

HACE 30 AÑOS...

## Inmunoglobulinas en L.C.R. en el curso de la infección meníngea

J. Pérez-González, J.C. Rodríguez, A. Bueno y M. Bueno

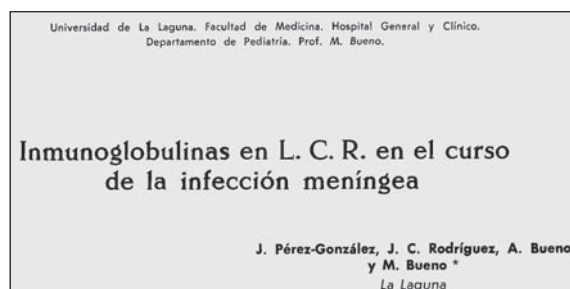
Revista Española de Pediatría. Tomo XXXIV, nº 200, 1978

A. Montesdeoca Melián

Unidad de Urgencias Pediátricas del Hospital Universitario de Canarias

*Hasta un ático algo frío pero bien iluminado, encaramado a un edificio gris en el centro de la «ciudad de las brujas», mi abuelo subía y bajaba mil veces la oscura escalera a hacer mil recados. Hoy tocaba comprar la fruta, mañana el pescado y, por aquel entonces, mi madre me «alongaba» a la barandilla, bien sujeto, para seguir en la lejanía el nervioso paso de su padre; un barrenista (dinamitero) que trabajó muchos años horadando galerías por toda la geografía canaria. El mercado, reluciente, lindaba con un mar de plataneras que en aquel entonces a mí me parecía un océano verde infinito, perdiéndose hasta donde alcanzaba la vista.*

*Daba yo mis primeros pasos por ese ático, cuando se publicaba en la Revista Española de Pediatría el artículo que les comentaré a continuación.*



Portada del artículo publicado hace 30 años.

### Introducción

Los autores, pertenecientes al Departamento de Pediatría de la Facultad de Medicina de la U.L.L. y trabajadores del por entonces Hospital General y Clínico de La Laguna, realizaron un estudio encaminado a mostrar el comportamiento de la inmunoglobulinas (Igs) en el LCR en el curso de las in-

fecciones meníngeas. Autores como Kaldor y Ferris (1969), O'Toole (1971), Smith (1973), Whittle y Greenwood (1977) o Frydén (1978) iniciaron líneas de investigación en torno a las variaciones cualitativas y cuantitativas de las Igs en LCR en el transcurso de distintos tipos de meningitis, con la intención de exponer conclusiones que influyeran en el manejo de dichos pacientes.

Tras el desarrollo de la biología molecular (particularmente las técnicas de PCR), la cuantificación total de Igs en LCR ha quedado en desuso en nuestro medio. Por contra, la determinación licuoral de Igs específicas mantiene cierta vigencia en determinadas enfermedades, máxime si hablamos de países menos adelantados. Los países que más sufren el azote de las meningitis en términos de morbimortalidad (que por otra parte en ellos vive la mayor parte de la población del planeta, no hay que olvidarlo) no tienen acceso a las modernas técnicas de biología molecular, por lo que los tests de determinación de anticuerpos (Acs) y la cuantificación licuoral de clases y subclases de Igs, continúa siendo un instrumento diagnóstico de gran importancia.

Aún en países desarrollados, el estudio de Igs específicas (ELISA) en LCR sigue siendo de utilidad en enfermedades como la panencefalitis esclerosante subaguda, la meningoencefalitis eosinofílica por *Angiostrongylus cantonensis*, la meningoencefalitis por *Mycoplasma spp.* la neuroborreliosis<sup>11</sup>, la neurocisticercosis y la afectación neurológica por West Nile virus o *Brucella spp.*; por citar algunos ejemplos. La detección de bandas oligoclonales y aumento de IgG en LCR sigue representando un pilar en el diagnóstico de enfermedades no infecciosas como la esclerosis múltiple<sup>5</sup> o determinadas

gammapatías monoclonales. Las técnicas de PCR en LCR tienen máximo rendimiento en aquellas circunstancias en las que la microscopía, detección de antígenos polisacáridos (aglutinaciones), cultivo o serología sean poco sensibles o inapropiadas; cuando el cultivo tenga baja rentabilidad y en pacientes inmunodeprimidos<sup>19</sup>.

