

Utilización de reibergramas para evaluar la síntesis intratecal de C3c y C4 en niños con meningoencefalitis por *Neisseria meningitidis*

✉ Alberto J Dorta-Contreras, Bárbara Padilla-Docal, Raisa B Coifu-Fanego

Laboratorio Central de Líquido Cefalorraquídeo, Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Miguel Enríquez"
Ramón Pintó #202, Luyanó, 10 de Octubre, CP 10 700, La Habana
E-mail: adorta@infomed.sld.cu

RESUMEN

La meningoencefalitis por *Neisseria meningitidis* afectó sensiblemente a la población infantil cubana antes de la exitosa campaña con la vacuna producida en Cuba contra esta bacteria. El objetivo del presente trabajo es evaluar, por medio de métodos novedosos desarrollados por los autores, el papel del sistema de complemento en el desarrollo de la enfermedad en niños con la enfermedad que no fueron vacunados. Siete niños con edad promedio de 5.8 años con meningoencefalitis por *N. meningitidis*, diagnosticados por los métodos microbiológicos tradicionales. Las muestras de suero y líquido cefalorraquídeo se obtuvieron simultáneamente y se cuantificaron las inmunoglobulinas mayores, las subclases de IgG, C3c, C4 y la albúmina por inmunodifusión radial en placas comerciales. Uno de los dos pacientes que fallecieron no poseía C3c en tales líquidos biológicos. Se observó síntesis intratecal de C3c en los otros pacientes y síntesis intratecal de C4 en todos los pacientes estudiados, lo cual se demostró a partir de los correspondientes reibergramas diseñados en Cuba para estos componentes del sistema de complemento. La determinación de la síntesis intratecal de estos componentes del sistema de complemento es útil para discriminar inmunodeficiencias y entender el comportamiento de la enfermedad.

Palabras clave: meningoencefalitis, *Neisseria meningitidis*, C3c, C4, síntesis intratecal, reibergramas

Biotechnología Aplicada 2011;28:19-23

ABSTRACT

Using reibergrams to evaluate the intrathecal synthesis of C3c and C4 in children affected with *Neisseria meningitidis* meningoencephalitis. Meningococcal meningoencephalitis was a serious pediatric health problem in Cuba before the successful introduction of a Cuban vaccine against *Neisseria meningitidis*. The present paper assesses the role of the complement system in this disease in unvaccinated sick children, using a novel methodology developed by the authors. Seven children were used, of an average of 5.8 years of age with *N. meningitidis* meningoencephalitis diagnosed by traditional microbiological methods. Serum and cerebrospinal fluid samples were obtained at the same time point, and used to quantify major immunoglobulins, IgG subclasses, C3c, C4 and albumin by radial immunodiffusion with commercially available plates. No C3c was found in one of the two deceased patients. Measurable intrathecal synthesis of C3c was observed in the remaining patients, however, intrathecal synthesis of C4 was found in all patients, as demonstrated with the corresponding reibergrams. The measurement of the intrathecal synthesis of these components of the complement system is useful for discriminating immunodeficiencies and to better understand the behavior of the disease.

Keywords: meningoencephalitis, *Neisseria meningitidis*, C3c, C4, intrathecal synthesis, reibergrams

Introducción

La meningoencefalitis por *Neisseria meningitidis* afectó sensiblemente a la población infantil cubana antes de la exitosa campaña con la vacuna producida en Cuba contra esta bacteria [1, 2]. Aunque ya no constituye un problema de salud en nuestro país, en el mundo cada año mueren miles de personas por esta enfermedad, con particular frecuencia en el llamado cinturón de la meningitis en África [3]. Hoy Cuba fabrica vacunas para estos países africanos.

