

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS
MÉDICAS
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: NEUROLOGIA

**Níveis Séricos e Liquóricos da Proteína S100B, Enolase
Específica do Neurônio e Neurotrofinas na Síndrome de
Guillain-Barré.**

MESTRANDRO: Vitor Félix Torres

ORIENTADOR: Prof. Doutor Marino Muxfeldt Bianchin

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

2010

“Deus, concede-me a graça de aceitar com serenidade aquilo que não pode ser modificado, a coragem para mudar o que deve ser mudado e a sabedoria para distinguir uma coisa da outra”

- Prece tradicional judaica -

Dedicatória

Aos meus pais, **Vera Lúcia** e **Sabino Fredy** por acompanhar minha trajetória de vida, sempre com muita motivação e fé.

A minha esposa **Rose Andréia** e minha pequena filha **Maria Clara**, por quem anseio ser uma pessoa cada vez melhor.

Agradecimentos

A execução do presente trabalho não foi o resultado do empenho isolado de uma pessoa, mas sim a decorrência de um esforço coletivo. A todos os colegas, manifesto minha gratidão. E de modo particular:

Ao **Prof. Dr. Marino Muxfeld Bianchin**, que inspirou este projeto desde o começo, através de seus ensinamentos o estímulo a fazer cada vez melhor. Obrigado pela confiança e paciência em mim depositada.

À Prof. **Dra. Márcia Lorena Fagundes Chaves**, pelo apoio e pela incansável dedicação à qualificação de novos neurologistas na pesquisa médica.

Ao **Dr. Pedro Schestatsky**, pelo auxílio da prática médica e neurofisiológica associado à disposição e companheirismo.

À **Ana Luiza Louzada**, que foi fundamental no auxílio e disponibilidade para a coleta e armazenamento das análises bioquímicas dos casos em estudo.

Aos **Professores Dr. Diogo Onofre Gomes de Souza, Jean Pierre Oses e Luis Valmor Cruz Portela** do Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, UFRGS. Sem eles este trabalho não seria possível.

A todos os membros do Serviço de Neurologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, que, sempre atenciosos e receptivos, deram o suporte logístico para problemas burocráticos.

À **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, pela oportunidade de qualificação e ao **Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas**, pela organização e estrutura que permitem a dezenas de profissionais da saúde alcançarem alto grau de qualificação todos os anos.

Índice

ÍNDICE	6
LISTA DE ABREVIATURAS	7
RESUMO	8
1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO DA LITERATURA	11
2.1. ETIOLOGIA	11
2.2. INCIDÊNCIA	11
2.3. APRESENTAÇÃO CLÍNICA	11
2.3.1. SUBTIPOS CLÍNICOS	12
2.4. DIAGNÓSTICO	16
2.5. TRATAMENTO (IMUNOTERAPIA)	19
2.6. FATORES PROGNÓSTICOS	20
2.7. PATOLOGIA	22
3. OBJETIVOS	28
4. JUSTIFICATIVA	29
5. PACIENTES E MÉTODOS	30
6. EQUIPE DE PESQUISA	31
7. ARTIGO CIÊNTIFICO	32
8. CONSIDERAÇÕES GERAIS	43
ANEXOS	45
REFERÊNCIAS DA REVISÃO DA LITERATURA	55

Lista de Abreviaturas

AIDP – Polirradiculoneuropatia Inflamatória Desmielinizante Aguda

AMAN – Neuropatia Axonal Motora Aguda

AMSAN – Neuropatia Axonal Sensitivo e Motor Aguda

CTNF – Fator Trófico Ciliar do Nervos

ENMG – Eletroneuromiografia

TGF- β – Fator de crescimento transformador beta

GDNF – Fator Trófico Derivado da Glia

IL – Interleucina

SMF – Síndrome de Miller-Fisher

NGF - Fator de Crescimento do Nervos

NSE – Enolase específica do neurônio

SGB - Síndrome de Guillain-Barré

S100B – Proteína S 100 beta

TGF-beta - Fator de Crescimento Transformador Beta

Resumo

A Síndrome de Guillain-Barré é caracterizada por uma polirradiculoneuropatia de instalação aguda, usualmente imuno-mediada, com características clínicas associado a um envolvimento sensitivo e motor progressivo, muitas vezes determinando grande incapacidade e morbimortalidade nos indivíduos acometidos pela doença. Este projeto de pesquisa teve como objetivo o seguimento de uma coorte de indivíduos portadores da Síndrome de Guillain-Barré admitidos no Hospital de Clínicas de Porto Alegre durante o período de Janeiro de 2008 à Dezembro de 2009 para a correlação dos achados clínicos com os níveis plasmáticos e líquóricos da proteína S100B. A proteína S100B é basicamente encontrada nos astrócitos e tem tido grande importância para o melhor entendimento dos processos fisiopatológicos na injúria do Sistema nervoso central. Alguns autores relataram a correlação entre a Síndrome de Guillain-Barré e os níveis líquóricos da proteína S100B, baseado nestas descrições acreditamos que o melhor entendimento fisiopatológico da Síndrome de Guillain-Barré associado a determinação dos níveis plasmáticos e líquóricos da proteína S100B possam auxiliar e estabelecer uma importante ferramenta prognóstica precoce na determinação da gravidade dos portadores da Síndrome de Guillain-Barré.

Abstract

The Guillain-Barre syndrome is characterized by a polyradiculoneuropathy of acute onset, usually immune-mediated, with clinical features associated with a progressive motor and sensory involvement, often determining major disability and morbidity in individuals affected by this disease. This research Project was aimed at following a cohort of patients with Guillain-Barre syndrome admitted to the Hospital de Clinicas de Porto Alegre during the period of January 2008 to December 2009. We measured the sera and cerebrospinal fluid (CSF) concentrations of S100B protein, neuron-specific enolase, neurotrophins and interleukin 6 using enzyme immunoassay methods in 22 patients with Guillain-Barre syndrome and 32 controls. The clinical and laboratory findings observed in the cases were important for better understanding of the pathophysiology of this disease coupled with the outcome of disabilities among the cases.

1. Introdução

Em 1916 três neurologistas franceses cujos nomes eram Georges Guillain, Jean-Alexandre Barré e André Strohl descreveram dois soldados com um tipo particular de paralisia aguda ascendente associada à perda dos reflexos profundos. Essa condição era reversível, seguida de recuperação gradativa nos pacientes sobreviventes[1]. Nestes pacientes foi observada uma concentração aumentada de proteínas no líquido céfalo-raquidiano (LCR). No entanto, foi também observada uma curiosa dissociação. Apesar desse aumento de proteínas liquóricas, a contagem celular era normal. Durante os 15 anos seguintes esses achados clínicos foram confirmados e essa síndrome passou a ser conhecida como Síndrome de Guillain-Barré (SGB)[2].

A SGB é caracterizada por uma paralisia ascendente aguda, usualmente pós-infecciosa, associada a acometimento dos nervos periféricos. A síndrome é imuno-mediada e tem um curso clínico variável. Em torno de 4 à 15% dos pacientes morrem e mais de 20% dos casos apresentam grave incapacidade motora, como a necessidade de suporte para caminhar. Durante a década de 80 a terapêutica através da plasmaferese abreviou a duração da necessidade de ventilação mecânica nos indivíduos acometidos pela Síndrome de Guillain-Barré. A plasmáférese também melhorou a capacidade de caminhar destes pacientes. Na década de 90 o uso da Imunoglobulina intravenosa humana mostrou benefício semelhante à plasmáférese, sendo também uma terapia útil no tratamento da SGB[3].

2. Revisão da literatura

2.1. Etiologia

A Síndrome de Guillain-Barré, primeiramente referida como um evento primariamente viral é agora considerado como uma doença auto-imune. Baseada em diversas evidências imunológicas e antecedentes de infecção dos pacientes que adquiriram a Síndrome de Guillain-Barré, conclui-se que quatro patógenos são preponderantes no desencadeamento da SGB. São eles o *Campylobacter jejune*, o Citomegalovirus, o Epstein-Barr e o *Mycoplasma pneumoniae*. Apesar destas associações com micropatógenos, observamos também SGB ocorrendo a antecedentes não infecciosos, tais como vacinação, cirurgias ou após transfusões sanguíneas[4].

2.2. Incidência

Recente revisão sistemática da literatura elaborado por McGrogan e colaboradores determinam uma estimativa de incidência anual da SGB entre 1,1 casos à 1,8 casos/100.000 habitantes com uma menor taxa nos casos de crianças (idade inferior à 16 anos) de cerca de 0,6 casos/100.000 habitantes/ano [5]. No Brasil um único artigo descreve uma amostragem de 95 pacientes com a SGB internados em um hospital terciário da zona leste de São Paulo no período 1995 à 2002 com uma incidência anual de 0,6 casos/100.000 habitantes [6].

2.3. Apresentação clínica

Atualmente, a Síndrome Guillain-Barré é caracterizada por uma neuropatia predominantemente motora, com curso monofásico. Nos casos típicos os primeiros sintomas podem ser dor, parestesias ou classicamente fraqueza nas extremidades. A fraqueza pode inicialmente ser proximal, distal ou uma combinação de ambos [7]. As alterações sensitivas usualmente afetam as extremidades e se propagam no sentido acro-rizomérico. O nervo facial é frequentemente afetado. Outros nervos motores bulbares e oculares podem ser afetados também, embora menos freqüentemente. Em até 25% dos pacientes a fraqueza dos músculos respiratórios pode causar necessidade de ventilação mecânica [8]. O envolvimento autonômico é comum e causa retenção urinária, íleo paralítico, taquicardia sinusal, hipertensão arterial, arritmia cardíaca e hipotensão postural. Nos casos mais graves pode ocorrer perda muscular significativa que resulta em hipotrofia tão rapidamente quanto duas semanas após a instalação da doença. Na maioria dos casos, a SGB alcança clinicamente seu ponto máximo em duas semanas. Após um platô, que é variável de acordo com o paciente, a recuperação inicia-se. Gradualmente ao longo das semanas ou meses seguintes ocorre ganho de força muscular e recuperação das alterações sensitivas [4].

2.3.1. Subtipos clínicos

GBS pode ser dividido em pelo menos quatro subtipos principais de doença: Polirradiculoneuropatia desmielinizante inflamatória aguda (AIDP), os subtipos com envolvimento axonal denominados como neuropatia axonal motora aguda (AMAN) e neuropatia axonal sensitivo e motor aguda (AMSAN), e por ultimo a síndrome de Miller Fisher (SMF).