### Pacientes y método

En su trabajo, los autores incluyeron a 36 pacientes mayores de 6 meses y menores de 12 años. Los dividieron en dos grupos: «casos» (a su vez subdividido en meningitis linfocitarias y purulentas) y «testigos» (controles sanos con meningismo). Conviene decir que todos los casos avanzaron hasta la curación sin secuelas y que el diagnóstico se realizó siguiendo criterios clínicos, analíticos (hemograma, NBT), citobioquímicos (LCR) y microbiológicos (cultivos de LCR y sangre). No se especifica la terapéutica antimicrobiana utilizada ni el agente causal de las meningitis.

A todos los pacientes con meningitis se les extrajo LCR al ingreso, a los 2,5 días y al quinto día de estancia hospitalaria. A los controles sólo se les realizó punción lumbar al ingreso. Las Igs se midieron en suero y LCR en los mismos tiempos.

Determinaron las tasas de Igs por inmunodifusión radial y la comparación entre medias la realizaron con análisis de la varianza, homogenizando las mismas previamente con el test de Bartlett. A la hora de analizar el descenso de los títulos licuorales de Igs con el paso del tiempo, se utilizó el coeficiente de regresión (b). Los dos coeficientes de regresión (b1 y b2) hallados para cada Ig en las determinaciones a los 2,5 y 5 días se compararon para calcular la significación estadística de las diferencias encontradas. Igualmente, se midieron la concentración de proteínas en LCR en los tiempos mencionados. En los niveles séricos de cada Ig se halló el análisis de la varianza general, seguido de participación de grados de libertad, con el fin de comparar la tasa media de cada serie.

Los autores eligieron pacientes fuera del período neonatal para evitar el sesgo que pudiera representar la transferencia pasiva de Igs maternos al LCR del recién nacido, como habían sugerido Thorley y cols<sup>5</sup>.

Dada la rigurosidad con la que aplicaron el método, era de esperar que se obtuvieran resultados con rigor científico suficiente como para generar conclusiones sólidas.

### Resultados y conclusiones

#### Valores de Igs en LCR:

Los autores encontraron niveles altos en el momento del diagnóstico tanto para IgA, IgG e IgM en los dos grupos de meningitis. Tanto las concentraciones iniciales de Igs, como su descenso paulatino con el paso de los días (b), eran significativamente mayores ( $p < 0,01$ ) en los enfermos que en los testigos, no encontrándose diferencias cuantitativas apreciables entre meningitis víricas y bacterianas.

En cuanto a los niveles de proteínas, éstos eran significativamente más altos en las meningitis purulentas con respecto a las linfocitarias y a los testigos. También se halló significación estadística en la diferencia hallada entre las proteinorraquias de testigos y linfocitarias. En la tercera determinación se igualaron las concentraciones de proteínas en LCR entre todos los grupos, acorde con la buena evolución de los pacientes seleccionados.

Las concentraciones de IgG e IgA en la tercera determinación fueron indistinguibles de las halladas en los controles, manteniéndose las de IgM significativamente más altas también en esta última extracción en las series de enfermos con respecto a los sanos ( $p < 0,01$ ).

Nuestros autores no encontraron diferencias significativas en los niveles de IgM entre linfocitarias y purulentas, hecho que iba en contra de los datos publicados por Smiths y cols. (1973), quienes describían concentraciones más altas en las bacterianas.

#### Valores de Igs en suero:

No se objetivó correlación entre los valores séricos y los licuorales, ya que en suero las tres Igs medidas se mantenían constantes y sin alteraciones tanto en los controles como en los enfermos.

Un hecho digno de comentar es que los autores de nuestra publicación sugerían la existencia de fenómenos no selectivos para el paso de Igs ligados a la permeabilidad de la barrera hematoencefálica (BHE) inflamada «sea cual sea la causa que los pro-

duzca». Entendían que la alteración física de las meninges dañadas propiciaba una transferencia de Igs de la sangre al LCR, siendo ésta la razón por la que se encontraban altos niveles licuorales. Hoy sabemos que, además del paso desde la sangre, existe producción intratecal, no sólo de IgM, sino también de otras Igs específicas que hace variar la concentración de dichas proteínas en el LCR y que existen determinadas enfermedades en las que observamos distintos patrones de producción intratecal<sup>16,20</sup>.

