Síntesis intratecal de IgG y permeabilidad de la barrera sangre-LCR en el seguimiento de pacientes con esclerosis múltiple tratados con biomodulina T

González-Quevedo Monteagudo Alina,[1] Alfaro Capdegelle Ileana,[2]
Gámez Morales Lorenzo Antonio,[3] Fernández Carriera Rebeca,[2]
Lara Rodríguez Rosa F,[4] Rodríguez Martín Román,[5] Maza Julia[6]

RESUMEN

Introducción: *La esclerosis múltiple (EM) ha sido tratada con diversos agentes inmunomodulares, entre los cuales se encuentran los productos derivados del timo. En el presente trabajo se exponen los resultados de un ensayo clínico abierto, controlado en el que se evaluaron los efectos de la biomodulina T (BT), un producto cubano derivado del timo bovino, sobre el curso de la EM y sobre los estudios evolutivos del líquido cefalorraquídeo (LCR).* ***Pacientes y métodos:*** *Fueron incluidos 19 pacientes con EM de la forma clínica exacerbación-remisión, los cuales recibieron BT (60 mg semanal por vía endovenosa durante un año). Se evaluaron el grado de discapacidad (EDSS) y los parámetros del LCR antes de comenzar el tratamiento, a los seis y a los 12 meses. Las variables de LCR estudiadas fueron: proteínas totales, índice IgG, presencia de bandas oligoclonales por electroforesis en gel de poliacrilamida y permeabilidad de la barrera hematoencefálica.* ***Resultados:*** *A los 12 meses de tratamiento había una mejoría del estado clínico de los pacientes, dada por una disminución del puntaje en la EDSS, que no se acompañó de mejoría en los parámetros de laboratorio.* ***Conclusiones:*** *Aunque se observó una mejoría clínica de los pacientes con EM tratados durante un año con BT, no hubo cambios en los parámetros del LCR. No obstante, el estudio evolutivo del LCR podría ser de utilidad para evaluar la eficacia de la terapia después de periodos más largos y/o durante el tratamiento de las exacerbaciones.*

Palabras claves: *Esclerosis múltiple, biomodulina T, líquido cefalorraquídeo, bandas oligoclonales, índice IgG.*

Rev Mex Neuroci 2007; 8(1): 18-22

Intrathecal IgG synthesis and blood-CSF barrier permeability in the follow up of patients with multiple sclerosis treated with biomoduline T

ABSTRACT

Introduction: *Multiple sclerosis (MS) has been treated with various immunomodulatory drugs, among which products derived from the thymus have been considered. In the present work the results of an open, controlled clinical trial, where the efficacy of biomoduline T (BT) on the clinical course of MS and on the follow up of cerebrospinal fluid (CSF) studies is presented.* ***Patients and methods:*** *Nineteen clinically defined MS patients of the relapsing-remitting form, who received intravenous BT (60 mg weekly during one year), were included. Kurtzke's Disability Status Scale (EDSS) and CSF parameters were evaluated before therapy, and at 6 and 12 months treatment. CSF variables studied were: total protein concentration, IgG Index, presence of oligoclonal bands by polyacrylamide gel eletrophoresis and blood-CSF barrier permeability.* ***Results:*** *After 12 months treatment clinical improvement of the patients was observed, expressed as a decrease of the EDSS score, which was not accompanied by an improvement of CSF parameters.* ***Conclusions:*** *Although clinical improvement was observed in MS patients treated during 12 months with BT, CSF parameters were not changed. However CSF follow up might prove useful for evaluating the efficacy of therapy after lengthier periods and/ or during the treatment of relapses.*

Key words: *Multiple sclerosis, biomoduline T, cerebrospinal fluid, oligoclonal bands, IgG index.*

