000;55:848–54.
22. Thorogood M, Hannaford PC. The influence of oral contraceptives on the risk of multiple sclerosis. *Br J Obstet Gynaecol*. 1998;105:1296–9.
23. Hellwig K, Schimrigk S, Beste C, Muller T, Gold R. Increase in relapse rate during assisted reproduction technique in patients with multiple sclerosis. *Eur Neurol*. 2009;61:65–8.
24. Hellwig K, Correale J. Artificial reproductive techniques in multiple sclerosis. *Clin Immunol*. 2013.
25. Michel L, Foucher Y, Vukusic S, Confavreux C, de Sèze J, Brassat D, et al. Increased risk of multiple sclerosis relapse after in vitro fertilisation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2012;83:796–802.
26. Vukusic S, Hutchinson M, Hours M, Moreau T, Cortinovis-Tourniaire P, Adeleine P, et al. Pregnancy and multiple sclerosis (the PRIMS study): Clinical predictors of post-partum relapse. *Brain*. 2004;127:1353–60.
27. Ramagopalan S, Yee I, Byrnes J, Guimond C, Ebers G, Sadovnick D. Term pregnancies and the clinical characteristics of multiple sclerosis: A population based study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2012;83:793–5.
28. Sadovnick AD, Eisen K, Hashimoto SA, Farquhar R, Yee IM, Hooge J, et al. Pregnancy and multiple sclerosis. A prospective study. *Arch Neurol*. 1994;51:1120–4.
29. Vukusic S, Confavreux C. One can prevent post-partum MS relapses by exclusive breast feeding: No. *Mult Scler*. 2013;19:1565–6.
30. Fragoso YD, Boggild M, Macias-Islas MA, Carra A, Schaerer KD, Aguayo A, et al. The effects of long-term exposure to disease-modifying drugs during pregnancy in multiple sclerosis. *Clin Neurol Neurosurg*. 2013;115:154–9.
31. De Seze J, Chapelotte M, Delalande S, Ferriby D, Stojkovic T, Vermersch P. Intravenous corticosteroids in the postpartum period for reduction of acute exacerbations in multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2004;10:596–7.
32. Beer HD, Fässler R, Werner S. Glucocorticoid-regulated gene expression during cutaneous wound repair. *Vitam Horm*. 2000;59:217–39.
33. Mathiesen O, Wetterslev J, Kontinen VK, Pommergaard H-C, Nikolajsen L, Rosenberg J, et al. Adverse effects of perioperative paracetamol, NSAIDs, glucocorticoids, gabapentinoids and their combinations: A topical review. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2014;58:1182–98.
34. Achiron A, Kishner I, Dolev M, Stern Y, Dulitzky M, Schiff E, et al. Effect of intravenous immunoglobulin treatment on pregnancy and postpartum-related relapses in multiple sclerosis. *J Neurol*. 2004;251:1133–7.
35. Hellwig K, Beste C, Schimrigk S, Chan A. Immunomodulation and postpartum relapses in patients with multiple sclerosis. *Ther Adv Neurol Disord*. 2009;2:7–11.