

Nuevo reibergrama para la evaluación de la síntesis intratecal de IgG₃

El reibergrama, también conocido como diagrama de Reiber o diagrama de las razones de Reiber [1,2], constituye una herramienta fundamental para el análisis del líquido cefalorraquídeo (LCR). Este diagrama se definió primero para las principales clases de inmunoglobulina: IgG, IgA e IgM [3-5]. Sin embargo, la teoría del flujo molecular/circulación del LCR sobre la cual se fundamenta el diagrama, no se restringe a las inmunoglobulinas.

La evaluación de proteínas marcadoras tumorales como el antígeno carcinoembrionario (ACE) es posible en este tipo de diagramas con líneas discriminatorias hiperbólicas. Una síntesis intratecal de ACE debido a una metástasis cerebral de un tumor sintetizador de ACE [6] puede evaluarse en el diagrama de IgA porque el ACE y la IgA tienen similares coeficientes de difusión.

Felgenhauer [7] ha señalado la clara correlación entre la razón LCR/suero y el radio hidrodinámico de la moléculas. La masa molecular influye directamente en el radio hidrodinámico y es inversamente proporcional al coeficiente de difusión de la molécula.

Para la determinación de síntesis intratecal de subclases de IgG se tomó en cuenta el reibergrama de la IgG y se adoptó para las cuatro subclases [8-12].

Sin embargo, si nos detenemos en algunas características de la IgG₃ nos percatamos de que ésta tiene características físicas, químicas y biológicas que la alejan de la IgG₁, IgG₂ e IgG₄.

Por ello, nuestro objetivo es la búsqueda de un diagrama de las razones que se ajusten mejor a las características de esta proteína tan importante en algunas enfermedades neurológicas [13-17] y que corresponde al reibergrama de la IgA.

Se analizaron las características moleculares de las clases A, M, G y subclases de IgG con el objetivo de ver cuál de las clases mayores se ajusta mejor a las características de la IgG₃.

Paralelamente, procedimos a comparar los resultados del nuevo reibergrama para la IgG₃ con los resultados obtenidos para la síntesis intratecal de IgG a partir de las fórmulas de Link [18] y Schuller [19], y del reibergrama [3] originalmente usado para la IgG.

Las formulas originales utilizadas en la comparación se muestran de forma detallada a continuación:

La fórmula de Link [18] es la siguiente:

$$\frac{IgG_{LCR}/IgG_{SUERO}}{Alb_{LCR}/Alb_{SUERO}}$$

La fórmula de Schuller [19]:

$$[IgG_{LCR}(mg/L) - (0.9 + (Alb_{LCR}(mg/L) - 240/60) \times IgG_{SUERO}(g/L))]$$

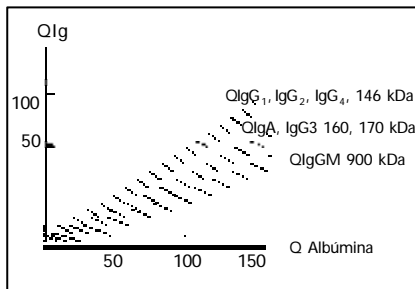


Figura 1. Se muestra la variación que se produce en la razón inmunoglobulina (Q_{lg}) cuando se incrementa la razón albúmina (Q_{alb}), que es una medida de la disminución de la velocidad de flujo. A medida que aumenta la masa molecular de las inmunoglobulinas, disminuye la pendiente.

Tabla I. Características moleculares y biológicas de las subclases de IgG e IgA

	IgG ₃	IgA	IgG ₁	IgG ₂	IgG ₄
Masa molecular	170	160	146	146	146
Radio hidrodinámico	58	58	52	52	52
Concentración media en suero (g/l)	0,51	3	6,98	3,8	0,56

El reibergrama original se basa en la fórmula hiperbólica [3]:

$$IgG_3(Loc) = [Q_{lgG_3} - 0.9\sqrt{(Q_{alb})^2 + 6 \times 10^{-6}} + 1.7 \times 10^{-3}] \times IgG_{SUERO}$$