O subtipo de apresentação mais freqüente e classicamente descrita é a AIDP, tendo como característica clínica dominante a fraqueza muscular generalizada associado a sintomas sensitivos. Na maioria dos casos a fraqueza é de curso ascendente, partindo dos membros inferiores até os membros superiores, no entanto, cerca de um terço dos casos ocorre o envolvimento imediato dos quatro segmentos apendiculares, e em uma freqüência menor (10%) existe o acometimento deficitário muscular de início nos membros superiores [9]. A presença de fraqueza dos músculos faciais é comum, podendo ocorrer na proporção de 50% dos casos e freqüentemente bilateral. Outro achado físico que determina a sua gravidade prognóstica é o envolvimento da musculatura respiratória em aproximadamente 25% dos casos levando a necessidade de suporte ventilatório artificial em unidades de terapia intensiva. Outro sintoma bem documentado na AIDP é a presença de disautonomias, incluindo arritmia cardíaca, hipertensão ou hipotensão, íleo paralítico e retenção urinária. Os sinais de fraqueza atingem o nadir normalmente em duas a quatro semanas após o início dos sintomas, o grau de incapacidade adquirida pode ser leve, porém cerca de 4 à 15% dos pacientes morrem. O período de recuperação é demonstrado como uma constante linear de melhora que pode durar de semanas à meses, mas não mais longo que dois anos [9].

A variante axonal da SGB fora descrita pela primeira vez em 1969 por Ramos-Alvarez e colaboradores [10] associada à degeneração primariamente axonal dos nervos periféricos, os autores citaram quinze resultados de necropsias das cinqüenta e sete crianças Mexicanas com histórico de paralisia

flácida de início agudo que não evidenciaram qualquer sinal de inflamação. Em oito crianças evidenciaram na avaliação patológica um quadro de extensiva “cromatólise” dos neurônios motores inferiores denominadas de neuronopatia citoplasmática e em sete crianças apresentavam alterações degenerativas dos núcleos denominada de neuronopatia nuclear. A morte destes casos ocorreu em menos de uma semana em doze destas crianças. Em 1986 Feasby e colaboradores [11] descreveram cinco casos de neuropatia progressiva de rápida evolução na qual preenchiam os critérios clínicos para SGB, entretanto as estimulação dos nervos periféricos pelo estudo de neuroconduções sensitivas e motoras foram ausentes associado a extensa degeneração Walleriana pelo estudo por eletromiografia. Dentre estes pacientes a necropsia de um caso apresentou sinais de degeneração axonal sem sinais inflamatórios ou desmielinizantes. A incidência da variante axonal da SGB foi estimada entre 3 a 16% [12-13]. Surtos epidêmicos de paralisia flácida aguda vêm sendo observadas no Norte da China nos últimos 20 anos afetando tanto a crianças como adultos jovens. Os achados clínicos e através do estudo do líquido céfalo raquidiano são compatíveis com a SGB, porém diferem do ponto de vista fisiológico e patológico da doença. Clinicamente é caracterizada por uma tetraparesia ascendente, rápida e progressiva geralmente seguida por insuficiência respiratória. Não se observou sintomas como febre, sintomatologia sistêmica ou envolvimento sensorial periférico. Diferentemente do subtipo AIDP, a AMAN apresenta um envolvimento do sistema autonômico raro, e quando presente de leve intensidade [14]. A eletroneuromiografia evidencia na maioria das vezes latências motoras distais e velocidades de condução motora normais com a presença de amplitudes reduzidas dos potenciais de ação motor

composto com ondas F normais quando presentes. Estudos de necropsia revelaram presença de degeneração Walleriana nas fibras nervosas motoras, levando ao conhecimento dessa síndrome como Neuropatia Axonal Motora Aguda (AMAN) [15]. A maioria dos casos estão associados à infecção prévia pelo *Campilobacter jejune* e a presença de anticorpos contra o Gangliosídeo GM1 (Anti-GM1) sugerindo que a AMAN é uma desordem causada por um anticorpo e complemento mediando um ataque ao axolema das fibras nervosas motoras.

A segunda variante axonal, inicialmente descrita por Feasby e colaboradores [16], fora atribuída a um pequeno grupo de pacientes diagnosticados clinicamente como tendo SGB, entretanto caracterizados histologicamente e neurofisiologicamente por achados iniciais de degeneração axonal dos nervos periféricos. Os achados que sustentaram estas evidências foram a presença de uma rápida queda de amplitude tanto dos potenciais de ação motor compostos como também pelos potenciais de ação sensitivos nervosos, sem a evidência de desmielinização local. Estes pacientes, denominados como portadores da variante Neuropatia Sensitivo e Motor Axonal Aguda (AMSAN), muitas vezes apresentavam quadro clínico de grave paralisia associado à lenta recuperação, provavelmente relacionada a necessidade de regeneração dos axônios ao invés de remielinização observados nos casos de AIDP.

Fisher, em 1956, descreveu uma síndrome clinicamente representada pelos sinais de oftalmoplegia, ataxia e arreflexia associado aos padrões da SGB mencionadas anteriormente como a rápida e progressiva instalação. Uma

das características da Síndrome de Miller-Fisher é a relação entre a infecção prévia pelo *Campilobacter jejune* e a presença de anticorpos do tipo IgG contra ao Gangliosídeo GQ1b (Anti-GQ1b). Não há muitos estudos Eletroneuromiográficos com casos de portadores de SMF sendo que se observa divergência entre eles. Uma das características marcantes eletrofisiológicas é a redução ou ausência das amplitudes dos potenciais de ação sensitivas, como também a ausência de respostas de reflexo H associado a neuroconduções motoras normais. Jamal e McLeod [17] sustentam que os resultados eletrofisiológicos são consistentes com uma neuropatia periférica provavelmente desmielinizante não se afastando daqueles casos observados da SGB. Fross e Daube [18], por outro lado, abordaram outro ponto de vista a cerca da patogênese da SMF através das anormalidades eletroneuromiográficas presentes em todos os pacientes que foram interpretados como uma neuropatia axonal característica ou uma neuronopatia com alterações predominantemente sensitivas nos membros inferiores associado a um comprometimento dos nervos cranianos motores.

2.4. Diagnóstico

O diagnóstico da SGB muitas vezes leva o médico a um desafio, sendo necessária uma extensa investigação de outras possíveis condições clínicas que podem mimetizar esta doença (Tabela 3) [2]. Os achados clínicos característicos como a presença de fraqueza progressiva, alterações sensitivas e sinais de hiporreflexia ou arreflexia devem levantar a suspeita da SGB. Auxiliando, e muitas vezes confirmando o diagnóstico clínico, dispomos da

investigação neurofisiológica através da eletroneuromiografia e da análise laboratorial do líquido céfalo raquidiano.

2.4.1. Testes Neurofisiológicos

Os testes Neurofisiológicos, usualmente compostos pela eletroneuromiografia, desempenham um papel muito importante na confirmação diagnóstica da SGB como da determinação do subtipo de apresentação. A ENMG é útil na SGB por auxiliar no diagnóstico diferencial de outras patologias, dar informações acerca de quais os nervos e músculos afetados, fornecer dados sobre a severidade da apresentação e muitas vezes fornecer parâmetro para acompanhamento evolutivo. As neuroconduções sensitivas e motoras podem, por vezes, encontrar-se totalmente normais ou discretamente retardadas (lentificadas) nas extremidades, em 20% dos casos não apresentam alterações até a terceira ou quarta semana após o início da doença. Nos quadros mais grave, ocorre uma acentuada redução da condução nervosa em segmentos distais dos nervos, com diminuição da amplitude dos potenciais e aumento da duração. Como a neuropatia motora pode ser apenas proximal, é fundamental que faça uso da pesquisa das latências das Ondas F nos membros superiores e inferiores, assim como a pesquisa do Reflexo H para a correta detecção de desmielinização proximal. Em casos de apresentação leve à moderada, a ausência ou retardo (prolongamento) da Onda F pode ser a única alteração observada, já que a neurocondução distal pode estar preservada. O estudo da face pode ser necessário através do reflexo do piscamento (blink reflex) muitas vezes alterado precocemente na SGB [19]. O estudo muscular (eletromiográfico) é considerado como importante

ferramenta de parâmetro prognóstico na doença, pois a presença de sinais desnervatórios está associada a um pior prognóstico de recuperação. Para que seja alcançado o diagnóstico é necessária a pesquisa de pelo menos três nervos sensitivos, pelo menos três nervos motores com a estimulação de vários pontos de trajeto do nervo em estudo, além da pesquisa de Ondas F e Reflexos-H bilateralmente [20]. É evidente que a quantidade de nervos sensitivos ou motores a serem estudadas é muito variável, sendo necessária a individualização de cada caso.

2.4.2. Análise do líquido céfalo raquidiano

Além dos testes neurofisiológicos, a pesquisa do líquido céfalo raquidiano através do procedimento médico de punção lombar é uma ferramenta tradicional para pesquisa das polineuropatias. A presença de concentração aumentada de proteínas no líquido é verificada em cerca de 80% dos pacientes portadores da SGB, porém este achado pode não estar presentes nos primeiros dias da doença. Foi também observada uma curiosa dissociação denominada protéico-citológica. Apesar desse aumento de proteínas líquóricas, a contagem celular era normal. Além da análise da concentração protéica e da celularidade, o estudo líquórico nos propicia uma série de diagnósticos diferenciais para possíveis quadros clínicos “mimetizadores” da SGB como também de processos neuroinfecciosos.

2.4.3. Anticorpos Anti-gangliosídeos

Os anticorpos anti-gangliosídeos reagem aos próprios gangliosídeos encontrados nas neuropatias auto-imunes. Foram primeiramente encontrados

em respostas imunológicas à células do cerebelo. Estes anticorpos mostram uma forte associação com determinadas variantes de GBS na fase aguda da doença [21]. Os auto-antígenos gangliosídeos atualmente conhecidos são: GD1b, GD3, GM1, GM1b, GQ3, GQ1b e GT1a [22-23]. Os anticorpos anti-GD1b são altamente associados com neuropatia sensorial e estão ligados a vasta maioria das populações celulares da raiz dorsal ganglionar. Anticorpos Anti-GD3 foram encontrados em associação com formas específicas de GBS. Estudos em vivo isolaram anticorpos Anti-GM1 e Anti-GD3 indicando que estes anticorpos interferem na função de neurônios motores, muitas vezes associados fortemente a AMAN. Os níveis de Anti-GM1 podem estar elevados em casos de diversas formas de demência, entretanto níveis elevados de Anti-GM1 correlacionaram-se a um aumento da gravidade da SGB [24]. Os anticorpos Anti-GQ1b e anti-GT1a são encontrados na SMF e relacionados a grande ruptura das células de Schwann observados em modelos anatomo-patológicos. Também observaram níveis elevados de IgG Anti-GQ1b em casos de SGB com oftalmoplegia [25].

