

RESEÑA

## ASIMILACIÓN DEL MÉTODO DE FOCALIZACIÓN ISOELÉCTRICA EN AGAROSA Y APLICACIÓN DEL ELISA AL ESTUDIO DE LA RESPUESTA DE ANTICUERPOS EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL DE PERSONAS CON ESCLEROSIS MÚLTIPLE

**Dra. María de los Ángeles Robinson Agramante.**

Especialista de 2do Grado en Inmunología, Investigadora Auxiliar y Profesora Auxiliar.  
Departamento de Inmunoquímica, Centro Internacional de Restauración Neurológica, Avenida 25 y Calle 158, Playa,  
Ciudad de La Habana, Cuba.

23 de julio de 2010.

TRABAJO PRESENTADO EN OPCIÓN AL GRADO CIENTÍFICO DE DOCTORA EN CIENCIAS MÉDICAS.

La esclerosis múltiple (EM), es una enfermedad neurodegenerativa primaria, inflamatoria, desmielinizante y autoinmune, que afecta el Sistema Nervioso Central (SNC) y Periférico. La frecuencia de la EM difiere ampliamente a nivel mundial y se encuentra entre las más de 50 enfermedades neurológicas autoinmunes que afectan a casi 75 millones de personas en el mundo. Es más frecuente en mujeres entre los 20 y 40 años de edad y constituye la mayor causa de discapacidad neurológica en el adulto joven. La frecuencia de la enfermedad difiere ampliamente a nivel mundial y muestra un gradiente norte-sur desde áreas de elevada prevalencia (Europa, regiones templadas de EE. UU. y Australia, 50-100/100 000) hasta las de baja prevalencia (Japón, sureste asiático, África y regiones tropicales, 5-10/100 000). Estudios publicados ubican a Cuba en una zona de baja prevalencia (4,43/100 000; 95 % IC 4,03-4,82), con un registro nacional de 1 235 personas portadoras de EM (70 % mujeres) y de 10-25,5/100 000 habitantes en la provincia Cienfuegos. Desde el punto de vista clínico, se caracteriza por episodios concretos de déficit neurológico, separados por cuadros de remisión, progresión o ambos, que varían sobre la base del tamaño y localización de la lesión y el diagnóstico se basa en tres pilares fundamentales: el cuadro clínico como regla de oro, la identificación temporo-espacial de las lesiones por imágenes de resonancia magnética nuclear y la identificación de síntesis intratecal de inmunoglobulinas en el líquido cefalorraquídeo (LCR), confirmatorio en los casos donde la imagenología no es definitiva para el diagnóstico. Metodologías de sensibilidad y especificidad variables se utilizan usualmente en la identificación de síntesis intratecal de inmunoglobulinas, sin embargo, la detección de bandas oligoclonales en el LCR, representa el método de mayor sensibilidad para evidenciar este hallazgo.

Por otro lado, presencia de una respuesta inmune antiviral poliespecífica en el LCR, se ha convertido en los últimos años en una herramienta potencial para evidenciar la respuesta crónica autoinmune en el SNC, a partir de que más del 80 % de las personas con EM muestran una respuesta inmune humoral intratecal contra los virus neurotrópicos y su menor frecuencia en otras enfermedades inflamatorias del SNC y se ha reportado además, la identificación de autoanticuerpos contra la proteína ligera de neurofilamento en el LCR de personas con EM como marcador de progresión para la enfermedad.

Es evidente que la amplia heterogeneidad clínica, neuropatológica e inmunogenética de la EM y la necesidad de poder contar con herramientas auxiliares para su diagnóstico y seguimiento. Sin embargo, actualmente, no se dispone en Cuba, de métodos lo suficientemente sensibles para el diagnóstico temprano de la enfermedad, ni de marcadores biológicos que permitan predecir cambios clínicos relacionados con el daño axonal y su progresión.

Con estos antecedentes, la autora se propuso asimilar y validar tecnologías de gran sensibilidad, no disponibles en el país, de valor diagnóstico y para la caracterización de marcadores neuroinmunes en personas con EM, sobre la base de la evaluación de la respuesta de anticuerpos desde el análisis del LCR y el grado de asociación probable con variables clínicas de interés para la enfermedad.

El trabajo muestra la asimilación del método de focalización isoeléctrica (FIE) para la detección de BOC en el LCR, la aplicación de un ensayo inmunoenzimático para la evaluación de la respuesta de anticuerpos específica [contra virus neurotrópicos y la proteína ligera de neurofilamentos, (PLNF)] en personas con EM y la evidencia, por primera vez reportada de un punto de contacto clínico biológico entre el ritmo de recaída y el índice de anticuerpos contra la PLNF, reportada por algunos grupos como marcador de progresión de la enfermedad.