Igualmente, asumían que la falta de correlación entre variaciones halladas en las concentraciones de Igs en LCR y en suero obedecía a circunstancias particulares de cada individuo, ya que dentro de un mismo rango etiológico de enfermedad meníngea, se encuentran manifestaciones clínicas y citobioquímicas cuantitativamente diferentes.

Los autores concluyen que la cuantificación de Igs en LCR es un buen índice de agresión infecciosa al SNC, que la determinación de IgM es la que presenta una mayor fiabilidad en el diagnóstico de meningitis, que la variación de las concentraciones de Igs en LCR se muestra fiable como índice de curación y que la procedencia de las Igs del LCR es probablemente plasmática.

## Discusión

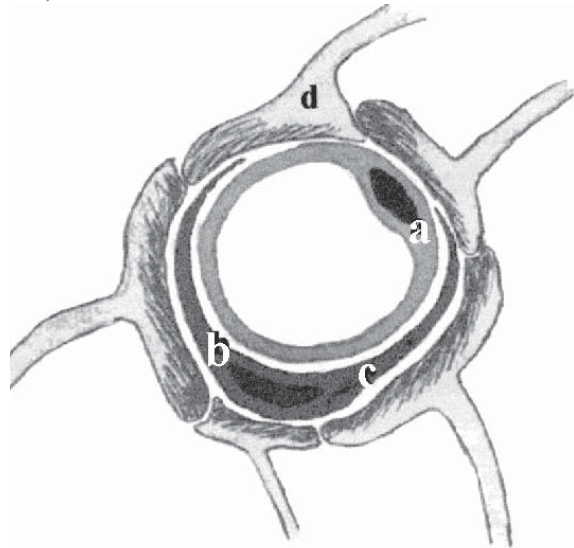
El LCR es un elemento dinámico, metabólicamente activo y su análisis posee un valor incalculable como ayuda en el diagnóstico de diferentes enfermedades del SNC<sup>19</sup>.

### *Acerca de la barrera hematoencefálica (BHE)*

El término lo acuñó Lewandowsky en 1900, cuando descubrió que la inyección de un producto neurotóxico sólo tenía un efecto nocivo si se realizaba dentro del parénquima cerebral, mientras que la inyección intravenosa resultaba inocua<sup>8,10</sup>. En esta estructura anatómica participan 4 tipos celulares: células endoteliales de los capilares, pericitos que las recubren, astrocitos (fundamentales) que envuelven a las anteriores células mediante pies pericapilares, una membrana basal y terminaciones sinápticas neuronales<sup>6,7,11</sup> (Figura 1). Esta barrera se encarga de aislar al parénquima del SNC del espacio intravascular<sup>8</sup>, protegiéndolo del medio sanguíneo que contiene sustancias tóxicas para las neuronas, como trombina y plasmina<sup>9</sup>, al tiempo que asegura

una permeabilidad selectiva para el paso de determinadas sustancias (oxígeno, glucosa, aminoácidos esenciales) y mantiene un medio extracelular periglioneuronal estable<sup>8</sup>.

La mayoría de las células endoteliales cerebrales son diferentes a las presentes en otros órganos, ya que presentan uniones intercelulares estrechas que evitan el paso transcapilar de moléculas como iones y proteínas, son más ricas en mitocondrias, poseen una lámina basal simple y carecen de fenestraciones y vesículas pinocíticas<sup>8</sup>. Sin embargo, existen algunas áreas del cerebro con capilares donde no existe BHE (hipófisis, eminencia media, área postrema, pineal, plexos coroideos). En dichas regiones las características morfológicas del endotelio son similares a otros lechos microvasculares sistémicos, con fenestraciones, vesículas y pérdida de la continuidad en las uniones intercelulares estrechas<sup>8,11</sup>. En realidad, se diferencian tres tipos de BHE: BHE endotelial (Figura 1), BHE hematolicuoral (plexos coroideos) y BHE subaracnoidea (células planas aracnoides adheridas a vasos de la duramadre)<sup>8</sup>.