Rev Mex Neuroci 2007; 8(1): 18-22

1. *MD, PhD. Especialista de segundo grado en Bioquímica Clínica, Profesor e Investigador Titular. Instituto de Neurología y Neurocirugía. C. Habana, Cuba.*
2. *Lic. Investigador Auxiliar. Instituto de Neurología y Neurocirugía. C. Habana, Cuba.*
3. *Dr. Especialista de Primer Grado en Neurología.*
4. *Dra. Especialista de Primer Grado en Neurología. Hospital Universitario "Calixto García". C. Habana, Cuba*
5. *Lic. en Bioquímica. Laboratorio de Biomoduladores. Turismo de Salud, Cubanacán SA.*
6. *Dra. Especialista de Primer Grado en Laboratorio Clínico. Instituto de Neurología y Neurocirugía. C. Habana, Cuba.*

Correspondencia:
Dra. Alina González-Quevedo Monteagudo
Instituto de Neurología y Neurocirugía. Calle 29 Esq. D. Vedado. C. Habana 10400, Cuba. Correo electrónico: aglez@infomed.sld.cu

INTRODUCCIÓN

La esclerosis múltiple (EM), como enfermedad inflamatoria y desmielinizante posiblemente mediada por autoinmunidad, ha sido tratada con relativa eficacia con terapia inmunosupresora e inmunomoduladora. Dentro de esta última se incluyen los interferones beta, el acetato de glatiramer y hormonas tímicas.[1-3] En Cuba se ha utilizado la biomodulina T (BT), un producto compuesto por hormonas del timo bovino para el tratamiento de la exacerbación de la EM tipo E-R con buenos resultados.[4]

La importancia del estudio del líquido cefalorraquídeo (LCR) para el diagnóstico de la EM ha sido muy documentada.[5-7] Según los nuevos criterios de la enfermedad, cuando "*no hay una explicación mejor*" para la disfunción neurológica, las pruebas paraclínicas (dentro de ellas el LCR) juegan un papel primordial.[6] El LCR es utilizado en el diagnóstico de la EM para identificar la síntesis intratecal (SIT) de inmunoglobulinas, representada cuantitativamente por el índice IgG y cualitativamente por la detección de bandas oligoclonales (BOC) en el LCR, pero no en el suero.[6,8] La permeabilidad de la barrera sangre-LCR también puede estar alterada, sobre todo durante los periodos de exacerbación de la enfermedad y en las formas progresivas.[9,10]

Ya desde la década de los 80 se planteaba que las terapias que lograran la reducción del índice IgG podrían mejorar el curso de la EM,[11] por lo que se consideró importante realizar una evaluación del LCR en el curso del tratamiento con BT, como una medida adicional de la eficacia del mismo.

En el presente trabajo se presentan los resultados del estudio del LCR en un ensayo clínico abierto y controlado en el que se evaluó la eficacia de la BT en el curso de la EM.

PACIENTES Y MÉTODOS

Fueron incluidos 19 pacientes (11 mujeres y ocho hombres) con EM definida de la forma exacerbación-remisión (E-R) según los criterios diagnósticos de Poser y de resonancia magnética nuclear de cráneo,[12] que acudieron a consulta entre septiembre de 1998 y agosto del 2001. Se tuvieron en cuenta también los siguientes criterios para la inclusión de los pacientes:

1. Cualquier grado de incapacidad según la escala de Kurtzke (EDSS) y que no se encontraran en una exacerbación de la enfermedad.
2. No haber recibido tratamiento con inmunosupresores (esteroides, corticotropina, azatioprina, citostáticos) ni interferones durante un período de tres meses previo a la inclusión.
3. Consentimiento escrito del paciente.

A los pacientes se les realizó un examen neurológico, con el que se evaluó el grado de discapacidad empleando la escala de Kurtzke (EDSS, por sus siglas en inglés).[13]

Se conformó un grupo control con 28 sujetos (16 mujeres y 12 hombres) sin enfermedad neurológica ni psiquiátrica, que iban a ser sometidos a anestesia raquídea para cirugía ortopédica, con el objetivo de comparar los resultados del estudio de LCR de los pacientes con EM antes de comenzar el tratamiento.

En la tabla 1 se muestra la distribución por sexo y la edad media de los pacientes y controles, así como la distribución de los pacientes según la puntuación en la escala de Kurtzke antes de comenzar el tratamiento.

