

•

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BARCELONA
FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Cirugía (Prof. J.A. Salva)

CIUDAD SANITARIA VALLE HEBRON

UNIDAD DOCENTE DE LA SEGURIDAD SOCIAL

Servicio de Otorrinolaringología (Prof. P.Quesada)

Servicio de Microbiología (Prof. L.Arcalís)

TESIS DOCTORAL

APORTACION AL ESTUDIO DE LA TEORIA VIRICA EN LA PARALISIS
FACIAL IDIOPATICA POR METODOS DE DIAGNOSTICO SEROLOGICO.

M^a LUISA NAVARRETE ALVARO

DICCIEMBRE 1987



D. PEDRO QUESADA MARIN, Catedrático de Otorrinolaringología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Barcelona.

CERTIFICA:

Que los trabajos de investigación que se exponen en la Tesis Doctoral: "Aportación al estudio de la Teoría Vírica en la Parálisis Facial Idiopática por Métodos de Diagnóstico Serológico", han sido realizados bajo mi dirección por la Dra. M^a LUISA NAVARRETE ALVARO, demuestran y corresponden fielmente a los resultados obtenidos.

Una vez realizada la presente memoria doctoral, ha sido revisada por mí y la encontramos conforme para ser presentada y aspirar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía ante el tribunal que en su día se designe.

Y para que conste en cumplimiento de las disposiciones vigentes extendemos el presente en Barcelona, a 21 de Diciembre de 1987.



Aprender es descubrir lo que ya sabes.
Actuar es demostrar lo que sabes.
Enseñar es recordarles a los demás
que saben tanto como tú.
Sois todos aprendices, ejecutores,
maestros.

Richard Bach.

A mis padres, consejo, consuelo y
apoyo incondicional.
A mi maestro, paciencia y ejemplo
con su saber hacer profesional y
humano.
A mis compañeros, y amigos que han
compartido ideas e ilusiones.
A aquellos que sin conocerme me han
escuchado.

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento al Profesor Pedro Quesada Marín ya que sin su comprensión, consejo, capacidad, y ayuda, no hubiera sido posible la elaboración de este trabajo de investigación. A él y a su esposa, M^a José Martínez Bayón, modelos de ejemplo siempre en las pequeñas y grandes situaciones de la vida hospitalaria. Situaciones, vivencias, que me han formado no sólo en mi instrucción profesional sino también en la modelación de mi formación como persona.

Agradezco a los Dres. José M^a Fernández Rodríguez, Teresa Sagalés Sala, M^a Dolores de la Calzada, y Víctor Gimeno Fernández, por su honestidad y eficiencia, por su valiosa colaboración en la obtención de las valoraciones electrofisiológicas.

Mi reconocimiento a la labor de la Dra. M^a José Rodrigo Anoro por sus conocimientos en el campo de la Inmunología.

Mi gratitud a los Dres. Mariano Rovira Molist, Bernardo Ibarra de Grassa, y Francisco Romero Vidal, por su colaboración en las valoraciones radiológicas.

Quiero agradecer también a los médicos del Servicio de Neurología su cooperación en la selección de pacientes. Así como su ayuda al personal no facultativo de los Servicios de ORL, Neurofisiología y Laboratorio.

Mi reconocimiento al Dr. Ignacio Calicó Bosch, por su inestimable ayuda y su imprescindible consejo. Por sus conocimientos en el campo de la Virología, base fundamental y cimiento de este estudio.

 A todos mis compañeros por su apoyo incondicional que me ha servido para llevar a buen fin este proyecto de investigación.

INDICE

PROLOGO.

PARTE I: INTRODUCCION.

CAPITULO I: HISTORIA DE LA PARALISIS FACIAL.....	Pág. 1
CAPITULO II: ANATOMOFISIOLOGIA DEL NERVIO FACIAL	4
CAPITULO III: ETIOPATOGENIA DE LA PARALISIS FACIAL IDIOPATICA	9
CAPITULO IV: INTRODUCCION INMUNOLOGICA	25
CAPITULO V: INTRODUCCION A LA VIROLOGIA	60

PARTE II: TRABAJO DE INVESTIGACION.

CAPITULO VI: JUSTIFICACION Y PLAN DE TRABAJO	64
CAPITULO VII: MATERIAL Y METODO	69
CAPITULO VIII: RESULTADOS (PROTOCOLOS Y VALORACION).	99
CAPITULO IX: DISCUSION	298
CAPITULO X: CONCLUSIONES	312
CAPITULO XI: BIBLIOGRAFIA	316

PARTE I

PROLOGO

Es sorprendente la frecuencia de las parálisis faciales, incluso de las persistentes que han motivado polioperaciones en el ámbito de la Cirugía Plástica, en busca de una mejoría estética. Mejoría en general conseguible para el estado de reposos pero más dudosa desde el punto de vista cinético.

En la parálisis facial idiopática, es manifiesto y llama la atención el estado de ansiedad del paciente, desproporcionado con relación a la "inocuidad" del síndrome per se. Explicable aparte de por el temor de que sea expresión de otra patología solapada y más grave, por la dismorfofobia que produce.

En las secuelas de la parálisis facial la dismorfofobia se presenta con mucha mayor frecuencia, interviniendo la influencia de la personalidad previa del sujeto afectado. En todos los casos, empero, el retraimiento social es visible.

La profundidad de la angustia con que es siempre vivida esta entidad, la experiencia demuestra que a menudo lleva a los que la sufren a buscar múltiples remedios de tipo multidisciplinario.

Siendo la cara la parte del cuerpo más expuesta al mundo, y por tanto, más vulnerable a la autoestima; se comprende sin problema que la angustia y la depresión subsiguientes lleven a un estado de inhibición y distanciamiento social con la aparición de mecanismos de defensa y tics posturales.

No es aquí sin duda el marco adecuado para extendernos en el complejo y prolijo campo de las secuelas psíquicas y afectivas de la parálisis facial. Pero sí debe quedar claro para el médico, y es esta una de nuestras principales inquietudes, que a pesar de su aparente "inocuidad" esta afección acarrea una estela de complicaciones de carácter mental incomparablemente mayores de lo que su importancia somática intrínseca cabría suponer.

Por todo lo expuesto queremos e intentamos contribuir a dilucidar su etiopatogenia, hecho que nos llevará de la mano hacia un tratamiento correcto y específico de la Parálisis Facial idiopática.

Exponemos seguidamente una Revisión de los Aspectos Etiopatogénicos de la Parálisis Facial extendiendonos en la Teoría Vírica, base de nuestro estudio. A continuación realizamos una introducción a la Inmunología especialmente en su apartado de Inmunidad Humoral, motivo de nuestra investigación. Y finalmente exponemos la Metodología, Resultados y Discusión del trabajo haciendo siempre énfasis en su vertiente serológica-virológica.

PARTE I

INTRODUCCION

CAPITULO I

HISTORIA DE LA PARALISIS FACIAL

Las efigies de máscaras primitivas y de esculturas antiguas (Vossenaar 1981, Kindler 1970) nos indican que la afectación por parálisis facial en el hombre se ha dado desde la Antigüedad. Los conocimientos sobre la PFI se tienen desde tiempos remotos, sólo debemos remontarnos a cualquier libro de texto especializado para comprobarlo; pero, hemos de destacar que fué el gran médico mahometano Avicena (980-1037) quien en sus libros III y IV ya a principios del siglo XI aportó importantes conocimientos sobre su etiopatogenia, clínica, diagnóstico, y tratamiento. Este vasto manuscrito mereció la denominación de "El Evangelio médico" por Sir Williams Osler (Fourquez, 1977).

A pesar de estos supuestos adelantos en el conocimiento de la PF, pocos datos, y muchos de ellos inexactos, se tenían sobre la anatomofisiología del NF, datos que tenían que ser, como más tarde se demostró, la base fundamental para que los conocimientos sobre la etiopatogenia clínica, y tratamiento de esta afección paralítica pudieran evolucionar.

Lo que realmente supuso una revolución en los conocimientos que sobre el NF y su función paralítica se tenían, fueron los estudios expuestos por Sir Charles Bell en el año 1829. Este autor no sólo desligó la funcionalidad de los nervios trigémino y facial sobre los tegumentos faciales sino que también realizó una descripción exhaustiva de la clínica de la PF.

Fueron tan importantes las aportaciones de este autor en este campo que durante muchos años, a toda PF se le adjetivaba "de Bell", término que actualmente tan sólo se emplea en las formas de PF idiopáticas. Unos diez años más tarde, Berard (1835), atribuyó al frío el papel etiológico fundamental de la aparición de la PF así como al estrangulamiento del NF dentro del canal óseo intrapetroso la base patogénica de su lesión.

Otro nombre importante fué el de Sir Charles Balance, fundador de la Royal Society de Neurocirugía, quien describió la anastomosis del VII par con el XI. Junto a un cirujano americano, Arthur B. Ducl publicó una serie de artículos detallando los procedimientos para restaurar exitosamente la continuidad del NF y la expresión facial mediante injertos versus las anastomosis del NF a otros nervios craneales (Balance y Ducl, 1932). En el mismo año en que Sir Charles Balance publicó su libro "Surgery of the Temporal bone" (1895), un tercer médico británico, Sir Williams Gowers presentó una conferencia de PF en el National Hospital for Nervous Diseases de Londres, describiendo entre otras particularidades, el diagnóstico y patología que afectan el tronco del NF y las formas de diagnóstico diferencial de la afectación del nervio extracraneal y del nervio a nivel de hueso temporal (Shambaugh, 1973).

Posteriormente Sir Terence Cawthorne presentó el "Fifth Gowers Memorial Lecture" en 1968 en el mismo hospital sobre "Intratemporal Facial Falsy". Cawthorne fué el primero que utilizó el microscopio quirúrgico en 1938 para la cirugía intra

Enrtemporal del NF. Cabe mencionar otros autores de igual prestigio, como Sir Henry Seddon y Sir Sidney Sunderland, quienes popularizaron métodos de clasificación de las afecciones del nervio. Seddon propuso los términos de neurapraxia, axonotmesis, y neurotmesis para describir los tipos de lesión nerviosa, (Shambaugh 1973).

Si con estas aportaciones se fundamenta en sólida base los conocimientos que se tenían del NF y su afectación parálitica, los estudios efectuados por otros autores anteriores y posteriores en el tiempo, iniciaron el surgir de la fisiología y fisiopatología del nervio periférico, conocimientos perfectamente aplicables al NF. Así merecen especial mención autores como Galvani y Volta, Philippeaux y Vulpian (1870), Letievant (1873), Albert (1878), Drobnik (1879), Politzer (1875), Mouret (1912), Korner (1892), Jansen 1898), Grunet (1904), Wullteins (1958), Mielhke (1973), y así un largo etc. hasta nuestros días. Autores que merecen un hito en la historia del NF y de su patología parálitica. Autores que basándose en su entusiasmo investigador y analítico dentro de este campo intrincado lleno de posibilidades, con un futuro de certezas por desentrañar, siguen en la época actual trabajando de alguna forma incesantemente con el fin de conocer más a fondo la patología de este nervio, de llegar a desenmascarar su etiopatogenia, para con ello poder solventar esta entidad clínica tan sujeta a polémica como es la PFPI.

La anatomía del NF es particularmente interesante, porque este nervio tiene el más largo y más tortuoso recorrido en el hueso que ningún otro nervio craneal, y, porque también presenta una variedad de funciones. Estas funciones han sido sujeto de discusión en el tiempo, llegando a constituirse como verdaderos enigmas, hoy todavía vigentes.

El NF tiene dos componentes motores o eferentes. La mayor parte del nervio está compuesto de fibras motoras para la musculatura de la expresión facial, y en adición transporta fibras secretomotoras para la glándula salivar submandibular y sublingual, y glándula lacrimal. El nervio tiene también, dos componentes sensoriales o aferentes. Uno lleva la sensación gustativa desde los dos tercios anteriores de la lengua y paladar, y la otra lleva la sensación táctil de la piel del oído externo.

Sin detenernos en la descripción de su anatomía topográfica y funcional, así como en sus variantes anatómicas, y en su anatomía estructural, elementos todos ellos perfectamente explicados por Guerrier (1977), Ors Llorca (1962), Pechan (1978), Lacomme (1980), Nelson (1979), Ibuki (1981), May (1973), Podvinec (1976), Gacek (1982), ..., entre otros autores, queremos comentar en este apartado la importancia del aporte nutritivo vascular al nervio, de particular interés en la síntesis de algunas de las teorías etiopatogénicas de la PFI, en concreto sobre la teoría vascular; teoría que aboga

por la isquemia del nervio como causa de algunos episodios de PFI.

Como señala Balkany (1986), el aporte vascular del NF puede dividirse en 3 sistemas:

- a) Sistema extrínseco, que comprende a los vasos existentes en su vaina epineural.
- b) Sistema intrínseco, que corresponde a los vasos intraneurales.
- c) Sistema de vasos comunicantes, que engloba los vasos que conexionan los sistemas anteriores.

El sistema extrínseco, conocido desde 1769, como señalan Donalson (1974) y Lundborg (1979) ha sido ampliamente estudiado, considerándose básicos los estudios de Blunt (1954), Clarke (1965), Anson (1970) y Donalson (1974), y más recientemente Bagger-Sjoback (1982), Ogawa (1982) y Balkany (1986).

Sabemos que en su curso a través del hueso temporal, el NF se nutre por tres arterias principalmente, y cada una de ellas va a tener su territorio nervioso correspondiente, por lo que para que se produzca un déficit en el aporte vascular por lo menos, dos de estos vasos deberán encontrarse comprometidos.

1.- La arteria cerebelosa ant.inf. nutre al NF en la fosa cerebral posterior. Normalmente una rama de este tronco, la arteria auditiva in, nutre al NF en el CAI. Las ramas terminales llegan a nutrirle hasta el ganglio geniculado.

2.- La rama petrosa de la arteria meníngea media entra en el canal de Falopio por el ganglio geniculado, dividiéndose en varias ramas. Las ramas descendentes corren distalmente al NF hasta el foramen estilomastoideo, mientras, que las ascendentes nutren la región proximal al ganglio.

3.- La rama estilomastoidea de la arteria auricular posterior, entra en el canal de Falopio a través del foramen estilomastoideo dividiéndose rápidamente. Las ramas ascendentes corren con el trayecto del nervio hasta el geniculado, y las ramas descendentes nutren al nervio en el foramen estilomastoideo y acompañan al nervio auricular posterior. Estas arterias y sus venas acompañantes están situadas en el tejido conectivo, el epineuro, entre el periotio de la pared del canal de Falopio y la propia vaina nerviosa. Blunt (1954) mostró que estos vasos se anastomosaban entre sí, y Anson (1970) también denotó numerosas anastomosis con los espacios medulares del tejido óseo circundante y con el rico plexo vascular de la mucosa del oído medio.

Como observamos, tal sistema extrínseco, según estos autores, es generalmente, rico, siendo el segmento laberíntico de su recorrido intrapetroso, el que mayor pobreza posee de elementos vasculares, con el calibre interior arterial un 40% más pequeño que en los otros dos segmentos, Ogawa (1982).

Con tales resultados Blunt (1954) y más tarde Clarke (1965) llegan a afirmar la imposibilidad de achacar la patogenia de PFPI a un espasmo vascular segmentario. Opinión que no es comparti

da por todos los autores, Ogawa (1982) y Balkany (1986) entre otros, para quienes la pobreza vascular del segmento laberíntico, junto con el menor calibre del canal de Falopio a este nivel, son factores suficientes que explicarían la patogenia de las PFPI.

Hemos de mencionar también la existencia de un pequeño plexo constituido por capilares (Minatogawa, 1980), alojado en el tejido conectivo interfascicular y atravesando la vaina perineural. Dicho plexo constituye el sistema comunicante, el cual atraviesa la vaina perineural de una forma tangencial (Sunderland, 1976).

El sistema vascular intrínseco, denotado ya por Donaldson (1974), ha sido estudiado más recientemente de forma ultraestructural por Minatogawa (1980), Bagger-Sjoberg (1982), y Balkany (1986). Es un sistema constituido por arteriolas, vénulas, y capilares en lugar de por capilares exclusivamente como señalaban Sunderland (1953) y Blunt (1954). De todo lo expuesto deducimos que el aporte vascular del nervio facial parece ser muy seguro. Todos los autores consultados y, en nuestro país los estudios de Campos (1987), destacan la enorme riqueza vascular, no sólo numérica sino también de calibre del segmento mastoideo equiparable a la del facial timpánico y ganglio geniculado. Constatando el hecho de ser el segmento laberíntico del nervio el más pobremente vascularizado, además de observarse un menor calibre vascular.

Por lo que de acuerdo con el punto de vista del espasmo vascular idiopático, aunque inca-

paz de producir suficiente isquemia primaria para dar origen a una PF, podría sin embargo, causar una tumefacción o edema del nervio. Alteraciones estructurales que ubicadas dentro del canal de Falopio podrían seguirse de una "isquemia por compresión" resultando en una PF clínicamente.

Todo ello representa una importante afectación de la teoría vascular en la etiopatogenia de la PFPI, ya que la causa de la isquemia primaria sigue siendo idiopática, los defensores de la teoría vascular combinada pretenden que el trayecto del nervio a través de un canal óseo intacto de alguna forma hace al individuo un sujeto vulnerable.