El reibergrama que se propone utiliza las constantes de la IgA [3] y queda de la siguiente manera:

$$IgG_3(Loc) = [Q_{lgG_3} - 0.77\sqrt{(Q_{alb})^2 + 23 \times 10^{-6}} + 1.7 \times 10^{-3}] \times IgG_{SUERO}$$

Se utilizaron para la comparación los resultados obtenidos por estas fórmulas en un grupo de 43 pacientes pediátricos afectados de meningoencefalitis por echovirus 6, a los que se les tomaron muestras simultáneas de suero y LCR en el momento de ingreso como parte del análisis para el diagnóstico, y se les cuantificaron IgG₃ y albúmina en cada líquido biológico. La comparación de las distintas fórmulas fue realizada a través de curvas ROC [20]. Para la confección de las curvas y las áreas, así como la comparación estadística de ellos, se usó el programa MEDCALC versión 6.0.

Atendiendo a la masa de la molécula de mayor peso entre las cuatro subclases, no decidimos utilizar el reibergrama desarrollado para la IgA, ya que ambas moléculas tienen más similitudes que con las otras subclases de IgG, como se puede apreciar en la tabla I.

En la figura 1 se muestra la variación producida cuando se incrementa la razón albúmina, que es una medida de la disminución de la velocidad de flujo del LCR. A medida que aumenta esta razón, se incrementa la razón de las inmunoglobulinas atendiendo al flujo molecular.

El reibergrama tradicionalmente utilizado para la evaluación de la respuesta de síntesis intratecal de subclases de IgG no toma en cuen-

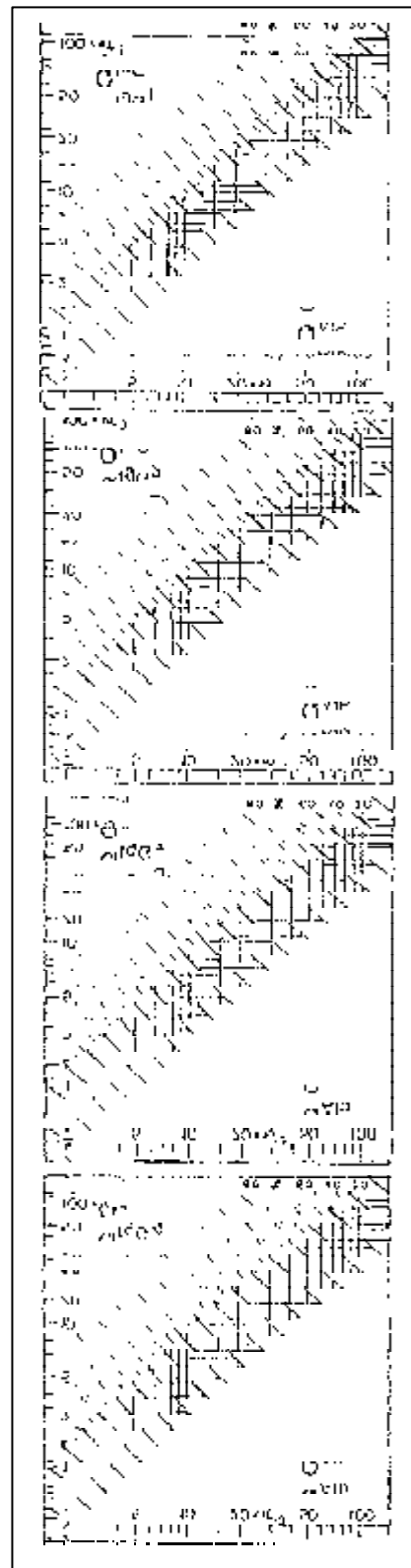


Figura 2. Reibergrama tradicional utilizado para la determinación de síntesis intratecal de subclases de IgG. Obsérvese que no existen diferencias en el reibergrama para las distintas subclases basadas en la curva hiperbólica de la IgG informada por Reiber [4,5] donde la razón de IgG (Q_{lgG}) varía en función de la disminución del flujo del LCR con aumento de la Q_{alb}.