2.5. Tratamento (Imunoterapia)

A introdução da Imunoterapia como terapêutica para os casos de SGB foram sustentadas pela hipótese clínico - patológica de se tratar de uma condição imunológica [2]. Antes da sua introdução 10% dos casos faleciam e 20% permaneciam com grave incapacidade física [26]. Em 1978 foi introduzido a Plasmaférese como possível tratamento para SGB e em 1985 os resultados de um estudo randomizado evidenciaram benefício significativo para o seu uso, tornando-se escolha terapêutica padrão ouro [27]. A imunoglobulina

endovenosa humana foi introduzida em 1988 para terapêutica da SGB e em 1992 o primeiro estudo randomizado comparando imunoglobulina à plasmaférese demonstrou efeito similar entre as drogas no tratamento da SGB [28]. Corticosteróide foram introduzidos na terapêutica da SGB no começo dos anos cinquenta por Stillman e Ganong, entretanto um estudo randomizado publicado em 1976 com uso de ACTH não evidenciou efeito significativo [29]. Recente revisão sistemática sobre imunoterapia na SGB reforça os resultados negativos a cerca do uso de metilprednisolona endovenosa e corticóides orais [30]. Van Koningsveld e colaboradores demonstraram que o possível pequeno efeito sinérgico com uso de imunoglobulina combinado a metilprednisolona endovenosa não deve ser excluída [31].

2.6. Fatores Prognósticos

Existe certa controvérsia sobre os fatores reais prognósticos associados à Síndrome Guillain-Barré. Os resultados de vários estudos têm evidenciado possíveis indicadores de mau prognóstico. A idade até então é considerada como o desfecho mais consistente como fator prognóstico desfavorável para melhora das incapacidades, sendo pior nos indivíduos idosos [32]. Confirmando a associação entre idade e prognóstico observa-se que em crianças acometidas pela SGB apresentam uma recuperação mais rápida e completa, tendo sido excepcional a ocorrência de morte neste grupo [33]. A presença de antecedente infeccioso diarréico ou a confirmação de pesquisa para *Campylobacter jejune* determinou um desfecho mais grave e com recuperação mais lenta que outros pacientes [32]. A ocorrência de infecção por citomegalovírus também determinou pior prognóstico devido a observação de

lentidão da recuperação dos casos, entretanto, em casos de SGB associados ao vírus Epstein-Barr tem sido associado a formas clínicas com apresentação mais leves [34]. Em alguns estudos a presença de baixas amplitudes motoras e até mesmo a ausência de potenciais de ação motor composto ao estudo das neuroconduções motoras associado ao envolvimento axonal ao estudo Eletromiográfico estão também relacionados a um pior desfecho prognóstico nos casos de AIDP [35]. A maioria dos casos relacionados ao subtipo AMAN apresentam boa recuperação [14]. Mokuno e colaboradores [36] dosaram a concentração de NSE e proteína S100B no líquido de 24 casos de GBS e 46 controles observando uma correlação entre níveis elevados destes ambos marcadores como possível fator prognóstico de longo período de recuperação da incapacidade física. Petzold A. e colaboradores evidenciaram a correlação entre os níveis elevados de neurofilamentos de cadeia pesada e proteína Tau no líquido céfalo raquidiano em 30 casos de SGB com a piora da recuperação motora, entretanto os níveis de proteína S100B no líquido não alcançaram valores estatísticos como correlação pronóstica de incapacidade [37]. Recentemente Van Koningsveld e colegas fizeram uma extensiva análise multivariada em 397 pacientes com SGB e construíram um sistema simples de classificação de prognóstico. Esse sistema é baseado em 3 características clínicas: idade, história de diarreia precedendo a doença e grau de incapacidade pelo “GBS score” em 2 semanas. Este sistema conseguiu prever acuradamente a evolução da SGB 6 meses após o início dos sintomas [38]. Não existem fatores prognósticos ideais que possam informar com precisão sobre o prognóstico de determinado paciente na fase aguda da Síndrome Guillain-Barré, referente as dosagens da proteína S100B

observamos divergência entre os autores citados acima como fator prognóstico para casos de SGB .

2.7. Patologia

Estudos patológicos da Síndrome de Guillain-Barré identificaram proeminente desmielinização e infiltrado inflamatório nos nervos espinais e raízes nervosas. O principal achado microscópico consiste em um infiltrado celular mononuclear e desmielinização adjacente e segmentar dos ramos nervosos envolvidos. O infiltrado celular consiste predominantemente de linfócitos pequenos e médios, macrófagos e poucos polimorfonucleares. Esses tipos celulares aparecem precocemente no início da doença. Raramente, pode ser também evidenciados tardiamente células plasmáticas e mastocitárias [39].

Os infiltrados celulares tendem a agredir os pequenos vasos endoneurais, a mielina e também as células de Schwann. Devido a essa agressão ocorre uma espécie de “desnudamento” do axônio acometido (Figura 01). Esse desnudamento é provocado pela já descrita invasão celular, principalmente de macrófagos nas camadas de mielina. É também provocada pela agressão aos vasos nutrizes dos axonônios alvos da resposta imuno-mediada associada à SGB [2, 39]. A célula de Schwann durante o processo de injúria inflamatória secreta uma série de fatores tróficos como o Fator de crescimento do nervo (NGF), Fator trófico ciliar do nervo (CTNF) e Fator trófico derivado da glia (GDNF) que contribuem para o crescimento axonal por brotamento e desta forma auxiliando na sobrevivência neuronal [40]. Estudos

experimentais evidenciaram a capacidade das células de Schwann em secretar citocinas com potencial para inibir ou aumentar o processo inflamatório como as Interleucinas (IL)-1b, IL-6, IL-13, IL-10, Fator de crescimento transformador beta (TGF-beta) e outros mediadores inflamatórios (Figura 02). Desta maneira a célula de Schwann pela sua característica multipotencial determina uma função vital na fisiologia normal do nervo, podendo contribuir para o processo inflamatório através da produção de citocinas, reagentes de fase aguda e fatores de crescimento [41].

2.7.1 Proteína S100B

A proteína S100B é uma proteína ligadora de cálcio produzida e secretada pelos astrócitos (Heizman., 2004; Kaiser et al., 1989). Estudos têm evidenciado que a proteína S100B, através de experimentos em “in vivo” e “in vitro”, apresenta um importante papel no metabolismo celular energético, na modificação do citoesqueleto, na proliferação celular e sua diferenciação [42]. A especificidade celular desta proteína pode ser utilizada para tentar entender a fisiopatologia de diferentes condições que cursam com o comprometimento do SNC. O aumento nos níveis da proteína S100B pode refletir dano glial ou uma reação astrocitária com propriedades neuroprotetoras (Ahlemeyer et al., 2000; Herrmann et al., 2000). Especificamente é plausível que a quantificação sérica da proteína S100B se correlacione com a intensidade e extensão da injúria na SGB, assim como pode ser um marcadores inflamatório e de prognóstico (Pleines et al., 2001; Rothoerl et al., 2000; Woertgen et al., 2002; Slemmer et al., 2004).

Cabe ainda ser destacada a estrita interação entre a proteína S100B e o sistema imune cerebral. Mokuno K. e colaboradores descreveram em um artigo a concentração da proteína S100B no LCR de pacientes com a SGB. Estes autores encontraram uma correlação com os níveis elevados da proteína S100B no líquido e uma lenta recuperação da incapacidade adquirida em pacientes com SGB[43-44]. Entretanto, Petzold A. e colaboradores não evidenciaram a correlação entre os níveis elevados da proteína S100B com casos de SGB com dano axonal proximal e conseqüente acurácia prognóstica da incapacidade motora [37]. No plasma, Piazza e colaboradores descreveram aumento da proteína S100B em dois pacientes, entretanto o próprio autor ressalta sobre a necessidade de futuras correlações para o melhor entendimento entre os níveis plasmáticos da proteína S100B com os níveis liquóricos e a sua evolução temporal, bem como o possível papel prognóstico da proteína S100B na SGB.

2.7.2 Enolase específica do neurônio

A enolase específica do neurônio (NSE) é a forma neuronal da enzima citoplasmática glicolítica enolase. Denominada uma enzima dimérica composta por duas subunidades gama ($\gamma\gamma$ isómeros) com um peso molecular total de 78 kDa e uma meia-vida biológica de 24 horas. Ela está localizada principalmente nas células neuronais neuroendócrinas [45]. A NSE por ser uma proteína encontrada nas células nervosas e ser detectável em fluidos corporais, como o soro e o líquido, é considerado como uma enzima marcadora de lesão das células nervosas apresentando grande potencial e confiável correlação com doenças neurológicas [46]. Mokuno K. e colaboradores [36] observaram em

pacientes portadores de GBS a associação entre níveis elevados de NSE no líquido relacionado a um período prolongado de recuperação da incapacidade física adquirida, provavelmente indicando degeneração axonal grave. Os níveis séricos das proteínas NSE e da proteína S100B foram amplamente estudados em variado tipo de patologias. No traumatismo craniano grave observaram que os níveis elevados séricos destes biomarcadores estão correlacionados com o prognóstico desfavorável [47]. Também em doenças neurodegenerativas como a Doença de Alzheimer e Doença de Parkinson observaram que níveis aumentados da proteína S100B estão associados à gravidade da doença como a NSE correlaciona-se com dano morfológico aumentado no cérebro de portadores de Alzheimer [48] [49]. Atualmente a dosagens da proteína S100B e NSE são considerados candidatos promissores como preditores prognósticos neurológicos em pacientes vítimas de parada cardíaca com retorno da circulação espontaneamente [50].

2.7.3 Fatores Neurotróficos

Numerosos fatores de crescimento neurotróficos e citocinas determinam uma atividade trófica em várias estruturas nervosas como os neurônios motores, neurônios sensoriais do gânglio da raiz dorsal como também os neurônios autonômicos do sistema simpático e parassimpático. Estas neurotrofinas desempenham um papel importante na regeneração e reparo do nervo periférico em situações de lesão. A produção de células específicas com características tróficas tem sido demonstrado a partir da relação receptor da célula nervosa e seu ligante [51]. Entretanto, os perfis de expressão e regulação dos mecanismos dos múltiplos fatores neurotróficos e seus

receptores nas lesões nervosas não são totalmente compreendidos. Yamamoto e col. demonstraram que os fatores neurotróficos e seus receptores estão regulados para mais ou para menos em várias doenças dos nervos periféricos como também em diversas fases de apresentação em seres humanos [52].

