

Estudio neuroinmunológico en pacientes con paraparesia espástica

Neuroimmunological study in patients with spastic paraparesis

Cristóbal González Losada, Alberto Juan Dorta Contreras

Laboratorio Central de Líquido Cefalorraquídeo (LABCEL). Facultad de Ciencias Médicas "Miguel Enríquez". 10 de Octubre, La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: La paraparesia espástica es un trastorno neurológico que según su etiología puede ser clasificado de distintas formas: paraparesia espástica progresiva, paraparesia espástica hereditaria o paraparesia espástica tropical.

Objetivo: Caracterizar la respuesta neuroinmunológica, evaluada por reibergrama, en pacientes con paraparesia espástica.

Métodos: Se realizó un estudio retrospectivo en el año 2017, donde se evaluó la ocurrencia de síntesis intratecal de inmunoglobulinas mayores y el estado de la barrera sangre/LCR en pacientes con paraparesia espástica. Se trabajó con una muestra intencional de 20 pacientes según los criterios de inclusión y exclusión, procedentes de la serorraquiotea de LABCEL y retrospectivamente se conformaron dos grupos de pacientes: 7 pediátricos y 13 adultos. Los niveles de albúmina, IgA, IgG e IgM se cuantificaron por nefelometría inmunoquímica con análisis cinético. Se empleó el reibergrama para evaluar la ocurrencia de síntesis intratecal y el estado de la barrera sangre/LCR.

Resultados: Todos los pacientes presentaron síntesis intratecal de, al menos, una de las clases mayores de inmunoglobulina. Los patrones de síntesis más comunes son los de dos y tres clases. La inmunoglobulina que más se sintetizó fue la IgM. Todos los pacientes pediátricos mostraron por cientos de síntesis intratecal de IgM elevados. La disfunción de la barrera solo se presentó en dos casos, uno pediátrico y el otro adulto.

Conclusiones: Se advierte proceso inflamatorio del sistema nervioso central en todos los pacientes.

Palabras clave: reibergrama; paraparesia espástica; líquido cefalorraquídeo; síntesis intratecal; reibergrama.

ABSTRACT

Introduction: Spastic paraparesis is a neurological disorder that according to its etiology can be classified in different ways: progressive spinal paraparesis, hepatic spinal paraparesis or tropical spastic paraparesis.

Objective: To characterize the neuroimmunological response, evaluated by reibergram, in patients with spastic paraparesis.

Methods: A retrospective study was conducted in 2017, where the occurrence of intrathecal synthesis of major immunoglobulins and the status of the blood / CSF barrier in patients with spastic paraparesis was evaluated. We worked with an intentional sample of 20 patients according to the inclusion and exclusion criteria, from the LABCEL serrachokary and, retrospectively, two groups of patients were formed: 7 pediatric patients and 13 adults. The levels of albumin, IgA, IgG and IgM were quantified by immunochemical nephelometry with kinetic analysis. The reibergram was used to evaluate the occurrence of intrathecal synthesis and the status of the blood / CSF barrier.

Results: All patients presented intrathecal synthesis of at least one of the major immunoglobulin classes. The most common synthesis patterns are those of two and three classes. The immunoglobulin that was most synthesized was IgM. All pediatric patients showed hundreds of high intrathecal IgM synthesis. The barrier dysfunction only occurred in two cases, one pediatric and the other adult.

Conclusions: Inflammatory process of the central nervous system is noticed in all patients.

Keywords: reibergram; spastic paraparesis; cerebrospinal fluid; intrathecal synthesis; reibergram.

INTRODUCCIÓN

La paraparesia espástica (PE) es un trastorno neurológico que puede ser clasificado en paraparesia espástica progresiva (PEP), paraparesia espástica tropical (PET)¹ y paraparesia espástica hereditaria o familiar (PEH)² dependiendo de su etiología.