El sistema de complemento es el mecanismo más efectivo que se posee, ayudado por los anticuerpos o inmunoglobulinas, para lograr la destrucción de esta bacteria. La eliminación de células dianas o microorganismos por anticuerpos, en gran medida se debe a que han sido recubiertas u opsonizadas por estas moléculas defensoras que las hacen atractivas a los fagocitos. Cuando los anticuerpos se depositan en la superficie de estas células pueden activar el sistema de complemento si estos son fundamentalmente de la clase IgM o IgG [4].

En el líquido cefalorraquídeo ocurre una producción policlonal de diferentes inmunoglobulinas durante la fase aguda de la enfermedad [5, 6]. La activación del complemento genera subproductos principalmente C3b y C4b, que se depositan en las células y son reconocidos por los macrófagos que expresan receptores para estas proteínas [7, 8]. Adicionalmente, las células o microorganismos como bacterias ya opsonizadas por IgG, son reconocidas por los receptores Fc de los fagocitos con la consiguiente lisis [8, 9].

Por ello es importante evaluar la capacidad del sistema nervioso central de sintetizar y activar el sistema de complemento frente a bacterias como *N. meningitidis*, sobre todo en las edades más tempranas de la vida, donde son posibles las inmunodeficiencias primarias que pueden provocar la muerte [9-12].

Hasta el momento, los métodos para definir la participación de la síntesis intratecal de componentes del sistema de complemento en esta enfermedad, introducen errores importantes que pueden suscitar re-

1. Holst J, Martin D, Arnold R, Huergo CC, Oster P, O'Hallahan J, Rosenqvist E, et al. Properties and clinical performance of vaccines containing outer membrane vesicles from *Neisseria meningitidis*. Vaccine. 2009;27 Suppl 2:B3-12.

2. Borrow R, Balmer P, Miller E. Meningococcal surrogates of protection-serum bactericidal antibody activity. Vaccine. 2005;23(17-18):2222-7.

3. Marc LaForce F, Ravenscroft N, Djingarey M, Viviani S. Epidemic meningitis due to Group A *Neisseria meningitidis* in the African meningitis belt: a persistent problem with an imminent solution. Vaccine. 2009;27 Suppl 2:B13-9.

4. Kang YH, Tan LA, Carroll MV, Gentle ME, Sim RB. Target pattern recognition by complement proteins of the classical and alternative pathways. Adv Exp Med Biol. 2009;653:117-28.

5. Dorta-Contreras AJ. Dinámica de la síntesis intratecal de inmunoglobulinas. Rev Neurol. 2000;31:991-3.

sultados contradictorios y dificultar el tratamiento en casos particulares y en posibles estrategias vacunales [9-13]. Estos métodos se basan en índices como el cociente de las razones de las concentraciones en líquido cefalorraquídeo (LCR) y el suero del componente del complemento y la razón albúmina. El empleo de estos índices puede originar resultados falsos positivos, y no se pueden aplicar en momentos importantes para el diagnóstico de las enfermedades neurológicas infecciosas, por lo que su utilidad es limitada.

Los reibergramas, que constituyen los métodos más modernos para la discriminación de la síntesis intratecal de proteínas, primero se definieron para las clases principales de inmunoglobulinas: IgA, IgM e IgG [14]. Pronto esta carta clínica, que incluye fórmula y gráfica, se ha impuesto como elemento esencial para el estudio del LCR, y ya se acopló a los principales equipos automatizados, como los nefelómetros, que se fabrican por las principales casas comerciales.

Pero estos reibergramas no incluían otras proteínas importantes para entender la respuesta inmune en el sistema nervioso central. Nuestro grupo se propuso diseñar el reibergrama para la IgE [15], para las subclases de IgG [16] y para la síntesis intratecal de C3c y C4 [17, 18]. Estos métodos tienen en cuenta las condiciones de la barrera sangre-LCR, según los conceptos más recientes, y elimina las fuentes de error de los índices que son las fórmulas antes empleadas.

El objetivo de este trabajo es evaluar la función del sistema de complemento en el desarrollo de la meningoencefalitis en un grupo de pacientes no vacunados que sufren esta enfermedad, a la luz de nuevos métodos desarrollados en Cuba.