As neurotrofinas fazem parte de uma família de polipeptídios que exercem suas funções predominantemente, mas não exclusivamente, no sistema nervoso. No sistema nervoso central, as neurotrofinas estão intimamente envolvidas numa série de atividades como a diferenciação neuronal, sobrevivência celular, crescimento e plasticidade das estruturas de conexão sinápticas do nervo, como também na liberação de neurotransmissores. Além do sistema nervoso central, as neurotrofinas exercem funções em outros tecidos e em especial no sistema imunológico [40].

Em 1952 foi descoberto o primeiro membro das neurotrofinas denominado Fator de Crescimento do Nervo (NGF). Estrutura com peso molecular de 13,2 KDa o NGF é normalmente liberado da célula através da via secretora, ligando-se à receptores e seguida de uma série de processos de fosforilação [53]. O requisito fundamental do NGF observado em modelos de camundongos fora o papel trófico no sistema nervoso central, em especial nos sítios colinérgicos como hipocampo, relativos à memória de aquisição e retenção. Além disso, o NGF determina um papel chave no desenvolvimento e em manutenção do sistema nervo periférico, estando criticamente envolvido na patogênese da dor inflamatória [54]. Em modelos animais a mutação da região que codifica o NGF provoca uma redução das fibras nervosas finas (pouco mielinizadas) afetando as vias sensitivas relacionadas à dor periférica. Desta

maneira a indução de dor inflamatória resulta em níveis endógenos elevados de NGF, em modelos de camundongos observaram que a expressão aumentada do NGF na pele determina uma maior sensibilização dos aferentes sensoriais (hiperalgesia), da mesma forma a expressão reduzida de NGF na pele leva a hipoalgesia [55].

O Fator Neurotrófico Ciliar do Nervo (CTNF) está agregado a família das citocinas associado à Interleucina 6 (IL-6). Um polipeptídeo de 25kDa originalmente isolado como fator de sobrevivência dos neurônios do gânglio ciliar parassimpático, apresenta características secretoras expressas somente injúria tecidual desta forma o CTNF é designado como fator associado a lesão. O CTNF é produzido pelas células de Schwann, tecido ocular e Sistema Nervoso Central, desta maneira exerce efeitos sobre os axônios, retina e astrócitos respectivamente [40]. Em culturas de células experimentais, o CTNF demonstrou importante papel na sobrevivência de uma variedade neuronal de subpopulações como os gânglios da raiz dorsal, neurônios simpáticos, neurônios septohipocampal e neurônios motores [56]. Devido a importância primordial da sobrevivência do neurônio motor e os níveis de CTNF, autores [57-58] observaram níveis séricos aumentados de CTNF na Esclerose Lateral Amiotrófica.

O Fator Trófico Derivado da Glia (GDNF) foi identificado como um fator de crescimento da superfamília do Fator de crescimento transformador beta (TGF- β). O GDNF exerce ações neurotróficas sobre os neurônios motores [59] e os neurônios dopaminérgicos além de apresentar alguns efeitos neuroprotetores em modelos de lesão de neurônios dopaminérgicos [60] e

modelos de axonotomia, assim como na isquemia cerebral. Vários estudos experimentais sugerem que o GDNF tem a capacidade de proteger a degeneração de neurônios dopaminérgicos, bem como a capacidade de promover a regeneração do sistema dopaminérgico nigroestriatal em modelos de Doença de Parkinson [61]

2.7.4 Interleucina 6

A interleucina 6 é um fator crítico no controle dos sistemas imune e hematopoiético. IL-6 faz com que as células B iniciem a proliferação e diferenciação nas células formadoras de anticorpos. A IL-6 também atua em conjunto com o IL-3 para induzir a proliferação de progenitores hematopoiéticos. Adicionalmente, esta citocina induz a produção de proteínas de fase aguda. IL-6 é secretada pelas células T, B, macrófagos, monócitos, linfócitos, fibroblastos, células endoteliais, queratinócitos e muitas linhagens de células tumorais. O equilíbrio entre as citocinas com efeitos pró e anti-inflamatório contribuem de forma significativa no curso da SGB e a polineuropatia desmielinizante inflamatória crônica. Durante a fase aguda, a concentração sérica de IL-6 encontra-se elevado contribuindo para a cascata de eventos pró-inflamatório levando a desmielinização e dano axonal do sistema nervoso periférico [62].

3. Objetivos

1) Estudar a sintomatologia clínica, achados laboratoriais e eletrofisiológicos de pacientes com diagnóstico da Síndrome de Guillain-Barré,

correlacionando estes com os níveis liquóricos e plasmáticos da proteína S100B, NSE e neurotrofinas (NGF e GDNF).

2) Observar se há relação entre os níveis liquóricos e séricos dessas proteínas com o prognóstico dos pacientes com síndrome de Guillain-Barré. É também biologicamente plausível que tanto os níveis liquóricos quanto plasmáticos destes biomarcadores proteicos estejam alterados na síndrome de Guillain-Barré, podendo ser correlacionados com o prognóstico clínico nesses pacientes.

3) Analisar os níveis séricos e liquóricos de pacientes com diagnóstico da síndrome de Guillain-Barré de determinados biomarcadores (GNF, GDNF, S100 B e enolase específica do neurônio) e correlacionar com níveis séricos e liquóricos de controles normais.

4. Justificativa

A Síndrome de Guillain-Barré é uma polirradiculoneuropatia associada a importante morbimortalidade. Na literatura, muitas evidências sugerem que as complicações da SGB podem ser minimizadas com diagnóstico rápido, tratamento de suporte adequado e instituição precoce de terapêutica específica. Sendo assim, a necessidade de diagnóstico rápido e avaliação precisa da gravidade da SGB em um determinado paciente são muito importantes para o manejo inicial e para o estabelecimento do prognóstico. Ainda, a determinação inicial da potencial evolução clínica de um dado paciente pode também auxiliar no planejamento da estratégia terapêutica a ser

elaborada. Por exemplo, eventualmente naqueles casos em que os indicadores precoces estabelecerem pior prognóstico, a terapêutica poderá ser instituída mais precocemente, teoricamente com melhores resultados. Para isso, é necessário um melhor entendimento da fisiopatogenia dessa síndrome, bem como o estabelecimento de marcadores séricos qualitativos e quantitativos confiáveis. Dentro deste cenário, acreditamos que a pesquisa assim como proposta neste trabalho possa auxiliar a estabelecer um melhor entendimento da fisiopatologia da doença e que de certa forma auxilie no diagnóstico e conduta quanto a gravidade em SGB. Sendo assim, acreditamos que o nosso projeto é importante não só do ponto de vista de melhor entendimento da fisiopatogenia da SGB e do papel dos biomarcadores na desmielinização e remielinização das raízes e axônios, bem como poderá ter resultados práticos para o manejo destes pacientes.

5. Pacientes e Métodos

5.1. Delineamento do estudo.

Estudo de coorte prospectivo.

5.2. População.

Fizeram parte do estudo todos os pacientes encaminhados para o Hospital de Clínicas de Porto Alegre no período de Março de 2008 à Dezembro de 2009 que preencherem os critérios de SGB e que concordaram em participar do estudo.

Critérios de Inclusão

- Pacientes que preencham critérios diagnósticos para Síndrome de Guillain-Barré.
- Idade acima de 18 anos

Critérios de Exclusão

- Não assinatura do termo de consentimento informado.
- Presença de outras polineuropatias.
- Pacientes com outras patologias neurológicas concomitantes.

5.3. Ética

O protocolo foi submetido à Comissão Científica e de Ética do HCPA para sua realização.

Somente foram incluídos os indivíduos e/ou familiares que compreenderam e concordaram com os termos do consentimento informado, autorizando o uso dos dados referentes à avaliação clínica deste trabalho.

5.4. Detalhamento do Projeto

Critérios diagnósticos para Síndrome de Guillain-Barré

Os critérios empregados serão os mesmos utilizados pela NINCDS (National Institute of Neurological Disorders and Stroke) para Síndrome de Guillain Barré[63-65].

6. Equipe de Pesquisa

Colaboração com o Grupo de Pesquisa do Serviço de Neurologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre; Dr. Vitor Félix Torres, Dr. Artur Francisco Schumacher Schuh, Dr. Pedro Schestatsky e Dr. Marino Muxfeldt Bianchin.

Colaboração com o programa de pós-graduação em Bioquímica, Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, UFRGS; Prof. Diogo Onofre Gomes de Souza, Prof. Jean Pierre Oses e Prof. Luis Valmor Portela.

7. Artigo Científico

S100B is increased in CSF in Guillain-Barre Syndrome but is not a predictor of functional recovery.

Vitor Félix Torres

Jean Pierre Oses

Pedro Schestatsky

Pedro Abraham Cherubini

Marcia Lorena Fagundes Chaves

Diogo Onofre de Souza

Luis Valmor Cruz Portela

Marino Muxfeldt Bianchin

Key words: cerebrospinal fluid; Guillain-Barré syndrome; NSE; polyradiculopathy; prognosis; protein biomarker; S100B.

Abstract

The Guillain-Barre syndrome is characterized by flaccid paralysis of acute onset, usually immune-mediated, with clinical features associated with a progressive motor and sensory involvement, often determining major disability and morbidity in individuals affected by this disease. This research Project was aimed at following a cohort of patients with Guillain-Barre syndrome admitted to the Hospital de Clinicas de Porto Alegre during the period of January 2008 to December 2009. We measured the sera and cerebrospinal fluid (CSF) concentrations of S-100b protein and neuron-specific enolase using enzyme immunoassay methods in 22 patients with Guillain-Barre syndrome and 32 controls. The clinical and laboratory findings observed in the cases were important for better understanding of the pathophysiology of this disease coupled with the outcome of disabilities among the cases.

Introduction

Guillain-Barré syndrome (GBS) is an acute inflammatory demyelinating polyneuropathy (AIDP), an autoimmune disease affecting the peripheral nervous system that is usually triggered by an acute infectious process. GBS is characterized by weakness and numbness or a tingling sensation in the legs and arms and possible loss of movement and feeling in the legs, arms, upper body, and face. The heterogeneous in severity of neurological deficits and prognosis take some patients to develop paralysis of oculomotor, facial, oropharyngeal, respiratory, and limb muscles within days and remain bedridden or wheelchair bound. Others have mild limb paresis from which they recover spontaneously within weeks. Previous studies showed that preceding infection, age, rapid progression, disability at nadir, and electrophysiological characteristics were associated with long-term prognosis [1-4]. Recently, elevated levels of neurofilament heavy chain (NfH) in the CSF indicated poor outcome in motor recovery associated with proximal axonal damage[5].

