

ESTUDIO DEL LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO EN EL DIAGNOSTICO DE LA PANENCEFALITIS ESCLEROSANTE SUB-AGUDA (PEESA)

M.- GUZMAN, M. AYALA, G. TORO-GONZALEZ, L. MORALES, H. DIAZ

Se estudian los LCR de 17 casos de PEESA recopilados en un lapso de 4 años con el objeto de conocer las modificaciones sobre proteínas e IgG y se comparan estos resultados frente a un grupo control de 120 LCR de pacientes con problemas diferentes. Se encuentra que la alteración más frecuente es el aumento notorio de la fracción gamma y consecuentemente de IgG. Se presenta la posibilidad de usar dos índices, Alb/G y G/Alb, como relaciones útiles en el estudio de esta panencefalitis. Se discuten los procedimientos para las determinaciones y se hace su análisis crítico.

INTRODUCCION

La panencefalitis esclerosante subaguda (PEESA), no es una entidad rara en nuestro medio (1) cuyo diagnóstico clínico, muy obvio en algunos pacientes, suele plantear problemas en otros. Tratándose, como está establecido y aceptado, de una infección subaguda o crónica del sistema nervioso central causada por un virus, el agente etiológico del sarampión (2-8), el estudio del líquido cefalorraquídeo (LCR) se hace indispensable para afianzar el diagnóstico en conjunción con los hallazgos clínicos y otros estudios.

El trabajo aquí presentado se realizó con el propósito de sistematizar con técnicas ya muy depuradas el estudio del LCR en PEESA, buscando determinar cuál es su alteración más frecuente, qué validez estadística tiene y qué utilidad diagnóstica puede acreditarse.

MATERIAL Y METODOS

Pacientes. Para este trabajo se incluyeron sólo pacientes estudiados por el

Dr. Miguel A. Guzmán U.: Jefe Sección de Diagnóstico, Investigación y Referencia, Instituto Nacional de Salud; Profesor Asociado, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia; Dra. Maribel Ayala: Bióloga, Grupo de Microbiología e Inmunología, Unidad de Inmunología Clínica, Instituto Nacional de Salud, Bogotá; Dr. Gabriel Toro González: Profesor Titular de Patología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional; Investigador Científico, Grupo de Patología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá; Dr. Luis F. Morales, Dr. Hernando Díaz A.: Docentes Sección Neuropediatría, Hospital Universitario San Vicente de Paúl, Universidad de Antioquia, Medellín.

Solicitud de separatas al Dr. Guzmán.

grupo colaborador remitidos al Laboratorio de Inmunología Clínica del Instituto Nacional de Salud (INS) a través de uno de los investigadores.

El grupo de trabajo quedó constituido por 17 pacientes estudiados en el lapso comprendido entre julio de 1975 y diciembre de 1979, los cuales llenaron los requisitos del estudio (Tabla 1). El grupo control quedó conformado por 120 pacientes estudiados en el mismo lapso de tiempo y divididos por grupos así: 1) menores de 15 años con diagnóstico clínico presuntivo distinto de PEESA, 44 casos; 2) menores de 15 años sin diagnóstico, 14 casos; 3) mayores de 15 años o sin edad, sin diagnóstico o referencia clínica, 62 casos.

Reactivos. Para la cuantificación de inmunoglobulinas se utilizaron reactivos

comerciales de la casa Berhing. Los reactivos usados tanto en la inmuno-electroforesis (IEF) como en los estudios de inmuno-electrodifusión (IED), fueron todos preparados por la Unidad de Inmunología química del INS.

Equipos. Los estudios electroforéticos se realizaron en acetato de celulosa en un sistema Microzona-Beckman. La concentración del líquido cefalorraquídeo se realizó en un sistema de presión negativa "Sartorius". Los LCR de los pacientes fueron recibidos en el laboratorio mediante el llenado de rigurosos requisitos tales como: procedencia de un centro especializado, estudio clínico completo e historia precodificada "ad-hoc". Sólo líquidos obtenidos por punción atraumática, no contaminados y absolutamente lípidos fueron aceptados. La cantidad mínima

Tabla 1. Relación de los casos catalogados como PEESA.