**Figura 1.** Estructuras que conforman la BHE. a) Célula endotelial, b) Pericito, c) Membrana basal y d) Pies pericapilares de los astrocitos. Tomado de Tamayo-Orrego L, Duque-Parra JE. The metabolic regulation of cerebral microcirculation. Rev Neurol. 2007; 44:415-25.

### *Paso de células defensivas al SNC*

Aunque es un aspecto controvertido parece que, en circunstancias normales, el SNC se halla aislado

de la influencia inmunológica y sólo los linfocitos activados son capaces de atravesar la BHE en individuos sanos. Existen modelos murinos que demuestran que los linfocitos T pueden detectarse en LCR unas pocas horas después de entrar en el torrente sanguíneo, recirculando hacia el plasma en 1 ó 2 días si no encuentran el antígeno adecuado<sup>13-15</sup>. La BHE va a permitir el paso de células inflamatorias sólo en determinadas circunstancias, conociéndose distintos mecanismos mediante los cuales se observa el paso de linfocitos activados desde la microcirculación cerebral hacia el LCR (BHE endotelial) y a través de los plexos coroideos (BHE hematoliquoral) hasta el tejido cerebral<sup>13,14</sup>. En dichos mecanismos participan de forma decisiva distintas moléculas de adhesión, como ICAM-1, ICAM-2 y JAMs, algunas citoquinas (IP-10, MCP-1, IL-6, IFN-gamma, TNF-alfa) y las multiespecializadas células de la neuroglía (astrocitos)<sup>14</sup>.

*Síntesis intratecal de Igs*

La determinación de niveles elevados de Igs en LCR más allá de los 20 días tras producirse la infección del SNC, cuando la integridad de la BHE está reestablecida, defiende la idea de que la producción intratecal de anticuerpos (desde acúmulos de linfocitos B perivasculares) juega un importante papel en determinadas enfermedades<sup>16</sup>. Para discriminar entre las sintetizadas en el SNC y las que proceden del suero, se han empleado diferentes modelos ma-

temáticos, entre los que destacan los de Link, Tourtellotte, Schuller y Reiber (Tabla 1).

El método bioquímico más sensible para estimar el grado de permeabilidad de la BHE es el cociente o índice de albúmina (IA): albúmina en LCR/ albúmina en suero. La albúmina del LCR tiene su origen en el suero, pues se sintetiza exclusivamente en el hígado. Su nivel en el LCR (200 veces menor que en suero) depende de diversos factores, como su concentración sanguínea, el flujo del LCR, la edad del individuo, el volumen total de LCR, y también de la función de la BHE. Un aumento patológico de la permeabilidad de la BHE se traducirá en un aumento del IA<sup>16</sup>.

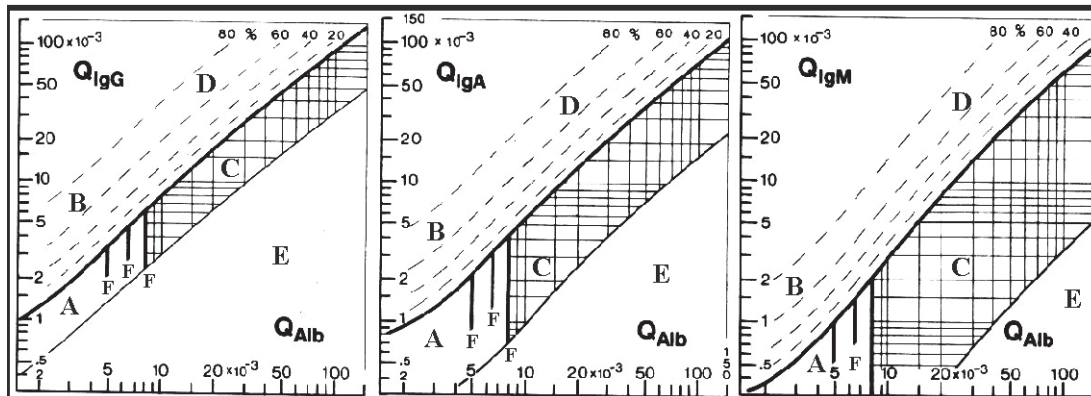
La función hiperbólica ideada por Reiber que comentaremos más adelante, representa el mejor método de estimación de producción intratecal de Igs (Figura 2)<sup>19</sup>.