Neuron-specific enolase (NSE) and S100-beta protein (S100B) are nervous system-specific proteins [6-7] found in patients with traumatic brain injury [8-9], stroke, Alzheimer's disease [10], schizophrenia [11], HTLV-I associated myelopathy [12] and seizures[13].

In this study, we measured the serum and CSF concentrations of NSE and S100B in patients with GBS and evaluated these specific proteins as possible prognostic indicators of functional recovery after six months.

Methods

Participants and study design

The study population included all patients with clinically defined GBS admitted to Hospital de Clinicas de Porto Alegre of Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil, a general hospital serving all ages, between January 1, 2008, and December 31, 2009. Sera and CSF from 22 patients in the acute phase of GBS were studied. All patients met clinical, neurophysiologic and CSF diagnostic criteria for GBS [14-15]. A control group composed of 32 community healthy individuals was recruited from the catchment's area of the same hospital. Blood and CSF samples for S100B and NSE levels measurement were collected by venipuncture and lumbar puncture with a tube without anticoagulants by a trained professional. Selected cases of GBS were followed for a period longer than six months following the disability score using Hughes clinical scale (grade 5, assisted respiration required; grade 4, bed-bound; grade 3, able to walk 5 meters with a walker or support; grade 2, able to ambulate 5 meters independently; grade 1, minor signs and symptoms) by trained observers [16-18]. The outcomes of the cases were divided into two groups according the scale of Hughes: good outcome (Hughes 0-2) and poor outcome (Hughes > 3) [5].

Serum S100B and NSE analyses

A quantitative monoclonal two-site immunoluminometric assay LIA-mat Sangtec 100 (BYK-Sangtec, Germany), was used for measuring S100B levels in all of samples. The immunoluminometric assay is composed of three monoclonal antibodies specific to subunit b of S100 and a tracer antibody, which is bound to isoluminol. Oxidation of isoluminol is started by injection of an alkaline peroxide solution and catalyst solution. The immunological reaction is detected by light reaction [19]. The determinations were carried out in two different experiments. The S100B calibration curve was linear up to 20 (ng/ml, and the CVs for duplicates across the entire concentration range for the calibrators and samples were < 5%. The detection limit of the assay is 0.02 (ng/ml, as

provided by the supplier of the LIA-mat Sangtec100 assay. Internal controls provided by manufacturer was used to determine inter- assay variation, which was also <5%. S100B levels are expressed as mean \pm standard deviation. NSE level was evaluated in serum samples by an electrochemiluminescence assay kit (ECLIA, Roche Diagnostics, USA). This is a quantitative method that uses a monoclonal antibody specific for NSE and labeled with a ruthenium complex, which produces light emission when excited [20]. Reactions and quantification were performed in duplicate by a fully automatized equipment Elecsys-2010 (Roche Diagnostics Corporation®). Internal software and controls provided by the manufacturer allow controlling the quality of assay. The NSE calibration curve was linear up to 370 (ng/ml), and the CVs for duplicates across the entire concentration range for the calibrators, controls and samples were < 5%. The detection limit was 0.015 μ g/L. Serum NSE level is expressed as ng/ml (mean \pm S.D.).

Ethical aspects

The study was approved by the Ethics Committee for Medical Research of the university hospital where it was developed. Informed consent was obtained from the subjects, their nearest relatives, or both.

Statistical analysis

Descriptive statistics are presented with mean \pm standard deviation for parametric variables, and absolute and percentage frequency for categories. Comparison of S100B and NSE serum levels between groups was made using Student's t test for independent samples. Correlation between S100B, NSE and Hughes's scale was performed with the *t*-test with Welch correction. A p value < 0.05 was considered statistically significant. Statistical analyses were carried out with the SPSS 18.0 for Windows.

Results

The demographic and biochemical characteristics of GBS patients and control group are depicted in Table 1. There was a statistically significant difference in serum and CSF S100B levels between cases of GBS and control group (serum: 0.11 ± 0.01 vs. 0.08 ± 0.04 ng/ml, respectively; $p = 0.001$; CSF: 0.20 ± 0.08 vs. 0.10 ± 0.01 ng/ml, respectively; $p < 0.001$). The serum and CSF NSE levels did not show significant differences between both groups of GBS and controls (Table 1).

Outcome after six months the study group was divided equally into 11 patients with good prognosis and poor prognosis according to the scale of Hughes (Table 2). The need for ventilatory support to the nadir was found in six cases of GBS, 84% associated with poor prognosis ($p = 0,150$). The neurophysiological findings observed in the GBS group make up the majority with demyelinating variant (AIDP = 77.3%), the AMAN variant concentrate on the good prognosis group (80%, $p = 0,310$).

Table 3 shows the correlation among serum and CSF NSE and S100B levels with the prognosis according to the scale of Hughes in GBS patients. Both biomarkers are elevated in serum and CSF in the group of poor prognosis, although without statistical significance.

Discussion

Biochemical markers in blood and CSF samples can be expected to serve as prognostic predictors of GBS patient outcome and applicable key to support clinical practice and electrophysiological findings. The S100B, is secreted from glial cells and Schwann cells [21]. Studies have suggested that elevated levels of S-100B may play a role as a cytokine in brain inflammatory responses [22]. In the present study, we confirmed that S-100B in CSF and serum was increased in all patients with GBS compared with controls ($p = 0.001$ and $p < 0.001$; respectively) supporting the hypothesis of involvement inflammatory and demyelinating

in the peripheral nervous system. In opposition to Mokuno and collaborators, we found no statistical significance between serum and CSF NSE in the cases under study [23]. Despite the tendency of higher serum and CSF levels of S100B and NSE in cases with poor outcome after six months we did not find statistical significance. A recent article correlated high levels of neurofilament heavy chain (NfH) and hTau in CSF with disability on the clinical outcome scale of GBS cases [5]. We believe that our study can not contribute as far as non-clinical prognostic factor to identification of high-risk patients early in the course of GBS due to the small sample analysis [18].

Conclusion

In conclusion, we showed that in GBS patients the serum and CSF S100B levels was increased compared to controls, however found no statistical power to prognostic value of functional recovery in six months.

Tabel 1. Cross Sectional Study

	Controls (n=32)	S.D.	GBS (n=22)	S.D.	<i>p</i>
Age	37.62	10.21	42.53	16.57	0.18
Gender (female)	16 (50%)	-	10 (45%)	-	0.79
CSF S100B (ng/ml)	0.10	0.01	0.20	0.08	<0.001
Serum S100B (ng/ml)	0.08	0.04	0.11	0.01	0.001
CSF NSE (ng/ml)	1.15	0.73	2.30	3.15	0.11
Serum NSE (ng/ml)	4.65	1.80	6.49	4.96	0.10

Table 2. Clinical, Electrophysiological, and CSF in GBS according with prognosis.

	Hughes 0-2	Hughes 3-6	O.R. (95% CI)	<i>p</i>
Age	44.45	40.54	-	0.59
Gender				
Male	7 (32%)	5 (23%)		
Female	4 (18%)	6 (27%)	0.48 (0.09-2.63)	0.67
Respiratory Failure				
Yes	1 (5%)	5 (23%)		
No	10(45%)	6(27%)	0.83 (0.78-89.47)	0.15
Type				
AIDP	7 (32%)	10(45%)		
AMAN	4(18%)	1(5%)	0.17 (0.02-1.92)	0.31
CSF protein	128.70	75.00	-	0.15
CSF cells	3.30	2.87	-	0.86

Table 3. CSF and serum levels of S100B and NSE according with prognosis.

	Hughes 0-2	Hughes 3-6	<i>p</i>
CSF S100B (ng/ml)	0.18 (0.04)	0.21 (0.10)	0.34
Serum S100B (ng/ml)	0.10 (0.01)	0.11 (0.01)	0.75
CSF NSE (ng/ml)	1.76 (2.32)	2.84 (3.86)	0.46
Serum NSE (ng/ml)	4.61 (3.91)	8.61 (5.40)	0.10

1. McKhann, G.M., et al., *Plasmapheresis and Guillain-Barre syndrome: analysis of prognostic factors and the effect of plasmapheresis*. Ann Neurol, 1988. **23**(4): p. 347-53.
2. Visser, L.H., et al., *Prognostic factors of Guillain-Barre syndrome after intravenous immunoglobulin or plasma exchange*. Dutch Guillain-Barre Study Group. Neurology, 1999. **53**(3): p. 598-604.
3. Chio, A., et al., *Guillain-Barre syndrome: a prospective, population-based incidence and outcome survey*. Neurology, 2003. **60**(7): p. 1146-50.
4. Hadden, R.D., et al., *Preceding infections, immune factors, and outcome in Guillain-Barre syndrome*. Neurology, 2001. **56**(6): p. 758-65.
5. Petzold, A., et al., *CSF protein biomarkers for proximal axonal damage improve prognostic accuracy in the acute phase of Guillain-Barre syndrome*. Muscle Nerve, 2009. **40**(1): p. 42-9.
6. Maxwell, G.D., et al., *Development of neuron-specific enolase immunoreactivity in avian nervous tissue in vivo and in vitro*. Brain Res, 1982. **255**(3): p. 401-18.
7. Stefansson, K., R.L. Wollmann, and B.W. Moore, *Distribution of S-100 protein outside the central nervous system*. Brain Res, 1982. **234**(2): p. 309-17.
8. Ingebrigtsen, T. and B. Romner, *Biochemical serum markers for brain damage: a short review with emphasis on clinical utility in mild head injury*. Restor Neurol Neurosci, 2003. **21**(3-4): p. 171-6.
9. Herrmann, M., et al., *Release of biochemical markers of damage to neuronal and glial brain tissue is associated with short and long term neuropsychological outcome after traumatic brain injury*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2001. **70**(1): p. 95-100.
10. Sheng, J.G., et al., *Human brain S100 beta and S100 beta mRNA expression increases with age: pathogenic implications for Alzheimer's disease*. Neurobiol Aging, 1996. **17**(3): p. 359-63.
11. Lara, D.R., et al., *Increased serum S100B protein in schizophrenia: a study in medication-free patients*. J Psychiatr Res, 2001. **35**(1): p. 11-4.
12. Walz, R., et al., *Serum S100B levels in patients with HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis*. Neurology, 2000. **54**(10): p. 2021-2.
13. Buttner, T., et al., *Serum levels of neuron-specific enolase and s-100 protein after single tonic-clonic seizures*. J Neurol, 1999. **246**(6): p. 459-61.
14. Asbury, A.K. and D.R. Cornblath, *Assessment of current diagnostic criteria for Guillain-Barre syndrome*. Ann Neurol, 1990. **27 Suppl**: p. S21-4.
15. Ho, T.W., et al., *Guillain-Barre syndrome in northern China. Relationship to Campylobacter jejuni infection and anti-glycolipid antibodies*. Brain, 1995. **118 (Pt 3)**: p. 597-605.
16. Hughes, R.A., et al., *Controlled trial prednisolone in acute polyneuropathy*. Lancet, 1978. **2**(8093): p. 750-3.
17. *Randomised trial of plasma exchange, intravenous immunoglobulin, and combined treatments in Guillain-Barre syndrome. Plasma Exchange/Sandoglobulin Guillain-Barre Syndrome Trial Group*. Lancet, 1997. **349**(9047): p. 225-30.