La PEH está asociado a mutaciones en genes que no tienen relación directa con el sistema inmune.^{2,3} Sin embargo, la PET se asocia a la infección por HTLV-1 o virus linfotrópico de células T humano tipo I.⁴

El HTLV-1 se clasifica en la familia *Retroviridae* basándose en la estructura del genoma y la secuencia nucleotídica, y en la subfamilia *Oncoviridae* por su patogenicidad. Este puede causar, además, leucemia de células T en adultos, trastornos de la inmunidad entre otros.⁵ En Cuba se ha reportado la ocurrencia de PET y otros trastornos asociados al HTLV-1.⁶⁻⁹

Los síntomas iniciales de la PE consisten en dificultad, lentamente progresiva, para la marcha, algunas veces asociada con sensación de quemadura en las plantas de los pies. Casi siempre se presenta aumento de la frecuencia, urgencia o retención urinaria, constipación intestinal, impotencia y/o frigidez sexual, y dolor lumbar.¹⁰

El empleo del reibergrama ha permitido caracterizar, a través de los patrones de síntesis intratecal de inmunoglobulinas mayores y el estado de la barrera sangre/LCR, distintos trastornos del SNC de múltiples etiologías,^{11,12} por lo cual no sería desacertado pensar que podría contribuir a la caracterización neuroinmunológica de la PE.

Tomando en consideración los elementos anteriores, y dada la importancia que reviste la caracterización de la respuesta inmune en el sistema nervioso central (SNC) en las diferentes entidades que afectan este sistema, se plantea como problema científico conocer la dinámica intratecal de las clases mayores de inmunoglobulinas y el estado de la barrera sangre/LCR en pacientes con paraparesia espástica.

La hipótesis de trabajo fue demostrar la existencia de un proceso neuroinflamatorio del sistema nervioso central en pacientes con paraparesia espástica.

El objetivo de esta investigación es caracterizar la respuesta neuroinmunológica, evaluada por reibergrama, en pacientes con paraparesia espástica.

MÉTODOS

Se realizó un estudio retrospectivo en el año 2017, donde se evaluó la ocurrencia de síntesis intratecal de inmunoglobulinas mayores y el estado de la barrera sangre/LCR en pacientes con PE.

Se trabajó con una muestra intencional de 20 pacientes con diagnóstico de PE, según los criterios de inclusión y exclusión, procedentes de la serorraquioteca de LABCEL. Las muestras de suero y LCR proceden de los centros de asistencia del Sistema Nacional de Salud de Cuba que tributan al LABCEL.

Retrospectivamente se conformaron dos grupos de muestras de acorde a la edad de los pacientes: 7 pacientes pediátricos y 13 pacientes adultos.

Las muestras se encontraban almacenadas a -80°C en alícuotas de 500 μL . Se procesaron 20 muestras de suero y 20 de LCR para un total de 40 muestras correspondientes a 20 pacientes.

Tanto las muestras de suero como de LCR fueron tomadas en cada paciente en el debut de las manifestaciones neurológicas de forma simultánea, con un período menor de treinta minutos entre la extracción de suero y LCR para minimizar las diferencias entre el mapa inmunológico de ambos fluidos.^{11,12} La extracción de LCR fue por punción lumbar; la sangre se extrajo mediante venopunción, luego se centrifugó para la obtención de suero.

Con la finalidad de realizar esta investigación se revisaron las historias clínicas de los pacientes, de las cuales se recogió parte de la información que se utilizó en este estudio.

Criterios de inclusión

Pacientes con diagnóstico de PE según criterio clínico, de laboratorio, imagen y electrofisiológico.

Criterio de exclusión

Muestras de sueros hemolisados, LCR contaminado con sangre, muestras de pacientes con duda en el diagnóstico, muestras con volumen suficiente para realización de las técnicas de cuantificación, muestras con diferencia mayor de 30 min entre la toma de la sangre y del LCR, muestras que al ser procesadas sus valores de concentración caen en la zona no útil del reibergrama, muestras de pacientes con tratamiento inmunosupresor o inmunomodulador en el momento de la toma de la muestra, muestras de pacientes inmunocomprometidos.

Esta exploración respetó los principios éticos de las investigaciones de acuerdo con la Declaración de Helsinki para estudios en sujetos humanos. Fue aprobada por el Comité de Ética y de investigación de la Facultad de Ciencias Médicas "Miguel Enríquez" y está asociada a un proyecto institucional e internacional del LABCEL.