Los pacientes recibieron 60 mg semanal de BT por vía endovenosa durante un año y se realizó evaluación clínica (EDSS) y del LCR antes de comenzar el tratamiento, a los seis y a los 12 meses.

La evaluación clínica se clasificó como igual (sin variación del EDSS), mejor (al menos un punto menos en la EDSS) o peor (al menos un punto más en la EDSS).

Estudio del LCR

Se extrajeron 2 mL de LCR por punción lumbar no traumática tanto a los pacientes como a los controles. El LCR se centrifugó a 1,000 g durante 10 minutos para la obtención del sobrenadante. Además, se extrajeron 2 mL de sangre para obtener suero. El LCR y el suero se conservaron a -20 ºC hasta su procesamiento.

Se realizaron las siguientes determinaciones:

1. Proteínas totales (PT) del LCR por el método de Lowry.[14]

TABLA 1
Caracterización general del grupo control y de los pacientes con esclerosis múltiple

Grupos	Sexo		Edad (años)	Escala de Kurtzke (EDSS)	
	M	F		1-4	5-9
Controles	12	16	39.2 ± 7.3	-	-
Pacientes	8	11	39.6 ± 5.7	9	10

Tabla 2
Concentración de proteínas totales del LCR e índice IgG en los pacientes con EM antes de iniciar el tratamiento

Estudio del LCR	Controles (n = 28)	Pacientes (n = 19)
Proteínas totales (mg/dL)	34.8 + 2.0	52.3 + 9.8*
Indice IgG	0.47 ± 0.15	1.29 ± 0.25**

** t = 2.087, p = 0.042 ; ** t = 4.34, p = 0.001.*

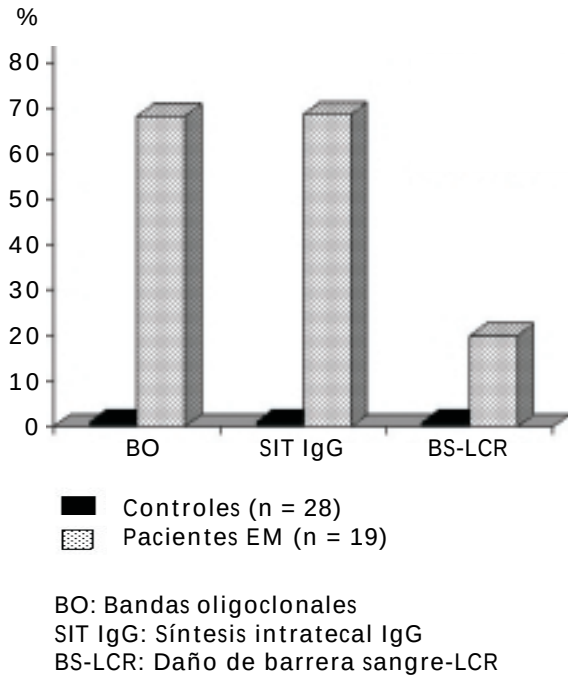

Figura 1. Síntesis intratecal de IgG y daño de la barrera sangre-LCR en pacientes con EM tipo E-R antes del tratamiento.

2. Electroforesis de las proteínas en gel de poliacrilamida al 7.5%, según el método de Ornstein y Davis[15,16] para la detección de BOC y estado funcional de la barrera sangre-LCR (BS-LCR).
3. Cuantificación de albúmina e IgG en suero y LCR por inmunodifusión radial simple.[17]
4. Cálculo del índice Q para la evaluación del estado funcional de la BS-LCR:[9]

   a) Alb LCR/Alb suero x 1000.

5. Cálculo del índice IgG para la evaluación de la presencia de síntesis intratecal (SIT) de IgG:[18]

   a) (Alb LCR/Alb suero) / (IgG LCR/IgG suero).