NUMERO DE LA MUESTRA EN EL LABORAT.	INICIALES DEL NOMBRE	EDAD EN AÑOS	SEXO	PROCEDENCIA	CLINICA		PROTEINAS EN LCR mg/ 100 ml			
					Retardo mental	Mioclónicas	Proteínas totales	Albúmina	Gamma-globulina	IgG
070	O.G.	12	M	Medellín	S.D.	S.D.	99	27,2	45,5	2,5
071	F.R.	11	M	Medellín	Si	Si	99	20,9	46,5	3,0
318	A.M.	9	M	Medellín	Si	Si	44	12,4	19,2	20,3
358	J.A.	13	M	Medellín	Si	Si	115	35,1	41,4	42,0
359	D.S.	9	F	Medellín	Si	Si	103	30,5	53,1	62,0
463	E.C.	10	M	Cartagena	Si	Si	46	12,7	17,3	8,5
489	O.A.	10	M	Medellín	Si	Si	37	13,3	14,6	19,0
490	L.A.	S.D.	M	Medellín	Si	Si	61	22,4	17,7	6,3
491	D.Z.	13	M	Medellín	S.D.	S.D.	50	14,1	23,7	7,2
492	R.L.	9	M	Medellín	Si	Si	50	15,5	14,7	3,7
527	M.T.	13	F	Montería	Si	Si	65	21,2	29,5	8,1
620	C.U.	13	M	Medellín	Si	Si	37	12,3	12,9	7,4
623	R.B.	9	M	Soacha	Si	Si	45	12,1	18,9	10,0
662	R.B.	9	M	Bogotá	Si	Si	60	19,5	16,4	22,0
686	C.C.	10	M	Medellín	Si	Si	41	13,9	14,4	12,0
925	A.O.	12	F	Medellín	Si	Si	49	15,7	20,4	17,0
018	M.M.	4	F	Medellín	Si	Si	115	28,0	51,0	5,5
PROMEDIOS							66	19,2	26,9	18,4
S.D.: sin determinar.										

Tabla 2. Correlación entre el índice G/ Alb y los índices IgG/ Alb, Alb/ IgG y Alb/ G.

G/Alb		IgG/ Alb			Alb/IgG			Alb/G		
Variable	Casos	PEESA	No PEESA	Incógnita	PEESA	No PEESA	Incógnita	PEESA	No PEESA	Incógnita
PEESA	21	1'		10		1	20	0		21
No PEESA	15		0	15		7	8		15	
Incógnita	9			9		1	8		6	3
TOTAL	45	11		34		9	36		21	24
% Correlación		44,4%			33,3%			40,0%		
% Error					2,2%					

requerida fue de 10 ml. El grupo control fue conformado por LCR procedente de pacientes con diagnósticos clínicos diferentes de PEESA, incluyendo infecciones agudas, anomalías congénitas, epilepsia, etc. Los requisitos de calidad de éstos fueron similares a los anteriormente anotados.

Únicamente la Unidad de Inmunología Clínica procesó estos líquidos. Cada muestra de LCR fue dividida en dos porciones de 0,5 ml y 9,5 ml. Sobre la primera porción se realizaron las siguientes determinaciones: cuantificación de proteínas por el micrométodo de Lowry (9, 10) seleccionado como el más sensible; inmuno-electroforesis comparativa con un modelo normal; y, cuantificación de inmunoglobulinas IgG, IgA e IgM utilizando el sistema "M-partigen" de Berhing para concentraciones bajas. Esta muestra fue también sometida a un análisis simultáneo de albúmina e IgG mediante un sistema de IED similar al de Laurell (11), adaptado por Tourtellotte para LCR (12).

El resto del LCR (9, 5 ml), fue sometido a una concentración de 1:100 usando un

sistema de presión negativa constante en una unidad "Sartorius". Ya a esta concentración, la muestra fue procesada para estudio electroforético en acetato de celulosa. Todos los resultados fueron cuidadosamente estudiados y archivados para su análisis posterior.

RESULTADOS

El estudio de proteínas mostró valores significativamente más altos para los 17 pacientes del grupo PEESA frente al grupo control menor de 15 años con diagnóstico diferente de PEESA (Tabla 1).

En general, los valores de proteínas en LCR fueron mayores para todos los grupos control, aunque sin significancia estadística, frente a los valores considerados como normales; sin embargo, la diferencia de PEESA con los otros grupos fue estadísticamente significativa. La Tabla 1 muestra claramente este fenómeno. La distribución porcentual promedio de las fracciones de proteínas del LCR de los 17 casos de PEESA y los grupos control, mostró diferencia en forma tal, que la fracción gammaglobulina (G) en promedio tuvo valores