Los niveles de albúmina, IgA, IgG e IgM se cuantificaron por nefelometría inmunoquímica con análisis cinético.¹³

Los valores de concentración de las inmunoglobulinas IgG, IgM e IgA analizadas fueron introducidos en los Reibergramas respectivos (Fig.), el cual ofrece una representación gráfica de los valores de síntesis de cada una de las proteínas estudiadas. Todos los puntos que caen por encima de la línea hiperbólica más gruesa se consideran con síntesis intratecal.^{11,12}

La curva hiperbólica superior (línea gruesa) representó la línea de discriminación entre las proteínas derivadas del cerebro y las proteínas derivadas de la sangre. Los valores por encima de esta línea indican síntesis intratecal. Las líneas discontinuas indican la magnitud de la fracción sintetizada intratecalmente, con 20, 40, 60 y 80 % de la concentración total de la proteína medida en el LCR y se calcula a partir de $Q \text{ límite} = 0 \%$.¹⁹⁻²⁰ Los rangos de referencia para las razones (Q) LCR/suero del reibergrama se apoyaron en la línea discriminatoria superior (Q límite) dibujada más fuerte en la figura y el borde inferior (Q bajo). El reibergrama usa escala logarítmica que cubren los rangos más frecuentes para las proteínas, siendo para la Q Albúmina (QAlb) desde 1,5 a 150×10^{-3} .^{11,12}

Como proteína marcadora del paso a través de la barrera sangre/LCR se utilizó la albúmina. La razón albúmina o Q Albumina (Albúmina LCR/Albúmina suero) fue usada para evaluar la integridad de la barrera sangre/LCR. El límite del rango de referencia para la QAlb entre las concentraciones de proteínas normales e incrementadas debido a la disfunción de la barrera sangre/LCR es indicada por líneas verticales y es dependiente de la edad, la QAlb de $5,5 \times 10^{-3}$ (hasta 15 años), QAlb de $6,5 \times 10^{-3}$ (hasta 40 años), y QAlb de 8×10^{-3} (hasta 60 años).^{11,12}

RESULTADOS

Todos los pacientes mostraron síntesis intratecal de, al menos, una de las tres clases mayores de inmunoglobulinas.

La disfunción de la barrera sangre/LCR solo se presentó en dos casos, uno pediátrico y el otro, adulto.

De forma general la IgM fue la inmunoglobulina que más se sintetizó, con una fracción intratecal media de 77,14 %, seguida de la IgA con 66,82 % e IgG con 39,47 %.

En el caso de los pacientes pediátricos, todos presentaron síntesis intratecal de IgM superior al 40 %, lo cual se corresponde con una intensa síntesis de esta inmunoglobulina en el SNC, en relación a la IgA e IgG. Con respecto a los pacientes adultos, se presentó un ligero predominio de la IgA e IgM con relación a la IgG (figura).

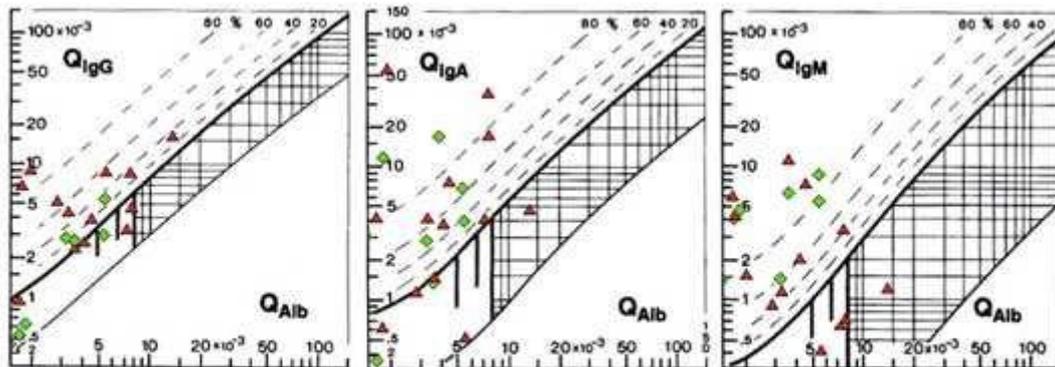


Fig. Resultados a partir del reibergrama de las clases mayores de inmunoglobulinas de los pacientes con PEP. Los pacientes pediátricos se encuentran representados por los rombos de color verde (◊), los paciente adultos por los triángulos de color rojo (▲).