CAPITULO III

ETIOPATOGENIA DE LA PARALISIS FACIAL
PERIFERICA IDIOPATICA

Por más que la etiología de la parálisis de Bell es todavía de tipo especulativo, su patogenesis más aceptable es la de que existe un estrangulamiento del nervio edematoso a lo largo de la cavidad intraósea a través de la pirámide petrosa. Antes del advenimiento de las modernas técnicas atoneuroquirúrgicas, se consideraba que el segmento más comunmente implicado era la porción mastoidea distal del nervio facial (entre él, forman estilomastoideo y las ramas de la cuerda del timpano) por ser la más fácilmente accesible (Miehlke 1973, Jongkees 1954, McGovern 1961). A partir de la introducción de técnicas que permiten la total exposición intratemporal del nervio facial, se ha podido comprobar que los cambios morfológicos aparecen más frecuentemente en la zona próxima al ganglio geniculado (Lopez Aguado 1977, Fisch 1977 - 1983). Se pudo comprobar que más de un 90% de los casos, el nervio facial presentaba un estrangulamiento en la entrada del conducto de Falopio.

Mediante medición histológica se ha podido demostrar que el segmento laberíntico es la porción más estrecha de todo el conducto de Falopio. La luz más estrecha del conducto está situada a su entrada midiendo 0,68 mm. de diámetro. Las fibras del NF que están dispuestas holgadamente sin poseer una cobertura epineural dentro del meato auditivo interno, presentan una "comprensión" fisiológica dentro del conducto de Falopio en su paso por el fondo meatal. Es evidente que el cuello de botella presentado anatómicamente, predispone a que se produzca un estrangulamiento del nervio en el caso en que aparezca un edema del mismo. Las observaciones histológicas detectadas por Fowler (1963) y Proctor

(1976) durante la fase aguda de la parálisis de Bell, demuestran la presencia de un proceso degenerativo de la capa de mielina y de los cilindros del VII par en la zona del conducto auditivo interno. Partiendo de la base de que el proceso degenerativo de Wallerian sólo progresa unos pocos milímetros en dirección hacia el centro, la información histológica corrobora las observaciones clínicas acerca de la situación proximal en los procesos patológicos de la parálisis de Bell. El nervio edematoso observado dentro del meato auditivo interno es, probablemente, la expresión del taponamiento del axoplasma frente a un nervio estrangulado. Solamente uno de los 17 pacientes intervenidos por Fisch (1981) presentó una lesión confinada al segmento mastoideo a nivel de la bifurcación de la cuerda timpanica del nervio. Esta observación podría confirmar la hipótesis de May (1977 - 1986) sobre el posible papel desempeñado por la cuerda del timpano en el inicio de una patología retrógrada que diera lugar a la estrangulación de las fibras del nervio facial dentro del conducto de Falopio.

El mecanismo casual de PFI debe ser uno que pueda producir PF súbita, con un alto grado de recuperación espontánea. Debe ser también, capaz de producir una enfermedad monofásica en la mayoría de los pacientes, dando PF recurrencial en una pequeña minoría. Cinco principales hipótesis se han hecho para explicar el misterio de la PFI. Estas hipótesis, sin embargo, no deben mirarse como mutuamente exclusivas, siendo algunos autores participes en la creencia de su combinación o en la síntesis de varias de ellas.

HIPOTESIS REUMATICA

Berard (1836) expuso el punto de vista de que un edema reumático presionaría el nervio contra las paredes del canal óseo. El significado del término reumático se ha cambiado con los años y la teoría es ahora obsoleta.

HIPOTESIS DEL FRIO

Charles Bell creyó que la PFPI podía tener variedad de causas incluyendo la exposición a las corrientes y al frío. Casi 150 años después el debate continua, y Zülch (1970), pone gran énfasis en un rápido enfriamiento como un factor en la producción de la PFI. La evidencia en favor de la hipótesis es principalmente anecdótica y está basada en el inseguro principio "post hoc ergo propter hoc". Algunos autores han identificado una historia de exposición al frío precedente al inicio de la PF en un amplio número de pacientes. Pero ya que la exposición a corrientes o al frío es una ocurrencia diaria, uno no puede sorprenderse al encontrar este antecedente en la historia de un grupo de gente. Otros autores han pasado a gran distancia a mostrar que gente con exposición laboral a corrientes y frío no sufren un aumento en la incidencia de PFI.

HIPOTESIS ISQUEMICA

La esencia de esta hipótesis es que la isquemia por alteración circulatoria en los vasa nervorum causa PF. Originalmente se creyó que la isquemia primaria era suficiente para explicar la PF y formó la base teórica del tratamiento con vasodi-

latadores. Después la hipótesis combinada de isquemia primaria y secundaria era evocada por un número de autores (Hilger 1949, Blunt 1956, Smith y Sullivan 1956). De acuerdo con esta teoría de espasmo vascular primario, no explicaba por sí misma que pudiera producir la suficiente isquemia para dar PF. Sin embargo, la isquemia inicial produciría un edema del nervio. Este edema confinado en el canal produce una isquemia compresiva secundaria que resulta en PF. Un gran número y variedad de factores son capaces de producir el vasoespasmo que iniciaría la isquemia primaria. Estos incluyen el frío, anoxia, exceso de CO₂, inestabilidad constitucional vasomotora, tóxico, alérgico, infeccioso, hormonal y factores emocionales. La hipótesis de la isquemia representa la visión ortodoxa y es apoyada por una mayoría de eminentes autores (Cawthorne y Haynes 1956, Bosatra 1956, Fowler 1958, Korkis 1959, Williams 1959, Kettel 1959, Jongkees 1972). En adición Zülch (1970) y Miehke (1973) ahora observan esta hipótesis como firmemente establecida y ellos sustituyen el término PF isquémica por PF de Bell. El concepto de isquemia y edema han formado la base teórica del tratamiento con vasodilatadores, bloqueo ganglio estrellado, y descompresión quirúrgica y son por lo menos aceptadas por un gran número de especialistas que emplean estas terapias. La hipótesis isquémica es soportada casi enteramente por la elocuencia de sus distinguidos defensores: hay una falta de evidencia científica.

Se practicó en animales de experimentación un estudio con la inyección de varios fluidos en el Falopio, colocándose clips y ligaduras en el NF distalmente al foramen estilomastoideo.

La mayoría de estos interesantes experimentos probaron sólo lo que ya es sabido por todos, que el daño se produce por compresión. Pero no prueba que la isquemia, compresión o edema aparezcan en la PFI. La evidencia de que esto ocurra, está basada principalmente en la apariencia del nervio durante su descompresión. Que grandes lesiones vasculares pueden causar PF, es un hecho probado por la existencia de PF debida a hemorragia vista en pacientes con hipertensión arterial maligna. Recientemente Calcaterra (1976) ha demostrado que el embolismo de la rama petrosa de la arteria meníngea media puede también dar PF.

Una de las dificultades en aceptar que el vasoespasmo pueda causar PF isquémica, es que el vasoespasmo es esencialmente un fenómeno recurrente como en la enfermedad de Reynaud y la migraña por ejemplo. Todos los factores que pueden ser responsables de producir alteración vasomotora en el NF son factores recurrentes, y la PF Bell, es un evento que aparece una vez en la vida. Además, otras parálisis nerviosas no son atribuidas a tal isquemia vasoespástica; defensores de la hipótesis culpan al canal de Falopio y propugnan que en lugar de ser un elemento protector, predispone a la lesión del nervio por compresión. Explican la única afectación del NF porque ningún otro nervio tiene un tan prolongado curso a través de un túnel óseo. Esto es incorrecto. Ya que el nervio alveolar inf. tiene aproximadamente, aunque menos tortuoso, parecido trayecto en el canal mandibular. Está más expuesto que el NF al frío y sepsis focal. El canal óseo es altamente protector y la parálisis de este nervio sensitivo es extremadamente rara.

HIPOTESIS VIRAL

El concepto etiológico de enfermedad vírica de la PF no es moderno, ya que Antoni (1919) sugirió, la idea de que se tratara de una patología producida por virus, formando parte de un cortejo sintomático de polineuritis sin manifestaciones cutáneas. Según dicho autor, sería, pues, una variante de neuritis aguda craneal denominandole "polineuritis cerebrealis acústico-facial aguda", en donde la lesión se localizaría predominantemente a nivel del ganglio geniculado.

Esta opinión se ha visto aceptada y defendida por muchos autores contemporáneos a nosotros. Sin embargo, ha existido un lapso de tiempo, casi 5 décadas, en donde dicho concepto pasó inadvertido, siendo a comienzos de la década de los 70, cuando se reaviva el concepto de la etiología vírica de PFI siendo englobado dentro de la entidad nosológica donde se encontrarían afectados, además del NF otros pares craneales homolaterales señalados por Friedman (1970), McGovern (1971), Adour (1973), Spector (1975) e incluso contralaterales incluidos el nervio facial (Safman 1971 y Chaco 1973), y el nervio estatoacústico (Adour 1973). Es decir, la parálisis facial formaría parte de una polineuritis aguda craneal benigna producida por el virus herpes simple.

Esta polineurosintomatología manifestada, generalmente, de forma incompleta en la clínica, ha sido para Adour (1976) la causa fundamental del desconocimiento de esta posibilidad etiológica, ya que al manifestarse clínicamente por unos aspectos concretos el especialista exploraba estos sin pen-

Gar en la posibilidad de afectación subclínica de otras áreas. Gracias a la medicina en equipo, la relación entre diversas especialidades, ha sido para este autor la clave del progreso en esta teoría etiológica.

Muchas de las evidencias que sustentan esta teoría son circunstanciales, recogidas a lo largo de los años, pero que le han convertido en una teoría evidentemente atractiva. Para Adour 1977, la causa vírica es fundamentalmente la responsable de esta patología paralítica. Desde el punto de vista clínico, algunos autores como Leibowitz (1969), Adour (1976-1977), defienden la etiología vírica apoyándose en que la epidemiología y curso clínico, tanto la infección vírica como de la PFI, coincide en muchos aspectos (manifestación estacional, recurrencia, aparición brusca, desencadenamiento por similares factores, etc.). Para Koczyn (1973), el dato clínico a favor de la naturaleza vírica sería la simultaneidad o procedencia inmediata de la infección vírica sistemática a la aparición de la PF. Dicho dato lo encuentra en un 50% de los casos, aunque L. Aguado y Quesada (1984), lo han observado en un 15% pensando, además, que es un dato de poco valor ya que ambos procesos pueden manifestarse clínicamente juntos, sin relación etiológica, como se deduce de los estudios de Adour (1975), Dejuperlane (1975-1976), Eleback (1976).

Igualmente, pero de manera más aislada y menos frecuente, se han descrito casos de PF probablemente motivadas por otros virus, generalmente pertenecientes a la familia herpesviridae. Allison (1950), Schnell (1966), Mendona (1973), Grose (1973)

Weintraub (1976), encuentran elevación de la tasa de anticuerpos frente al virus Epstein Barr. Mair (1983) observa que en el 73% de sus pacientes había elevación de tasas de anticuerpos frente al citomegalovirus, aunque afirma que tal elevación podría ser más bien un hecho coincidental que un hecho de significancia patogénica, datos que no coinciden con los expuesto por Adour (1975); Bey (1976), Mees (1981) y Valhne (1981), quienes no encuentran diferencias significativas entre pacientes con PF y grupo control, en cuanto a la elevación de tasa de anticuerpos se refiere.

Otras familias de virus han sido igualmente incriminadas, responsables de la PF. El virus de la rubeola (Ackerman 1975), aunque en el amplio estudio serológico realizado por Tomita (1977) encuentra igualmente tasas de anticuerpos frente a este virus, afirmando que dicho hallazgo no tiene relación con la PF y es debido a la alta incidencia de rubeola en el Japón cuando realizó el estudio; el virus de la parotiditis también ha sido señalado por Saunders (1959) como responsable.

Dejando a un lado a estos virus, que en raras ocasiones ha podido ser incriminada su responsabilidad en la aparición de la PF, y volviendo a los virus de la familia herpes, simple y zoster, hemos podido constatar discrepancias e incluso contradicciones en cuanto a la veracidad de este hecho etiológico, ya que incrementos en las determinaciones serológicas frente a estos virus herpes simple y varicela zoster, no han sido encontrados constantemente (Brackmann 1974, Adour 1978, Vahle 1981, Aviel 1981).

Tales datos contradictorios han llevado a algunos autores como Adour (1978) y Vahine (1981) a señalar que tal discrepancia sea debida, a que la PF es causada por la reactivación del virus que se encuentra en estado latente, ya que experimentalmente se ha podido comprobar que, para el mantenimiento de dicho estado, no es necesario la presencia de anticuerpos neutralizantes en sangre periférica (Sekizawa 1980), aunque su reactivación conlleva la elevación del título de anticuerpos, con lo que dichas afirmaciones no son concluyentes, viendo una vez más la defensa a ultranza de Adour de esta teoría. Y sin embargo, a pesar de tales discrepancias en cuanto a los datos obtenidos en el examen serológico y la determinación de anticuerpos específicos, parece ser que la causa vírica de la PF es una realidad palpable, como lo demuestran los estudios realizados por Aviel (1983).

Estos autores, basándose en los estudios de Levin (1981), quienes afirman que existe una estrecha relación entre infección vírica y elevación del nivel sanguíneo de interferón y desarrollo de un estado antiviral en células mononucleares en sangre periférica, observaron que en pacientes portadores de PF, sin sufrir infección intercurrente vírica y evidente existía una elevación de los valores de interferón y/o del estado antiviral en un 87%. Con ello ratifica la presunción etiológica de la PF y excluye que la discrepancia entre el porcentaje de positividad obtenido en el estudio serológico y la determinación de interferón sea debido a que la PF pudiera ser producida por virus, no incluidos en la determinación de su anticuerpo. Junto a la cuestión de los agentes casuales de la

PFI que, como hemos visto, se encuentra en controversia otra cuestión parece algo más dilucidada dentro de este supuesto agente causal de la naturaleza vírica. Me refiero a que la PFI es considerada, fundamentalmente por los autores que defienden el virus herpes, como responsable del cuadro paralítico como una polineuritis craneal, término que, como veíamos anteriormente, ya fué señalado por Antoni (1919).

Adour (1973) Friedman (1970), Chien (1970), Spector (1975), McGovern (1971), Adour (1975), Djuperland (1973), Tovi (1980), afirman que la PFI, además de ser una patología de causa vírica, en realidad se trata de una polineuritis aguda craneal, de evolución benigna, en donde, además de la afectación del VII par, es posible encontrar afectación de otros pares craneales, tales como V, VIII, IX, etc., e incluso afectación subclínica del N^o contralateral, manifestandose por un descenso de la velocidad de conducción, en una proporción que oscila entre el 50% y el 70%, o del sistema vestibular contralateral visto por Adour (1973).

Una explicación de este hecho radicaría en las peculiaridades biológicas que poseen estos virus herpéticos, de quedar acantonados a nivel de los ganglios espinales (Scarpa Naufal 1972, Gasser Baringuer 1973, Anders Adour 1976), geniculado (Davis 1981), y protegidos de la acción de los anticuerpos circulantes desencadenados durante la primera infección, la cual generalmente suele realizarse en los primeros años de la vida, aunque de forma subclínica en muchas ocasiones (Garau 1983).

Tal estado latente, por el influjo de ciertos factores desencadenantes de los que posteriormente hablaremos, se verá perturbado, permitiendo la reactivación del proceso patológico. Dicha reactivación se manifestará de diversas formas clínicas dependiendo fundamentalmente del estado inmunitario celular que controlaría e incluso imitaría las recurrencias, más que la respuesta inmunitaria humoral que no previene la aparición de aquellas (Garau 1983). A este respecto Ariel (1983) observaron como en el 52% de los pacientes con PF, por ellos estudiados presentaban en sangre periférica un descenso de los linfocitos T, así como el incremento de los linfocitos B, resultados similares encontrados en otros procesos infecciosos virales probados por distintas subfamilias de la familia herpesviridae (Manguí 1974, Utsinger 1975, Rouland 1977, Ishiguro 1980 Nyland 1978).

Dicha reactivación del proceso podría repercutir tanto a nivel cutáneo como neural, pudiendo decirse que se trataría de una infección herpética neurocutánea donde el virus, protegido de los anticuerpos circulantes (Namias 1973), a nivel de los ganglios espinales, emigraría a lo largo de su axon correspondiente hasta alcanzar su área neurocutánea. En unas ocasiones la reactivación del proceso infeccioso desencadenaría las típicas lesiones herpéticas neurocutáneas (Selmanowitz 1971), y entre ellas la PF. Esta múltiple localización ganglionar lleva aparejada el hecho de que la reactivación del virus se realice, más generalmente en todos ellos que en uno solo, aunque su repercusión clínica sea diferente, asentándose así el contexto sostenido por autores como Antoni (1919)

Friedman (1970), Adour (1975), Aviel (1983), de que la PFI formaría parte del cortejo sintomático de una polineuropatía aguda craneal benigna. Confirmando este concepto, Adour (1976) y Adour (1978) observan como junto a la PF en el 25% de sus casos se asocia afectación trigeminal; en 40% del sistema vestibular. Experimentalmente, inyectando herpes virus (Kunagami 1972) a través del orificio estilomastoideo, observa afectación vestibular en algunas ocasiones; en el 35% encuentra afectación del nervio glossofaríngeo y en el 11% presentan afectación parética de los músculos inervados por el nervio laríngeo sup. e incluso Udkvist (1983) encuentra en un 42% de sus casos afectación de la musculatura de la pierna, detectada mediante estudios electromiográficos e incluso afectación subclínica del NF contralateral, dato que también fué encontrado entre el 50% y el 75% por Sofman (1971) y Chaco (1973) y que muy bien podría explicar algunas de las PF alternantes o incluso bilaterales.