Materiales y métodos

Pacientes

Se estudiaron siete niños con edad promedio de 5.8 años (de tres meses a 8 años) con meningoencefalitis por *N. meningitidis*, diagnosticados por los métodos microbiológicos tradicionales consistentes en el cultivo del LCR, el hemocultivo y el estudio del Gram. Estos niños se ingresaron en el Hospital Pediátrico de San Miguel del Padrón y el Hospital Pediátrico Leonor Pérez Cabrera; ambos de La Habana. En todos los casos se comprobó el agente infeccioso, mediante el envío de las cepas al laboratorio de referencia radicado en el Laboratorio Provincial de Higiene y Epidemiología de La Habana. Estas se conservaron en la seroteca del Laboratorio Central de Líquido Cefalorraquídeo, antes de la inoculación de la vacuna cubana contra esta bacteria. Cada muestra que se analiza en este laboratorio queda registrada y preservada para estudios posteriores. En el registro quedan documentadas todas las determinaciones que se han hecho a cada una.

Todos los pacientes llegaron al cuerpo de guardia de estos hospitales con fiebre, dolor de cabeza, vómitos y fotofobia. En los pacientes menores de un año se observó abombamiento de las fontanelas e irritabilidad. El 60% de los niños presentaron rigidez de la nuca. Todos se ingresaron en la unidad asistencial de referencia en las unidades de cuidados intensivos pediátricos. Provenían de los barrios periféricos de los municipios de San Miguel del Padrón, del Cotorro y de Boyeros. A todos se les tomaron muestras de sangre, en la fase

aguda de la enfermedad, con el objetivo de identificar la presencia o no de algún agente biológico.

La investigación fue aprobada por el Comité de Bioética de las investigaciones de la Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Miguel Enríquez", perteneciente a la Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. Los padres o tutores de los niños ofrecieron su consentimiento informado, para realizarles la punción lumbar diagnóstica.

Métodos

Muestras de suero y de líquido cefalorraquídeo

Las muestras de LCR se tomaron por punción lumbar simultáneamente con las de sangre para obtener suero. Las células se descartaron del LCR por centrifugación al igual que del suero. Las muestras hemolizadas se eliminaron y las demás se guardaron a -70 °C hasta 30 días después de la punción para su análisis. Se conservaron en pequeñas alícuotas para evitar los procesos de congelación y descongelación que pudieran afectar el contenido proteico.

Análisis del suero y de líquido cefalorraquídeo

Se cuantificaron los niveles de IgA, IgM, IgG, C3c, C4 y albúmina en suero y líquido cefalorraquídeo (LCR) por inmunodifusión radial en placas NOR PARTIGEN® y LC PARTIGEN® (Behringwerke, ahora Siemens, Marburg, Alemania), respectivamente. Las subclases de IgG en suero se cuantificaron en placas de inmunodifusión radial LL RID® (The Binding Site, Birmingham, Reino Unido) y en LCR en placas NANORID® (The Binding Site, Birmingham, Reino Unido).

Reibergramas para C3c y C4

En el momento en que se hicieron las determinaciones, el método para determinar la síntesis intratecal de los componentes del complemento y de las inmunoglobulinas eran los índices. Los índices tienen entre sus inconvenientes que no pueden ser utilizados cuando hay disfunción de la barrera sangre-LCR; están sujetos a cambios en los resultados en dependencia del volumen de extracción de la muestra de LCR; y no hay reportes de uso en la edad pediátrica.

Con los niveles de C3c, C4 y albúmina se procedió al cálculo de las razones entre las concentraciones de LCR y suero (LCR/suero) para cada paciente.

Funcionamiento de la barrera sangre-líquido cefalorraquídeo

Se llevó a cabo a partir de la razón albúmina: $Q_{\text{Alb}} = \frac{\text{Albúmina LCR}}{\text{Albúmina suero}}$. El límite superior normal depende de la edad y se calcula a partir de la fórmula: $Q_{\text{Alb}} = (4 + \text{edad en años}/15) \times 10^{-3}$. Agregar en años.