Los patrones de síntesis intratecal con mayor frecuencia de aparición de forma general fueron los que involucran dos y tres clases de inmunoglobulinas (tabla).

Tabla. Patrones de síntesis intratecal de las clases mayores de inmunoglobulinas encontrados en pacientes con PEP

Patrones		Frecuencia	
ID	Inmunoglobulinas	Adultos	Pediátricos
I	IgG+IgA+IgM	4	2
II	IgG+IgA	1	-----
III	IgA+IgM	2	3
IV	IgG+IgM	2	1
V	IgG	2	-----
VI	IgA	1	-----
VII	IgM	1	1

En los pacientes adultos se identificaron siete combinaciones posibles de inmunoglobulinas o patrones de síntesis, siendo el más frecuente el patrón I, de tres clases.

En caso de los pacientes pediátricos, el patrón III (IgA+IgM) fue el más frecuente. No se identificaron los patrones II (IgG+IgA), V (IgG) ni VI (IgA).

DISCUSIÓN

La respuesta inmune dentro del SNC tiene la característica de que se ausenta el cambio o *switch* que se produce normalmente de clase IgM a clase IgG por lo que evidentemente existe una diferencia en la respuesta inmune sistémica y la respuesta inmune intratecal, esta última depende del tiempo en que se hace la evaluación, del patógeno que induce la respuesta y de las características propias de cada individuo.^{11,12}

Para que exista un proceso inflamatorio del SNC es necesario que exista síntesis intratecal de alguna de las clases mayores de inmunoglobulinas,^{11,12} estas activan el complemento vía C1q.¹⁴

Según los resultados de este estudio, pudo constatarse síntesis intratecal en todos los casos, por lo que es correcto afirmar que existe un proceso neuroinflamatorio en cada uno de los pacientes estudiados.

La integridad de la barrera sangre/LCR, no es un factor determinante en la existencia o no del proceso inflamatorio del SNC,^{11,12} pues, aunque exista pérdida de la selectividad del paso de proteínas traducida como disfunción de la barrera sangre/LCR, el reibergrama puede discriminar la fracción de inmunoglobulinas que pasa por simple difusión y la que se sintetizó intratecalmente.¹⁵⁻¹⁸

En estudios de pacientes con meningoencefalitis bacterianas, la integridad de la barrera sangre/LCR no ha sido un elemento distintivo.^{19,20}

De la muestra estudiada, solo dos pacientes cursaron con disfunción de barrera sangre/LCR.

Como se comentó anteriormente, los patrones de síntesis intratecal han permitido caracterizar numerosos trastornos neurológicos.¹²

En este estudio, aunque se aprecia una diversidad de patrones de síntesis intratecal, predominaron los patrones de dos y tres clases.

En un estudio realizado en meningoencefalitis de etiología bacteriana, el patrón de síntesis predominante es el que involucra dos clases de inmunoglobulinas mayores.^{19,20}

La especificidad y sensibilidad de estos patrones incluso dependen críticamente del momento en que se realiza la punción lumbar en el desarrollo de la enfermedad y/o de la etiología.¹⁵⁻¹⁸

Se ha comprobado que pacientes con proceso neuroinflamatorio asociado al virus del dengue, cursan con patrones de síntesis de tres clases de inmunoglobulinas sin importar si el trastorno es para infeccioso o postinfeccioso.²¹

Un estudio realizado en niños con meningoencefalitis por *coxsackie B5*, en periodo epidémico, mostró como patrón de síntesis más frecuente el que involucra dos clases de inmunoglobulinas mayores.²²

La intensa síntesis intratecal de IgM encontrada en los casos pediátricos y en menor medida en los casos adultos pudiera reflejar una condición aguda como causa del proceso neuroinflamatorio.

