

Estudio de un caso de meningoencefalitis tuberculosa*

Observaciones al Microscopio Optico y Electrónico de las células del líquido céfalo-raquídeo

S. MESA CASTILLO, J. KOURÍ FLORES Y O. ANCHETA NIEBLA

Inst. de Neurología y Neurocirugía de La Habana y Lab. de Microscopia Electrónica, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, La Habana, Cuba

Recibido: 5 de Diciembre de 1975

Recibido: 5 de Marzo de 1976

ABSTRACT. A study of a clinical case of tuberculous meningoencephalitis is made, in which there is evidence of a high proportion of neutrophils in the cerebrospinal fluid, in the advanced stages of the disease. A cellular element of different characteristics to the lymphocyte usually described is pointed out. The presence of cell contacts between neutrophils, and between neutrophils and mononuclear cells is observed.

RESUMEN. Se hace el estudio de un caso clínico de meningoencefalitis tuberculosa, en el que se comprueba en el líquido cefalorraquídeo una proporción de neutrófilos elevada, en estadios avanzados de la enfermedad. Se señala un elemento celular de características diferentes al linfocito corrientemente descrito. Se observa la presencia de contactos celulares entre neutrófilos y entre éstos y células mononucleares.

INTRODUCCION

Las descripciones celulares clásicas del líquido cefalorraquídeo en la meningoencefalitis tuberculosa (METB) reportados en los estudios de microscopia óptica, informan de un aumento del número de células, generalmente por encima de 100 células/mm³ con una proporción elevada de polinucleares neutrófilos en las etapas más tempranas de la enfermedad, alrededor de un 30%, y un predominio de las formas linfocitarias.

* Trabajo presentado en el 1er. Congreso Nacional de Med. Int., La Habana, Noviembre 1974, y en el V Seminario Científico, CENIC, Oct. 1975.

A medida que avanza la enfermedad y ésta evoluciona hacia la cronicidad, esta desproporción entre ambos elementos leucocitarios se va haciendo mayor hasta haber un predominio franco de los elementos linfocitarios sobre las formas polimorfonucleadas, las cuales llegan a desaparecer.

Los estudios que se conocen de las células del líquido cefalorraquídeo (LCR) son los derivados de las observaciones hechas con los microscopios fototónicos con las limitaciones propias de su poder de resolución y, por lo tanto, las limitaciones en las observaciones hechas de sus elementos ultraestructurales.

Con el advenimiento del microscopio electrónico, no sólo es posible diferenciar los elementos celulares en sus caracteres más finos y estudiarlos con mayor profundidad, sino que el desarrollo por otra parte de otras ramas de las ciencias biológicas ha permitido correlacionar más profundamente la estructura con la función.

El presente trabajo se basa en un estudio hecho con el microscopio óptico y el electrónico del líquido cefalorraquídeo de un paciente portador de una meningoencefalitis tuberculosa clínicamente diagnosticada, que evolucionó hacia la curación.

Caso Clínico. H.C. 47263. I.N.N.H.

Paciente de 39 años de edad, de la raza negra, procedente de Pinar del Río, sin antecedentes de tuberculosis familiar ni personal. Ingresó en nuestro Instituto por presentar cefaleas, fiebre y confusión mental desde tres semanas antes. Junto a estos síntomas se quejaba también de dolor lumbosacro y dificultad al deambular, con pérdida del equilibrio.

Este cuadro le fue aumentando progresivamente hasta que es conducido al Hospital Nacional, de donde nos es remitido. Al examen físico en el cuerpo de guardia se comprueba: desorientación temporoespacial, lenguaje incoherente y disártrico, bradipsiquia, realiza algunos cálculos simples, marcha atáxica a pequeños pasos con tendencia a caer hacia la izquierda, temblor en ambas manos que aumenta con los movimientos, disimetría bilateral y fuerza muscular disminuida globalmente.

Se le realiza punción lumbar, obteniéndose un líquido claro y transparente con una presión de 190 mm de agua, 78 leucocitos, de los cuales

el 95% son linfocitos y el 5% neutrófilos; glucosa 50 mg%, proteínas 177 mg%, Pandy XXX, tinta china negativa.