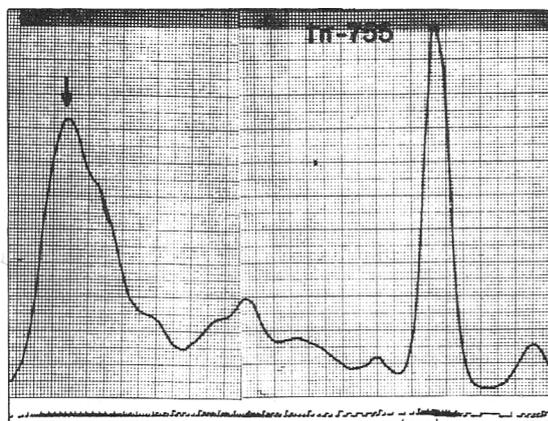


Figura 1. Electroforesis de LCR en concentración de 100:1 en un caso de PEESA. La flecha muestra un pico oligoclonal de la fracción gamma.

mayores que la fracción albúmina (Alb) en los casos de PEESA; lo contrario sucedió en el grupo control. Las diferencias para

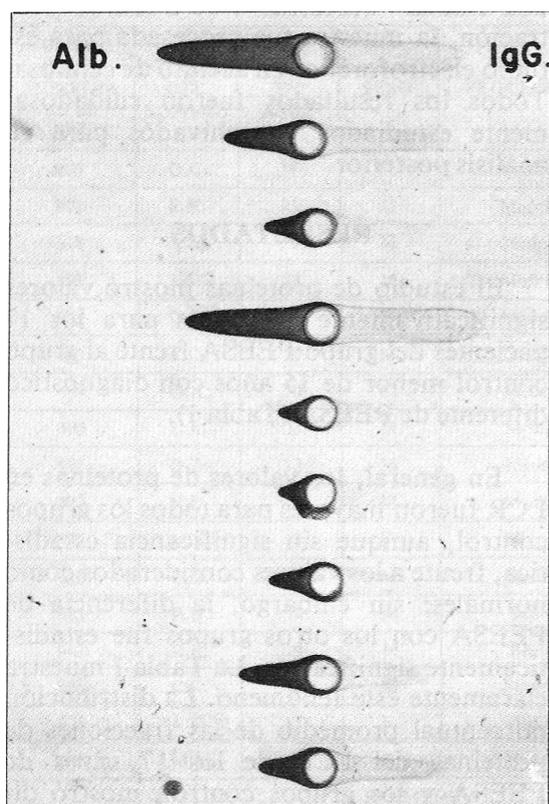


Figura 2. Determinación simultánea en LCR de albúmina e IgG por IED. Nótese el aumento de IgG comparativamente con la albúmina.

otras fracciones no fueron significativas. La Tabla 2 muestra estas relaciones.

Al aplicar las relaciones Alb/G y G/Alb se obtuvo un Índice confiable en diagnóstico de PEESA ya que todo valor $\geq 1,06$ corresponde a esta entidad, cobijando al 83,4% de sus casos; en cambio, los valores $\leq 0,32$ corresponden al grupo control y cobijan al 50% de sus casos.

Los estudios de IgG y albúmina por procedimientos inmunoquímicos (Figura 2) fueron coincidentes con los hallazgos electroforéticos, encontrándose valores por encima de los normales para IgG y que el índice IgG/Alb es igualmente válido ya que todo valor $\geq 0,92$ pertenece a PEESA y en ello están comprendidos el 47,21 % de sus casos.

Los estudios inmunolectroforéticos presentaron un aumento aparente de IgG frente al patrón normal, coincidente con los hallazgos anteriores (Figura 3).

La IgA y la IgM no mostraron ninguna alteración en LCR en los casos de PEESA ni en el grupo control, no siendo cuantificables por el procedimiento utilizado en el estudio.

DISCUSION

Está universalmente aceptado que la PEESA es una infección viral crónica del sistema nervioso central causada por el virus del sarampión (2-8). Como infección crónica, produce un aumento en el LCR de la concentración de inmunoglobulina, clase IgG exclusivamente; todo parece indicar que ésta es sintetizada a nivel del sistema nervioso central, como sucede en otras condiciones (14, 15), y no es, como se creyó, una simple filtración de la IgG circulante en el plasma (14-16). En el estudio de LCR este hecho se traduce en un notorio aumento de la fracción gamma, evidenciada como una banda homogénea oligoclonal (15, 17, 18) (Figura 1).