En pacientes con encefalitis por citomegalovirus, sin compromiso de la integridad del sistema inmune, se observó intensa síntesis intratecal de IgM.²³

Estudios realizados en pacientes ecuatorianos con meningoencefalitis por *Angiostrongylus cantonensis*, constataron que la respuesta neuroinmunológica es a favor de altos porcentos de síntesis intratecal de IgM.²⁴

Sin embargo, en pacientes con meningoencefalitis por *coxsackie B5*, la inmunoglobulina predominante fue la IgG.²²

En este estudio existe un bajo número de muestras, por lo que no es posible emitir un criterio absoluto sobre las características neuroinmunológicas propias de esta entidad. Lo que sí es posible afirmar sin lugar a dudas es la existencia de un proceso inflamatorio en el SNC tanto en pacientes adultos como pediátricos.

Otra debilidad importante de este estudio fue la imposibilidad de demostrar la presencia de infección por HTLV-1 en estos pacientes, lo cual tiene relación con la baja incidencia de la enfermedad en nuestro medio⁸ y que existe un sub-registro de la misma debido, entre otras cuestiones, a la poca disponibilidad de los medios necesarios para confirmar su diagnóstico.^{6-9,25}

Por estas razones sería conveniente realizar un pesquisaje en estos pacientes para demostrar la presencia o ausencia del HTLV-I o de anticuerpos específicos contra este virus o de otras posibles etiologías causantes responsables de estos cuadros de paraparesia espástica.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no poseen ningún tipo de conflicto de intereses.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. González-Losada C, Dorta-Contreras AJ. Paraparesia espástica tropical vista desde un contexto ibérico. *Rev Neurol*. 2016;62: 143-4.
2. Citterio A, Arnoldi A, Panzeri E, D'Angelo MG, Filosto M, Dilena R, et al. Mutations in CYP2U1, DDHD2 and GBA2 genes are rare causes of complicated forms of hereditary spastic paraparesis. *J Neurol*. 2014;261(2): 373-81.
3. Oz-Levi D, Ben-Zeev B, Ruzzo EK, Hitomi Y, Gelman A, Pelak K, et al. Mutation in TECPR2 reveals a role for autophagy in hereditary spastic paraparesis. *Am J Hum Genet*. 2012;91(6): 1065-72.
4. Pías-Peleteiro L, Pías-Peleteiro JM, Arias M. Paraparesia espástica tropical en una región no tropical. *Rev Neurol*. 2015;61: 357-62.
5. Vásquez PT. HTLV-I (Human T- cell lymphotropic virus), algo que decir? *Rev. chil. infectol*. 2003 [citado 5 abr 2017]; 20(1):34-37. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182003020100005>