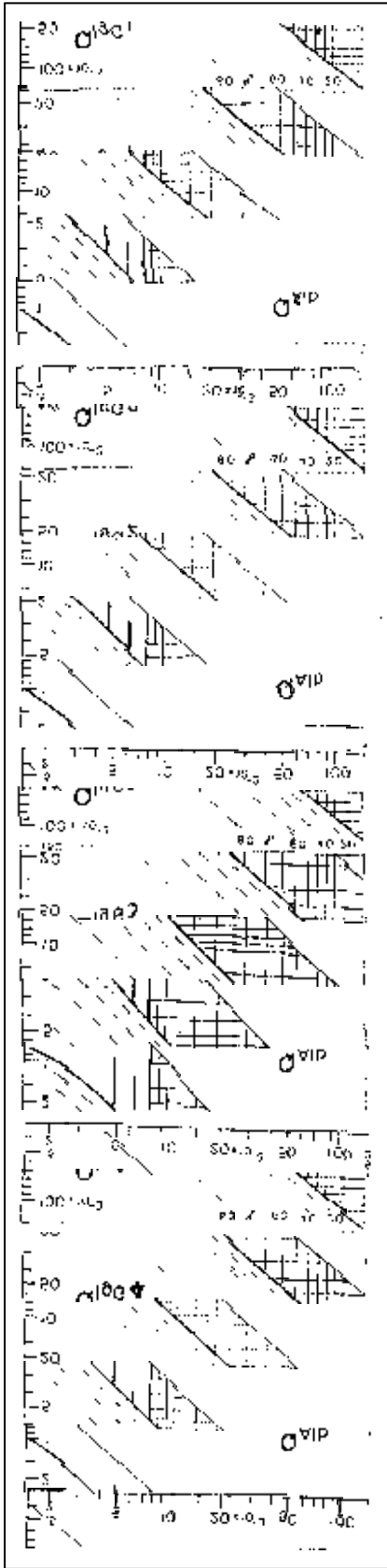


Figura 3. Nuevo reibergrama propuesto para la determinación de la síntesis intratecal de subclases de IgG. En éste, el reibergrama para la IgG₃ es diferente y se corresponde con los parámetros ajustados a la masa molecular de esta proteína similar a la IgA y al antígeno carcinoembrionario.

Tabla II. Curvas ROC para las distintas fórmulas aplicadas a la muestra de pacientes.

Fórmula	Grupo + (n)	Grupo - (n)	Área	Desviación estándar (95% IC)	Puntos de corte	Sensibilidad (95% IC)	Especificidad (95% IC)	Cocientes de verosimilitud	
								+	-
Índice IgG ₃	27	16	1,00	0(1-1)	>0	100 (0-100)	0(0-0)	1,00	-
					>0,58+	100 (0-100)	100 (100-100)	-	0
					>27,1	0(0-0)	100 (100-100)	1,00	-
Schuller IgG ₃	13	31	0,999	0,007 (0,916-1)	≥0	100	0	1,00	-
					>0+	100	96,8	30,99	0
					>0,836	92,3 (63,9-98,7)	100	-	0,08
					>30	0	100	-	1,00
Reiber IgG ₃	31	12	1,00	0	≥0	100	0	1,00	-
					>0+	100	100	-	0
					>30	0	100	-	0
Nuevo reibergrama IgG ₃	31	12	1,00	0	≥0	100	0	-	-
					>0+	100	100	0	0
					>30	0	100	1,00	-

+: punto de corte óptimo; IC: intervalo de confianza.

Tabla III. Comparación del nuevo reibergrama con las otras fórmulas a partir de las curvas ROC.