En términos globales, Aviel (1983) encuentran afectación de otros pares craneales en un 60% de los casos. Pero tales datos, obtenidos por el estudio clínico y mediante el laboratorio, no eran suficientes para confirmar la sospecha de la infección vírica. Precisa, como afirma Adour (1977) la ratificación de los hechos por el estudio histopatológico de especímenes biopsicos de NF. Sin embargo, tales datos son difícilmente obtenidos, por la simple razón de que la PF jamás conduce a la muerte al paciente, contando tan sólo, con unos trabajos de Proctor (1976), Reddy (1966) y Podvine (1982) en donde se observaron células inflamatorias así como una reacción inflamatoria intraneural con extravasación en el área perivascular, re

sultados similares a los obtenidos experimentalmente por Kumani (1972), al inyectar el virus del herpes simple a través del orificio estilomastoideo. Sin embargo, la presencia de dichas células inflamatorias es interpretada por Blackwood (1969) y Gussen (1977), como reacción del organismo con el fin de fagocitar los detritus de vaina de mielina producido por el proceso degenerativo del propio nervio, o como afirman Denny-Brown (1944) y Feisch (1983), debidas a una reacción frente al fenómeno compresivo desencadenante de la PF. Igualmente, estudios histológicos del NF realizados por Jongkees (1954), tampoco observaron la presencia de células inflamatorias que hicieran prejuzgar una respuesta defensiva frente a una inflamación vírica. Fuera de este trabajo, tan solo contamos con estudios biópsicos de especímenes obtenidos en el acto quirúrgico de la descompresión nerviosa y procedentes de las vainas nerviosas perí y epineurales, y en los que no existía la presencia de células inflamatorias (Kettel 1947, Sade 1965, Sade 1972). Así pues, podemos decir que si bien es cierto que existen datos clínicos y de laboratorio que podrían hacer pensar en la naturaleza vírica de este proceso no lo es menos, que falta su confirmación.

'HIPOTESIS INMUNOLOGICA

Es una nueva teoría no significativa que, recientemente ha recibido considerable soporte experimental. Los casos ocasionales de PFI bilateral, tienen frecuentemente rápida comparación con el SGB. En 1916, Patrick escribió: clínicamente, parece no haber línea divisoria entre diplegia facial por polineuritis y diplegia facial a frigore. Dando un paso más, una poderosa pregunta se formula y es: ¿Cuál es la diferencia esencial entre ambas?

Una diferencia muy importante entre SGB y PFI es, que las proteínas LCR están aumentadas en la primera y son normales en la última. Sin embargo, Charous y Saxe (1962) apuntan las siguientes similitudes entre las dos.

- Ambas tienen un rápido inicio y mejoría espontánea.
- Edema en nervio y degeneración de la mielina han sido reconocidas en las dos.
- Y idiopática con una respuesta alérgica, ha sido postulada en ambas.

A esto podemos añadir:

- Tratamiento esteroideo en ambos.
- Formas recurrentes en ambos, en un número pequeño de casos.
- Una infección viral precedente, es asociada en ambos, en un número de casos
- A veces la PF unilateral aparece en SGB.
A veces hay evidencia de polineuropatía en la PFI.

Esto sugiere, que PFI es una mononeuropatía con LCR normal en proteínas, y GB una po-

lineuropatía con aumento de proteínas en LCR, esto puede representar el opuesto de una nueva enfermedad. Recientes trabajos experimentales en la producción de PF en animales por métodos inmunológicos, han dado fuerte soporte a esta hipótesis. Coassolo (1953) indujo PF colocando hielo sobre el proceso mastoideo de conejos sensibilizados con suero de caballo. No se produjo parálisis por hielo en animales no sensibilizados, actuando como control. McGovern y Hansel (1961) no fueron capaces de reproducir estos hallazgos. Sin embargo, en 1972, McGovern, usó perros no sensibilizados como control y mostraron que los sensibilizados tenían una parálisis más severa, con daño al nervio histológico más intenso cuando el canal de Falopio era inyectado con suero salino o de caballo. Después, McGovern (1977), mostró, en perros inmunizados, que la severidad del daño NF era directamente proporcional al grado de degranulación de los mastocitos. La degranulación de los mastocitos, es un hecho característico de reacciones inmunológicas. La infusión de cromolin sodio (INH de los degranulación mastocitos), disminuye el grado de PF experimental y la severidad del daño nervio histológico. Un muy estrecho enlace entre PFI y SGB en humanos, ha sido demostrado por Abramsky (1975). Encuentra una llamativa similaridad inmunológica en ambos. La respuesta linfocítica "in vitro" a nervio periférico de proteínas PII era fuertemente positiva en ambos. No hay respuesta linfocítica en ambas condiciones a otros agentes neurales (P2, 3E, AChR) comunemente usados en enfermedades neurológicas autoinmunes experimentales. La proteína básica PII, produce neuritis alérgica experimental en animales. La respuesta linfocitaria a Ag. PII neural era halla-

da exclusivamente en PFI o en SGB. En 26 sujetos control con otros tipos de PF o con neuropatía crónica no se obtuvo tal respuesta. Se postuló entonces, que en linfocitos sensibilizados a mielina "in vivo" de nervio periférico, dió un aumento de células mediadoras de respuesta autoinmune en PFI y SGB. Abramsky (1975), sugirió que la teoría inmunológica justificaría el uso de tratamiento corticoideo por su acción inmunosupresora.

CAPITULO IV

INTRODUCCION INMUNOLOGICA: INMUNIDAD HUMORAL

INTRODUCCION INMUNOLOGICA

- A - INMUNIDAD ESPECIFICA

- B - CELULAS DE LA RESPUESTA INMUNITARIA
 - a. Células T.
 - b. Células B.
 - c. Proliferación de los linfocitos.

- C - ESTRUCTURA Y FUNCION DE LOS ANTICUERPOS
FUNCIONES EFECTORAS DE LOS ANTICUERPOS
ESPECIFICIDAD DEL ANTICUERPO

- D - EL COMPLEMENTO

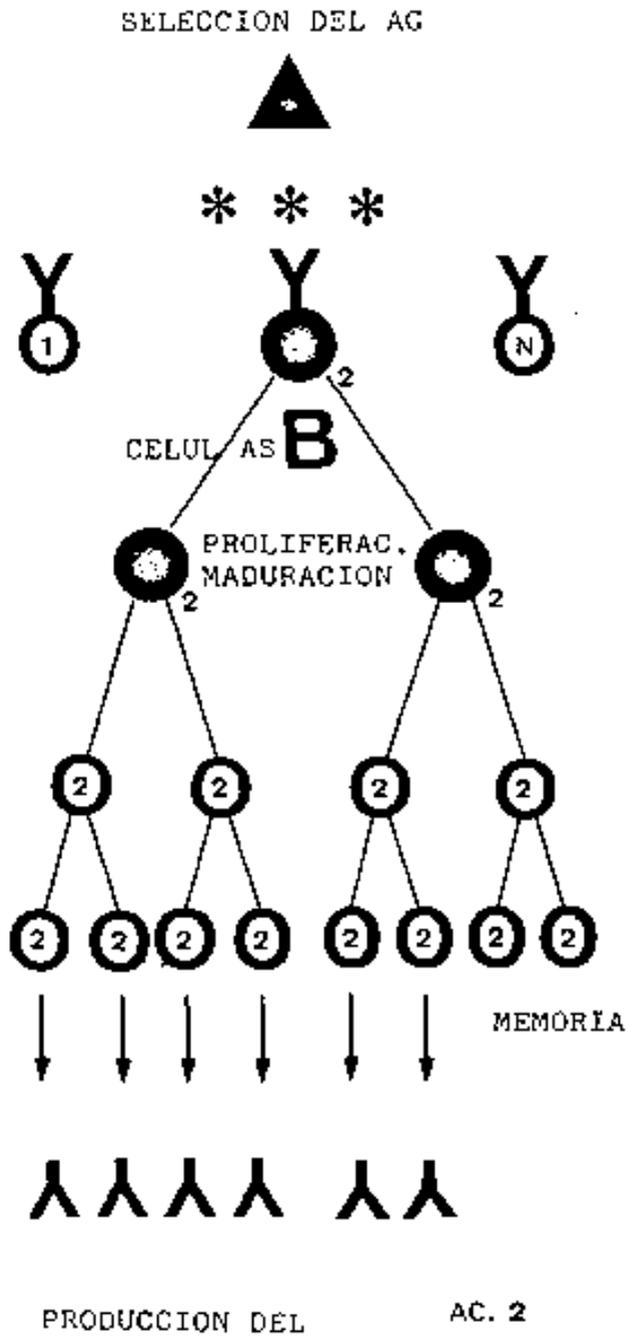
- E - LA RESPUESTA INMUNITARIA: HUMORAL
MADURACION DE LA AFINIDAD
MECANISMOS DE COOPERACION CELULAR
GENERACION DE LA DIVERSIDAD DE ANTICUERPOS
DESARROLLO DE LA DIVERSIDAD DE CLASES DE IG

- F - INMUNIDAD . FRENTE A VIRUS
INFECCION VIRICA

La capacidad del ser humano de crear una respuesta inmunitaria es una espada de dos filos. Un informe de la Organización Mundial de la Salud, define la Inmunidad de esta forma: " La respuesta inmunitaria engloba todos los fenómenos que resultan de la interacción de células específicas del sistema inmunitario con el antígeno. Como consecuencia de esta interacción aparecen células que participan en las respuestas inmunitarias celulares (de índole de sensibilidad tardía), al igual que células que sintetizan o secretan una de las diversas clases de inmunoglobulinas ". (W. H. O. Scientific Group Report, 1970). En este enunciado, está implícito el concepto hoy bien establecido de que .. la respuesta inmunitaria del ser humano entraña dos mecanismos diferentes pero que dependen mutuamente.

A. INMUNIDAD ESPECIFICA

La especificidad del sistema inmunitario adaptativo, se basa en las especificidades de los anticuerpos y los linfocitos. Se sabe que cada linfocito sólo reconoce un antígeno determinado (Roitt, 1984); puesto que el conjunto del sistema inmunitario puede reconocer de forma específica muchos miles de antígenos, esto significa que los lin



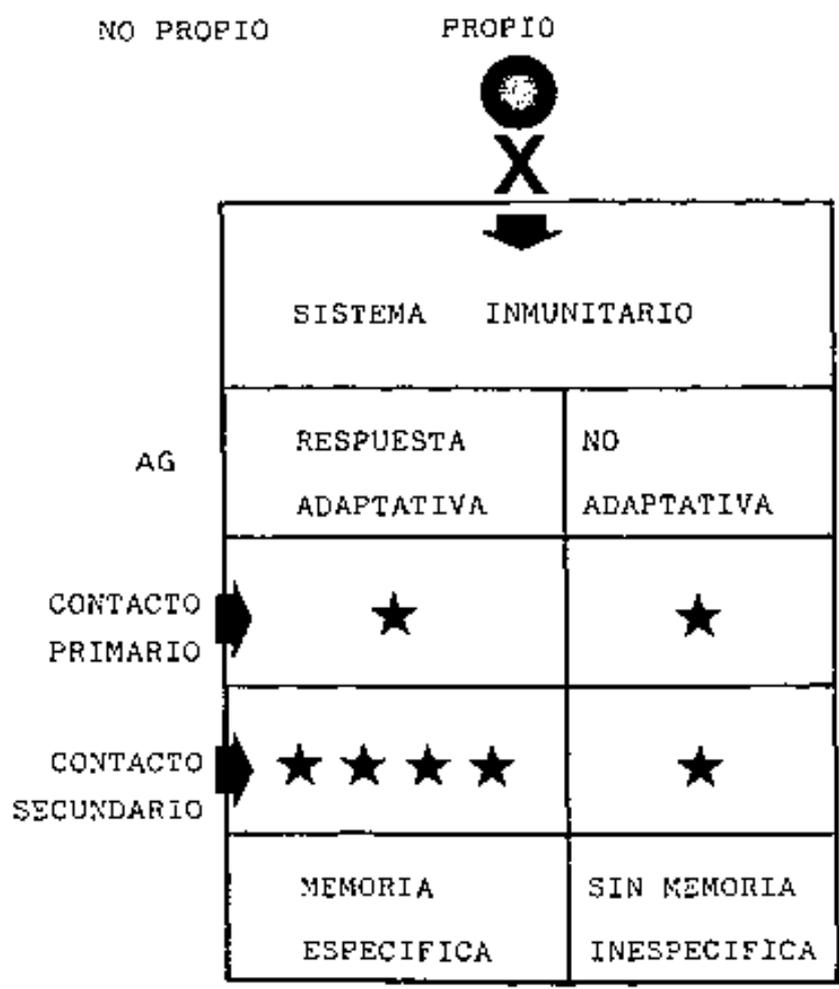
SELECCION CLONAL

focitos reconocedores de cualquier antígeno particular, constituyen una proporción muy pequeña del total. Por ello la generación de una respuesta adecuada contra un agente infeccioso radica en la selección clonal (Sites 1984). El antígeno se une al pequeño número de células que pueden reconocerlo, e induce su proliferación hasta conseguir células suficientes para desarrollar una respuesta inmune adecuada; es decir, el antígeno selecciona a las clonas celulares capaces de fijarlo específicamente.

Este proceso actúa tanto para los linfocitos B, que proliferan y maduran transformándose en células productoras de anticuerpos como para los linfocitos T, que están involucrados en el reconocimiento y la destrucción de las células infectadas por virus (Golub 1981).

Esto plantea la cuestión de que es exactamente lo que el sistema inmunitario puede reconocer. En sentido amplio, este sistema considera a todas las moléculas no pertenecientes al individuo, como no propias, y reacciona contra ellas, mientras, que reconoce muchas moléculas del individuo como propias y no reacciona frente a ellas. La falta de reacción contra una molécula que es potencialmente antigénica recibe la denominación de tolerancia (McConnell 1981).

La importancia crítica de la discriminación propio no propio se resalta dentro del contexto de las respuesta inmunitarias adaptativas o específicas y no adaptativas o inespecíficas. El cuerpo debe tolerar sus propios tejidos y, reaccionar de forma efectiva contra todos los agentes



DISCRIMINACION PROPIO - NO PROPIO

infecciosos para evitar la enfermedad.

B. CELULAS DE LA RESPUESTA INMUNITARIA

El sistema inmunitario de los vertebrados consiste en una serie de órganos y varios tipos de diferentes células que han evolucionado para reconocer de modo exacto y específico los antígenos no propios presentes sobre los microorganismos, y así poder eliminarlos. Por el contrario, los animales inferiores tienen mecanismos defensivos más primitivos para protegerse. Entre esos mecanismos se incluyen proteínas con baja especificidad que pueden reconocer y aglutinar una amplia variedad de microorganismos, y células capaces de englobar y digerir los microbios (Ezckowitz (1983). Los fagocitos, son un mecanismo de defensa importante en todos los animales, incluyendo los vertebrados. El desarrollo evolutivo clave que distingue el sistema inmunitario de estos últimos respecto del de los animales inferiores, es la capacidad que han adquirido los órganos y células linfoides de aquellos para proporcionar un reconocimiento específico de los antígenos no propios (Ezckowitz 1983).

Todas las células del sistema inmunitario, proceden de células primordiales pluripotenciales, a través de dos líneas principales de diferenciación:

- 1.- La línea linfoide, que es la que da lugar a la producción de linfocitos
- 2.- La línea mieloide, que conduce a la producción de fagocitos y otras células.

Existen dos clases diferentes de lin-

focitos con funciones distintas: las células T y las células B. Las células T se diferencian inicialmente en el timo, mientras que las células B se diferencian en el hígado fetal, el bazo; en los mamíferos la diferencia está en la médula ósea del adulto. En las aves, las células B se diferencian en el interior de un órgano que existe sólo en ellas, la bolsa de Fabricio.

También, hay una población de células nulas (no T, no B) o de la tercera población, que carecen de las características correspondientes a las células T y B, y cuya secuencia de diferenciación es incierta (Zucher-Franklin 1980). Desde un punto de vista funcional, es posible distinguir esos tres tipos celulares, pero morfológicamente las células Y y las B son idénticas. Los linfocitos se producen en los órganos linfoides primarios a una tasa elevada (10^9 / día). Algunas de estas células migran con la circulación hacia los tejidos linfoides secundarios: bazo, ganglios linfáticos, y tejido linfoide no encapsulado. El adulto humano tiene alrededor de 10^{12} células linfoides, y el conjunto del tejido linfoide representa aproximadamente el 2% del peso corporal total (Zucher 1980). Estas células constituyen alrededor del 20% de los leucocitos totales presentes en la circulación del adulto; la mayoría de las células blancas son polimorfonucleares. Muchas células linfoides maduras tienen una vida larga y pueden persistir como células memoria durante varios años.

CELULAS T

La población de linfocitos pequeños comprende células tanto B como T. Aunque parecen

similares, es posible diferenciar unas de otras, puesto que poseen proteínas de membrana distintas, que actúan como marcadores. Por ejemplo, las células T humanas, pero no las B tienen un marcador que se une a los eritrocitos de carnero (Lydyard 1985). La tecnología de hibridomas para fabricar anticuerpos monoclonales reconocedores de estos marcadores de membrana, junto con las técnicas de flujo citometría, que permiten separar las células sobre la base de su tamaño e intensidad de fluorescencia, han revolucionado los estudios sobre las actividades funcionales de las poblaciones de células linfoides. Los marcadores se utilizan para definir subpoblaciones de células T (Feaison 1984). La mayoría de las células T humanas, expresan tres glucoproteínas de superficie cuya expresión no vamos a desarrollar aquí; sin embargo si queremos decir, que las células B poseen inmunoglobulinas de membrana que actúan como receptor específico para el antígeno. En cambio, el receptor específico para el antígeno de las células T, es una glucoproteína de membrana que se compone de dos cadenas y puede identificarse con su correspondiente anticuerpo monoclonal. Otros antígenos de membrana, como los receptores para la región Fc del anticuerpo, se encuentran tanto en las células B como en las T, y probablemente intervienen en la regulación de las respuestas linfocitarias (Roitt 1984).

Los anticuerpos monoclonales dirigidos contra los marcadores de superficie de los subgrupos funcionales de células T humanas, también han sido muy útiles para definir los distintos estadios del proceso de diferenciación intratímica de las células T sanguíneas humanas normales (alrededor del 65-80% en la circulación del adulto), tienen

una ultraestructura característica de linfocitos pequeños, con una relación núcleo-citoplasma alta y pocas organelas intracitoplasmicas (Janett 1984).