Análisis estadístico

Se calcularon las medias y desviaciones estándar de las variables cuantitativas estudiadas (edad, EDSS, PT e Índice IgG) y las frecuencias de las variables nominales (BOC, SIT de IgG y daño de la BS-LCR). Para la comparación de las PT entre controles y pacientes se empleó la prueba t de Student y para la comparación de múltiples variables cuantitativas (mediciones al inicio, seis y 12 meses) se empleó la prueba no paramétrica de Friedman ANOVA. La prueba de comparación de proporciones se utilizó para la comparación de las frecuencias relativas de las variables nominales. En todos los casos se trabajó con un nivel de significación de $p < 0.05$.

RESULTADOS

Al año de tratamiento la evolución clínica de los pacientes fue la siguiente: Igual: 4 (21.0%); mejor: 10 (52.6%) y peor: 5 (26.3%).

En la tabla 2 se muestran los resultados de la cuantificación de PT del LCR y del índice IgG en el grupo control y en los pacientes con EM antes de iniciar el tratamiento con BT. Los pacientes mostraron un incremento significativo de las PT del LCR ($p < 0.05$) y del Indice IgG ($p < 0.001$) con respecto al grupo control. La figura 1 muestra los porcentajes de pacientes y controles en los que se detectó la presencia de BOC, síntesis intratecal de IgG y daño de la BS-LCR. De los pacientes, 68.4 y 68.8% presentó BOC en el LCR y síntesis intratecal de IgG, respectivamente, y sólo se observó daño de la BS-LCR en 20%. En el grupo control no se observó ningún caso con BOC, síntesis intratecal de IgG, o daño de la BS-LCR.

En la tabla 3 se presenta la evaluación clínica (EDSS) y las variables de LCR de los pacientes antes de iniciar el tratamiento con BT, a los seis y los 12 meses de iniciado el mismo. El análisis estadístico empleado para las variables cuantitativas (prueba de Friedman ANOVA) demostró que a los 12 meses de tratamiento había una mejoría significativa ($p < 0.05$) en la evaluación clínica de los pacientes medida según la escala de Kurtzke (EDSS). Sin embargo, no se observaron variaciones de la concentración de PT ni del índice IgG a los seis y a los 12 meses de tratamiento. El porcentaje de pacientes con daño de la BS-LCR se mantuvo prácticamente igual antes del tratamiento, a los seis y a los 12 meses (entre 20 y 25% de los pacientes). Aunque a los 12 meses de tratamiento se observa una tendencia a la disminución del porcentaje de pacientes con síntesis intratecal de IgG (evaluada por el índice IgG y por la presencia de BOC en el

Tabla 3
Seguimiento de la evaluación clínica y de laboratorio en los pacientes tratados con biomodulina T

Tiempo de tratamiento	EDSS *	PT (mg/dL)	Índice IgG	Daño BS-LCR (%)	Síntesis IT IgG (%)	B.O. (%)
Inicial	4.6 ± 0.5 (19)	52.3 ± 9.8 (19)	1.29 ± 0.25 (16)	20.0% (15)	68.7% (16)	68.4% (19)
6 meses	4.1 ± 0.5 (19)	57.5 ± 7.8 (18)	1.22 ± 0.24 (15)	26.7% (15)	60.0% (15)	64.7% (17)
12 meses	2.8 ± 0.9 (12)	58.7 ± 9.4 (12)	1.31 ± 0.32 (9)	25.0% (8)	55.6% (9)	58.3% (12)

* *Friedman ANOVA (N = 5, gl = 2) = 6.0; p = 0.049. Entre paréntesis número total de pacientes. BS-LCR: Barrera sangre-LCR. Síntesis IT: Síntesis intratecal.*

LCR), esta diferencia no resultó significativa (Tabla 3).

Cuando se subdividieron los pacientes de acuerdo con la severidad clínica inicial según la escala de Kurtzke (1-4 y 5-8) y a la respuesta clínica después del tratamiento (igual, mejor o peor), tampoco se observaron variaciones significativas en los resultados de los parámetros del LCR antes y después del tratamiento: PT, índice IgG, así como porcentaje de pacientes con daño de la BS-LCR, síntesis intratecal de IgG y BOC (datos no mostrados).