Comparación	Grupo + (n)	Grupo - (n)	Curva ROC	Curva ROC	Diferencia entre las curvas		
					Dif. área	Desviación estándar	p
Índice IgG ₃ y nuevo reibergrama	37	11	Nuevo reibergrama Área= 0,928 DE= 0,037 (95% IC)= (0,814-0,982)	Índice IgG ₃ Área= 0,969 DE= 0,023 (95% IC)= (0,873, 0,996)	0,042	0,022 (0,01-0,084)	0,05
Shuller IgG ₃ y nuevo reibergrama	42	10	Nuevo reibergrama Área= 0,896 DE= 0,045 (95% IC)= (0,814-0,982)	Shuller IgG ₃ Área= 0,546 DE= 0,1 (95% IC)= (0,78-0,963)	0,350	0,086 (0,162-0,538)	0
Reibergrama IgG ₃ y nuevo reibergrama	37	10	Nuevo reibergrama Área= 0,919 DE= 0,039 (95% IC)= (0,805-0,977)	Reiber IgG ₃ Área= 0,798 DE= 0,066 (95% IC)= (0,659-0,977)	0,12	0,560,031 (0,0116-0,230)	

Tabla IV. Correlaciones entre los resultados de las distintas fórmulas.

Correlación	N	r (95% IC)	p
Nuevo reibergrama IgG ₃ - índice IgG ₃	43	0,4891 (0,2212-0,6883)	0,0009
Nuevo reibergrama IgG ₃ - Schuller IgG ₃	43	0,0948 (0,2116-0,3842)	0,544
Nuevo reibergrama IgG ₃ - reibergrama IgG ₃	43	0,7237 (0,5409-0,8412)	0,000

ta las características peculiares de la IgG₃ y evalúa esta proteína con los mismos parámetros que la IgG₁, IgG₂ e IgG₄, que si se asemejan al informado para la IgG (Fig. 2) [4,5].

En la tabla II se muestran las curvas ROC para las distintas fórmulas aplicadas a la muestra de pacientes. Para cada una de las pruebas existe un valor normal informado en la literatura.

Los valores de síntesis de IgG₃ en el reibergrama tradicional y en el que proponemos lo hemos expresado en fracción intratecal, o sea, se convirtieron en porcentaje (%) de IgG₃ sintetizado respecto al total medido en LCR, por lo que el valor normal es 0, ya que normalmente no

debe producirse síntesis intratecal de inmunoglobulinas.

Como podemos apreciar en la tabla II, el punto de corte óptimo para la muestra en el índice IgG₃ es 0,58, y para el resto, 0.

En la tabla III aparecen las comparaciones de curvas ROC. Como se observa, existen diferencias significativas entre ellas, lo que significa que hay diferencias de sensibilidad y especificidad en los métodos utilizados. El nuevo reibergrama para la IgG₃ tiene mayor área bajo la curva con respecto al tradicional y a la fórmula de Schuller.

Otra forma de comparación aparece en la

tabla IV, donde la mejor correlación se estableció entre los dos reibergramas.

La IgG₂ tiene características peculiares que la distinguen de las otras subclases de IgG. La región de la bisagra representa cuatro veces el tamaño de la bisagra de las otras subclases de IgG y contiene 11 enlaces disulfuro intercatenar [21], mientras que la IgG₁, IgG₂ e IgG₄ sólo tienen dos, cuatro y dos enlaces, respectivamente.

Su masa molecular es mayor, al igual que el radio hidrodinámico, que lo acercan más a la IgA que a las otras subclases. Existe una clara correlación entre la razón LCR/suero y el radio hidrodinámico de las moléculas, lo que permite asociar a la IgG₃ con la IgA.

La albúmina con radio de 3,58 Å y una razón LCR/suero de 4×10^{-3} se usa como marcador de la barrera sangre-LCR.

A través del reibergrama –precisamente por medio de la razón albúmina de las inmunoglobulinas– puede calcularse la fracción localmente sintetizada, también llamada fracción intratecal. La función hiperbólica que relaciona la razón albúmina con la razón de las inmunoglobulinas se introdujo primero de forma empírica a partir del estudio de miles de perfiles de LCR y suero [3], y ahora se ha apoyado en la teoría del flujo molecular/circulación del LCR [4]. Basándose en esta teoría, un flujo reducido del LCR se reconoce como suficiente para explicar cuantitativamente la dinámica observada de manera empírica en todas las proteínas del LCR, incluyendo tanto las derivadas del cerebro [22] como de la sangre.

Aunque se ha comprobado que el reibergrama supera a las demás fórmulas [20,23-25] y su uso se ha extendido por gran parte del mundo, se quiso comprobar la validez del uso del reibergrama modificado para IgG₃.