18. van Koningsveld, R., et al., *A clinical prognostic scoring system for Guillain-Barre syndrome*. Lancet Neurol, 2007. **6**(7): p. 589-94.
19. Portela, L.V., et al., *The serum S100B concentration is age dependent*. Clin Chem, 2002. **48**(6 Pt 1): p. 950-2.
20. Oses, J.P., et al., *Biochemical brain markers and purinergic parameters in rat CSF after seizure induced by pentylentetrazol*. Brain Res Bull, 2004. **64**(3): p. 237-42.
21. Schafer, B.W. and C.W. Heizmann, *The S100 family of EF-hand calcium-binding proteins: functions and pathology*. Trends Biochem Sci, 1996. **21**(4): p. 134-40.
22. Bianchi, R., et al., *S100B binding to RAGE in microglia stimulates COX-2 expression*. J Leukoc Biol, 2007. **81**(1): p. 108-18.
23. Mokuno, K., et al., *Prognostic value of cerebrospinal fluid neuron-specific enolase and S-100b protein in Guillain-Barre syndrome*. Acta Neurol Scand, 1994. **89**(1): p. 27-30.

8. Considerações gerais

Os níveis séricos e líquóricos da proteína S100B foram elevados nos casos de SGB em relação aos controles (sérico: 0.11 ± 0.01 vs. 0.08 ± 0.04 ng/ml, respectivamente; $p = 0.001$; líquido: 0.20 ± 0.08 vs. 0.10 ± 0.01 ng/ml, respectivamente; $p < 0.001$).

Os níveis séricos e líquóricos da NSE não evidenciaram diferença significativa entre os casos de SGB e os controles (sérico: 6.49 ± 4.96 vs. ± 4.65 1.80 ng/ml, respectivamente; $p = 0.100$; líquido: 2.30 ± 3.15 vs. 1.15 ± 0.73 ng/ml, respectivamente; $p < 0.110$).

Demais biomarcadores estudados no soro e líquido (NGF e GDNF) não apresentaram diferença estatística quando comparados aos grupos de melhor e pior prognósticos na SGB.

A associação entre níveis elevados dos biomarcadores NSE e da proteína S100B nos casos de SGB com pobre prognóstico após seis meses através da escala agrupada de Hughes foi observada, porém sem evidência estatística.

Em conclusão observamos que os níveis líquóricos da proteína S100B foram elevados nos casos de SGB em relação aos controles, porém não se observou poder estatístico como ferramenta prognóstica de recuperação funcional após seis meses de evolução.

Anexos

Tabela 1. Critérios diagnósticos da Síndrome Guillain-Barré:

1. Rápido desenvolvimento de fraqueza simétrica, com padrão ascendente dos membros inferiores envolvendo o tronco, membros superiores e eventualmente nervos cranianos.
2. Arreflexia
3. Aumento da concentração de proteínas no líquido espinhal sem alteração na contagem celular

Fonte: Adaptado de Asbury AK [7]

Tabela 2. Classificação dos Critérios Eletroneuromiográficos para SGB.

1. Normal

(Presente em todos os nervos estudados)

LMD \leq 100% LSN

Ondas F presentes e com latência \leq 100% LSN

VCM \geq 100% LIN

PAMCd \geq 100% LIN

PAMCp \geq 100% LIN

PAMCp / PAMCd $>$ 0,5

2. Desmielinizante primária

(Pelo menos uma das seguintes opções em pelo menos dois nervos, ou pelo menos duas das seguintes opções em um nervo se todos os outros forem inexcitáveis e PAMCd \geq 10% LIN)

VCM $<$ 90% LIN (85%, se PAMCd $<$ 50% LIN)

LMD $>$ 110% LSN (120% se dCMAP $<$ 100% LIN)

PAMCp / PAMCd $<$ 0,5 e PAMCd \geq 20% LIN

Resposta da latência de Onda F $>$ 120% LSN

Primariamente Axonal

Nenhuma das características acima de desmielinização em qualquer nervo (exceto uma característica desmielinizante é permitidos em um nervo se PAMCd $<$ 10% LIN), e

PAMCd $<$ 80% LIN em pelo menos dois nervos

3. Inexcitável

PAMCd ausentes em todos os nervos (ou presente em apenas um nervo com PAMCd $<$ 10% LIN)

4. Equívoca

Não cabem exatamente critérios para qualquer outro grupo

LMD = Latência Motora Distal; LIN = Limite Inferior da Normalidade; LSN = Limite Superior da Normalidade; VCM = Velocidade de Condução Motora; PAMCd = Amplitude distal do Potencial de Ação Motora Composto; PAMCp = Amplitude proximal do Potencial de Ação Motora Composto

Modificado de Ho e colaboradores [20]

Tabela 3. Diagnóstico diferencial das paralisias flácidas de início agudo.

AVC de Tronco cerebral

Encefalite de Tronco Cerebral

Poliomielite Anterior Aguda

Causado por vírus da pólio

Causado por outros vírus neurotróficos

Mielopatia Aguda

Lesão ocupando o espaço

Mielite transversa

Neuropatia periférica

Síndrome Guillain-Barré

Neuropatia pós-vacinal

Neuropatia diftérica

Metais pesados, toxinas biológicas e intoxicação por drogas.

Porfíria aguda intermitente

Neuropatia vasculítica

Neuropatia do doente crítico

Neuropatia linfomatosa

Desordens da transmissão neuromuscular

Miastenia gravis

Toxinas biológicas ou industriais

Desordens musculares

Hipocalcemia

Hipofosfatemia

Miopatia inflamatória

Rabdomiolise aguda

Trichinosis

Paralisia periódica

Fonte: Tabela adaptada de Hughes e Cornblath, 2005 [2].

Tabela 4. Escala de graduação de comprometimento neurológico (Hughes et al., modificado pelo Guillain Barré Study Group) [66-67].

Grau	Características clínicas
0	O paciente esta saudável, sem nenhum sinal ou sintoma de SGB;
1	O paciente tem sinais ou sintomas menores e é capaz de correr,
2	O paciente é capaz de andar 5 metros através de um espaço aberto sem assistência, mas é incapaz de correr;
3	O paciente é capaz de andar 5 metros através de um espaço aberto com o auxílio de outra pessoa ou de muletas;
4	O paciente esta restrito ao leito ou a cadeira de rodas;
5	O paciente necessita de ventilação assistida pelo menos uma parte do dia ou da noite;
6	Óbito

Tabela 5. Função e localização das proteínas específicas do neurônio e biomarcadores. Adaptado por K.J.B. Lamers et al. / Brain Research Bulletin 61 (2003) 261–264 [68].

Proteína	Peso molecular (Da)	Função	Localização
S-100B	21.000	Comunicação <u>astrócito-neurônio</u> ; crescimento celular; transdução do sinal intracelular; participação no desenvolvimento e manutenção do SNC	<u>Astrócitos</u> ; <u>Células de Schwann</u> ; <u>Melanócitos</u> ; <u>Adipócitos</u>
NSE	90.000	Atividade enzimática	Neurônios; Células do Sistema Neuroendócrino; Eritrócitos
NGF	13.200	Fator Neurotrófico	Células Nervosas
GDNF	33-45.000	Fator Neurotrófico	Células de Neurônios Motores e Dopaminérgicos
CTNF	25.000	Fator Neurotrófico	Células de Schwann; Tecido ocular; Sistema Nervoso Central
IL-6	26.000	Atividade inflamatória e maturação de Células B	Secretada por Células T e Macrófagos

Tabela 6 : Níveis séricos e líquóricos de neurotrofinas e sua associação com prognóstico em seis meses.

	Hughes 0-2	Hughes 3-6	<i>p</i>
NGF líquido (pg/ml)	4,10 (0,56)	4,80 (1,08)	0,300
NGF sérico (pg/ml)	4,41 (2,06)	4,54 (2,12)	0,953
GDNF líquido (pg/ml)	2,20 (0,46)	2,53 (0,59)	0,473
GDNF sérico (pg/ml)	13,65 (16,14)	7,15 (12,00)	0,073

Figura 01.

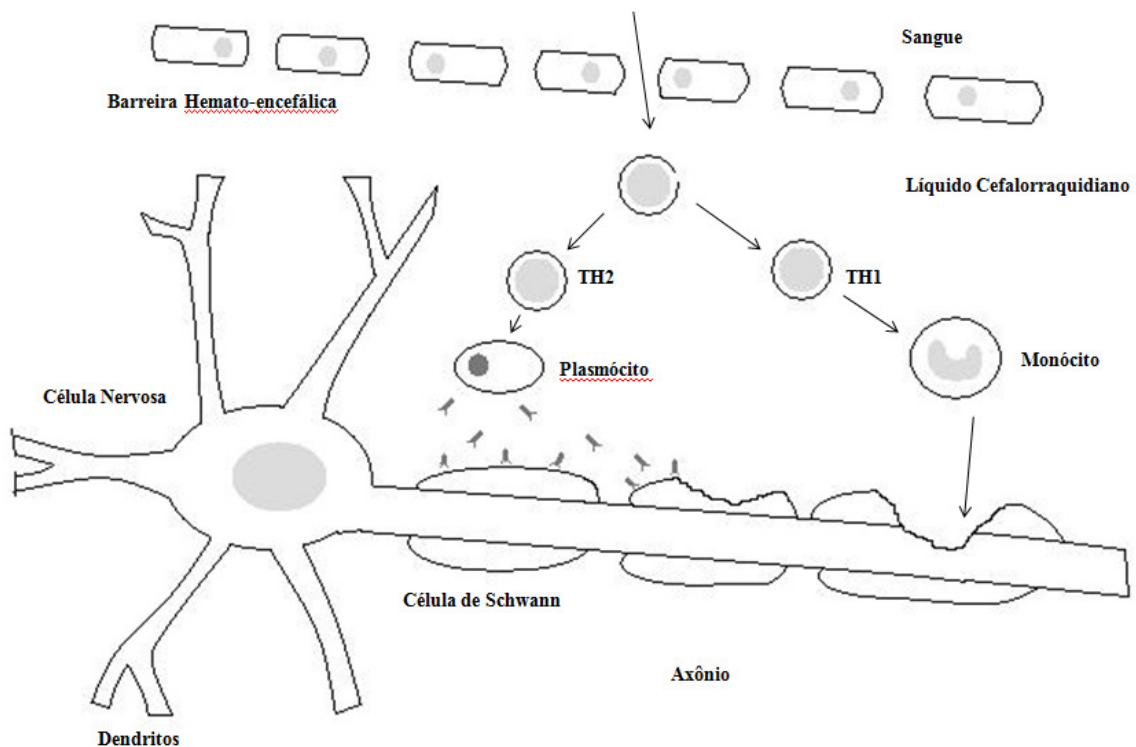


Figura 02: Demonstração gráfica da Fisiopatologia da síndrome de Guillain-Barré sobre a célula nervosa. Observe o infiltrado linfocitário e de células polimorfonucleares através da barreira hemato-encefálica determinando a injúria da bainha de mielina e também a agressão direta ao axônio.