Se evaluaron 106 personas con el diagnóstico de EM, según los criterios de McDonald, así como portadoras de otras enfermedades neurológicas y controles. El diagrama metodológico general del estudio incluyó la asimilación del método de FIE e inmunodetección para la detección de bandas oligoclonales en LCR, la caracterización idiotípica de la respuesta de anticuerpos (Acs) en SNC de personas con EM y la evaluación de la utilidad de los métodos asimilados en el diagnóstico y seguimiento clínico en EM. Para la asimilación del método de FIE se realizó una validación interna (sensibilidad, especificidad, valores predictivos de positividad y negatividad, eficacia global, precisión y concordancia) y una validación externa (evaluación a ciegas con el laboratorio de referencia) según el procedimiento establecido en el laboratorio de referencia internacional (Laboratorio de Inmunoquímica de la Universidad de Gottingen, Alemania) y los criterios reportados por el grupo de expertos (Anderson y cols., 1994) para este sistema diagnóstico. La caracterización de la respuesta de anticuerpos específica en el LCR, se basó en la evaluación de la respuesta contra virus neurotrópicos y la proteína ligera de neurofilamentos mediante la evaluación del Índice de Acs y la estimación de la fracción específica. La utilidad de los métodos asimilados estuvo basada en su sensibilidad para el diagnóstico y para evidenciar eventos clínicos relacionados con la enfermedad. Esto último, a partir de la relación estadísticamente significativa demostrada con las variables clínicas consideradas: formas clínicas, ritmo de recaídas, grado de discapacidad y tiempo de evolución. En la evaluación de la respuesta idiotípica también se tuvo en cuenta la comparación con pacientes europeos.

La introducción del método de FIE con inmunodetección para la detección de bandas oligoclonales en el LCR, constituye uno de los aportes más relevantes de este trabajo, por su contribución al diagnóstico confirmatorio y de exclusión en enfermedades neurológicas, avalado en la sensibilidad obtenida (83,3 %), el valor predictivo de positividad, la eficacia global y la capacidad discriminativa demostrada (mayor del 90 %) para evidenciar la presencia de síntesis intratecal, con un alcance superior al de los métodos que hoy se utilizan en los laboratorios con este propósito.

La respuesta de Acs contra virus neurotrópicos (sarampión, rubéola, varicela zoster), mostró diferencias comparado con lo reportado en el grupo de pacientes europeos, relativo a una menor frecuencia de positividad del índice de Ac para el virus de la rubéola en estos últimos. La estimación indirecta del daño axonal basada en el análisis del índice de A contra la proteína ligera de neurofilamentos (IAPLNF) y el cálculo de la fracción de Ac específica contra la PLNF en el LCR, esta última como medida de intensidad de la respuesta y la relación significativa del IAPLNF con el ritmo de recaídas en las personas portadoras de EM, permitió evidenciar además, un punto de contacto clínico-biológico en esta entidad, no reportado con anterioridad y de valor potencial como marcador para evaluar la progresión de la enfermedad.

El método asimilado aporta una herramienta auxiliar de apoyo clínico asistencial, no disponible actualmente en el país. El comportamiento diferencial de la respuesta contra virus neurotrópicos en personas cubanas con EM respecto a lo reportes previos, se sustenta en factores referidos a la hipótesis de la higiene. La correlación significativa del IAPLNF con el ritmo de recaídas en las personas cubanas con EM, permitió establecer un punto de contacto neurobiológico no reportado con anterioridad y aporta también una herramienta auxiliar como indicador de progresión para la enfermedad.

La tesis doctoral consta de diez capítulos, cada uno de ellos describe después de la Introducción los aspectos siguientes: Marco teórico que desarrolla las bases del conocimiento actual sobre el problema, hace una reseña histórica sobre los aspectos epidemiológicos, clínicos, de diagnóstico, neuropatológicos y neuroinmunológicos más actuales de la EM y hace énfasis en las metodologías en las cuales se basa el diagnóstico y el estudio de marcadores para la enfermedad y los reportes desde los diferentes grupos de investigación en este campo; el diseño metodológico incluye tanto la descripción detallada de la metodología seguida en el estudio para dar respuesta a los objetivos planteados, así como las herramientas estadísticas usadas; los resultados igualmente revelan los resultados de la validación del método FIE e inmunodetección y los resultados de los ensayos inmunoenzimáticos dirigidos al estudio de la respuesta de Acs idiopática y su relación con las variables clínicas. Se realiza además una detallada discusión en la que se tienen en cuenta los reportes de los diferentes grupos líderes en este tema y los obtenidos en este trabajo. Consideraciones propias del análisis de la autora son también expuestas en la discusión. A lo anterior, le siguen los acápites de Conclusiones, Recomendaciones, Referencias Bibliográficas y Anexos. Todos estos aspectos, se desarrollan en 116 páginas, en las que se incluyen 202 referencias bibliográficas, ocho tablas y 12 figuras. El 70 % de la bibliografía corresponde a los últimos cinco años.

En la tesis se presentan resultados publicados en cuatro revistas internacionales de alto factor de impacto, un capítulo de un libro editado en EE. UU. y dos capítulos incluidos en dos libros editados en Cuba. Estos resultados han sido objeto además, de Premios Anuales de Salud (4), de la Sociedad Cubana de Inmunología (2) y de la Academia de Ciencias de Cuba (1) y presentados en eventos nacionales e internacionales. El método de FIE asimilado ha formado parte del programa docente impartido en cursos y adiestramientos nacionales y de documentos de Buenas Prácticas.

La reciente edición de las Guías de Práctica Clínica en EM, les confiere a estos resultados un impacto adicional y un elevado grado de aplicabilidad y perspectivas futuras, por su contribución en la práctica clínica, al conocimiento científico y en la calidad de los servicios clínicos asistenciales que se brindan a las personas portadoras de esta enfermedad.