Las razones albúmina y C3c y C4 se colocan en los gráficos de las razones LCR/suero, también conocidos como reibergramas [17, 18]. La curva más oscura en los reibergramas representa la línea que discrimina la porción de proteína que se deriva de la sangre de la que se sintetiza en el LCR. Si los valores están por encima de esta línea hiperbólica se afirma que hay síntesis intratecal. Las líneas percentiles discontinuas con 20, 40, 60 y 80% representan la fracción de esta proteína que se ha fabricado en el LCR con respecto al valor total encontrado en este líquido biológico.

6. Dorta-Contreras AJ. Respuesta inmune poliespecífica en el sistema nervioso central. Empleo del índice de anticuerpo. *Rev Neurol*. 2000;31:1070-3.

7. Runza VL, Schwaebler W, Männel DN. Ficolins: novel pattern recognition molecules of the innate immune response. *Immunobiology*. 2008;213(3-4):297-306.

8. Lewis LA, Ram S, Prasad A, Gulati S, Getzlaff S, Blom AM, et al. Defining targets for complement components C4b and C3b on the pathogenic *Neisseria*. *Infect Immun*. 2008;76:339-50.

9. Lo H, Tang CM, Exley RM. Mechanisms of avoidance of host immunity by *Neisseria meningitidis* and its effect on vaccine development. *Lancet Infect Dis*. 2009;9(7):418-27.

10. Granoff DM. Relative importance of complement-mediated bactericidal and opsonic activity for protection against meningococcal disease. *Vaccine*. 2009;27 Suppl 2:B117-25.

11. Santos MN. *Neisseria* infections in relation with complement deficiency: clinical presentation of high-risk patients and treatment. *VaccinMonitor*. 2009;18(2):44.

12. Dorta AJ, Padilla B, Bu-Coifiu R. C3c intrathecal synthesis in meningoencephalitis due to *Neisseria meningitidis*. *VaccinMonitor*. 2009;18(2):44.

13. Ram S, Ngampasutadol J, Welsch JA, Lewis LA, Rice PA. *Neisseria*-complement interactions: implications for pathogenesis and vaccine development. *VaccinMonitor*. 2009;18(2):23-24.

14. Reiber H. The hyperbolic function: a mathematical solution of the protein flux/CSF flow model for blood-CSF barrier function. A reply to the letter by S. Ishman (*J Neurol Sci*, 126 (1994) 240-242). *J Neurol Sci*. 1994;126:243-5.

15. Dorta-Contreras AJ, Noris-García E, Reiber H. Reibergrama para la evaluación de la síntesis intratecal de inmunoglobulina E. *Rev Neurol*. 2004;39:794-5.

16. Dorta-Contreras AJ. Nuevo reibergrama para la evaluación de la síntesis intratecal de IgG3. *Rev Neurol*. 2001;33:694-6.

17. Dorta-Contreras AJ, Noris-García E, Padilla-Docál B, Rodríguez-Rey A, Bu-Coifiu-Fanego R, Magraner-Tarrau ME, et al. Reibergrama para la evaluación de la síntesis intratecal de C3c. *Arq Neuro-Psiquiatr*. 2006;64:585-8.

La línea más oscura representa el 0% de síntesis en el LCR, lo que indica que el contenido de la proteína analizada en el LCR, proviene totalmente de la sangre. Existen en todos los reibergramas, tres líneas verticales indican el límite normal para tres edades para facilitar una información rápida: Q Albúmina 5.5×10^{-3} (hasta 15 años), hasta Q Albúmina 6.5×10^{-3} (hasta 40 años) y hasta Q Albúmina 8×10^{-3} (hasta 60 años) [17, 18].