CELULAS B

Los linfocitos B representan alrededor del 5-15% del reservorio linfoidé circulante, y se definen clasicamente por la presencia de inmunoglobulinas endógenas. Estas moléculas se hallan insertadas en la membrana superficial, en la que actúan como receptores específicos para el antígeno.

En la sangre periférica, la mayoría de los linfocitos B humanos expresan simultáneamente IgM e IgD de superficie, mientras que apenas existen células con IgA-G-E de superficie, aunque estas últimas pueden abundar en determinadas localizaciones del organismo.

Puesto que otras células, además de las B, poseen receptores capaces de fijar inespecíficamente inmunoglobulinas por su fragmento Fc, hay que tener cuidado en evaluar el número de células B, pues las Ig unidas a dichos receptores pueden igualmente ser teñidas por los anticuerpos anti Ig (Roitt 1984).

Los anticuerpos bivalentes entrecruzan los antígenos de las glucoproteínas de la membrana, dando lugar así a la formación de complejos antígeno-anticuerpo sobre la superficie celular, lo que al microscopio adopta la forma de parches. La mayoría de estos complejos, se desplazan activamente sobre la superficie celular, lo cual se observa bajo la apariencia de un casquete en uno de

los polos de la célula. Este fenómeno no es privativo de las Ig de membrana de las células B, sino que también se observa con las glicoproteínas de superficie de otros tipos de células cuando se unen a ellas anticuerpos multivalentes (Friedman 1981). Las células B humanas, tienen otros marcadores; esas células se definen como aquellos elementos celulares que poseen en su superficie Ig producidas endogenamente. La mayoría de las células B, expresan también productos de clase 2 del MHC. Estos productos son funcionalmente importantes para regular la respuesta inmunitaria. En las células B más maduras se encuentran receptores para las fracciones C3b y C3d del complemento; el Lyb5 (un aloantígeno del ratón), aparece igualmente en fases posteriores de la diferenciación de esas células. El Ly1 es primariamente un marcador de las células T murinas, pero al igual que el marcador T1 de las células T humanas, se encuentra también en una subpoblación distinta de células B (Lydyard 1985). Las células B humanas tienen un receptor de superficie para el virus de Epstein-Barr. Una subpoblación de células B humanas, presenta también un receptor para los eritrocitos del ratón, este, junto con el marcador T1 es probablemente característico de las células B inmaduras.

PROLIFERACION DE LOS LINFOCITOS

Durante su desarrollo, tanto los linfocitos T como los B adquieren receptores específicos para los antígenos, que los comisionan para una única especificidad antigénica durante el resto de su vida. Las células se activan cuando se unen con su antígeno específico en presencia de células accesorias, y entonces los linfocitos virge-

nes en reposo proliferan y maduran, para transformarse en células efectoras. La selección clonal a través del reconocimiento del antígeno provoca, la expansión de clonas específicas, que acaban diferenciándose en células efectoras o producen células de memoria. Los linfocitos en reposo (sobretudo las células de memoria), recirculan por los tejidos del cuerpo y los órganos linfoides a través de la sangre y del conducto torácico, ejerciendo así una completa vigilancia contra los microorganismos (Zuched 1980).

La proliferación linfocitaria inducida por el antígeno, ocurre normalmente fuera de la sangre y del conducto torácico, y se puede observar "in vitro", cultivando células linfoides con antígenos específicos. Utilizando el mismo sistema experimental, es posible demostrar que las lecitinas mitógenas estimulan de forma policlonal a las células linfoides. La activación de los linfocitos por antígenos o mitógenos, provoca cambios intracelulares y la subsiguiente transformación en linfoblastos. Las células B y las T son activadas por mitógenos o antígenos, se observan características distintivas de diferenciación a nivel ultraestructural (Playfair 1984).

En último término, muchas células plásticas B maduran para transformarse en células plasmáticas diferenciadas. Algunos blastos B, no desarrollan polirribosomas unidos a la membrana. Estas células se encuentran en los centros germinales y, se conocen como células de los centros foliculares o centroblastos, aunque no se sabe con certeza, se cree que corresponden a las células B memoria.

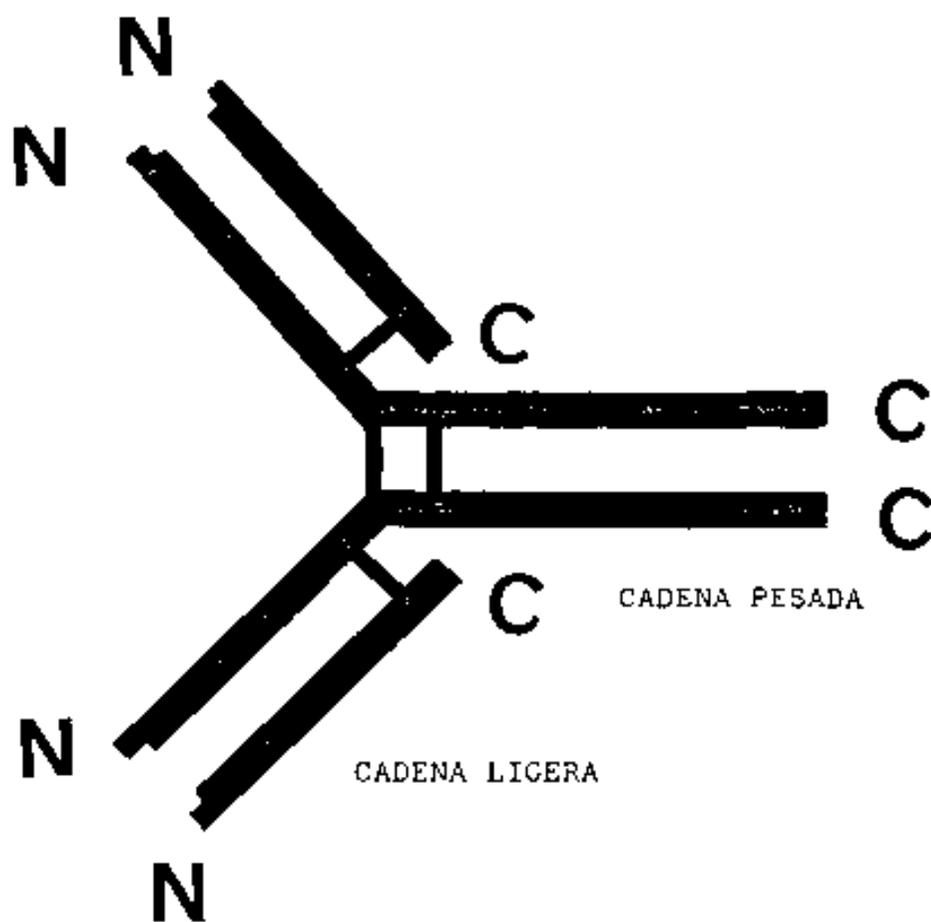
El microscopio óptico, la célula plasmática, tiene un citoplasma basófilo, debido a la gran cantidad de RNA utilizado para la síntesis del anticuerpo en el RER. A nivel ultraestructural, el RER se suele observar en formaciones paralelas. Esta es la línea de producción de la elaboración de anticuerpos. Las células plasmáticas se observan rara vez en la circulación (menos del 0,1% de los linfocitos) y se limitan, normalmente a los tejidos y a los órganos linfoides secundarios. Los anticuerpos producidos por una sola célula plasmática, poseen una sola especificidad y pertenecen a una sola clase de Ig. Las Ig se visualizan en el citoplasma de la célula plasmática mediante tinción con anticuerpos específicos, marcados con fluoresceína (Feaison 1984).

C ESTRUCTURA Y FUNCION DE LOS ANTICUERPOS

Las Ig o anticuerpos, son un grupo de glucoproteínas presentes en el suero y en los líquidos intersticiales de todos los mamíferos. Su producción es inducida, cuando el sistema linfóide del huésped entra en contacto con moléculas extrañas inmunogénicas, y se unen específicamente con el antígeno que induce su formación.

FUNCION DE LOS ANTICUERPOS

En esencia, cada molécula de Ig es bifuncional; una región de la molécula interviene en la unión específica con el antígeno, mientras que otra región, distinta, es responsable de la unión a los tejidos y moléculas del huésped, incluyendo diversas células del sistema inmunitario, algunos



ESTRUCTURA BASICA DE LAS IG

IG

fagocitos y el primer componente C1q del sistema del complemento clásico.

ESTRUCTURA DE LOS ANTICUERPOS

En 1962, Rodney Porter propuso para las moléculas inmunoglobulínicas un modelo básico en cuatro cadenas, que se basa en dos tipos distintos de cadenas polipeptídicas: la menor (ligera), tiene un peso molecular de 25.000 y es común a todas las clases de Ig, mientras que la mayor (pesada), tiene un peso molecular de 50.000-77.000 y es estructuralmente distinta para cada clase o subclase. Las cadenas polipeptídicas de las Ig, están unidas por fuerzas covalentes y no covalentes y forman así, una estructura basada en parejas de cadenas ligeras y pesadas idénticas. Las Ig G-D-E sólo existen como monómeros de la unidad de cuatro cadenas, la IgA se encuentra tanto en forma monomérica como polimérica, y la IgM se presenta como un pentámero con cinco subunidades de cuatro cadenas juntas (Stewart 1983).

Se ha demostrado que las cadenas ligeras de la mayoría de los vertebrados, se presentan en dos formas distintas, llamadas kappa y lambda. Pueden distinguirse por su comportamiento como antígeno; es posible producir antisuero contra un tipo de cadenas ligeras sin que reaccione con el otro tipo. Cualquiera de los tipos de cadenas ligeras, puede combinarse con cualquiera de los de las cadenas pesadas, pero en una misma molécula, las dos ligeras son siempre del mismo tipo y no existen moléculas híbridas naturales (Stewart 1983).

Los trabajos de Hilschmann y Craig en

1965 establecieron, que cuando se sigue la secuencia de las cadenas ligeras del mismo tipo, estas aparecen compuestas por dos regiones distintas. La mitad carboxiterminal de la cadena (aproximadamente 107 residuos aminoácidos) es constante, excepto por ciertas variaciones alotópicas e isotópicas, y se le denomina región C_L (región constante de la cadena ligera); la mitad aminoterminal, muestra gran variabilidad de la secuencia y se le llama región V_L (región variable de la cadena ligera) (Day 1972).

La molécula de IgG puede considerarse un ejemplo típico de la estructura básica de los anticuerpos. Como muestra esa molécula, tiene dos puentes disulfuro intracadena en las cadenas ligeras, uno en la región variable y otro en la constante. En la cadena pesada, que es dos veces más larga que la ligera, existen cuatro regiones: una región variable, situada en el extremo aminoterminal, a la que se denomina V_H (región variable de la cadena pesada) y tres regiones constantes, que son designadas numericamente como C_H1-2-3 (regiones constantes de las cadenas pesadas 1-2-3-). Al igual que en las cadenas ligeras, dentro de cada una de estas regiones, existe un puente disulfuro intracadena. Cada puente abarca un asa peptídica de 60-70 residuos aminoácidos y, si se comparan las secuencias de aminoácidos de esas asas, se observa una notable homología. Esto significa que cada cadena peptídica inmunoglobulínica, está compuesta por una serie de regiones globulares que tienen una estructura secundaria y terciaria (plegamientos) muy similar. Las asas peptídicas abarcadas por los puentes disulfuro, representan la porción central

de un dominio de unos 110 residuos (Stewart 1977). Puede usarse una nomenclatura específica para describir los dominios de las clases diferentes.

FUNCIONES EFECTORAS DE LOS ANTICUERPOS

Como ya hemos dicho anteriormente, la función primaria del anticuerpo es unirse al antígeno, pero aparte de aquellos casos en los que ese anticuerpo tiene un efecto neutralizante directo, tal interacción carecería de significado, si no se manifestaran después funciones efectoras secundarias. La activación del sistema del complemento, es uno de los mecanismo efectores más importantes de las moléculas IgG1 e IgG3. Este sistema, es un grupo complejo de proteínas sericas que media las reacciones inflamatorias. Después de unirse al antígeno la IgM, IgG1-3 pueden activar la cascada enzimática del complemento. La IgG2 parece ser menos efectiva en la activación del complemento, mientras que las IgG4, A-D-E son ineficaces a este respecto (Weir 1978).

Las IG muestran también un patrón complejo de interacciones con varios tipos de células. Parte de estos datos son todavía objeto de controversia, especialmente los relacionados con las interacciones frente a los linfocitos, y es posible que el tema se aclare más al mejorar la definición de las subpoblaciones celulares (Koitt 1984).

ESPECIFICIDAD DEL ANTICUERPO

Las reacciones antígeno-anticuerpo pueden mostrar un alto nivel de especificidad, los

sitos de combinación de los anticuerpos dirigidos contra los determinantes de un antígeno particular no son complementarios con los determinantes de otro antígeno. Un antisuero contiene un conjunto de moléculas anticuerpo individuales, y cada una de ellas reacciona con partes diferentes de la molécula antigénica e incluso con partes distintas de un mismo determinante antigénico; la especificidad de un antisuero es por lo tanto, el resultado de la suma de acciones de los diversos anticuerpos que integran la población total. Sin embargo, cuando algunos determinantes de un antígeno son compartidos por otro antígeno, entonces una parte de los anticuerpos dirigidos contra el primero reaccionan también con el segundo. Este fenómeno, constituye la denominada reactividad cruzada (Steward 1983).

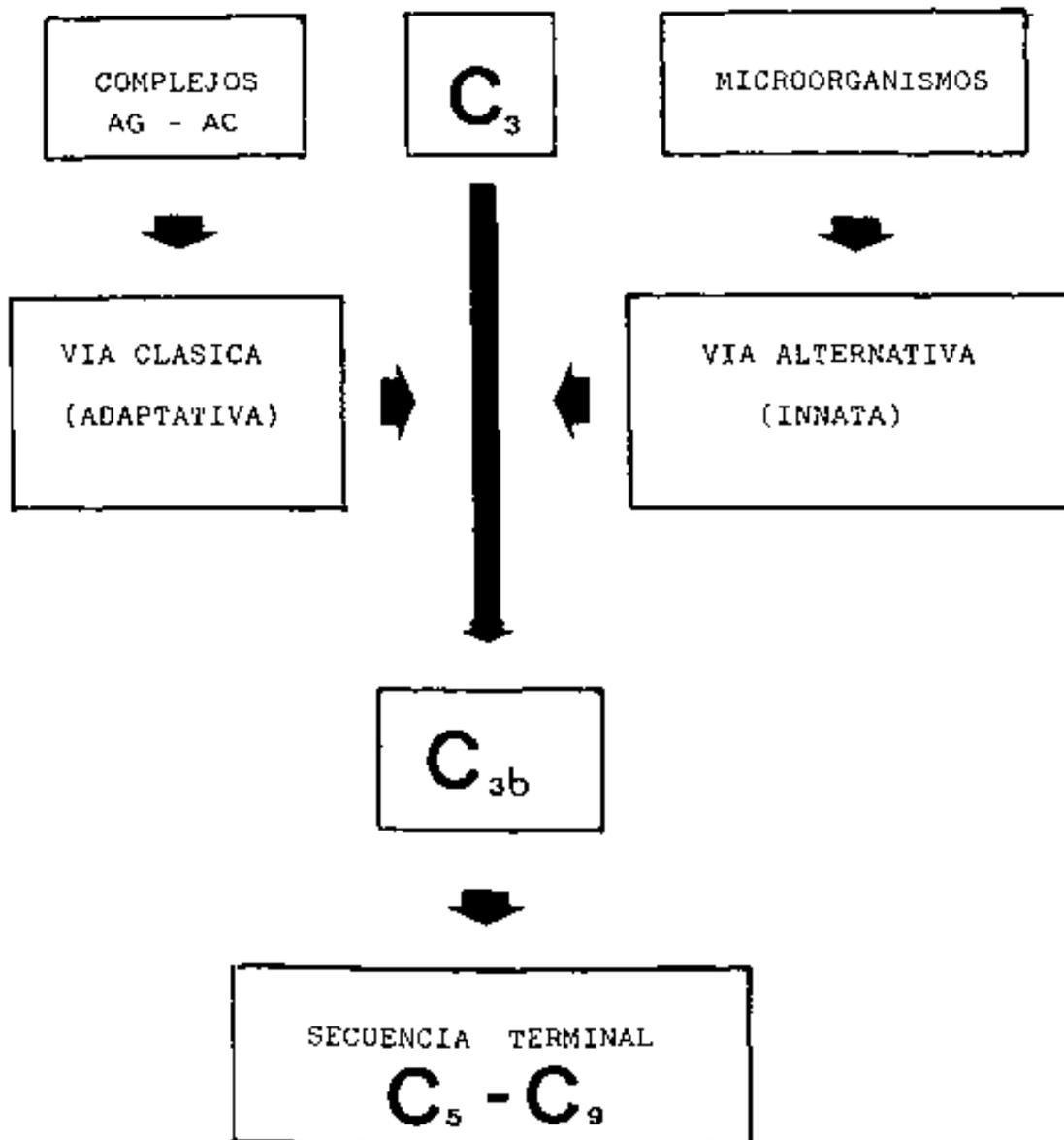
Respecto a las reacciones antígeno-anticuerpo, existen notables evidencias de que el anticuerpo reconoce la configuración total del antígeno más que la composición química de este y se considera que los anticuerpos están dirigidos contra determinadas formas de nubes electrónicas tridimensionales, más que contra unas estructuras químicas concretas. Además, con mucha frecuencia existe una relación inversa entre la carga de un antígeno y la carga de los anticuerpos que induce. Los anticuerpos son capaces de expresar una especificidad notable, y pueden distinguir pequeñas diferencias en la carga, la configuración óptica, y la conformación estérica (Steward 1977).