DISCUSIÓN

Los estudios del LCR antes del tratamiento mostraron resultados similares a los obtenidos por nosotros en otras muestras de pacientes con EM: elevación discreta de las PT, presencia de BOC y síntesis intratecal de IgG en aproximadamente 65% de los mismos.[19,20] Fortini y cols.[21] reportaron 60% de pacientes con BOC empleando electroforesis de alta resolución en gel de agarosa y 90% cuando se aplicó la focalización isoeléctrica. Actualmente este último es el método de mayor sensibilidad y el de elección –cuando está disponible– para la detección de BOC.

Al año de tratamiento con BT durante el curso de la enfermedad, 73.7% de los pacientes se encontraban igual o mejor de acuerdo con la evaluación clínica por la escala de Kurtzke. Al comparar la EDSS evolutivamente se demostró que a los seis meses de tratamiento no había mejoría clínica significativa, pero sí a los 12 meses. Sin embargo, esta mejoría clínica no se acompañó de mejoría en los parámetros del LCR cuando se realizó el análisis evolutivo de los mismos (PT, Índice IgG, síntesis intratecal de IgG, BOC y daño de la BS-LCR) a los seis y 12 meses de tratamiento. En un paciente tratado por nuestro equipo de trabajo con pulsos de BT en el curso de un brote de la enfermedad, se observó una disminución marcada del índice IgG siete días después del tratamiento, que coincidió con una mejoría clínica en la escala de Kurtzke (datos no publicados).

Se ha planteado que la reducción del índice IgG podría utilizarse como un indicador de mejoría en el curso del tratamiento de la EM.[9] Por otro lado, las bandas oligoclonales –que aparecen tempranamente– son extremadamente constantes durante el curso de la enfermedad.[22] Se ha señalado que el tratamiento con drogas inmunosupresoras disminuye la velocidad de síntesis intratecal de IgG y puede disminuir la intensidad de la tinción de las BOC, pero el patrón general permanece inalterado.[23] Amato y Ponziani[24] reportaron una asociación de éstas con el pronóstico de la enfermedad y recomiendan su utilización como parámetros secundarios en la evaluación de ensayos clínicos.

En un grupo de 17 pacientes con EM clínicamente definida, forma E-R (EDDS entre 1.5-5) que recibieron durante tres años BT (artículo en esta misma revista) se observó disminución del índice IgG en 58.8%. La comparación pareada de esta variable antes del tratamiento y a los tres años mostró que esta disminución era significativa. La ausencia de respuesta a los seis meses y al año de tratamiento con BT pudiera indicar que se necesita más tiempo de tratamiento para que se observe una disminución de la síntesis intratecal de IgG.

En conclusión, podemos decir que el tratamiento del curso de la EM tipo E-R con BT durante un año mostró mejoría clínica de los pacientes, sin acompañarse de una mejoría de los parámetros del LCR indicativos de daño de la BS-LCR y síntesis intratecal de IgG. La evaluación del LCR con más

tiempo de tratamiento y/o durante el brote de la enfermedad pudiera brindar información adicional acerca de la eficacia de este medicamento.