Evolución. Al día siguiente de su ingreso es discutido en la Sala, planteándose: a) Meningoencefalitis tuberculosa; b) Meningoencefalitis por torula; c) Meningoencefalitis viral. Los cultivos del LCR realizados en medios de Lowenstein, Saboraud, agar sangre y de aislamiento para virus, resultaron negativos en distintas ocasiones. La eritrosedimentación se mantuvo acelerada todo el tiempo. Los electroencefalogramas fueron lentos permanente generalizados. Al segundo día de su ingreso se le comenzó tratamiento con estreptomicina, isoniacida y PAS, con lo cual a los 17 días se comenzó a notar mejoría, disminución progresiva de la fiebre, que de 38 a 39°C a su ingreso, después de esta evolución favorable, se mantuvo afebril mejorando su desorientación y los signos meníngeos, aunque continuaba hablando incoherencias.

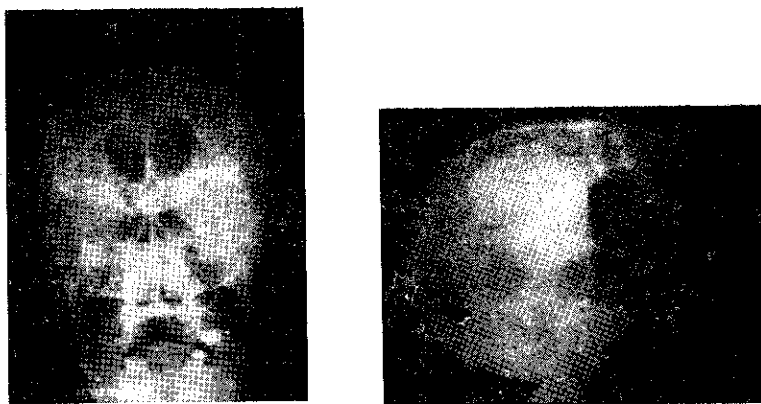


Fig. 1. Estudio neumoencefalográfico en el que se comprueba el desarrollo de una hidrocefalia por obstrucción de las cisternas de la base.

A los 16 días de su ingreso se le realiza angiografía carotídea derecha por comprobarse en la evolución en la sala una parálisis facial central izquierda. El resultado de dicha investigación informa signos de hidro-

cefalia interna, por lo que posteriormente se le realiza estudio neuromen-cefalográfico, en el que se comprueba una hidrocefalia por obstrucción de las cisternas de la base (Fig. 1). Un mes y 20 días después se le realiza derivación ventriculoatrial, colocándose una válvula de Holter de baja presión. Después de la derivación ventriculoatrial el paciente mejoró mucho más rápidamente, dándosele el alta a los 15 días. En el control del paciente por consulta, 5 meses después, sólo presentaba discreta paresia facial residual, siendo su estado mental normal.

Resultados. Las características clínicas del caso correspondieron a una meningoencefalitis de evolución subaguda en la que estuvieron presentes tanto síntomas meningíticos como encefálicos. El resultado de las investigaciones repetidas en el líquido cefalorraquídeo en distintos momentos del curso de su enfermedad, demostraron las características observadas en el LCR en esta entidad, excepto la persistencia de un conteo relativamente elevado de polimorfonucleares en los períodos más avanzados de la misma, que coincidió con un incremento del resto de las alteraciones reportadas en el LCR tal como la presión manométrica elevada, la proteinorraquia y el aumento del conteo celular. Las alteraciones de la glucosa se correspondieron también con las observadas en el LCR en esta entidad. Una placa de tórax con lesiones residuales sugestivas de una TB antigua (Fig. 2), un aumento de la velocidad de sedimentación de los eritrocitos y una hidrocefalia desarrollada en los períodos avanzados de la enfermedad, fueron elementos que se consideran a favor del diagnóstico de meningoencefalitis tuberculosa. Los cultivos en medios para hongos, virus y bacterias resultaron negativos, así como el examen directo del líquido cefalorraquídeo. A pesar de realizarse en varias ocasiones los intentos de aislamiento del bacilo tuberculoso en esputo, contenido gástrico y LCR, éstos resultaron infructuosos. La respuesta favorable al tratamiento específico se consideró como un elemento más de gran valor en el diagnóstico de meningoencefalitis tuberculosa.

Microscopia óptica. Los estudios de microscopia óptica de las células del LCR demostraron una persistencia de polimorfonucleares durante toda la evolución de la enfermedad, llegando a un 39% a los 40 días después de comenzar el cuadro clínico y 25% aún a los 79 días de evolución. El resto de las células en los diferentes conteos realizados correspondieron a linfocitos. En una ocasión se reportó un 4% de monocitos.