*Teoría de difusión molecular-flujo de LCR*

La teoría de la difusión molecular/flujo del LCR postula que la velocidad de flujo del LCR modula la concentración licuoral de moléculas. La espectrometría por resonancia magnética nuclear demuestra que la velocidad de flujo de LCR cambia en determinadas enfermedades neurológicas, así cuando ésta se enlentece, aumenta la cantidad de proteínas licuorales<sup>16</sup>. Para poder realizar una estimación de la fracción de Igs sintetizada intratecalmente a par-

<b>Índice de Tibbling y Link o índice de IgG</b>
$\text{Índice de IgG} = (\text{IgG}_{\text{LCR}} / \text{IgG}_{\text{suero}}) / (\text{Alb}_{\text{LCR}} / \text{Alb}_{\text{suero}})$
<b>Fórmula de Schuller y Sagar</b>
$\text{SIT de IgG (mg/l)} = \text{IgG}_{\text{LCR}} - \{ 30 + [ ( \text{Alb}_{\text{LCR}} - 240 ) / 60 ] \times [ \text{IgG}_{\text{suero}} ] \}$
<b>Fórmula de Tourtellotte</b>
$\text{SIT de IgG (mg/día)} = [ (\text{IgG}_{\text{LCR}} - \text{IgG}_{\text{suero}} / 369) - (\text{Alb}_{\text{LCR}} - \text{Alb}_{\text{suero}} / 230) \times (\text{IgG}_{\text{suero}} / \text{Alb}_{\text{suero}}) \times 0,43 ] \times 5$
<b>Índice de Reiber y Felgenhauer</b>
$\text{SIT de IgG (mg/l)} = \{ \text{IgGLCR} / \text{IgG}_{\text{suero}} - [ 0,8 \times [ (\text{Alb}_{\text{LCR}} / \text{Alb}_{\text{suero}})^2 + 15 + 1,8 ] / 2 ] \} \times \text{IgG}_{\text{suero}}$
Alb: albúmina; SIT: síntesis intratecal.

**Tabla 1.** Índices de síntesis intratecal de Igs.



**Figura.2.** Reibergrama.

- A) Difusión desde el plasma. B) Síntesis intratecal (percentiles).  
 C) Disfunción de la BHE. D) Disfunción de la BHE junto a producción intratecal.  
 E) Fallo de la técnica. F) Límites normales de IA ( $Q_{Alb}$ ) según edad (15, 40 y 60 años)<sup>16</sup>

tir de la concentración total medida en LCR, Reiber y Felgenhauer diseñaron un modelo matemático de escala logarítmica aplicable a pacientes de diferentes edades (Figura 2). Se trata de una función hiperbólica obtenida a partir de comparaciones de índices de Igs e IA ( $Q_{Alb}$ ) y se basa en la teoría de difusión molecular/flujo del LCR<sup>16-18</sup>. Tras la medición de Igs en LCR, se traslada a las gráficas y se pueden realizar, con un alto índice de fiabilidad, estimaciones del porcentaje de Ig que ha sido sintetizado en el SNC.

### Comentario final

El interés por determinar las concentraciones licuorales de las Igs en las infecciones del SNC va decayendo con el paso del tiempo, conforme avanzan las técnicas de detección de componentes que forman parte de los microorganismos o sus toxinas (cultivos, pruebas de aglutinación de antígenos, biología molecular). Aún así, en países menos adelantados, los patrones de Igs medibles por Reibergrama, pueden resultar un apoyo diagnóstico en determinadas circunstancias, como por ejemplo en la neurotuberculosis<sup>20</sup>.

Los autores del artículo comentado buscaron hallar diferencias entre las concentraciones de las distintas clases de anticuerpos que les permitieran tomar decisiones a la hora de tratar pacientes afectados de meningitis. Resulta apasionante el interés de los investigadores por intentar aumentar el arsenal

diagnóstico de tan temida enfermedad, máxime si lo encuadramos en el contexto temporal en el que se llevó a cabo.