Resultados

En los pacientes del estudio, no se observaron inmunodeficiencias por déficit de las inmunoglobulinas A, M y G, y tampoco por subclases de IgG. Las concentraciones de estas proteínas estaban aumentadas, como sucede por el cuadro clínico infeccioso de estos pacientes.

A partir de los valores de Q Albúmina, cinco pacientes tenían disfunción de la barrera sangre-LCR en el momento de la punción lumbar con fines diagnósticos, porque la Q Albúmina es mayor que 5×10^{-3} (Figura 1 y 2).

Cuando se evaluaron los resultados de las proteínas C3c y C4 procedentes del sistema del complemento, uno de los pacientes no tenía niveles cuantificables de C3c en el suero ni en el LCR. Estas muestras pertenecían a uno de los dos pacientes del estudio que fallecieron. La causa de muerte del otro paciente no se puede asociar con ninguna inmunodeficiencia. En el resto de los pacientes hubo síntesis intratecal de C3c (Figura 1). A partir de los resultados del reibergrama para el C4, se comprobó síntesis intratecal de C4 en todos los pacientes (Figura 2).

Discusión

Las inmunoglobulinas son importantes en la solución de las enfermedades infecciosas del sistema nervioso central [19, 20], pues permiten la lisis efectiva de los microorganismos encapsulados, como la *N. meningitidis*.

Las inmunodeficiencias primarias no son altamente frecuentes; sin embargo, en ocasiones puede haber pacientes con inmunodeficiencia selectiva de IgA [21] y por subclases principalmente por déficit de IgG₂, asociada a meningoencefalitis, debido a microorganismos con envoltura polisacáridica [22]. Sin embargo, en este grupo de pacientes, los niveles de inmunoglobulinas mayores y de subclases de IgG estuvieron elevados en ambos líquidos biológicos, lo cual descarta estos tipos de inmunodeficiencias.

En el grupo de pacientes se pudo comprobar que la disfunción de la barrera sangre-LCR es frecuente en esta enfermedad, ya que solamente en el momento de la punción lumbar, en dos pacientes se observaron valores por debajo de la cifra límite superior normal.

En estas enfermedades ocurre una disfunción de barrera que permite la entrada más fácilmente de células inmunocompetentes y de otras que participan en el proceso inflamatorio; pero el organismo no puede permitir ese desequilibrio por mucho tiempo, y trata de restituir la funcionalidad vital de esta barrera [23]. Los dos pacientes que fallecieron tenían niveles de inmunoglobulinas muy elevados y disfunción de la barrera sangre-LCR.

Los reibergramas constituyen una carta clínica en la que se visualiza gráficamente la situación de la ba-

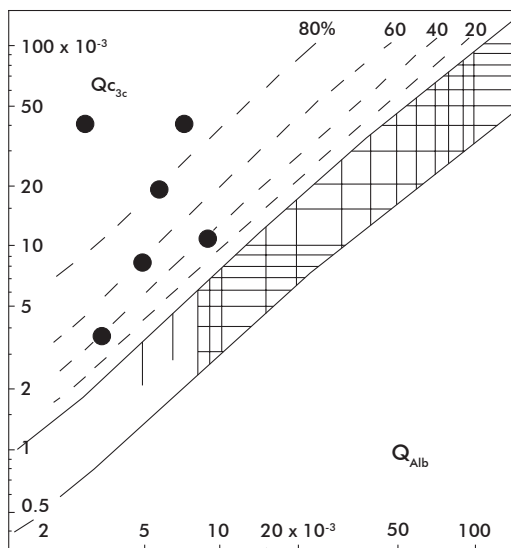


Figura 1. Reibergrama para determinar la síntesis intratecal de C3c. Nótese que solamente hay seis puntos correspondientes a los valores de igual número de pacientes, porque uno de ellos era inmunodeficiente por ausencia de este componente del sistema de complemento. Todos sintetizan C3c porque se ubican por encima de la curva hiperbólica más fuerte. Cinco pacientes poseen Q Albúmina por encima de 5×10^{-3} que es el valor normal para niños, por lo que evidencia que poseen una disfunción de la barrera sangre-LCR, lo cual es típico de la fase aguda de los pacientes con meningoencefalitis.