En los últimos años, las investigaciones han sugerido que una molécula anticuerpo puede ser complementaria para varios antígenos no

similares. La unión de estos antígenos es competitiva y, al parecer, existen posiciones espacialmente separadas dentro del lugar de combinación. Sobre esta base, la especificidad de una población de anticuerpos no se debería necesariamente, a que todos los anticuerpos tengan la misma especificidad exclusiva, sino a que un gran número de anticuerpos polifuncionales diferentes, tengan un sitio que pueda combinarse con un antígeno determinado; la reactividad neta de estos anticuerpos sería alta para un primer antígeno, y baja para todos los demás antígenos; así pues, la especificidad constituiría un fenómeno de población, una característica media de todos los anticuerpos que se hallan presentes en un antisuero (Steward, Steensgaard 1983).

D. EL COMPLEMENTO

Los anticuerpos se descubrieron entre los años 1890 y 1893, pero poco después se demostró que su capacidad para inactivar el material extraño, dependía de la colaboración de otro factor, el complemento. Este consiste en una serie compleja de proteínas, muchas de las cuales son proteinasas. Tal sistema de enzimas, complementa de modo inespecífico los efectos inmunológicos específicos del anticuerpo, mediante opsonización y lisis de eritrocitos en los sistemas experimentales y bacterias (Lachman 1979). No obstante, tal definición, requiere alguna ampliación, teniendo en cuenta los conocimientos más recientes sobre las actividades biológicas del complemento. En particular, los péptidos de bajo peso molecular liberados durante la activación de la cascada del complemento, ejercen



COMPARACION DE LAS VIAS CLASICA Y ALTERNATIVA DEL COMPLEMENTO

potentes efectos sobre las células inflamatorias, efectos que se pueden definir como activación celular (Ochs 1983).

El sistema del C, realiza tres funciones: activación celular, citólisis, y opsonización (facilitar la actividad de las células fagocíticas mediante la adherencia de los componentes del complemento que funcionan como opsoninas) (Porter 1978).

Las proteínas del sistema del complemento, forman dos cascadas enzimáticas relacionadas entre sí, a las cuales se denomina vía clásica o vía alternativa. Estas proporcionan rutas para la escisión de C₃, lo que constituye el acontecimiento central en el sistema del complemento, un tercer conjunto de proteínas plasmáticas se incorpora en las estructuras (complejos de ataque de la membrana) responsables de las lesiones líticas en las bicapas lipídicas de las membranas extrañas, lesiones estas que resultan letales para el microorganismo invasor (Tranum Jensen 1978).

Las cascadas enzimáticas del complemento, son generadas mediante activación de precursores de las enzimas, que se fijan por turno a las membranas biológicas. Cada precursor enzimático es activado por el componente anterior, que es una proteínasa altamente especializada. Esto convierte al precursor enzimático en su forma catalíticamente activa mediante proteólisis limitada, durante la cual se escinde un pequeño fragmento peptídico, y en el fragmento mayor surge y queda al descubierto un sitio de unión a la membrana por el que se fija sobre esta, quedando así formada la siguiente

enzima del complemento. Puesto que cada enzima puede activar muchas moléculas precursoras, cada paso es amplificado, y el sistema forma una cascada amplificadora que recuerda a las reacciones observadas en la coagulación de la sangre y la fibrinólisis. La diferencia principal, radica en que el del complemento es un sistema asociado de modo predominante a las membranas o a los complejos antígeno-anticuerpo y normalmente actúa de forma local. (Podach 1982)

E LA RESPUESTA INMUNITARIA: HUMORAL

Cuando un individuo entra en contacto con un antígeno por primera vez, las células de su sistema inmunitario reconocen dicho antígeno y, o bien producen una reacción inmunitaria, o bien se hacen tolerantes a él, según las circunstancias presentes. La reacción inmunitaria puede adoptar la forma de inmunidad mediada por células, o implicar la producción de anticuerpos dirigidos contra el antígeno (Erb 1980). El hecho de que se produzca esa respuesta, o la producción de anticuerpos, dependerá de la forma en que el antígeno sea presentado a los linfocitos: muchas reacciones inmunitarias muestran ambas clases de respuesta. En el segundo y subsiguientes contactos con el antígeno, el tipo de respuesta depende en gran parte del resultado de la primera estimulación antigénica, pero la cantidad y la calidad de las respuestas son diferentes (Howard 1983):

1.- Evolución cronológica. La respuesta secundaria, tiene una fase de latencia más corta, y una meseta y una fase de descenso prolongadas.

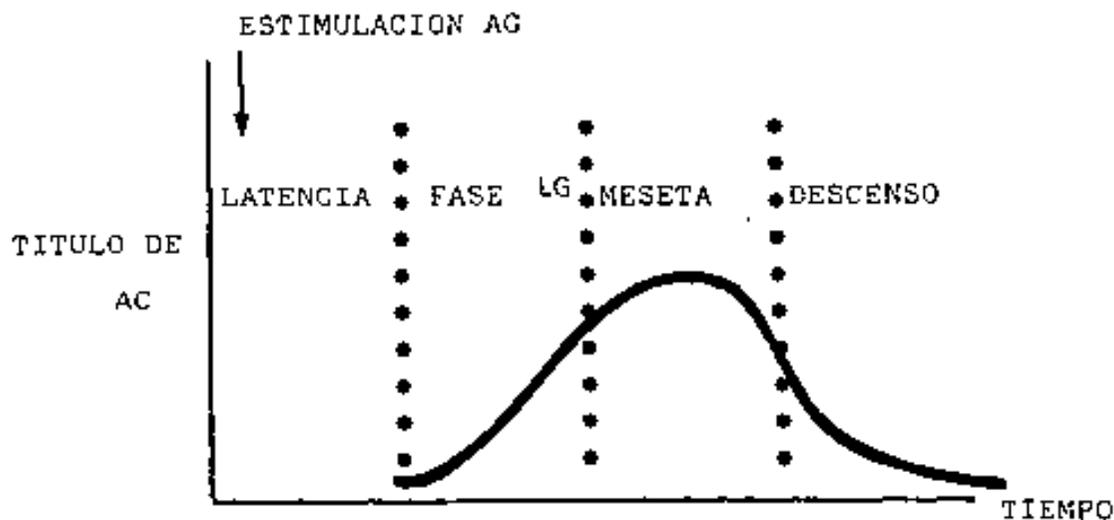
2.- Título de anticuerpos. El nivel de anticuerpos durante la fase de meseta, es mucho más alto en la respuesta secundaria, generalmente diez veces superior (e incluso más en algunos casos), al nivel alcanzado en la fase de meseta de la respuesta primaria.

3.- Clase de anticuerpos. En la respuesta primaria, los anticuerpos IgM constituyen una proporción principal, mientras que la respuesta secundaria, se compone casi por completo de anticuerpos IgG.

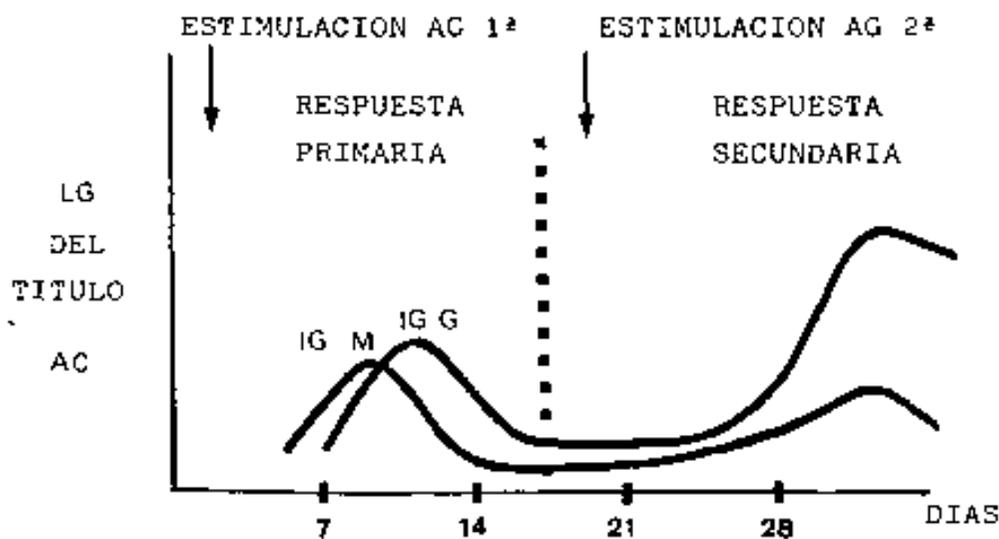
4.- Afinidad de los anticuerpos. La afinidad de los anticuerpos, es por lo común mucho mayor en la respuesta secundaria. Esta, es la llamada maduración de la afinidad.

MADURACION DE LA AFINIDAD

Se ha señalado que los anticuerpos producidos en una respuesta secundaria a un antígeno T dependiente, tienen una afinidad media más alta que los producidos en la respuesta primaria (Singer 1983). Puesto que los linfocitos individuales no cambian la especificidad de sus receptores antigénicos, es evidente que esa maduración de la afinidad, implica la expansión selectiva de clones de células productoras de anticuerpos de alta afinidad. Esto se asocia con el cambio de producción de la IgM a la IgG. Puesto que no existe maduración de la afinidad en la respuesta IgM. Además, el grado de esa maduración depende de la dosis de antígeno administrada. Las dosis más altas, producen una maduración pobre y una respuesta de afinidad más bajas que las dosis menores (Singer, Hades



LAS CUATRO FASES RESPUESTA DE AC PRIMARIA.



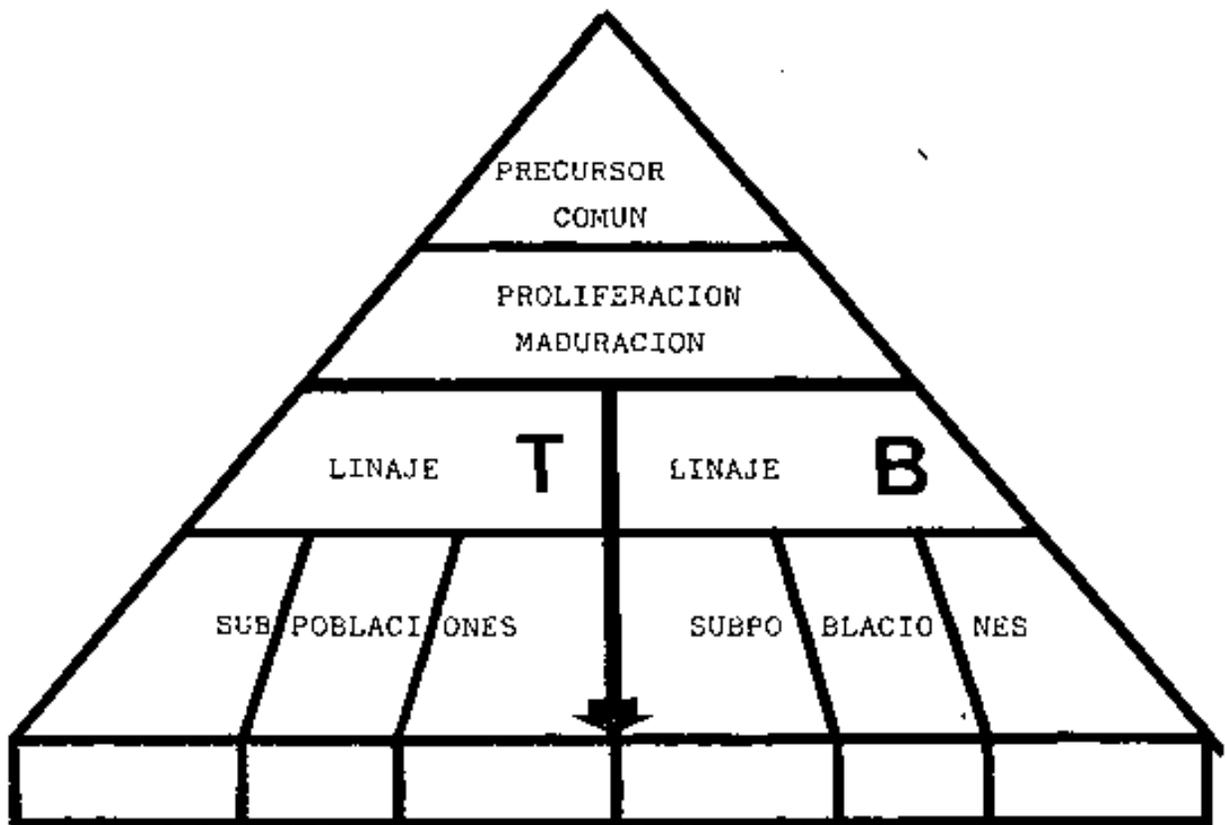
RESPUESTAS DE ANTICUERPOS PRIMARIA Y SECUNDARIA

983). Ello se explica diciendo que, en presencia de concentraciones bajas de antígeno, sólo las células B, con receptores de alta afinidad, se unen al antígeno y son activadas para dividirse y diferenciarse. Sin embargo, en presencia de concentraciones altas de antígenos, existe cantidad suficiente de estos, para que se unan y activen a las células B con receptores de afinidad, ya sea alta o baja.

MECANISMOS DE COOPERACION CELULAR

Está comprobado que, el acontecimiento crucial que determina la especificidad antigénica de una respuesta inmunitaria, es la activación de determinadas clonas de linfocitos a través de sus receptores para el antígeno. En este sentido, el antígeno selecciona los linfocitos que desarrollarán la respuesta contra él.

Como ya sabemos, la unión del antígeno con los linfocitos, no siempre es suficiente para producir una respuesta inmunitaria. Las células B que responde a un antígeno T dependiente, requieren la ayuda de las células T para producir una respuesta óptima, y en estas respuesta inmunitarias, ese antígeno T dependiente es reconocido con efectividad a través de dos determinantes antigénicos diferentes (inglis 1982). Esto proporciona mayor especificidad al sistema inmunitario para distinguir los antígenos extraños, que si sólo fuera reconocido un determinante antigénico particular. Finalmente, es del todo esencial, la cooperación entre los linfocitos que reconocen los diferentes determinantes.



ESTIMULACION
ANTIGENICA



CLONA ESPECIFICA PARA EL AG.

EXPANSION CLONAL

En resumen, la respuesta de anticuerpos, es una reacción coordinada de las células B, las células T, y las células presentadoras del antígeno, que se comunican directamente o por medio de factores específicos o inespecíficos para el antígeno. En la comunicación entre las células intervienen los productos del complejo principal de histocompatibilidad, así como otros productos génicos. El fracaso de la producción de una respuesta correctamente coordinada, puede conducir a un estado de tolerancia (Feldmann 1981).

GENERACION DE LA DIVERSIDAD DE ANTICUERPOS

Los anticuerpos son extraordinariamente diversos, no sólo deben proporcionar sitios de combinación distintos y suficientes para reconocer los millones de formas antigénicas en el medio ambiente, sino que cada clase de anticuerpos tienen también una región efectora diferente, de modo que, la IgE puede fijarse a los receptores para el Fc de los mastocitos, mientras que la IgG se fija de modo similar a los fagocitos (Tonegama 1983). Se ha estimado que un individuo produce más formas diferentes de anticuerpos que todas las demás proteínas del cuerpo juntas. Ello significa, que producimos más tipos de anticuerpos que genes existen en nuestro genoma (Honjo 1983).

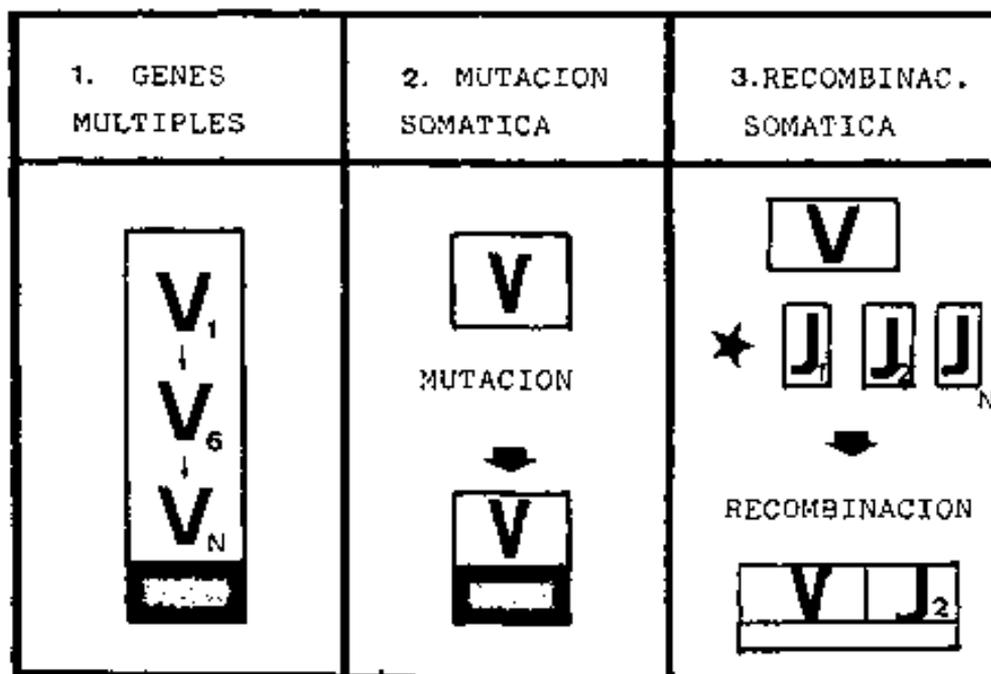
Las ideas sobre la formación de los anticuerpos han cambiado mucho, pero sorprende lo cerca de la visión actual que llegó a estar Ehrlich, cuando a comienzos de este siglo expuso su hipótesis de la cadena lateral. Su idea de la selección inducida por el antígeno, es próxima a nuestro concepto moderno de selección clonal, con la excep-

ción de que Ehrlich colocó varios receptores diferentes en la misma célula (Baltimore 1981). Después de Ehrlich, la situación se complicó. El problema radicaba en que, se estaban sintetizando muchas sustancias químicas orgánicas nuevas, y Landsteiner demostró que el sistema inmunitario, podía reaccionar produciendo anticuerpos específicos para cada nuevo compuesto. No se consideraba posible que el sistema inmunitario podía reaccionar produciendo anticuerpos específicos para cada nuevo compuesto. No se consideraba posible que el sistema inmunitario hubiese mantenido por selección natural, genes para todos estos anticuerpos dirigidos contra nuevas sustancias. Esto condujo al desarrollo de la hipótesis instructiva, la cual postulaba que los anticuerpos estaban constituidos por una molécula flexible a la que el antígeno inducía a adoptar una disposición formal que fuera complementaria para sí mismo (Ashley 1982).