Por medio de la comparación con las curvas ROC –prueba estadística que se había utilizado [20] para la comparación de fórmulas de este tipo–, se comprobó que el reibergrama propuesto para la IgG₃ supera a las otras fórmulas tradicionales y, también en área bajo la curva, a la fórmula original del reibergrama que usa constantes para la IgG para calcular la síntesis de subclases de IgG.

Este reibergrama nuevo, propuesto para la IgG₃, puede usarse en combinación con los reibergramas tradicionales para IgG₁, IgG₂ e IgG₄, y conserva las ventajas de este método, que realiza principalmente estas funciones: ayuda a evaluar la síntesis intratecal y la disfunción de la barrera sangre-LCR, y muestra de un vistazo los patrones de respuesta de síntesis intratecal típicos y relacionados con diversas enfermedades. No depende del volumen de LCR extraído y las razones que se calculan no dependen del método analítico empleado en la cuantificación de la albúmina y las inmunoglobulinas, siempre que se cuantifiquen simultáneamente y por el mismo método. Tiene cinco zonas para la interpretación de la síntesis intratecal de inmunoglobulinas y la funcionalidad de la barrera sangre-líquido cefalorraquídeo como se conoce [1]; trabaja en todo el rango biológico hasta las más grandes razones albúmina.

Sólo en raros casos en que la razón albúmina es mayor de 150×10^{-3} se sale del marco del diagrama, por lo que puede expresarse el re-

sultado tanto en mg/l de inmunoglobulinas sintetizadas localmente, como en la preferible fracción intratecal o FI, que se obtiene FI (IgG_n) = (IgG_n / IgG_nLCR) × 100, y que se observa gráficamente en las líneas percentiles.

Para el estudio de la síntesis intratecal de subclases de IgG debe usarse el reibergrama propuesto para la IgG₃, y para la IgG₁, IgG₂ e IgG₄, el reibergrama tradicional que se ha usado hasta ahora y que toma en cuenta la curva hiperbólica para la IgG.

A.J. Dorta-Contreras

Recibido: 16.02.01. Aceptado: 05.05.01.

Laboratorio de Líquido Cefalorraquídeo. Facultad de Ciencias Médicas. Dr. Miguel Enríquez. Ciudad de la Habana, Cuba.

Correspondencia: Dr. Alberto J. Dorta-Contreras. Apartado Postal 10.049. 11000 Ciudad de la Habana, Cuba. E-mail: adorta@infomed.sld.cu