Figura 02.

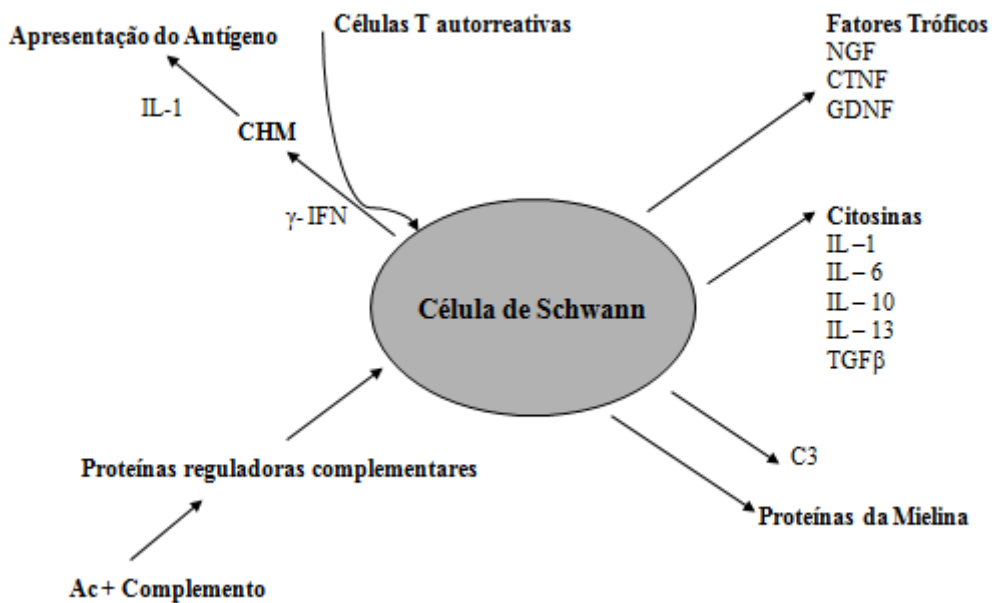


Figura 01: As células de Schwann servem como alvo à resposta imune mediada desmielinizante que modulam múltiplos aspectos da cascata inflamatória, servindo como células apresentadoras de antígenos e pela produção de citosinas e reagentes de fase aguda.

Ac= Anticorpo, CHM= Complexo de histocompatibilidade maior, IL= interleucina, γ - IFN= Interferon gama, NGF= fator de crescimento do nervo, CTNF= fator de crescimento neutrofílico ciliar, GDNF= fator de crescimento derivado da glia, TGF β = fator de crescimento transformador beta, C3= terceiro componente do complemento. Adaptado por Koski CL. J Infect Dis. 1997 Dec;176 Suppl 2:S169-72 [41].

FICHA DE AVALIAÇÃO CLÍNICA

Nome: _____ Exame n.º: _____
 Data de nascimento: ____/____/____ Sexo: () Masc. () Fem. Peso: _____ Kg Altura: _____ m
 Escolaridade: () Não alfabetizado () 1º. Grau incompleto () 1º. Grau completo () 2º. Grau completo () Superior
 Profissão: _____
 Endereço: _____
 Cidade: _____ UF: _____ Fone: _____

Características Clínicas:

Fraqueza muscular distal		Desordem autonômica		Alterações sensitivas	
Fraqueza muscular proximal		Distúrbio esfinteriano		Dor	
Hiporreflexia		Paralisia de nervo craniano		Meningismo	
Arreflexia		Suporte ventilatório		Nadir (dias)	

Clinical score for GBS/ S-100 Beta:

	2 semanas	4 semanas	8 semanas	12 semanas	26 semanas	54 semanas
Score						
S100b						

Características Liquóricas:

Celularidade		Glicose	
Proteínas		S100b	

Espectro de Apresentação ENMG da Síndrome de Guillain Barré:

Padrão desmielinizante agudo(AIDP)		Degeneração axonal secundária	
Padrão axonal motor agudo(AMAN)		Padrão sensitivo-motor axonal agudo(AMSAN)	
Síndrome de Miller-Fisher			

Sorologia para infecções:

	IgM	IgG		IgM	IgG
<i>Campylobacter jejuni</i>			<i>Virus Epstein-Barr</i>		
Citomegalovirus			<i>Mycoplasma pneumoniae</i>		

Achados associados antecedentes:

	Presente	Ausente		Presente	Ausente		Presente	Ausente
Febre			Rinorréia			Vacinação		
Cefaléia			Diarréia			Cirurgias		
Tosse			Dor Abdominal			Drogas		

Comorbidades

Diabetes		Tireoidopatia		HIV	
Neoplasia		Doença hepática			

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Pacientes com sintomas como fraqueza de início recente e progressivo, formigamento, dores e queimação nas mãos e pés, podem se beneficiar da avaliação correta das suas queixas. A avaliação clínica detalhada pode fornecer informações para que o médico descubra qual a causa dos sintomas, podendo determinar o tratamento correto.

A Eletro-neuromiografia detecta alterações no funcionamento dos nervos e dos músculos e serve como um exame de extrema importância na detecção de lesões que possam estar causando os sintomas de dor, formigamento e fraqueza. Você está sendo convidado a participar de um estudo onde avaliaremos as repostas das questões sobre suas queixas clínicas, os resultados da eletro-neuromiografia e os exames laboratoriais (dentre eles a pesquisa no sangue e no líquido espinhal da proteína S-100 Beta). Se você desejar participar, deverá autorizar a equipe de pesquisadores a verificar os resultados dos seus exames realizados para o seu atendimento habitual na instituição. Não será realizado nenhum estudo adicional, só serão observadas as queixas clínicas e a medida dos níveis da Proteína S-100 Beta, e comparadas com o resultado do exame de eletro-neuromiografia. Não serão utilizadas nenhuma técnica diferente das normalmente empregadas na realização do exame.

Todos os dados obtidos serão confidenciais, não sendo o nome do paciente vinculado com o exame ou a ficha clínica. Os resultados serão colocados em um conjunto de dados, assegurando total privacidade das informações obtidas. Informações adicionais serão prontamente respondidas pelo médico que fará o exame. Havendo alguma dúvida para preenchimento dos questionários, antes da decisão do ingresso, sinta-se à vontade para questionamentos. A não participação no estudo *não* causará nenhum prejuízo ao seu atendimento na instituição.

Eu, _____, fui informado (a) dos objetivos e justificativas para a realização deste estudo. Sei que estou livre para qualquer questionamento e que minhas dúvidas foram respondidas de forma clara. Também estou ciente que estou livre para solicitar informações a qualquer momento, que as informações obtidas me serão fornecidas e que terei liberdade de retirar este meu consentimento de participação a qualquer momento, mesmo após a assinatura do mesmo.

Pesquisador

Paciente ou responsável

Orientador

Pesquisador Responsável: Dr. Marino Muxfeldt Bianchin

UNIDADE DE ELETROMINEUROMIOGRAFIA – TEL. 21018672

Referências da revisão da literatura

1. Pritchard, J. and R.A. Hughes, *Guillain-Barre syndrome*. Lancet, 2004. 363(9427): p. 2186-8.
2. Hughes, R.A. and D.R. Cornblath, *Guillain-Barre syndrome*. Lancet, 2005. 366(9497): p. 1653-66.
3. Hughes, R.A., et al., *Practice parameter: immunotherapy for Guillain-Barre syndrome: report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology*. Neurology, 2003. 61(6): p. 736-40.
4. Koga, M., N. Yuki, and K. Hirata, *Antecedent symptoms in Guillain-Barre syndrome: an important indicator for clinical and serological subgroups*. Acta Neurol Scand, 2001. 103(5): p. 278-87.
5. McGrogan, A., et al., *The epidemiology of Guillain-Barre syndrome worldwide. A systematic literature review*. Neuroepidemiology, 2009. 32(2): p. 150-63.
6. Rocha, M.S., et al., *Epidemiologic features of Guillain-Barre syndrome in Sao Paulo, Brazil*. Arq Neuropsiquiatr, 2004. 62(1): p. 33-7.
7. Asbury, A.K., *Diagnostic considerations in Guillain-Barre syndrome*. Ann Neurol, 1981. 9 Suppl: p. 1-5.
8. Piazza, O., et al., *S100B in Guillain-Barre syndrome*. Br J Anaesth, 2006. 96(1): p. 141-2.
9. Cosi, V. and M. Versino, *Guillain-Barre syndrome*. Neurol Sci, 2006. 27 Suppl 1: p. S47-51.
10. Ramos-Alvarez, M., L. Bessudo, and A.B. Sabin, *Paralytic syndromes associated with noninflammatory cytoplasmic or nuclear neuronopathy. Acute paralytic disease in Mexican children, neuropathologically distinguishable from Landry-Guillain-Barre syndrome*. JAMA, 1969. 207(8): p. 1481-92.
11. Feasby, T.E., et al., *An acute axonal form of Guillain-Barre polyneuropathy*. Brain, 1986. 109 (Pt 6): p. 1115-26.
12. Albers, J.W., P.D. Donofrio, and T.K. McGonagle, *Sequential electrodiagnostic abnormalities in acute inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy*. Muscle Nerve, 1985. 8(6): p. 528-39.
13. Gupta, S.K., et al., *Acute idiopathic axonal neuropathy (AIAN): a clinical and electrophysiological observation*. Acta Neurol Scand, 1994. 89(3): p. 220-4.
14. Hiraga, A., et al., *Recovery patterns and long term prognosis for axonal Guillain-Barre syndrome*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2005. 76(5): p. 719-22.
15. McKhann, G.M., et al., *Acute motor axonal neuropathy: a frequent cause of acute flaccid paralysis in China*. Ann Neurol, 1993. 33(4): p. 333-42.
16. Feasby, T.E. and W.F. Brown, *Conduction block in early Guillain-Barre syndrome*. Lancet, 1986. 1(8476): p. 332.
17. Jamal, G.A. and W.N. MacLeod, *Electrophysiologic studies in Miller Fisher syndrome*. Neurology, 1984. 34(5): p. 685-8.
18. Fross, R.D. and J.R. Daube, *Neuropathy in the Miller Fisher syndrome: clinical and electrophysiological findings*. Neurology, 1987. 37(9): p. 1493-8.
19. Vucic, S., et al., *Neurophysiologic findings in early acute inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy*. Clin Neurophysiol, 2004. 115(10): p. 2329-35.