Con los progresos espectaculares de la biología molecular en las décadas de 1950-60, esta hipótesis se hizo insostenible. Las teorías selectivas, volvieron a gozar de predicamento, al proponer Jerne y Burnet, la idea de la selección clonal: cada linfocito produce sólo Ig de una única especificidad anticuerpo, y el antígeno selecciona y estimula aquellas células con Ig específicas para él.

Esto todavía deja sin resolver, el problema de la diversidad de los anticuerpos. Podemos proponer la existencia de un gen separado para cada especificidad de anticuerpo. Pero se plantea entonces un problema: si consideramos la estructura de

DNA



PROTEINAS DE LA REGION 

GENERACION DE LA DIVERSIDAD DE ANTICUERPOS

una cadena ligera, la mitad de ésta es variable en la secuencia de aminoácidos, pero la otra mitad es constante. De modo similar, en las cadenas pesadas, una cuarta parte de la cadena es variable y el resto constante. Entonces, con un número tan grande de genes, ¿como es posible mantener esta constancia? (Gottlieb 1980). Reyer y Bennet propusieron que las porciones constante y variable de las cadenas, eran codificadas por genes separados; así, la teoría de la línea germinal, sólo tenía que explicar las múltiples regiones variables. Una segunda teoría, fué la idea de la mutación somática (Brack 1978, Gearhart 1982). Relativamente pocos genes de una línea germinal, podrían dar lugar a muchos genes mutados a lo largo de la vida del individuo. Además, se sugirió que cierto número de segmentos de los genes podrían recombinarse y formar un gen completo.

DESARROLLO DE LA DIVERSIDAD DE CLASES DE IG

Se cree, que la diversidad de clases de Ig en la respuesta de anticuerpos, apareció para hacer frente de distintas y en distintos lugares anatómicos a la multitud de antígenos no propios (Le Donarin 1984).

Las células plasmáticas maduras, sólo producen una clase de anticuerpos; así pues, las células B inmaduras que sólo fabrican IgM, cambian a otra clase antes de su diferenciación terminal en células plasmáticas. Algunos descendientes de las células B inmaduras, sintetizan anticuerpos de otras clases, incluyendo Ag A-G. La diferenciación continuada, conduce a la síntesis de IgD de superficie, una clase de anticuerpo que se encuentra ca

si exclusivamente en las membranas de las células B. Las tres clases de Ig de superficie de una célula, tendrían la misma especificidad para el antígeno, expresan los mismos genes de la región V (Inst. Pasteur 1984).

A partir de este punto de la diferenciación clonal, el antígeno impulsa a la célula para transformarla en una célula plasmática totalmente madura, y/o en una célula memoria. Como existe una secuencia similar de expresión de la Ig en las células λ de vertebrados cultivadas en medios ambientes gnotobióticos, parece probable que la diversidad de clases se desarrolle independientemente del antígeno. Además, es probable, que el cambio de clase pueda producirse también con independencia de las células T, aunque estas pueden desempeñar un papel significativo en el cambio a IGA e IGG. Es probable, que todos los acontecimientos que dan lugar al cambio de clases, se hayan producido ya antes de que la célula B madure hacia célula plasmática (Inst. Pasteur 1984). La presencia de distintas clases de Ig en la superficie de una sola célula, guarda relación probablemente con la persistencia de diferentes anticuerpos en su superficie, y con la existencia de RNA mensajero de vida larga para las diferentes clases dentro de la célula.

F. INNUNIDAD FRENTE A LOS VIRUS

Los virus constituyen un grupo de microorganismos, que deben penetrar en las células del huésped para proliferar, puesto que carecen de la maquinaria bioquímica necesaria para fabricar

proteínas y metabolizar azúcares. Algunos virus, carecen también de las enzimas requeridas para la replicación de los ácidos nucleicos, y por lo tanto dependen de la célula huésped para esa función (denman 1983).

Las enfermedades producidas por infecciones víricas, son tan variadas como los mismos virus. Pueden ser agudas, recidivantes, latentes o subclínicas. La respuesta inmunitaria puede variar, desde la falta aparente de ella, hasta conferir un estado de inmunidad durante toda la vida, o bien provocar un estado de inmunopatología crónica (Mims 1984).

Actualmente, sólo se disponen de conocimientos sobre las infecciones víricas agudas que habitualmente despiertan una inmunidad obvia, pues se conocen poco los mecanismos inmunológicos subyacentes a las infecciones recidivantes, latentes o subclínicas; incluso los datos sobre las formas agudas deben ser interpretados con precaución. Se pueden demostrar varios mecanismos que "in vitro" destruyen los virus o las células infectadas, pero es mucho más difícil asegurar cuales son los que tienen importancia "in vivo". Quizás, sea posible trabajar en este punto en un futuro, utilizando clones de células T de animales inmunes, cultivadas "in vivo" en presencia de interleucina 2 y antígeno (Eckels 1982). Este problema es también fundamental, para la elaboración de vacunas; puesto que no conocemos cuales son las funciones efectoras que constituyen los mecanismos protectores normales contra las infecciones víricas humanas, proyectar vacunas es una cuestión de ensayo y error,

Además, aunque supiéramos cuales son las funciones efectoras que deben ser estimuladas, por ahora desconocemos, la forma de modificar la vacuna para que actúe sobre las células elegidas

INFECCION VIRICA

La infección vírica característica, comienza con la invasión local de una superficie epitelial, y después de una o más fases virémias, se produce la invasión del órgano diana. Puesto que diferentes mecanismos inmunológicos son eficaces contra formas distintas de antígeno, la relevancia de cualquier mecanismo particular dependerá de la forma en que se encuentren los antígenos víricos y el virion (Sissons 1980); esto depende, del tipo de virus y de la fase de infección. Así, la relevancia para la protección o la inmunopatología de los varios sistemas efectoras de la respuesta inmunitaria, depende de la fase de la infección y de la biología del virus (Mims 1984).

El anticuerpo sólo es capaz de unirse directamente al virus extracelular: los anticuerpos Ig G-M están limitados en sus acciones al plasma y a los líquidos hísticos, mientras que la IgA puede proteger las superficies epiteliales, por lo que tiene importancia en la protección contra los virus que no producen una fase virémica (Sissons 1982).

La reacción inmunitaria mediada por células (células T citotóxicas dependientes de anticuerpos), es efectiva en potencia contra los virus intracelulares, a los que reconoce por la presencia de antígenos víricos en la membrana de la

célula infectada (Zinkermagel 1979).

El interferon, actúa de forma protectora antes de que el virus penetre en las células, induciendo un estado de resistencia a la multiplicación vírica (Sehgal 1982)

Los elementos de la respuesta inmunitaria adaptativa, reconocen antígenos específicos en los virus y en las células con infección vírica. Es importante establecer la diferenciación entre antígenos víricos, codificados por el genoma vírico, y antígenos inducidos en la célula por la presencia del virus y codificados por el genoma del huésped (Sissons 1980).

Los antígenos víricos son en gran parte proteínas. Las glucoproteínas, son glucosiladas frecuentemente por la célula huésped durante el proceso de gemación. Los antígenos internos del virión, pueden constituir dianas potenciales para la respuesta inmunitaria, y lo mismo ocurre con muchos antígenos expresados sobre la membrana de células infectadas.

La respuesta a los antígenos víricos, es casi por completo dependiente de las células T. Incluso la respuesta de anticuerpos requiere ayuda de estas células. La sensibilidad a un virus se asocia en particular con la disfunción de dichas células T, aunque esto nos dice poco sobre los mecanismos efectores participantes, puesto que dichas células son necesarias tanto para la producción de anticuerpos, como para algunas reacciones citotóxicas.

SISTEMA INMUNITARIO ADAPTATIVO

AC y C

CELULAS T CITOTOXICAS

CELULAS CITOTOXICAS DEPENDIENTES DEL AC



AG VIRICOS
INTRACITOPL.

AG VIRICOS
ASOC. VIRION

AG VIRICOS
MEMB. CELUL.

AG VIRICOS
EN HUESPED

INFECCION VIRICA

CAPITULO V

INTRODUCCION A LA VIROLOGIA

VIROLOGIA CLINICA

La virología es la práctica que desarrolla el examen de unos especímenes apropiados para poder evidenciar la existencia de una infección supuestamente vírica. La detección de virus o de cambios específicos generalmente inmunológicos, debidos a la presencia de una actividad viral, probaría el protagonismo de la infección

Si esta infección, silente o sintomática está o no relacionada con la enfermedad que padece el paciente, es un hecho que podrá juzgarse a posteriori tomando en consideración datos epidemiológicos datos de experimentación, y sobre todo datos clínicos

Este problema de interpretación, viene a magnificarse por el espacio limitado huésped-respuesta, porque una enfermedad puede estar causada por uno de los numerosos virus existentes, o porque un determinado virus puede dar cualquier variedad de enfermedad ya sea de forma clara o de forma inaparente. Por todas estas razones y, debido a que algunos virus son muy prevalentes en la población, y a que múltiples infecciones víricas son regularmente encontradas en condiciones normales la realización de los postulados de Koch, puede hacerse casi imposible, máxime en los casos en los que la enfermedad experimental es totalmente diferente a la enfermedad en el hombre (Crist 1979).

El diagnóstico etiológico de una enfermedad supuestamente vírica, como en nuestro caso etiquetamos la PFI, puede realizarse de las siguientes

tes formas:

- 1.- Por visualización del germen.
- 2 - Por aislamiento del organismo.
- 3.- Por reacciones serológicas.

Para que las investigaciones, ya sean por medio de la visualización directa o bien por el aislamiento del germen, puedan tener éxito es muy importante que el agente infeccioso, en este caso el virus causal, se encuentre en determinadas concentraciones en las muestras clínicas a estudiar. Durante la fase aguda de la enfermedad es cuando podemos hallar mayor número de gérmenes, y por tanto, es el momento paropiado para realizar los métodos de diagnóstico antes citados (Calicó 1984).

En la PIF, nos encontramos que por un lado la PF puede aparecer cuando la infección se encuentre en una fase de regresión, y por otro lado, las muestras clínicas sólo son asequibles por método quirúrgico. Además, para el estudio de los virus, por su tamaño y sus condiciones de crecimiento, se requieren técnicas que no están al alcance de la mayoría de los laboratorios de Microbiología.

Como sabemos, los virus no pueden crecer en un medio de cultivo no vivo; para su aislamiento necesitamos de la inoculación de células vivas susceptibles, por ejemplo: cultivos celulares, embriones de pollo, o animales directamente. Su aislamiento se traduce en la producción de mayores o menores cambios morfológicos característicos, o bien en la muerte de las células infectadas. Pueden

dar salida a antígenos específicos demostrables por fijación del complemento, o test de inmunofluorescencia, o hemaglutininas, o por test de hemoadsorción después de la adición del RBC, el cual adhiere células infectadas a la superficie viral hemaglutinina que se haya producido. Es decir, que la presencia de virus viene indicada por la hemaglutinina en los fluidos extraembrionarios del huevo fértil inoculado por la existencia de antígenos en los extractos tisulares, o por la presencia de lesiones focales características (Madeley 1977).

En el caso que nos ocupa, los estudios de aislamiento de virus en tomas de especímenes de ganglio geniculado y epineuro, han tenido éxito en animales de experimentación, visualizándose células con inclusiones típicas de HS (rubcola, parotiditis y reovirus) (Davis 1981), mientras que en especímenes humanos, se ha obtenido un sólo aislamiento positivo a HS de una toma de epineuro en una intervención de descompresión nerviosa del NF (Mulken 1980). Mientras Gianonni y Corbaccelli (1977) estudiaron el nervio de la cuerda del timpano en siete casos de PFI por técnicas de inmunofluorescencia-fijación del complemento, encontrando tests positivos en tres de los especímenes; lo que les llevó a concluir que los complejos inmunes puestos en evidencia eran anticuerpos de origen viral. De todo lo anteriormente expuesto, y teniendo en consideración que algunos de los virus asociados a la causalidad de la PFI no crecen en medios de cultivo celulares, deducimos que el aislamiento vírico reconocido como tal en los huéspedes inoculados, debe confirmarse por tests específicos normalmente inmunológicos mucho más asequibles, básicamente se

fológicos en los que fundamentamos nuestro estudio.
(Berg 1976, Vahlue 1981 Mertens 1982, Aviel 1983,
Tomika 1972, Grove 1973, Ohsaki 1974, Adour 1975,
Lackermann 1975, Tomika 1977)

PARTE II

CAPITULO VI

JUSTIFICACION Y PLAN DE TRABAJO

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Por todos es sabido, que la etiopatogenia de la PFI se encuentra todavía como un compendio de hipótesis, apoyándose en la primera mitad del siglo XX en un probable proceso circular de fenómenos de edema inflamatorio, que daba lugar a una isquemia secundaria, y esta a su vez aumentaba el grado de edema subyacente, lo cual llevaba a una degeneración walleriana del nervio facilitado por su especial trayecto anatómico y constitucional a través del acueducto de Falopio. Pero ya en la última década, las teorías viral-inmunológicas han cobrado auge, y son las más preconizadas y sustentadas por la mayoría de autores.

El mecanismo etiopatogénico de la PFI, basado en una posible reagudización de una infección vírica latente, desencadenada por motivos variados, ya ha sido propugnada. Aviel en 1983, y otros autores como Berg (1976), Vahlne (1981), y Mertens (1982), basaron sus trabajos para apoyar estas teorías en estudios virológicos de la enfermedad por métodos básicamente serológicos, reforzando las teorías de que virus pertenecientes a la familia Herpetoviridae, tendrían un papel protagonista en la formación de esta lesión. Para comprobar estos hechos que sustentan la teoría viral-inmunológica debemos trabajar sobre varios pilares:

- 1º.- Comprobar si existe realmente una alteración de la inmunidad del individuo enfermo de PFI.
- 2º.- En caso afirmativo, averiguar de que tipo es y cuales son sus características.
- 3º.- Una vez constatado este hecho comprobar si

tiene una relación fidedigna con la entidad que estudiamos.

Todo ello es de extraordinaria importancia ante la posibilidad de disponer actualmente de fármacos antivíricos, no sólo como tratamiento preventivo en los casos de PFI recurrente, sino también como tratamiento curativo. Teniendo en cuenta que de demostrarse o apoyarse firmemente esta situación, la importancia de la obtención de una vacuna, cambiaría ostensiblemente el devenir de esta patología y con ello el de los pacientes afectados por ella (May, The Facial nerve 1986).

PLAN DE TRABAJO

Para minimizar la complejidad de los últimos datos obtenidos de este estudio, agruparemos las pautas de trabajo en varios puntos:

1º.- Estudio clínico y epidemiológico. Es el primer paso que realizamos ante este tipo de pacientes, tomando 164 pacientes afectados de PFI, estudiados en nuestro servicio desde abril de 1983, hasta abril de 1986, agrupados en distintos grupos que creemos diferentes a priori y que establecemos de la siguiente forma: 142 afectados de PFI única y aislada, 22 afectados de PFI recurrente, y 46 entre ellos, que poseían criterios de operabilidad. Relacionando comparativamente los resultados obtenidos. Para este estudio, se han rechazado todos aquellos pacientes con PF debida a zona ótica, smr, otitis media aguda o crónica, así como las producidas por colesteatoma primario o secundario, tumores benignos o malignos del temporal.

2º.- Estudio de afectación topográfica, tanto a nivel clínico como radiológico.

3º.- Estudio vírico-inmunológico, basandonos en el estudio comparativo de los mismos grupos preestablecidos en el apartado 1º, cuyos resultados comparamos con los de la población supuestamente sana, datos ya establecidos de antemano y conocidos por todos los autores en la materia.

La exposición de este estudio la realizaremos en tres subgrupos que corresponden a:

a) Estudio serológico por la determinación del título de anticuerpos específicos, frente a virus de la familia herpetoviridae. Debido a que en la población sana existen determinado número de anticuerpos anti-virus, en rigor el diagnóstico serológico, debe basarse en el estudio de dos muestras de suero del paciente, una obtenida al inicio de la enfermedad y la segunda en la fase convalescente, para de esta forma valorar la dinámica de formación de anticuerpos. Pero dado el volumen de enfermos recibido en nuestro hospital, y que en este tipo de patología la fase aguda de la enfermedad puede no corresponder perfectamente a la fase aguda inmunológica del paciente. Hemos unificado criterios y obtenemos una muestra de 5 cc. de suero entre los primeros 10 días de evolución de la enfermedad, que denominamos suero de estado.