rrera sangre-LCR y la síntesis intratecal de la proteína que se evalúa. Originalmente fueron descritos para las inmunoglobulinas principales IgA, IgM e IgG [14] y posteriormente en Cuba se diseñaron para las subclases de IgG [16], IgE [15], C3c [17] y C4 [18]. Estos reibergramas son los métodos más actuales para el

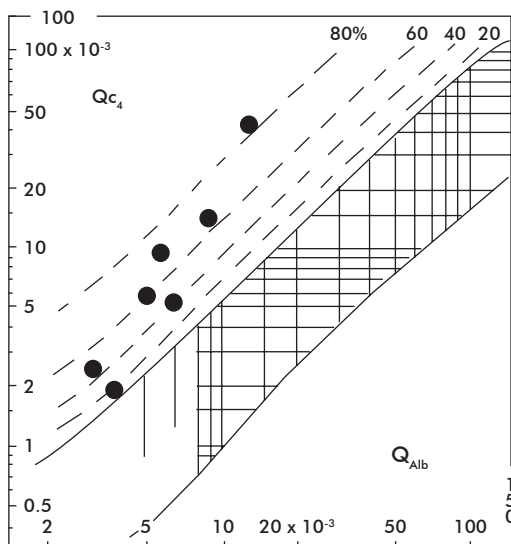


Figura 2. Reibergrama para determinar la síntesis intratecal de C4. Todos los puntos se ubicaron en el gráfico por encima de la curva hiperbólica más fuerte, lo que indica que los pacientes sintetizan C4 intratecalmente, lo que demuestra además que se ha activado la vía clásica del complemento o la vía de las lectinas que tienen en común este factor en la cascada del complemento.

18. Padilla-Docal B, Dorta-Contreras AJ, Bu-Coifui-Fanago B, Rodríguez-Rey A. CSF/serum quotient graphs for the evaluation of intrathecal C4 synthesis. *Cerebrospinal Fluid Res.* 2009;6:8. PMID: 19573230; Pubmed Central PMCID: PMC2709889

estudio del LCR y supera a otras fórmulas y métodos anteriores como el empleo de los llamados índices. Su fundamento está respaldado por la teoría de la difusión molecular/flujo del LCR [24, 25].

Los índices, que son las fórmulas antes usadas, consideraban que el paso de las proteínas a través de la membrana seguía una distribución lineal; pero se ha comprobado que esto no es cierto, sino que siguen una distribución hiperbólica en dependencia de la masa molecular de la proteína que difunde de la sangre al LCR a través de la barrera sangre-LCR. Por todos estos inconvenientes, el uso de los índices puede llevar a resultados erróneos.

La aplicación de los reibergramas para C3c y C4, objetivo de este trabajo, es muy importante porque permite dilucidar cuándo ocurre la síntesis de estos componentes del sistema de complemento en el sistema nervioso central, con vistas a conocer si estos pacientes logran sintetizar y activar estas estructuras moleculares en el LCR. La función de estas en la aparición y evolución de la enfermedad, es un elemento importante para valorar el estado inmune del paciente, y en general contribuyen a entender los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad.

En los casos estudiados se comprobó la síntesis intratecal de C4, lo cual es indicativo de que se inició el proceso de activación del complemento por la vía clásica a partir de la reacción por la interacción de IgM o IgG o del complejo MBL-MASP2 y los fragmentos iniciales de esta vía; aunque no en todos los pacientes ocurra con igual intensidad, debido a la fracción intratecal sintetizada y que puede depender de múltiples variables biológicas [26].

A partir de la activación del C4 se producen subproductos que interactúan con otros componentes de la cascada del complemento [8]. Sin embargo, hubo un paciente inmunodeficiente por ausencia de C3, al que no se le pudieron detectar niveles de C3c ni en el suero ni en el LCR.