20. Ho, T.W., et al., *Guillain-Barre syndrome in northern China. Relationship to Campylobacter jejuni infection and anti-glycolipid antibodies.* Brain, 1995. 118 (Pt 3): p. 597-605.
21. Carpo, M., et al., *Clinical presentation and outcome of Guillain-Barre and related syndromes in relation to anti-ganglioside antibodies.* J Neurol Sci, 1999. 168(2): p. 78-84.
22. Gregson, N.A., S. Koblar, and R.A. Hughes, *Antibodies to gangliosides in Guillain-Barre syndrome: specificity and relationship to clinical features.* Q J Med, 1993. 86(2): p. 111-7.
23. Willison, H.J. and N. Yuki, *Peripheral neuropathies and anti-glycolipid antibodies.* Brain, 2002. 125(Pt 12): p. 2591-625.
24. Willison, H.J., et al., *Mechanisms of action of anti-GM1 and anti-GQ1b ganglioside antibodies in Guillain-Barre syndrome.* J Infect Dis, 1997. 176 Suppl 2: p. S144-9.
25. Chiba, A., et al., *Serum anti-GQ1b IgG antibody is associated with ophthalmoplegia in Miller Fisher syndrome and Guillain-Barre syndrome: clinical and immunohistochemical studies.* Neurology, 1993. 43(10): p. 1911-7.
26. Winer, J.B., R.A. Hughes, and C. Osmond, *A prospective study of acute idiopathic neuropathy. I. Clinical features and their prognostic value.* J Neurol Neurosurg Psychiatry, 1988. 51(5): p. 605-12.
27. *The utility of therapeutic plasmapheresis for neurological disorders. NIH Consensus Development.* JAMA, 1986. 256(10): p. 1333-7.
28. van der Meche, F.G. and P.I. Schmitz, *A randomized trial comparing intravenous immune globulin and plasma exchange in Guillain-Barre syndrome. Dutch Guillain-Barre Study Group.* N Engl J Med, 1992. 326(17): p. 1123-9.
29. Swick, H.M. and M.P. McQuillen, *The use of steroids in the treatment of idiopathic polyneuritis.* Neurology, 1976. 26(3): p. 205-12.
30. Hughes, R.A., et al., *Immunotherapy for Guillain-Barre syndrome: a systematic review.* Brain, 2007. 130(Pt 9): p. 2245-57.
31. van Koningsveld, R., et al., *Effect of methylprednisolone when added to standard treatment with intravenous immunoglobulin for Guillain-Barre syndrome: randomised trial.* Lancet, 2004. 363(9404): p. 192-6.
32. Visser, L.H., et al., *Prognostic factors of Guillain-Barre syndrome after intravenous immunoglobulin or plasma exchange. Dutch Guillain-Barre Study Group.* Neurology, 1999. 53(3): p. 598-604.
33. Ammache, Z., et al., *Childhood Guillain-Barre syndrome: clinical and electrophysiologic features predictive of outcome.* J Child Neurol, 2001. 16(7): p. 477-83.
34. Van Koningsveld, R., et al., *Mild forms of Guillain-Barre syndrome in an epidemiologic survey in The Netherlands.* Neurology, 2000. 54(3): p. 620-5.
35. Hadden, R.D., et al., *Electrophysiological classification of Guillain-Barre syndrome: clinical associations and outcome. Plasma Exchange/Sandoglobulin Guillain-Barre Syndrome Trial Group.* Ann Neurol, 1998. 44(5): p. 780-8.
36. Mokuno, K., et al., *Prognostic value of cerebrospinal fluid neuron-specific enolase and S-100b protein in Guillain-Barre syndrome.* Acta Neurol Scand, 1994. 89(1): p. 27-30.
37. Petzold, A., et al., *CSF protein biomarkers for proximal axonal damage improve prognostic accuracy in the acute phase of Guillain-Barre syndrome.* Muscle Nerve, 2009. 40(1): p. 42-9.
38. van Koningsveld, R., et al., *A clinical prognostic scoring system for Guillain-Barre syndrome.* Lancet Neurol, 2007. 6(7): p. 589-94.

39. Press, R., et al., *Aberrated levels of cerebrospinal fluid chemokines in Guillain-Barre syndrome and chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy*. J Clin Immunol, 2003. 23(4): p. 259-67.
40. Linker, R., R. Gold, and F. Luhder, *Function of neurotrophic factors beyond the nervous system: inflammation and autoimmune demyelination*. Crit Rev Immunol, 2009. 29(1): p. 43-68.
41. Koski, C.L., *Mechanisms of Schwann cell damage in inflammatory neuropathy*. J Infect Dis, 1997. 176 Suppl 2: p. S169-72.
42. Korfiatis, S., et al., *Serum S-100B protein as a biochemical marker of brain injury: a review of current concepts*. Curr Med Chem, 2006. 13(30): p. 3719-31.
43. Mokuno, K., et al., *[Cerebrospinal fluid neuron-specific enolase (NSE) and S-100b protein in Guillain-Barre syndrome--their relations to prognosis]*. Rinsho Shinkeigaku, 1992. 32(5): p. 535-7.
44. Nagamatsu, M., et al., *Cerebrospinal fluid levels of S-100b protein and neuron-specific enolase in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy*. Acta Neurol Scand, 1995. 91(6): p. 483-7.
45. Schmechel, D., P.J. Marangos, and M. Brightman, *Neurone-specific enolase is a molecular marker for peripheral and central neuroendocrine cells*. Nature, 1978. 276(5690): p. 834-6.
46. Cunningham, R.T., et al., *Serum neurone-specific enolase concentrations in patients with neurological disorders*. Clin Chim Acta, 1994. 230(2): p. 117-24.
47. Vos, P.E., et al., *Glial and neuronal proteins in serum predict outcome after severe traumatic brain injury*. Neurology, 2004. 62(8): p. 1303-10.
48. Chaves, M.L., et al., *Serum levels of S100B and NSE proteins in Alzheimer's disease patients*. J Neuroinflammation, 2010. 7: p. 6.
49. Schaf, D.V., et al., *S100B and NSE serum levels in patients with Parkinson's disease*. Parkinsonism Relat Disord, 2005. 11(1): p. 39-43.
50. Shinozaki, K., et al., *S-100B and neuron-specific enolase as predictors of neurological outcome in patients after cardiac arrest and return of spontaneous circulation: a systematic review*. Crit Care, 2009. 13(4): p. R121.
51. Yamamoto, M., et al., *Parallel expression of neurotrophic factors and their receptors in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy*. Muscle Nerve, 2002. 25(4): p. 601-4.
52. Yamamoto, M., et al., *Expression of glial cell line-derived neurotrophic factor and GDNFR-alpha mRNAs in human peripheral neuropathies*. Brain Res, 1998. 809(2): p. 175-81.
53. Jing, S., P. Tapley, and M. Barbacid, *Nerve growth factor mediates signal transduction through trk homodimer receptors*. Neuron, 1992. 9(6): p. 1067-79.
54. Pezet, S. and S.B. McMahon, *Neurotrophins: mediators and modulators of pain*. Annu Rev Neurosci, 2006. 29: p. 507-38.
55. Einarsdottir, E., et al., *A mutation in the nerve growth factor beta gene (NGFB) causes loss of pain perception*. Hum Mol Genet, 2004. 13(8): p. 799-805.
56. Sendtner, M., et al., *Ciliary neurotrophic factor*. J Neurobiol, 1994. 25(11): p. 1436-53.
57. Ilzecka, J., *Increased serum CNTF level in patients with amyotrophic lateral sclerosis*. Eur Cytokine Netw, 2003. 14(3): p. 192-4.
58. Laaksovirta, H., et al., *Serum level of CNTF is elevated in patients with amyotrophic lateral sclerosis and correlates with site of disease onset*. Eur J Neurol, 2008. 15(4): p. 355-9.
59. Henderson, C.E., et al., *GDNF: a potent survival factor for motoneurons present in peripheral nerve and muscle*. Science, 1994. 266(5187): p. 1062-4.

60. Kowsky, S., et al., *RET signaling does not modulate MPTP toxicity but is required for regeneration of dopaminergic axon terminals*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007. 104(50): p. 20049-54.
61. McBride, J.L. and J.H. Kordower, *Neuroprotection for Parkinson's disease using viral vector-mediated delivery of GDNF*. Prog Brain Res, 2002. 138: p. 421-32.
62. Aarli, J.A., *Role of cytokines in neurological disorders*. Curr Med Chem, 2003. 10(19): p. 1931-7.
63. Hahne, B. and W. van der Linden, *Vesical neck closure versus balloon catheter in suprapubic prostatectomy: a controlled clinical trial*. J Urol, 1978. 120(6): p. 699-701.
64. Poser, C.M., *Criteria for the diagnosis of the Guillain-Barre syndrome. A critique of the NINCDS guidelines*. J Neurol Sci, 1981. 52(2-3): p. 191-9.
65. Kalita, J., U.K. Misra, and M. Das, *Neurophysiological criteria in the diagnosis of different clinical types of Guillain-Barre syndrome*. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2008. 79(3): p. 289-93.
66. Hughes, R.A., et al., *Controlled trial prednisolone in acute polyneuropathy*. Lancet, 1978. 2(8093): p. 750-3.
67. *Plasmapheresis and acute Guillain-Barre syndrome. The Guillain-Barre syndrome Study Group*. Neurology, 1985. 35(8): p. 1096-104.
68. Lamers, K.J., et al., *Protein S-100B, neuron-specific enolase (NSE), myelin basic protein (MBP) and glial fibrillary acidic protein (GFAP) in cerebrospinal fluid (CSF) and blood of neurological patients*. Brain Res Bull, 2003. 61(3): p. 261-4.