6. Díaz Torres H, Álvarez Vega N, Muñio Perurena J, Lubián Caballero A, Martín Alfonso D, Díaz Herrera D, et al. [Human T-cell lymphotropic virus type I infection in patients with lymphoproliferative disorders at two sentinel sites in Cuba]. *Rev Panam Salud Publica*. 2010;1(27):17-22.
7. Rolo Gómez F, De Armas M, Mato Luis J, Lubián Caballero A, Díaz Torres H. Confirmation of the presence in Cuba of human T-cell lymphotropic virus type I using the polymerase chain reaction. *Rev Cubana Med Trop*. 1997;49(3):204-8.
8. Machado L, Navea L, Díaz H, Blanco M, Dubed M, Romay D, et al. Phylogenetic analysis of human T cell lymphotropic virus type 1 isolated from Cuban individuals. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2013;29(8):1168-72.
9. Navea Leyval L, Dubed Echevarría M, Álvarez Seguí G, Blanco de Armas M, Díaz Herrera F, Santos Beguerías R, et al. Aislamiento del virus linfotrópico de células T humano tipo I de un paciente con paraparesia espástica tropical: primer reporte en Cuba. *Rev Cubana Med Trop [Internet]*. [citedo 2014 20 marzo];60(2): [Aprox 5 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602008000200015&lng=es&nrm=iso&tlng=es
10. Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL, Fauci AS, Longo DL, Loscalzo J, editores. En: Harrison. Principios de Medicina Interna. New York: McGraw-Hill Education; 2015. ISBN: 978-0-07-1 8021 6- 1
11. Reiber H. Knowledge-base for interpretation of cerebrospinal fluid data patterns. *Essentials in neurology and psychiatry*. *Arq Neuropsiquiatr*. 2016;74(6):501-12.
12. Reiber H. Cerebrospinal fluid data compilation and knowledge-based interpretation of bacterial, viral, parasitic, oncological, chronic inflammatory and demyelinating diseases. Diagnostic patterns not to be missed in neurology and psychiatry. *Arq Neuropsiquiatr*. 2016;74(4):337-50.
13. Wildemann B, Oschmann P, Reiber H. *Laboratory diagnosis in Neurology*. Stuttgart: Thieme; 2010.
14. Bárbara Padilla-Docal B, Dorta-Contreras AJ, Reiber H, Iglesias-González IM, Jensenius JC, González-Losada C, et al. Marcadores moleculares de la meningoencefalitis eosinofílica por *Angiostrongylus cantonensis*. En: Martini Robles L, Dorta Contreras AJ, editores. *Angiostrongylus cantonensis*. Emergencia en América. La Habana: Academia; 2016. 18-56. ISBN 978-959-270-368-1
15. 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.
16. Dorta Contreras AJ, Reiber H. Teoría de la difusión molecular/flujo del líquido cefalorraquídeo. *Rev Neurol*. 2004;39:564-9.
17. Dorta Contreras A. Reibergramas: elemento esencial en el análisis inmunológico del líquido cefalorraquídeo. *Rev Neurol*. 2000;28:996-8.
18. Dorta Contreras AJ. Reibergrama como herramienta epidemiológica: nuevo enfoque. *Rev Neurol*. 2001;33:36.

19. Dorta-Contreras AJ. Pattern of intrathecal immunoglobulin synthesis in pediatric patients with infectious meningoencephalitis. *Biotecnol Apl.* 2006; 4: 382-6.
20. Padilla-Docal B, Dorta-Contreras AJ, Bu Coifíu-Fanego R, Noris-García E, Fundora-Hernández H, Callol-Barroso J, et al. Síntesis intratecal de C3c e inmunoglobulinas en niños con meningoencefalitis bacteriana. *VacciMonitor.* 2008; 17: 1-5.
21. Padilla-Docal B, Iglesias-Gonzalez IM, Martínez-Larrarte JP, González-Losada C, Dorta-Contreras AJ. Proceso neuroinflamatorio en pacientes con virus del dengue. *Rev Neurol.* 2017; 64(4): 188-90.
22. Dorta Contreras AJ, Agüero Valdés E, Escobar Pérez X, Noris García E, Ferrá Valdés M. Respuesta inmune humoral intratecal en pacientes pediátricos con meningoencefalitis por coxsackie B 5. *Rev Neurol.* 1999; 28: 739-41.
23. Noris García E, Isidróon Marcelo G, Dorta-Contreras AJ, Valdés Puig EL, Padilla-Docal B, Orta Ceballos G, et al. Neuroinmunología de la meningoencefalitis por citomegalovirus en pacientes inmunocompetentes. *Rev Cubana Med.* 2006; 45(4): 1-6.
24. Dorta Contreras AJ, Padilla Docal B, Moreira JM, Martini Robles L, Muzzio Aroca J, Alarcón F, et al. Neuroimmunological findings of *Angiostrongylus cantonensis* meningitis in Ecuadorian patients. *Arq Neuropsiquiatr.* 2011; 69(3): 466-9.
25. Ballester JM. El Programa de Medicina Transfusional de Cuba. *Rev Panam Salud Pública.* 2003; 13(2-3): 160-4.

Recibido: 13 de noviembre de 2018.

Aprobado: 16 de diciembre de 2018.

Cristóbal González Losada. Laboratorio Central de Líquido Cefalorraquídeo (LABCEL).
Facultad de Ciencias Médicas "Miguel Enríquez". Ramón Pintó # 202, Luyanó,
municipio 10 de Octubre, La Habana, Cuba.
Correo electrónico: chriss.losada@gmail.com