El C3c es un producto de la degradación del factor C3 del sistema de complemento, estable y que no se degrada ni en el suero ni en el LCR, por lo que su medición es fiable. La formación de C3c tiene dos aspectos biológicos importantes: uno de ellos es que por ser un producto de la degradación del C3, es una medida de la concentración de este, y por otro lado indica que todo el C3c que se produce en el sistema nervioso central ha sido producto de la activación biológica del sistema por la vía clásica, alternativa o por la vía de las lectinas.

La síntesis intratecal de C3c significa que este sistema se ha activado y que posiblemente hay un evento inmunológico asociado a una hipersensibilidad de tipo II o citotóxica. La síntesis intratecal de C3c ayuda a entender los mecanismos fisiopatológicos cuando hay enfermedades neurológicas de índole infecciosa o autoinmune [12, 27], y también contribuye a corroborar un diagnóstico de una enfermedad neurológica de estas características.

Por ser el C3 componente común de las tres vías de activación de complemento, una inmunodeficiencia por C3 es sumamente grave, y llevó al fallecimiento del paciente en los primeros meses de vida, ya que el hombre está continuamente expuesto a múltiples agentes infecciosos, y el sistema de complemen-

to junto con otros mecanismos efectores garantizan una adecuada respuesta. La ausencia de C3 necesariamente provoca la muerte en las primeras etapas de la vida porque este componente es común a las tres vías del complemento: la vía clásica, la alterna y la de las lectinas [28]. Su ausencia inevitablemente provoca el no funcionamiento de la lisis bacteriana que es el mecanismo fundamental de defensa del huésped contra los agentes infecciosos, y como casi todas las inmunodeficiencias primarias son incompatibles con la vida [29]. El paciente fallecido había sufrido en su corta vida una meningoencefalitis bacteriana previa, producida por *E. coli*, y más tarde, esta que se analiza en el presente trabajo que le provoca la muerte.

Por la importancia de la función del complemento, se han trazado estrategias para usar como vacunas, los inhibidores del complemento que posee el meningococo [30].

Los pacientes que desarrollaron mecanismos de defensa a nivel intratecal con el tratamiento impuesto tuvieron una recuperación satisfactoria. Los reibergramas para el C3c y C4 pueden ser usados en combinación para tener una idea más completa del cuadro clínico inmunológico en cuanto al sistema de complemento, y permite evaluar la síntesis intratecal de estos componentes, conocer la funcionalidad de la barrera sangre-LCR y encontrar patrones de síntesis intratecal típicos para una enfermedad dada y relacionarla con otras enfermedades de un solo vistazo. Esto pudiera brindar nuevas posibilidades de evaluación de enfermedades neurológicas autoinmunes o infecciosas.

Las limitaciones de estos reibergramas radican en que se asume que las proteínas al paso de la barrera sangre-LCR no sufren modificaciones estructurales ni de su peso molecular, y en ocasiones estas pudieran modificarse. Debe emplearse el mismo método analítico y simultáneamente para el procesamiento de las muestras de suero y de LCR para evitar errores, y en ocasiones los métodos que se emplean habitualmente no tienen la sensibilidad adecuada para detectar las pequeñas cantidades que se encuentran en el LCR. El tamaño de la muestra es pequeño debido a que en Cuba esta enfermedad no aparece fácilmente después de la vacunación contra esta bacteria, y se han utilizado las muestras testigos disponibles y conservadas en nuestro centro de investigación.

La importancia del uso de estos reibergramas es que poseen ventajas inobjetables, ya que los resultados no varían con el volumen de LCR extraído y puede trabajar con LCR lumbar, ventricular y cisternal. Esto es fundamental porque si los resultados variaran con el volumen extraído, como sucede en los métodos antes utilizados para discriminar la síntesis intratecal, los resultados pueden variar con la cantidad de LCR que se extrae en la punción y estos serían poco confiables.