*Hoy el edificio sigue en pie, no conozco a quien vive en ese ático, las plataneras se han transformado en cemento y bloques de pisos que nadie puede comprar. Sin embargo, mi abuelo, a sus 90 años, sigue yendo a buscar el pescado, la verdura o los cebadores de tal o cual lámpara fluorescente. Gracias a que de vez en cuando echamos la vista hacia atrás, podemos aprender de nuestros viejos colegas que, como mi abuelo, siguen empeñados en hacer de su vida un legado para las generaciones futuras.*

### BIBLIOGRAFÍA

1. Kaldor J, Ferris AA. Immunoglobulin levels in cerebro-spinal fluid in viral and bacterial meningitis. *Med J Aust* 1969; 2:1206-9.
2. Riddoch D, Thompson RA. Immunoglobulin levels in the cerebrospinal fluid. *Br Med J* 1970; 1:396-399.
3. O'Toole RD, Thornton GF, Mukherjee MK, Neogy KN. Cerebrospinal fluid immunoglobulins in bacterial meningitis. A possible role for antibody in pneumococcal meningitis. *Arch Neurol* 1971; 25:218-24.
4. Smith H, Bannister B. Cerebrospinal-fluid im-

- munoglobulins in meningitis. *Lancet* 1973; 2:591-3.
5. Thorley JD, Kaplan JM, Holmes RK, McCracken GH Jr, Sanford JP. Passive transfer of antibodies of maternal origin from blood to cerebrospinal fluid in infants. *Lancet* 1975; 1:651-3.
  6. Tamayo-Orrego L, Duque-Parra JE. The metabolic regulation of cerebral microcirculation. *Rev Neurol*. 2007; 44 :415-25.
  7. Copin JC, Gasche Y. Morphologie et physiologie de la barrière hématoencéphalique. *Ann Fr Anesth Reanim* 2003; 22:202-14.
  8. Pascual-Garvi JM, González-Llanos F, Prieto-Arribas R, Cerdán S, Roda JM. La barrera hemoencefálica: desarrollo de una estructura que permite la heterogeneidad funcional del sistema nervioso central. *Rev Neurol* 2004; 38: 565-81.
  9. Gingrich MB, Traynelis SF. Serine proteases and brain damage is there a link? *Trends Neurosci* 2000; 23:399-407.
  10. Ribatti, D, Nico B, Crivellato E, Artico M. Development of the bloodbrain barrier: a historical point of view. *Anat Rec* 2006; 289B:3-8.
  11. Pardridge WM. Blood-brain barrier genomics. *Stroke* 2007; 38 (2 Suppl):686-90.
  12. Lakos A, Ferenczi E, Komoly S, Granström M. Different B-cell populations are responsible for the peripheral and intrathecal antibody production in neuroborreliosis. *Int Immunol*. 2005; 17:1631-7.
  13. Hickey WF, Hsu BL, Kimura H. T-lymphocyte entry into the central nervous system. *J Neurosci Res*. 1991; 28:254-60.
  14. Kleine TO, Benes L. Immune surveillance of the human central nervous system (CNS): different migration pathways of immune cells through the blood-brain barrier and blood-cerebrospinal fluid barrier in healthy persons. *Cytometry A*. 2006; 69:147-51.
  15. Dörries R. The role of T-cell-mediated mechanisms in virus infections of the nervous system. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2001; 253:219-45.
  16. Dorta AJ, Noris E, Bu-Coifú R, Padilla B. Bases moleculares de la Neuroinmunología. *Rev Cubana Pediatr* 2005; 77:3-4.
  17. Reiber H. Flow rate of cerebrospinal fluid (CSF): a concept common to normal blood-CSF barrier function and to dysfunction in neurological diseases. *J Neurol Sci*. 1994; 122:189-203.
  18. Dorta AJ, Reiber H. Molecular diffusion/ cerebrospinal fluid flow theory. *Rev Neurol*. 2004; 39:564-9.
  19. Deisenhammer F, Bartos A et al. Guidelines on routine cerebrospinal fluid analysis. Report from an EFNS task force. *European Journal of Neurology* 2006; 13:913-22.
  20. Dorta AJ, Reiber H. Hallazgos neuroinmunológicos en el diagnóstico de neurotuberculosis. *Rev Neurol*. 2006; 43:765.