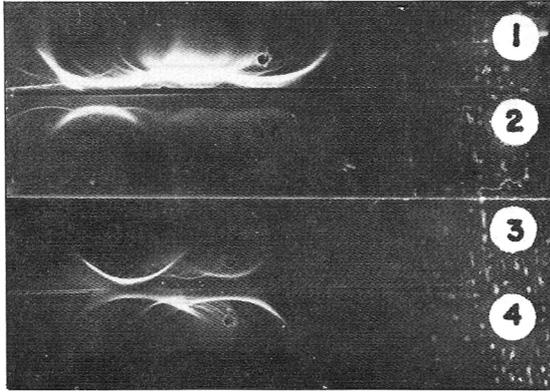


Figura 3. Estudio inmunolectroforético (IEF) de LCR: (1) suero control normal; (2) LCR normal; (3) LCR de un caso de PEESA, en el que se observa aumento de IgG; (4) suero normal como control.

De los hallazgos del presente trabajo puede deducirse que el análisis del LCR en PEESA es imprescindible ya que permite, en conjunto con el estudio clínico, un alto grado de seguridad en su diagnóstico. Es evidente para nosotros que el simple estudio electroforético del LCR, sistematizado en forma tal que utilizando un rápido sistema de concentración permita una electroforesis de impecable calidad, es suficiente, ya que lleva a establecer rápi-

damente los dos índices aquí propuestos, Alb/G y G/Alb, los cuales se complementan. Las cuantificaciones individuales (19) no arrojan ningún dato de real importancia y siendo estudios costosos no se justifica practicarlos. Igual cosa podría decirse del elegante método de la IED (11, 12) que, si bien acelera el proceso permitiendo el resultado en un día y cuantificando simultáneamente Alb/IgG con gran precisión (Figura 2), requiere una técnica dispéndiosa, un exigente control de calidad, sueros monoespecíficos antialbúmina y anti-inmunoglobulina G (no siempre al alcance de todo laboratorio y que limitan su uso) y cámaras y fuentes de poder especiales. En cuanto al estudio inmunolectroforético, cabe decir que no tiene ningún lugar en el estudio del LCR porque proporciona datos apenas semicuantitativos (Figura 3) y escapa a las posibilidades de la mayoría de los laboratorios. En consecuencia, en el estudio de PEESA la simple electroforesis de LCR es suficiente, teniendo como premisa un adecuado control de calidad, ya que permite establecer los dos índices importantes, Alb/G y G/Alb.

La mecánica a seguir sería:

Tabla 3. Correlación entre el índice Alb/G y los índices Alb/IgG, IgG/Alb y G/Alb para los casos incógnita en el índice G/Alb.

Alb/G		Alb/IgG			IgG/Alb			G/Alb		
Variable	Casos	PEESA	No PEESA	Incógnita	PEESA	No PEESA	Incógnita	PEESA	No PEESA	Incógnita
PEESA										
No PEESA	5		0	5		0	5		0	5
Incógnita	4		1	3			4			4
TOTAL	9		1	8			9			9
% Correlación		33,33%			44,4%			44,4%		

Tabla 4. Valores promedio y de rango de algunas proteínas en LCR (mg/100 ml) estimados como normales y encontrados en los casos catalogados como PEESA.

PROTEINAS	VALORES NORMALES			VALORES EN PEESA		
		\bar{X}	Mayor valor	Menor valor	\bar{X}	Mayor valor
Proteínas totales	15,00	30,00	45,00	37,00	66,00	115,00
Albúminas	7,43	15,97	26,51	12,10	19,20	28,00
Gammaglobulina	0,88	3,17	5,46	12,90	26,90	53,10
IgG	2,00	3,00	4,00	2,50	18,40	62,00

1) Establecer el índice G/Alb e interpretarlo así:

Índice $\leq 0,52$ no PEESA
 0,53 a 0,92 incógnita
 $\geq 0,93$ PEESA

2) Establecer el índice Alb/G e interpretarlo así:

Índice $\leq 1,31$ incógnita
 $\geq 1,32$ no PEESA

La aplicación de estos índices solo dejaría sin dilucidar el 9% de los casos. Las Tablas 2 y 3 muestran los análisis de correlación entre índices aplicando el sistema de medición propuesto.

Este estudio, por su simplicidad, se convierte en una prueba tamiz para determinar luego, por pruebas de inhibición de hemaglutinación, anticuerpos antisarampión los cuales, a cualquier título en LCR, constituyen la confirmación diagnóstica de PEESA (20).

SUMMARY

The cerebrospinal fluid (CSF) from 17 patients suffering subacute sclerosing panencephalitis (SSPE) (seen over a four year period) was studied in order to determine the most common alterations in protein content and IgG levels. These results were compared with those obtained from the study of 120 CSF from patients with conditions different from SSPE. It was found that the most frequent abnormality

was an increase of the gamma fraction and IgG levels. The possibility of using albumin/gammaglobulin and gammaglobulin/albumin ratios in the study of SSPE is discussed. A critical analysis of the different technical procedures for the quantification of these fractions are presented.

AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestros agradecimientos a todos los especialistas e instituciones que refirieron pacientes para estudio; al Doctor Alvaro Aguilera por su exhaustivo análisis estadístico y a la dibujante Angela Quintero por la confección de las tablas.

BIBLIOGRAFIA

- 1.— TORO G, HOLGUIN J, URIBE CS, LONDOÑO R. Panencefalitis esclerosante sub-aguda (PEESA) en Colombia. Estudio de 70 casos. Antioq Med 1977; 27: 73-107.
- 2.— SHAW CM, COLIN-BUCHAN G, CARLSON CB. Myxovirus as a possible etiologic agent in subacute inclusion-body encephalitis. New Eng J Med 1967; 277:511-515.
- 3.— FREEMAN JM, MAGOFFIN RL, LENNETTE EH, HERNON RM. Additional evidence of the relation between subacute inclusion body encephalitis and measles virus. Lancet 1967; 2: 129-131.
- 4.— LENNETTE EH, MAGOFFIN RL, FREEMAN JM. Immunologic evidence of measles virus as an etiologic agent in subacute sclerosing panencephalitis. Neurol 1968; 18: (pt. 2) 21-29.
- 5.— HORTA-BARBOSA L, FUCILLO DA, SEVER JL. Subacute sclerosing panencephalitis: isolation of measles virus from a brain biopsy. Nature 1969; 221: 974.
- 6.— PAYNE FE, BAUBLIS JV, ITABASHI HH. Isolation of measles virus from cell cultures of brain from a patient with subacute sclerosing panencephalitis. New Eng J Med 1969; 281:585-589.
- 7.— CHEN TT, WATANABE I, ZEMAN W, MEALEY J. Subacute sclerosing panencephalitis: propagation of measles virus from brain biopsy in tissue cultures. Science 1969; 163: 1193-1194.
- 8.— ALBRECHET P, BURNSTEIN T, KLUTCH MJ et al. Subacute sclerosing panencephalitis. Experimental infection in primates. Science 1977; 195: 64-66.

- 9.— FRIEDMAN HS, CONGER E, McNAIR RD. Proteínas totales en líquido cefalorraquídeo. En: *Métodos Seleccionados de Análisis Clínico*. 2ª ed. Madrid: Editorial Aguilar; 1969: 267-275.
- 10.— LOWRY OH, ROSEBROUGH NJ, FARR AL, RANDALL RJ. Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.
- 11.— LAURELL CB. Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies. *Analytical Biochem* 1966; 15:45-52.
- 12.— TOURTELLOTTE WW, TAROLATO B, PARKER JA, COMISO P. Cerebrospinal fluid electroimmunodiffusion. *Arch Neurol* 1971; 25: 345-350.
- 13.— JOHNSON RT, JOHNSON KP. Myxovirus and infection of the nervous system. *Neurol* 1968; 18: (pt. 2) 101-103.
- 14.— LINK H, MULLER R. Immunoglobulins in multiple sclerosis and infections of the nervous system. *Arch Neurol* 1971; 25: 326-344.
- 15.— AL-KASSAB S, DITTMANN L, OLESEN H. IgG subclasses, barrier function for albumin and production of immunoglobulin G in the central nervous system. *Act Neurol Scandinav* 1979; 60:129-139.
- 16.— THORMAR H, ARNESEN K, MEHTA PD. Encephalitis in ferrets caused by a nonproductive strain of measles virus (DR) isolated from a patient with subacute sclerosing panencephalitis. *J Inf Dis* 1977; 136: 229-238.
- 17.— MEHTA PD, KANE A, THORMAR H. Quantification of measles virus-specific immunoglobulins in serum, CSF, and brain extract from patients with subacute sclerosing panencephalitis. *J Immunol* 1977; 118: 2254-2261.
- 18.— TOURTELLOTTE WW, PARKER JA, HERDON RM, CUADROS CV. Subacute sclerosing panencephalitis: brain immunoglobulin-G, measles antibody and albumin. *Neurol* 1968; 18: (pt. 2)117-121.
- 19.— PALMER DF, WOODS R. Qualification and quantification of immunoglobulins. In: *Immunology series N° 3*. Atlanta: U.S. Dept. Health Educat. Welf. Center for Disease Control; 1972.
- 20.— HORTA-BARBOSA L, KREBS H, LEY A et al. Progressive increase in cerebrospinal fluid measles antibody levels in subacute sclerosing panencephalitis. *Pediat* 1971; 47: 782-783.