BIBLIOGRAFÍA

- Zettl VK, Lehmitz R, Mix E, eds. *Klinische Liquordiagnostik*. Berlin: Walter de Gruyter & Co; 2000. En prensa.
- Dorta-Contreras AJ. Reibergramas: elemento esencial en el análisis inmunológico del líquido cefalorraquídeo. *Rev Neurol* 1999; 25: 996-8.
- Reiber H, Felgenhauer K. Protein transfer at the blood cerebrospinal fluid barrier and the quantification of the humoral immune response within the central nervous system. *Clin Chem Acta* 1987; 163: 319-28.
- 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.
- Reiber H. The hyperbolic function: a mathematical solution of the protein flux/CSF flow model for blood CSF barrier function. *J Neurol Sci* 1994; 126: 243-5.
- Jacobi C, Reiber H, Felgenhauer K. The clinical relevance of the locally produced carcinoembryonic antigen in cerebrospinal fluid. *J Neurol* 1986; 233: 368-71.
- Felgenhauer K. The filtration concept of the blood-CSF barrier as basis for the differentiation of CSF proteins. In Greenwood J, Begley DJ, Segal MB, Lightman S, eds. *New concepts of blood-brain barrier*. London: Plenum Press; 1995. p. 209-17.
- Dorta-Contreras AJ, Noris-García E, Interián-Morales MT, Ferrá-Valdés M. Inmunodeficiencia transitoria de IgG₁ durante una meningoencefalitis a *Streptococcus pneumoniae* en un neonato. *Rev Esp Pediatr* 1996; 52: 463-6.
- Dorta-Contreras AJ, Martínez-Torres E, Dotres-Martínez C. Nuevos hallazgos en líquido cefalorraquídeo en pacientes pediátricos con neuropatía epidémica cubana. *Rev Esp Pediatr* 1998; 54: 213-5.
- Dorta-Contreras AJ, Meyer EA, Mena R, Ferrá-Valdés M, Escobar-Pérez X, Interián-Morales MT, et al. Síntesis intratecal de inmunoglobulinas en meningoencefalitis bacterianas. *Rev Esp Pediatr* 1998; 54: 316-21.
- Dorta-Contreras AJ, Robinson-Agramonte MA, Sánchez-Serrano J. Local synthesis of IgG subclasses in patients with Alzheimer's disease. *Alz Dis Rev* 1998; 3: 63-6.
- Escobar-Pérez X, Dorta-Contreras AJ, Interián-Morales MT, Noris-García E, Ferrá-Valdés M. IgG₂ immunodeficiency: association to patients with bacterial meningoencephalitis. *Arq Neuropsiquiatr* 2000; 58: 141-5.
- Singh VK, Fudenberg HH. Increase of immunoglobulin G3 subclass is related to brain autoantibody in Alzheimer's disease but not in Down's syndrome. *Autoimmunity* 1989; 3: 95-101.
- Parsons LM, Webb HE. IgG subclasses response in brain and serum in Semliki Forest virus demyelinating encephalitis. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1992; 18: 351-9.
- Losy J, Michalowska-Winder G, Wender M. IgG₁-IgG₄ subclasses in the cerebrospinal fluid and blood serum and their synthesis in the central nervous system in multiple sclerosis. *Neurol Neurochir Pol* 1992; 26: 297-303.
- Widhe M, Ekerfeit C, Forsberg P, Bergstrom S, Ernerudh J. IgG subclasses in Lyme borreliosis: a study of specific IgG subclasses distribution in an interferon-gamma-predominated disease. *Scand Immunol* 1998; 47: 575-81.
- Snowden JA, Milford-Word A, Cookson LJ, Mckondrick MV. Recurrent lymphocytic meningitis associated with hereditary isolated IgG subclass 3 deficiency. *J Infect* 1993; 27: 285-9.
- Tibbling G, Link H, Öhman S. Principles of albumin and IgG analysis in neurological disorders. Establishment of reference values. *Scand J Clin Lab Invest* 1977; 27: 385-90.
- Lambin P, Gervais A, Levy M, Defendini E, Duborny M, Lebon P, et al. Intrathecal synthesis of IgG subclasses in multiple sclerosis and acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *J Neuroimmunol* 1991; 35: 179-89.
- Souverijn JHM, Serré HMP, Peet R, Granzebach-Smith W, Bruyn GW. Intrathecal immunoglobulin synthesis. Comparison of various formulae with the 'gold standard' of isoelectric focusing. *J Neurol Sci* 1991; 102: 11-6.
- Painter RH. IgG. In Delves PJ, Roitt IM, eds. *Encyclopaedia of immunology*. 2 ed. San Diego: Academic Press; 1998. p. 1208-11.
- Reiber H. CSF flow. Its influence on CSF concentration of brain-derived and blood-derived proteins. In Telken A, Korf J, eds. *Neurochemistry*. New York: Plenum Press; 1997. p. 51-72.
- Öhman S, Ernerudh J, Forsberg P, Henriksson A, von Schenck H, Vrethem M. Comparison of seven formulae and isoelectrofocusing for determination of intrathecally produced IgG in neurological diseases. *Ann Clin Biochem* 1992; 29: 405-10.
- Peter JB, Bowman RL. Intra-blood-brain-barrier synthesis of IgG: comparison of IgG synthesis formulae in a computer model and in 1629 consecutive specimens. *Neurology* 1992; 42: 510-5.
- Peter JB, Mekeown KL, Agopian MA. Assessment of different methods to detect increased autocrine production of immunoglobulin G and oligoclonal immunoglobulins in multiple sclerosis. *Ann J Clin Pathol* 1991; 97: 858-80.