REFERENCIAS

1. *Gonsette RE. La terapia combinada en la esclerosis múltiple. Cuadernos de Esclerosis Múltiple 2004; 17.*
2. *Hafler DA. Multiple sclerosis. J Clin Invest 2004; 113: 788-94.*
3. *Baxevanis CN, Sfagos C, Anastasopoulos E, Reclos GJ, Papamichail M. Prothymosin-alpha enhances HLA-DR antigen expression on monocytes from patients with multiple sclerosis. J Neuroimmunol 1990; 27: 141-7.*
4. *Lara Rodríguez RF, Gámez Morales L, Rodríguez R, Paz Sendin L, Vargas A, Viada González C, et al. Multicenter clinical trial: Treatment of the exacerbation of multiple sclerosis with biomodulina T (1998-2003), clinical efficacy. Arquivos de Neuro-psiquiatría. Jornal Oficial da Academia Brasileira de Neurología 2004; 62(Supl 1): 36.*
5. *Charles MP. Multiple sclerosis observations and reflections. A personal memoir. J Neurolog Scien 1992; 107: 127-40.*
6. *Freedman MS, Thompson EJ, Deisenhammer F, Giovannoni G, Grimsley G, Keir G, Öhman S, Racke MK, Sharief M, Sindic CJM, Sellebjerg F, Tourtellotte WW. Recommended standard of cerebrospinal fluid analysis in the diagnosis of multiple sclerosis. Arch Neurol 2005; 62: 865-70.*
7. *McDonald WI. Diagnosis of multiple sclerosis. BMJ 1989; 299: 635-7.*
8. *Robinson Agramonte MA, Guzmeli V, Martínez Benítez M, Infante Velásquez E, Galvizo Sánchez RJ, Ochoa Zaldívar M, Robinson Agramante JE. Contribución de la detección de bandas oligoclonales (BOC) en LCR para la confirmación del diagnóstico de Esclerosis Múltiple (EM). Rev Mex Neuroci 2005; 6(1): 8-15.*
9. *Tourtellotte WW, Ma B. Multiple sclerosis: the blood brain barrier and the measurement of the novo central nervous system IgG synthesis. Neurology 1978; 28: 76-83.*
10. *Gámez L, Alfaro I, Fernández R, González-Quevedo A, Infante-Velázquez E, Bender del Busto JE. Algunas reflexiones sobre las formas progresivas de esclerosis múltiple. Rev Mex Neuroci 2004; 5(5): 523-4.*
11. *Tourtellotte WW, Syndulko K, Baumhefner RW, Shapshak P, Osborne M. A Comprehensive protocol for clinical trial in MS which favoured azathioprine and corticosteroid as type of treatment for chronic progressive phase. Neurology 1988; 38(Suppl.): 83-5.*
12. *Miller DH. The role of MRI in the diagnosis and treatment of MS patients. MS management 1995; 2-1: 36-42.*
13. *Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). Neurology 1983; 33: 1444-52.*
14. *Lowry OH, Rosebrugh RJ, Farr Al, Randal RJ. Protein measurement with Folin phenol reagent. J Biol Chem 1951; 193: 265-75.*
15. *Ornstein L. Disc electrophoresis. Part I: Background and theory. Ann NY Acad Sci 1964; 121: 321-41.*
16. *Davis BJ. Disc electrophoresis. Part II: Method and application to human serum proteins. Ann N Y Acad Sci 1964; 121: 404-27.*
17. *Mancini G, Carbonara AO, Heremans JF. Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. Immunochemistry 1965; 2: 235-54.*
18. *Tibling G, Link H, Ohman S. Principles of albumin IgG analysis in neurological disorders. I. Establishment of reference. Scand J Clin Lab Invest 1977; 37: 385-90.*
19. *Cabrera-Gómez JA, Aechazabal N, Aguilera O, Casanova M, Gómez I, Ramos AM, González-Quevedo A, Fernández R, Vals O, Rodríguez A, Cabrera Núñez JA. Esclerosis múltiple en Cuba. Estado actual y perspectivas. Rev Neurol Argentina 2000; 25(Suplem) 3: 8.*
20. *Fernández R, González-Quevedo A, Alfaro I, Gámez L, Cabrera JA, Suárez I, Vicente I. Gelatinasas A y B en el líquido cefalorraquídeo de pacientes con esclerosis múltiple. Rev Neurol Argentina 2000; 25, Suplem 3.*
21. *Fortini AS, Sanders EL, Weinshenker BG, Katzmann JA. Cerebrospinal fluid oligoclonal bands in the diagnosis of multiple sclerosis. Am J Clin Pathol 2003; 120(5): 672-75.*
22. *Ebers GC. Oligoclonal banding in MS. Ann NY Acad Sci 1984; 436: 206-12.*
23. *Poser CM. An Atlas of multiple sclerosis. New York – UK: The Parthenon Publishing Group; 1998.*
24. *Amato MP, Ponziani G. A prospective study on the prognosis of multiple sclerosis. Neurol Sci 2000; 21: S831-S838.*