Procesamos los sueros por la reacción de fijación del complemento, esta presenta la ventaja sobre las pruebas cutáneas (Ogino 1980), de que los resultados son cuantificables. Con respecto a las técnicas más modernas como RIE, tiene la desventaja de ser menos sensible, y sobretodo no determinar por separado las IgM. A pesar de ello, Vahlne (1981), no encuentra en sus trabajos diferencias significativas de IgM anti-HS con un grupo control de la misma edad y proporción de sexo, mientras que sí las encuentra con la reacción de fijación del complemento.

Una vez muestreados los sueros problema, será necesario comparar entonces los títulos obtenidos previamente con los de la población sana.

b) Estudio serológico por determinación de Ig. Este estudio es menos significativo, pero su técnica es más fácil y su obtención más precoz. Obtenemos los valores de IgG y M por inmunoelectroforesis en una distinta toma de suero también recogida entre los primeros 10 días de evolución de la enfermedad.

c) Aislamiento del virus causal. Para ello es importante que el agente se encuentre en una determinada proporción en las muestras clínicas. Estas muestras en número de 9, son obtenidas de epineuro en el acto quirúrgico en aquellos casos que poseían criterios de operabilidad. Las experiencias en biopsias de epineuro han tenido éxito en animales de experimentación, mientras que en humanos se han obtenido virus HS en un paciente (Mulkens 1980). El método realizado para su aislamiento, es el de fijación del complemento.

CAPITULO VII

MATERIAL Y METODO

MATERIAL Y METODO

1.- MATERIAL

- Criterios de selección de los pacientes.
- Grupos de estudio de pacientes con PAFI.

2.- METODO DE EXPLORACION

- Anamnesis.
- Exploración física y otoneurológica.
- Exploraciones complementarias.
- Exploración electrofisiológica.
- Exploración radiológica.
- Exploración virológica-serológica:
 - determinación de anticuerpos específicos.
 - determinación de Ig séricas.

3.- VALORACION

- Clínica y epidemiológica.
- Radiológica.
- Inmunoviroológica.

1. MATERIAL DE ESTUDIO:

Criterios de selección

Desde el mes de abril de 1983, hasta el de 1986, se recogen en nuestro servicio 208 pacientes de PF, de los que 164 casos fueron etiquetados como PFI y fueron motivo de este estudio. Del mismo se excluyeron los casos de PF debida a otras etiologías como VZ, SMR, patología infecciosa óptica y tumoral; también excluimos los casos de PFI que habían recibido tratamiento básicamente esteroideo previamente a la recogida de las tomas de suero para nuestro estudio serológico-inmunológico.

De las muestras recogidas, 49 pacientes, tenían antecedentes sistémicos en los que englobamos HTA, diabetes, hipercolesterolemia, y embarazo, grupo que no excluimos al no creer exista ninguna discrepancia en su respuesta inmunológica, dado que su evolución clínica y electrofisiológica sería pareja al resto del grupo, al mantenerse bajo un control estricto sistémico bajo regulación terapéutica.

De esta forma, obtuvimos para este trabajo un total de 164 pacientes de PFI no afectados de otra enfermedad subyacente que no estuviese controlada a nivel terapéutico, y no sometidos a tratamiento esteroideo previo a su evaluación inmunológica.

Este grupo de pacientes, presentó una edad media de 40-59 años, con edades entre 10 y 88

años. Los pacientes fueron 74 varones y 90 hembras.

GRUPOS DE ESTUDIO

Los 164 pacientes fueron divididos en tres grupos de estudio, atendiendo a su aparición única, múltiple, o a su severidad, que le confería criterios quirúrgicos, respectivamente, para así poder observar si realmente habían diferencias significativas entre estos grupos distintos clínicamente por su grado de cantidad (número) y calidad (severidad).

El grupo 1, formado por pacientes con un único episodio de PF, formado por 142 pacientes con una edad media de 40-32 años, y unas edades máxima y mínima de 10 y 88 respectivamente.

El grupo 2, formado por 22 pacientes, con más de un episodio de PF, ya sea en el lado homolateral o contralateral, grupo que recoge 22 pacientes con una edad media de 40-86 años y unas edades máxima y mínima de 73 y 13 respectivamente.

El grupo 3, formado por 46 pacientes con criterios clínicos y electrofisiológico de operabilidad, grupo comprendido entre los 12 y 78 años con una edad media de 47-78.

Los grupos de control no han sido necesarios, puesto que los resultados normales eran previamente conocidos por nosotros gracias a múltiples estudios realizados por otros autores anteriormente.

2. METODOLOGIA DE EXPLORACION

Nuestros pacientes eran remitidos a la consulta de ORL procedentes de los servicios de Urgencias de ORL, Medicina Interna y Neurología, así como del Servicio de Neurofisiología Clínica de nuestro hospital. Remitidos a nuestra consulta externa, se realizaba la historia clínica, así como una exploración clínica y otoneurológica a aquellos pacientes que presentaban más de tres días de evolución de su PFI desde su inicio paralítico motor máximo.

Una vez cumplimentados los criterios de selección, y habiendo realizado los grupos ya comentados, todos los pacientes eran sometidos a una misma y rigurosa evaluación realizada del siguiente modo:

- Anamnesis y valoración epidemiológica.
- Exploración instrumental audiológica y otoneurológica.
- Exploración clínica otoneurológica.
- Exploración electrofisiológica.
- Exploración radiológica.
- Exploración analítica y serológica, motivo fundamental de este estudio.

ANAMNESIS

La historia clínica se practicaba al recibir al paciente preferiblemente a partir del tercer día de instauración clínica de su enfermedad. En ella recogíamos la siguiente información:

Datos generales: Edad y sexo.

Nunca observaremos pacientes menores de 7 años en este trabajo, ya que en nuestro hospital el servicio de ORL pediátrica visita independientemente de nuestro Centro.

Antecedentes familiares.

De patología sistémica y ORL, haciendo hincapié en los antecedentes directos familiares de PF para valorar una posible interconexión.

Antecedentes personales.

Sobre patología sistémica, sobretodo patología con posible repercusión alérgica y/o vascular, así como su tratamiento actual en caso de existir, sobre patología ORL para poder relacionar la enfermedad actual con posibles alteraciones de base preexistentes. Y sobre todo, sobre el hecho de la existencia o no previamente de PF, y en caso afirmativo su localización, inicio y duración, el cómo y cuando de su resolución y si quedó algún tipo de secuela.

También indagamos sobre la posibilidad de infecciones previas conocidas por Hs y VZ.

Enfermedad actual.

Aquí señalamos:

- * ANTECEDENTE CATARRAL O DISTERMICO. Dato interesante epidemiológicamente al querer relacionar el cua

dro vírico probable catarral, con la posible etiopatogenia vírica de la PFI. Y el segundo punto como factor desencadenante de una infección vírica primaria en estado latente.

- ★ MES DE INSTAURACION. Importante también epidemiológicamente al intentar relacionar las épocas de mayor stress sistémico sea por causas estacionales o catarrales con la posible etiopatogenia vírica-inmunológica de la PFI.
- ★ LADO DE AFECTACION.
- ★ FECHA DE INSTAURACION DEL DEFICIT MOTOR MAXIMO. Hecho muy importante a la hora de valorar los resultados clínicos y electroneuronográficos, puesto que sus cuantificaciones pueden variar según el momento de evolución de la enfermedad que fué el mismo para todos nuestros casos.

SINTOMAS CLINICOS BASICOS. Resultado de conclusiones tomadas a posteriori al realizar la historia clínica de este tipo de enfermos con una batería apreciable de datos como cuestionario. Estos son:

- EPIFORA, en los tres primeros días de evolución. Ya que la epífora encontrada en los días siguientes puede deberse perfectamente a un fenómeno secundario de lagoftalmo.
- DOLOR IPSILATERAL. Sea facial, cervical, espinal o retroauricular. Dato que relacionamos íntimamente con la severidad y evolución del cuadro clínico.
- Sensación de taponamiento ótico, HIPOACUSIA, o

acúfenos. En relación a la posible afectación concomitante de un VIII par craneal.

- DISACUSIA, sensación de resonancia dolorosa a nivel ótico ipsilateral para los ruidos de cierta intensidad. Hecho que relacionamos también con la severidad del cuadro clínico.

- Sensación de SEQUEDAD DE MUCOSA bucal y nasal por disminución de la secreción salivar y nasal, pudiendo llevar incluso a la IRN de la fosa nasal ipsilateral al lado facial afectado.

- DISGEUSIA, aparición de un gustometálico, o una disminución del gusto en las comidas de características desagradables.

EXPLORACION FISICA. Esta, comprendería a su vez la exploración general ORL, la exploración otoneurológica y la exploración facial.

- Exploración ORL. Practicamos una otoscopia para descartar otras etiologías y el origen varicelico de la PF. Realizamos la rinofaringolaringoscopia refleja, para explorar la posibilidad de afectación de otros pares craneales o la existencia de otras patologías. Se realiza siempre la acumetría para valorar la posible afectación de la audición a nivel periférico o sensorineural.

- Exploración otoneurológica. Realizamos una exploración neurológica básica, así el examen de los pares craneales para descartar su posible implicación.

Aquellos casos que presentaban vértigo clínicamente periférico, se exploraban también mediante valoración del nistgmo, dismetrias y alteraciones segmentarias así como las pruebas de Romberg y a la marcha.

- Exploración facial. Para valorar su grado de afectación, así como su topografía. Se observaba su calidad de forma, si la inmovilidad era franca decíamos se que se trataba de una parálisis propiamente, si era una inmovilidad parcial la tratábamos como una paresia, y si la debilidad se demostraba por la exploración unicamente al esfuerzo, entonces era etiquetada como una pérdida de fuerza de la musculatura facial.

La topografía de la afectación, se valoraba explorando sus ramas por separado en relación al lado no afectado. Valoramos la motilidad del músculo frontal, del orbicular de los ojos, el bucinados y el músculo peaucier del cuello.

También exploramos la sensibilidad corneal junto con el test de Schirmer. La sensibilidad facial y de la concha, así como la sensibilidad lingual practicando una gustometría química en relación siempre, todas estas exploraciones con el lado sano.

EXPLORACION INSTRUMENTAL AUDIOLOGICA Y OTONEUROLOGICA

Después de realizada la acumetría pasamos a practicar una AUDIOMETRIA TONAL LIMINAR, evaluando de forma subjetiva la audición actual del paciente. Utilizando para este menester un audiómetro AMPLAID-300. La IMPEDANCIOMETRIA evaluaba objetivamente la funcionalidad timpánica y de oído medio en la que en caso de ser normal, nos permitiría valorar sin posibilidad de falsedades un reflejo estapedial negativo. Esta exploración la realizamos con un impedanciómetro manual tipo PETERS. En aquellos casos de PFI en que el paciente explicaba un vértigo clínicamente periférico, se les practicó pruebas de reclutamiento auditivo si además, existía déficit auditivo sensorineural, y electro-nistagmografía con una electronistagmógrafo tipo ENG-III P-601/TR para evaluar la objetividad del cuadro clínico referido por el paciente. En este apartado valoramos el nistagmo espontáneo con ojos abiertos, y con ojos cerrados, la inestabilidad ocular, la prueba pendular y sobre todo la prueba térmica.

La ELECTRONEURONOGRAFIA se practicaba sistemáticamente al décimo día de evolución de la PFI, contando desde su inicio motor máximo es decir, desde el primer día en que el paciente evidenció un grado de máxima parálisis facial en su evolución. Esta exploración tenía un valor fundamental de evaluación precoz y precisa del tipo y grado de lesión nerviosa, lo cual nos llevaba a predecir las posibilidades de evolución del paciente, y valorar objetivamente la posibilidad de utilizar distintos medios terapéuticos. Electrofisiológicamente es posible

distinguir la neuropraxia de la axonotmesis y neurotmesis. En la neuropraxia los axones permanecen excitables distalmente a la lesión. Mientras que en la axonotmesis los axones dejan de ser excitables a los pocos días. Sabiendo que el comportamiento de los nervios periféricos, lleva a que la degeneración axonal se consuma como máximo siete días después de su lesión, motivo por lo que realizamos la prueba en las fechas anteriormente reseñadas, el test electrofisiológico básicamente usado es la electroneuronografía, efectuado mediante un EMC-MEDELEC MS-32.

EXPLORACION RADIOLOGICA

Dadas las características anatómicas especiales del nervio, que cruzando el ángulo pontocerebeloso se introduce en el conducto auditivo interno para aislarse formando el contenido del acueducto de Falopio que recorre angostamente la arquitectura del hueso temporal, nos lleva a un estudio en varias incidencias para valorar su total visualización. Mediante un politimógrafo tipo POLYTOME-1, realizamos esta exploración en dos incidencias: la proyección de Guillen nos permite observar la primera y segunda porciones del nervio, y las tomografías en cortes laterales nos objetiva su tercera porción. Siempre se realizan estas proyecciones de forma bilateral para tener una referencia anatómica con el lado no afectado.

EXPLORACION SEROLOGICA-INMUNOLOGICA.

Los 164 pacientes fueron estudiados serológicamente entre el tercer y décimo días de evo-

lución, tomando dos muestras de sangre-suero, una de ellas de 5cc. para el estudio de anticuerpos es pecíficos frente a virus herpéticos y virus de la Mononucleosis infecciosa, así como también se realizó en todos serología luética.

ESTUDIO DE ANTICUERPOS ESPECIFICOS.

Su estudio y determinación se realizó mediante reacción de fijación del complemento con técnicas convencionales que detallaremos aparte, en el contexto del trabajo rutinario del servicio de Microbiología de nuestro hospital. En la reacción de fijación del complementose ha seguido la metodología descrita por Grist 1979, usando antígenos HS y VZ comerciales. Para la prueba del virus de la mononucleosis infecciosa, se practicó la reacción de Paul Bunnell diferencial, previa absorción de los anticuerpos inespecíficos.

En la serología luética, los sueros se probaron mediante la reacción de VDRL y posteriormente por inmunofluorescencia previa absorción.

TEST DE FIJACION DEL COMPLEMENTO.

Es el más usado generalmente como método serológico en el diagnóstico virológico. Es aplicable a todos aquellos virus cuyos antígenos pueden ser preparados satisfactoriamente. La especificidad de la reacción de fijación del complemento es normalmente más ventajosa, pero puede a veces causar dificultades.

El test de fijación del complemento, es usado esencialmente para el diagnóstico serológico, pero puede usarse también para identificar virus aislados.

El test de fijación del complemento para antígeno o para anticuerpo está basado en la fijación del complemento de agregados antígeno-anticuerpo. En los métodos usados comúnmente, la fijación de una conocida cantidad de complemento es demostrada por el testing de la cantidad residual con un sistema indicador que comprende RBC de oveja sensibilizado por hemolisina específica (antisuero RBC de oveja). La ausencia de hemólisis indica fijación del complemento en el test. Como el suero puede contener complemento residual, éste debe ser inactivado por calefacción a 56° C. durante 30 minutos antes del testing.

Se han descrito algunas variaciones de la técnica de fijación del complemento, usando diferentes volúmenes de reactantes en tubos de test, en platos de plástico labrados, como pequeñas gotas en placas lisas. La fijación del complemento puede realizarse a 37°C en un corto periodo de 1 a 1½ h., o a 4°C en un periodo largo, de toda la noche. El

método que describimos emplea fijación con frío durante toda la noche, lo cual es muy conveniente para el testing rutinario de un gran número de sueros, hace el trabajo más manejable sobre unos dos días por test, facilita la organización del trabajo, e incrementa la sensibilidad. La microtécnica que es tomar una unidad de volumen de 0.025 ml. se usa para economizar reactantes y porque algunos o todos los procedimientos pueden ser automatizados.

METODO DE TESTAR

- 1.- Microtécnica.
- 2.- Material y equipo.
- 3.- Standarización del complemento y suero hemolítico.
- 4.- Standarización del antígeno y anti suero.
- 5.- Test.

MICROTECNICA.

Se disponen 4 vol de microtest en placas de plástico usando cada vez 0.025ml. de ag, antisuero, complemento, y un 2% de RBC sensibilizado. La standarización del complemento, hemolisina, Ag y antisuero debe hacerse antes de iniciar el test. Después de añadir las células sensibilizadas, las placas se mantienen en un incubador a 37°C, si hay muchas se pueden colocar en una habitación incubadora en un recipiente con termostato para mantener la temperatura constante.

MATERIAL

Se necesitan 4 items, amortiguador, sangre de oveja, hemolisina y complemento, guardados a 4°C cuando no se usen.

- Amortiguador Veronal" (VB) Se usa como disolvente en el test. Contiene Ca y Mg necesarios para la fijación del C a altas diluciones de suero. El VB con 0,008% de Na ácido (AVB), se usa para diluciones de Ag y antisuero que quieran guardarse varios días. El VB con 0,1% de albúmina bovina VBA se usa para estabilizar el complemento en ausencia de otra proteína como el Ag o el antisuero

- Sangre de oveja, en solución de Alsever, obtenida semanalmente. Una suspensión al 4% RBC estandarizada volumétrica o fotometricamente se realiza en el día del test: las células se lavan en VB hasta que el sobrenadante sea claro. Por standarización volumétrica se centrifuga una muestra de suspensión celular en 2 tubos a 3.000 rpm., durante 20'. El disolvente de la suspensión al 4% se calcula para una cantidad de vol celular.

- Hemolisina. Suero hemolitico de caballo o conejo, glicerinado, para RBC de oveja. Se prepara una dilución de 1/10 en AVB cada semana para la realización de test diario.

- Complemento Suero preservado de guinea pig. Se añade un volumen a 7 de agua deionizada equivalente a una dilución 1/10 de suero guinea pig en salino, siguiendose de diluciones en VB hasu

ta la concentración requerida. Después de la dilución el complemento es inestable. Debe prepararse por ello inmediatamente antes de usar y guardar en hielo hasta distribuirlo en las placas.

- Ag. virales. Pueden obtenerse comercialmente o prepararse en el laboratorio.