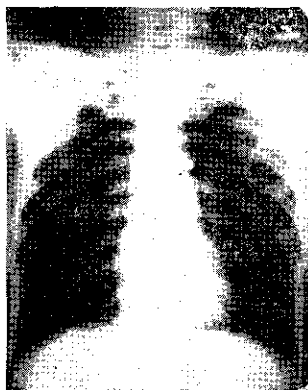


Fig. 2. Radiografía de tórax con lesiones residuales antiguas de TB.

Microscopia electrónica. Material y método. El líquido cefalorraquídeo obtenido por punción lumbar para microscopia electrónica fue estudiado por la técnica propuesta por Duffy y Simon, (1969). Fijado en glutaraldehído frío al 3%. Sometido a centrifugaciones repetidas (1 000 r.p.m.) en una centrífuga Mistral, modelo MSE 2L. Las centrifugaciones se continuaron en cápsulas BEEM-OO, haciéndose lavados con buffer fosfatos, a un pH de 7.3 (Millonig). Se continuó la fijación en tetróxido de osmio y lavados con iguales soluciones. La deshidratación se hizo en alcoholes a distintas concentraciones hasta alcohol absoluto. Posteriormente, una mezcla de alcohol con araldita y araldita sola a 60°C en una estufa. Los bloques se cortaron en un ultramicrotomo LKB Ultratome III y se colocaron en rejillas de cobre haciéndose el poscontraste en acetato de uranilo y citrato de plomo. Los cortes fueron examinados y fotografiados en un microscopio electrónico Hitachi, Modelo HS-7.

Resultados

- a) *Polimorfo nuclear neutrófilo.* Este elemento celular se observó con gran frecuencia en todos los cortes realizados.

Características. El núcleo presentó la morfología y la estructura descritas para este tipo celular, destacándose la forma polilobulada y la cromatina distribuida en masas densas más escasas en la porción

central del núcleo y más concentrada en la periferia junto a la envoltura nuclear. No se observan nucleolos. En algunas células pudo apreciarse la forma en herradura del núcleo con una cromatina menos densa, correspondiendo con el resto de las características celulares a las formas juveniles del mismo tipo celular (Figs. 3 y 4). El citoplasma presentó al examen las típicas granulaciones específicas para éstas células. En algunas células se encontraron vacuolas. También se pudieron observar granulaciones más finas. Se observaron algunas mitocondrias distribuidas en distintas regiones del citoplasma. Algunas células mostraron un retículo endoplasmático rugoso; en la membrana celular se encontraron gran cantidad de filopodias.

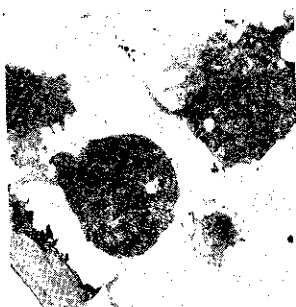


Fig. 3

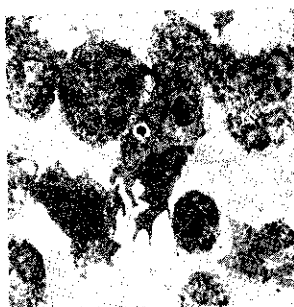


Fig. 4

Fig. 3. Dos granulocitos neutrófilos que muestran gran actividad endocítica.

Fig. 4. Granulocitos neutrófilos. Obsérvese las granulaciones específicas, vacuolas y filopodias.

- b) *Linfocitos. Características.* Las formas linfocitarias fueron difíciles de diferenciar de los monocitos debido a la presencia en una misma célula de características propias de ambos elementos celulares. El tamaño de estas células en ocasiones fue mayor al del linfocito corrientemente descrito como linfocito pequeño (Ham, 1969). Se observó un núcleo voluminoso de forma redondeada, pero con algunas escotaduras en partes del mismo. La cromatina se encontró distribuida irregularmente en forma de masas densas. No se observaron nucleolos. El citoplasma fue escaso como se describe en este tipo celular,

siendo la relación núcleo-citoplasma característica del linfocito. Se pudo apreciar el aspecto claro del citoplasma con la ausencia del retículo endoplasmático y polirribosomas. Las mitocondrias, aunque evidentes se presentaron escasas en número, apareciendo en grupos en ocasiones de diferente tamaño y con una matriz densa, no observándose alteraciones en su configuración y estructura. La membrana citoplasmática mostró gran cantidad de filopodias, lo cual es, sin embargo, una característica de los monocitos (Figs. 5 y 6).