Otra de las ventajas es que las razones LCR/suero que se calculan no dependen del método analítico empleado en la cuantificación, siempre que se haga en la misma corrida analítica y por el mismo método, lo cual garantiza que se pueda aplicar en la diversidad de pruebas analíticas. Además puede trabajar en cualquier rango de Q Albúmina. Los métodos anteriores no permiten llegar a conclusiones si la Q Albúmina del paciente se está aumentada para la edad y sin embargo los reibergramas permiten trabajar bajo

19. Frasch CE, Borrow R, Donnelly J. Bactericidal antibody is the immunologic surrogate of protection against meningococcal disease. *Vaccine*. 2009;27 Suppl 2:B112-6.

20. Dorta-Contreras AJ. Intrathecal synthesis of immunoglobulins in *Neisseria meningitidis* and echovirus 6 meningoencephalitis. *J Mol Neurosci*. 1999;12(2):81-7.

21. Noris-García E, Dorta-Contreras AJ, Noris-García JL. Evaluación inmunológica y tratamiento en pacientes pediátricos con déficit de IgA. *Alergol Inmunol Clin*. 2002;17:180-4.

22. Escobar-Pérez X, Dorta-Contreras AJ, Interián-Morales MT, Noris-García E, Ferrá-Valdés M. IgG2 immunodeficiency: Association to pediatric patients with bacterial meningoencephalitis. *Arq Neuro-Psiquiatr*. 2000;58(1):141-5.

23. Griffiths NJ, Cunha CSE, Murillo I, Youseff AR, Borodina E, Hill DJ, et al. Dynamics of *Neisseria meningitidis* interactions with human cellular barriers and immune effectors. *VaccinMonit*. 2009;18:88-90.

24. Reiber H. Proteins in cerebrospinal fluid and blood: barriers, CSF flow rate and source-related dynamics. *Restor Neurol Neurosci*. 2003;21(3-4):79-96.

25. Dorta-Contreras A, Reiber H. Teoría de la difusión molecular/flujo del líquido cefalorraquídeo. *Rev Neurol*. 2004;39:564-9.

26. Tatomirović Z, Bokun R, Bokonić D. Intrathecal synthesis of complement components C3c and C4 in the central nervous system infections with signs of the acute serous meningitis syndrome. *Vojnosanit Pregl*. 2002;59(3):265-70.

27. Padilla-Docal B, Dorta-Contreras AJ, Fundora-Hernández H, Noris-García E, Bu-Coifu-Fanago R, González-Hernández M, et al. C3c intrathecal synthesis evaluation in patients with multiple sclerosis. *Arq Neuro-Psiquiatr*. 2007; 65:800-2.

28. Welsch JA, Ram S. Factor H and Neisserial pathogenesis. *Vaccine*. 2008;26 Suppl 8:I40-5.

29. Kugelberg E, Gollan B, Tang CM. Mechanisms in *Neisseria meningitidis* for resistance against complement-mediated killing. *Vaccine*. 2008; 26 Suppl 8:I34-9.

30. Meri S, Jördens M, Jarva H. Microbial complement inhibitors as vaccines. *Vaccine*. 2008;26 Suppl 8:I113-7.

todas las condiciones de barrera, si hay disfunción o no. Estas ventajas implican la superación de los inconvenientes que sucedían antes del diseño de estos métodos de evaluación.

Conclusiones

La determinación de la síntesis intratecal de estos componentes del sistema de complemento por reiber-

gramas es útil para discriminar inmunodeficiencias y contribuye a entender el comportamiento de la meningocefalitis por *N. meningitidis* y otras enfermedades infecciosas y autoinmunes. Los reibergramas para la determinación de la síntesis intratecal de C3c y C4 son las herramientas más actuales, novedosas y útiles en el estudio de estos componentes del complemento en el sistema nervioso central.

Recibido en Mayo de 2010. Aprobado en Febrero de 2011.