- Ag. de control no infectados. Tomados de cultivos celulares semejantes no infectados o huevos usados para fabricar los antígenos virales específicos.

- Antisuero. Se usa suero humano de convaleciente, para minimizar las variaciones en necesidades de ag. entre los distintos sueros. También puede usarse suero animal pero solo standarizado contra suero humano.

STANDARIZACION DE COMPLEMENTO Y SUERO HEMOLITICO

El título de hemólisis de cada nueva toma de complemento puede determinarse por dress-board contra cada toma de lisina, con este propósito las diluciones dobles seriadas, son óptimas para la hemolisina: para complemento la diferencia entre diluciones debe ser menos.

1.- Se preparan diluciones seriadas de complemento, con una diferencia del 20% en concentración entre cada una: se colocan 8 recipientes en un estante. Con la pipeta automática se pone 1ml. VB en cada 7 Bijou. En el Universal se hace una dilución de complemento 1/60 (0.3 ml. de C, 2.1 ml. agua deionizada, 12 ml. VB), mezclar todo y pasar

4 ml. del recipiente 1 al 2, mezclar y repetir pasando 4 ml. del 2 al 3, y así hasta llegar al recipiente número 8. Almacenar en hielo.

2.- Con pipeta cuentagotas añadir 2 vol. de 0,025 ml. VB con 0,1% de albúmina bovina a cada tubo (que represente 1 vol. de suero y 1 vol. de ag en el test), poner 1 vol. (que represente complemento) en cada suero hemolítico de control.

3.- Tomar una pipeta de 0,025 ml. de diluciones de complemento en cada tubo de la correspondiente columna que tenga una dilución más alta.

4.- Envolver la placa para prevenir la evaporación y guardar a 4°C. toda la noche.

5.- A la mañana siguiente, preparar en 1 ml. series crecientes de diluciones doblantes de hemolisina desde 1/50 a 1/800 y un tubo con VB sólo como control. Mezclar cada dilución con un vol. igual de RBC lavados al 4% y sensibilizar 10' en agua a 37°C o a RT 30'.

6.- Quitar las placas del refrigerador y guardar en la placa caliente a 37°C. 20'.

7.- Pipetas de 0,025 ml. con células sensibilizadas en tubos con células control sin hemolisina continuando con la más alta dilución de hemolisina. Sellar la tapa, agitar, y meter en un incubador a 37°C 40'. agitando 15', 30', ...

8.- Colocar las placas en el refrigerador toda la noche o varias horas hasta que las células

las sean fijadas, luego interpretar.

La dosis óptima sensibilizante (OSD) del suero hemolítico es la dilución que da más lisis con la más alta dilución de complemento.

STANDARIZACION DEL AG. Y ANTISUERO.

Es necesario obtener la dilución óptima de cada ag. y el título del correspondiente antisuero. Para la reactividad no específica pueden incluirse testigos para confirmar la especificidad de la reacción ag-ac.

1.- Usando la pipeta de 1 ml. preparar diluciones doblantes seriadas de ag(a) y antisuero (b) inactivado a 56°C 30', si el ag y antisuero no han sido previamente testados deben tomarse diluciones desde 1|2 para el ag y 1|8 para el antisuero.

2.- Hacer 2 titulaciones dressboard de ag. y antisuero usando pipetas distintas para cada reactante. Incluir los controles: ag. con 4 HD 50 y 2 HD 50 de complemento (VB reemplazando el suero), diluciones de antisuero también contra 4 y 2HD 50 de complemento (VB reemplazando el ag), testando cada dilución de antisuero contra un ag. control no infectado a concentraciones iguales a las 2 más altas concentraciones de ag. específico:

"La unidad de C (HD50) es la dilución que da el 50% de lisis con el OSD de hemolisina".

a) Poner 1 vol. (0,025 ml.) VB en los tubos control (columnas de antisuero y ag. testigos).

b) Poner respectivamente 2 2 2 2 y 3 vol. de VBA en 5 tubos, para complemento controles y 4 2 1 1/2 y 0 HD50 (células testigo).

c) Añadir 1 vol. de dilución de anti-suero, partiendo de la dilución más alta.

d) Añadir 1 vol. complemento (4HD50) a cada tubo, para C, ag y anti-suero controles.

e) Añadir 1 vol. de diluciones de ag. en columnas desde la más alta dilución.

Luego se procede al test propiamente que también explicaremos. La mayoría de complejos ag-ac disminuyen en los grupos principales:

- a) Dando una cima óptima de ag, o
- b) Una meseta.

El antígeno que mostró la cima, debería tomarse como el peak de la dilución óptima OPD. El ag. que mostró la meseta la unidad puede tomarse como la dilución ag. más alta dando fijación del complemento con la más alta dilución de suero, el ag. debería usarse a 2 ó 4 unidades. Una meseta frecuentemente indica actividad antiC a diluciones ag. bajas a veces detectadas con 2 HD50 pero no con 4 HD 50

El título del suero es la más alta dilución de suero que da una lectura de 4 ó 3 con el ag. La fijación de C están marcadas. Los ag. en ambas muestras deben usarse a 1/8, OPD, en (a), el doble en (b). El título de cada suero es 1/32.

		SERUM DILUTION						
		1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	
Test	Unknown ser.	0.025						} Unknown serum
	Test antigen 5 CH 50	0.050						
Controls								} assay
Test	Known posit.							} Known serum
	Test 5 CH50							
Contr	Known posit.							} positive assay
	BBC 5 CH50							
Test	Known negat.							} Known negative
	Test 5 CH50							
Contr	Known negat.	0.050ml.						} serum assay
	BBC 5 CH50							
BBC		0.1						

DIAGNOSTIC TEST: MICROMETHOD.

TEST PARA DIAGNOSTICO SEROLOGICO

Las diluciones dobles del suero agudo y convaleciente se hacen con un multidilutor y testados contra ag: los reactantes, en orden de adición, comprenden 1 vol (0.025 ml.) de dilución de suero. C 4 HD50, ag y OPD ó 2-4 unidades, y un 2% de eritrocitos sensibilizados de oveja. Los controles comprenden:

a.- Actividad antiC: suero 1/8 sin ag contra 4 y 2 HD50 de C

b.- C (Con 2 vol VBA reemplazando ag y antisuero): HD 50 unidades de 4, 2, 1, 1/2 y 0 (del control).

c.- Reactantes específicos de control: antisuero positivo titulado desde 4 veces a 1/4 contra la dilución de ag. específico usado en el test; controles de ag. específico (no antisuero) 4 y 2 HD 50 C y antisuero a diluciones más bajas sin ag. 4 y 2 HD50 C también son incluidas. Los ag. control no infectados, pueden usarse también para test de reactividad no específica del suero, pero normalmente no se necesita. Antes de hacer el test, los dilutores son comprobados y limpiados de forma específica.

PROCEDIMIENTO DEL TEST.

1.- Las diluciones 1/4 de suero (0.2 ml. de suero 0.5 ml. AVB) a 56°C 30' para inactivar el C.

2.- Poner 1 vol VB en tubos 2-12 para

4. cada test de suero y para cada reagente específico control (después de usarse varios ag. es más conveniente poner controles específicos juntos en una placa separada).

3.- Añadir con pipeta VBA a 5 tubos de C control: 2 2 2 2 y 3 vol para HD 50 C y 4 2 1 1/2 y D (c el control).

4.- Con la pipeta para cada suero colocar aproximadamente 0,1 ml de cada suero test en el tubo número 1.

5 - Hacer dobles diluciones (0,025 ml) llevando los diluters de los tubos 1-2 y el 8; mezclar 4 veces. Hacer 3 pases más de suero desde los tubos 1 para (a) reactividad no específica (con diluciones dobles tubos 9-10) y (b) sueros control (dilución 1/8 en tubos 11 y 12).

6.- Hacer diluciones dobles de suero standart de 4T a T/4; incluir suero control (4T en tubos 11 y 12).

7.- Añadir 1 vol de C 4 HD 50 a los tubos 2-11, y a 2-7, 9-11 en el control. Añadir 1 vol. C 2 HD 50 al tubo 12 y 8, 10 y 12 del control; para control de C añadir 1 vol 4 2 1 y 1/2 HD 50 respectivamente.

8.- Añadir 1 vol. de ag. a OPD ó a 2-4 unidades a las diluciones test de suero (tubos 2-8) y luego al reactante específico (tubos 2-8).

9.- Añadir ag. control no infectado (la misma dilución que el verdadero ag.) a los tubos 9-10, y ag. control al control no infectado del reactante control específico (tubos 9-10).

10.- Añadir 1 vol VBS a tubos 11 y 12 para hacer 3 vol.

11.- Almacenar las placas, cubrirlas y guardarlas toda la noche a 4°C.

12.- A la mañana siguiente las RBC de oveja sensibilizadas al 4% en un recipiente cónico, se mezclan con un vol igual de hemolisina (mezcla final 2% de cel con dilución óptima sensibilizante de hemolisina). Siempre añadir lisina a cel así como la adición de cel a lisina puede resultar en una sensibilización desigual. Incubar en agua a 37°C 10' ó en una habitación preparada un mínimo de 30'.

13.- Quitar las placas del refrigerador y calentar 20' a 37°C. Añadir 0,025 ml. de cel de oveja sensibilizada al 2% en cada tubo. Cubrir las placas con tapas selladas.

14.- Reincubar 40' para seguir la lisis, agitar 15, 30 y 40' para resuspender las cel. con un microshaker.

15.- Colocar las placas en el refrigerador toda la noche o varias horas en una habitación especializada, hasta que las cel hayan sedimentado.

LECTURAS : La dilución más alta de suero dando lectura de 4 ó 3 se toma como su título. El suero que

La actividad antiC deberá tratarse con suero de guinea pig y ser testado.

Para test de rutina de amplios números de suero, se puede poner el ag. y el suero control en placas separadas, con 12 suero test por placa.

ESTUDIO DE INMUNOGLOBULINAS SERICAS:

Se procedió a la determinación de las inmunoglobulinas séricas IgG y M mediante el test de radioinmunoensayo, considerándose como cifras de valores normales. Ig M de 80 a 200 mg/100 ml., y la Ig G de 800 a 1500 mg/100 ml.

3. VALORACION

DATOS EPIDEMIOLOGICOS:

- Edad: se consigna el número de años del paciente al consultar por su afectación actual de PF.
- Sexo: varón o hembra.
- Lado de la lesión: derecho o izquierdo.
- Mes de instauración: mes de establecimiento motor déficit máximo.
- Antecedentes familiares de PF: afirmativo o negativo.
- Antecedentes personales de PF: sea en el mismo lado o en el contralateral se considera unicamente positivo o negativo.
- Antecedentes sistémicos: valorando su estado actual se decide si son positivos o negativos.
- Antecedente catarral o distérmico: positivo o negativo.

DATOS CLINICOS:

- Epífora: se evaluó según el criterio subjetivo del paciente en positivo o negativo dentro de los tres primeros días de evolución de la PF.
- Dolor: se considera un dato clínico importantísimo a la hora de valorar la evolución del enfermo. Según el parecer subjetivo del paciente, se consideró como positivo o negativo.
- Disacusia: también considerado junto con el síntoma anterior como un valor pronóstico inestimable. También valorándose de forma subjetiva por el paciente.

- Hipoacusia y/o acúfenos: se valoró según el paciente en positivo o negativo aunque posteriormente no se confirmase por audiometría tonal.
- Mareo o vertigo: se evaluó solamente los casos de inestabilidad franca o aquellos que explican un cuadro de vértigo rotatorio como positivo o negativo. Los casos explicados como sensación de cabeza pesada, sensación de vahido o de angustia, no fueron considerados más que como negativos.
- Disgeusia: dato de poca importancia en nuestra valoración, sólo fué considerado como positivo cuando el paciente explicaba una parosmia gustativa.

DATOS PARACLINICOS

- Signos de Bell: dato para nosotros básico a la hora de valorar la topografía de la lesión paralítica. Se considera positivo también en los casos que el paciente no realiza el movimiento fisiológico de su globo ocular bajo nuestra orden. La hendidura palpebral la consideramos negativa.
- Test de Schirmer: considerado como positivo o negativo según los criterios de Fisch (1981).
- Audiometría: positiva o negativa, según observemos una asimetría sea de tipo conductivo o sensorineural, coincidiendo con la positividad de la sintomatología del paciente.
- Electroneuronografía: logramos el tanto por ciento de funcionalidad del lado paralítico respecto al lado sano comparando la amplitud del potencial motor obtenido, pues el número de unidades motoras que contribuyen a formar la respuesta motora M es directamente proporcional al número de axones fun-

cionantes. El potencial M obtenido en el lado paralítico expresado en porcentaje respecto al del lado sano, representa el porcentaje de axones que sólo sufrieron neurapraxia. Lo que resta hasta 100 es el porcentaje de axones que sufrieron degeneración walleriana.

DATOS FUNCIONALES

Basados fundamentalmente en los datos clínicos y electrofisiológicos.

CLASIFICACION CLINICA

Grupo		Puntos del baremo
I	Recuperación sin secuelas.	0
II	Recuperación con secuela mínima.	1-3
III	Recuperación con secuela moderada.	4-6
IV	Recuperación muy pobre.	7 o más.

BAREMO

A) MOTILIDAD

C. Normal.

1. Paresia tan sólo al contraer voluntariamente, máxima intensidad.
 2. Disminución de las arrugas frente, signo de la pestaña ORB. Asimetría facial ligera al sonreír o al hinchar los carrillos
 3. No hay movimientos frontales. Incapacida para el cierre forzado ojos. Asimetría clara al sonreír.
 4. No hay movimientos en la frente. El ojo no llega a cerrarse completamente. Movimientos mínimos de la boca.
 5. No hay motilidad.
-

BAREMO

B) SECUELAS

I. Distorsión facial en reposo (contrac- tura).

- 0. Ninguna.
- 1. Estrechamiento ligero de la hendidura palpebral. Aumento del surco nasogeniano.
- 2. Hendidura palpebral claramente disminuida. Comisura bucal ligeramente elevada. Filtrum desplazado de la línea media.
- 3. Coja elevada. Hendidura palpebral disminuida a la mitad. Surco nasogeniano muy pronunciado. Filtrum y comisura bucal desplazados y elevados.

II. Movimientos asociados (sincinesia)

- 0. Ninguno.
 - 1. Síncinesia mímica durante la contracción voluntaria vigorosa. Ligera del OL y OP.
 - 2. Síncinesia de los movimientos espontáneos parpadeo y sonrisa, respectivamente.
 - 3. Síncinesia pronunciada en todos los movimientos.
-

DATOS RADIOLOGICOS

- Asimetrías del conducto de Falopio con relación al lado contralateral.
- Estenosis del conducto en alguna de sus porciones.
- Dehiscencias del conducto en alguna parte de su trayecto
- Irregularidades en la forma y trayecto del acueducto de Falopio.

La respuesta a estos puntos daba la valoración como positiva o negativa.

- Las dimensiones del atico nos servían en la evaluación del campo quirúrgico en caso de poseer el paciente criterios clínicos y electrofisiológicos de operabilidad.

DATOS SEROLOGICOS

Los datos inmunológicos se valoraron de forma comparativa con los datos ya conocidos , previamente de estudios control en poblaciones de individuos supuestamente sanos.

1) Determinación de anticuerpos específicos: se han agrupado los diferentes resultados serológicos en tres grupos para facilitar su interpretación: a) títulos bajos o negativos comprenderían además de los negativos aquellos que se encuentran con frecuencia entre la población sana. Según la experiencia del servicio de Microbiología de nuestro hospital, serían títulos de 1/8 y 1/16. b) títulos intermedios: son poco frecuentes en el individuo sano y corresponden a 1/32 y 1/64. c) Tí

títulos elevados: sugestivos de infección excepcionales en la población sana: 1/28, 1/256, 1/512, etc

2) Determinación de Inmunoglobulinas séricas: se consideraron como cifras de normalidad de 80-200 mg/100 ml. para las Ig M, y de 800-1500 mg/100 ml. para las Ig G.

El estudio estadístico de los valores inmunológicos se efectuó considerando el conjunto total de PF y los distintos grupos de estudio por separado, mediante una prueba de χ^2 (chi cuadrado) de las tablas de contingencia para la determinación de los resultados de anticuerpos específicos e inmunoglobulinas séricas.

CAPITULO VIII

RESULTADOS

RESULTADOS

1. Grupos de estudio: todos los resultados obtenidos en este trabajo, se valorarán en relación a los tres grupos de estudio ya formados previamente:

- PF únicas y aisladas.
- PF recidivantes.
- PF con criterios quirúrgicos.

2. Datos clínicos y paraclínicos:

- Resultados epidemiológicos
- Resultados clínicos.
- Resultados exploratorios:
 - a) exploración física.
 - b) exploración instrumental.
- Resultados electrofisiológicos.
- Resultados radiológicos.
- Resultados evolutivos.

3. Resultados inmunológicos-serológicos:

- Determinación de anticuerpos específicos.
- Determinación de inmunoglobulinas séricas.
- Aislamiento de virus.

4. Comparación de los resultados entre los tres grupos.

PROTOCOLO DE EVALUACION

Se realiza el mismo protocolo para los tres grupos de estudio preestablecidos:

1. Epidemiología: EDAD _____
SEXO _____
LADO _____
ANTECEDENTES SISTEMICOS _____
ANTECEDENTES HERPES _____

2. Clínica: EPIFORA _____
DOLOR _____
DISACUSIA _____
VERTIGO _____

3. Exploración: SIGNO BELL _____
TEST SCHIRMER _____
ATL _____

4. Electroneuronografía:

5. Radiología: _____
1ª 2ª 3ª porción

6. Evolución: tiempo de resolución completa _____
score _____

7. Serología: Ig G _____
Ig M _____
TITULO DILUCION PB _____
TITULO DILUCION HS _____
TITULO DILUCION VZ _____
LUES _____