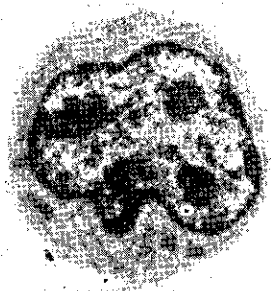


Fig. 5

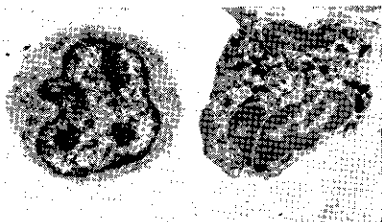


Fig. 6

Fig. 5. "Célula linfoide" que muestra caracteres comunes al linfocito y al monocito.

Fig. 6. Tamaño comparativo del linfocito de la Fig. 5 con un polimorfonuclear neutrófilo. Obsérvese que este linfocito presenta dimensiones mayores en relación al linfocito corrientemente descrito.

c) *Células plasmáticas. Características.* El núcleo presentó las características de este tipo celular, su excentricidad en el citoplasma, su forma redondeada y voluminosa. La cromatina estaba distribuida como se describe para estas células, mayor concentración de la misma en la periferia del núcleo y conglomerado en forma radiada hacia el centro. El citoplasma presentó las características descritas de un retículo endoplasma abundante distribuido por todo el citoplasma en forma de canales alargados y sinuosos con distribución paralela y con mayor densidad en los bordes de los canales, debido a la concentración de los ribosomas. Algunas mitocondrias se encontraron distribuidas irregularmente, aunque los límites y características de su estructura interna no estaban bien precisados. La membrana citoplas-

mática mostró algunas de las prolongaciones digitiformes descritas en estas células (Fig. 7).

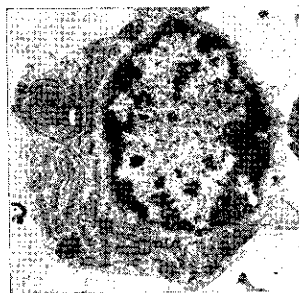


Fig. 7. Célula plasmática con retículo endoplasmático abundante, excentricidad del núcleo y distribución radiada de la cromatina, lo cual caracteriza a este tipo celular.

Puentes celulares. En algunos de los elementos celulares descritos se observaron contactos celulares con aparente continuidad de sus citoplasmas. Esta observación se encontró entre polimorfonucleares y entre éstos y linfocitos (Figs. 8, 9 y 10).

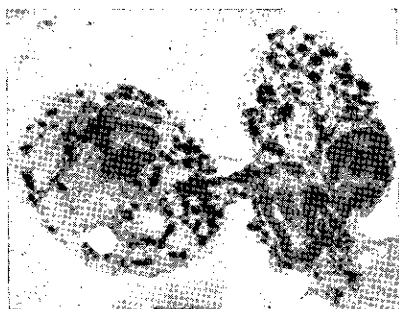


Fig. 8

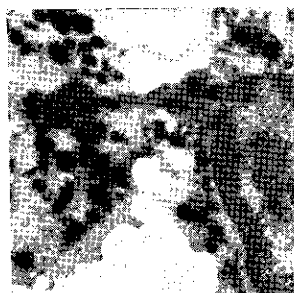


Fig. 9

Fig. 8. Contactos celulares entre dos polimorfonucleares neutrófilos.

Fig. 9. Detalle de la figura anterior.

DISCUSION

La meningoencefalitis tuberculosa es, de las meningoencefalitis subaguda, la más frecuente en nuestro medio. La disminución del número de polimorfonucleares neutrófilos a medida que avanza la enfermedad ha sido citada por distintos autores como una característica generalmente constante, encontrándose una elevación de los polinucleares en los estadios iniciales (*Dufresne, 1972*). Cuando la enfermedad evoluciona por brotes, es posible observar elevaciones transitorias en el número de estos elementos celulares (*Dufresne, 1972*), no así cuando evoluciona insidiosamente. En nuestro caso la enfermedad tuvo un carácter netamente progresivo, coincidiendo el acmé de la misma con el mayor grado de alteración en el estudio del LCR y con el mayor número de polinucleares. Este dato se aparta, como vemos, de las alteraciones encontradas en el LCR en los casos de evolución subcrónica.

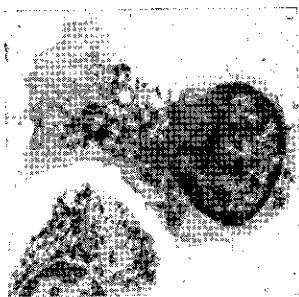


Fig. 10



Fig. 11

Fig. 10. Contactos celulares entre un elemento linfoide y un granulocito neutrófilo.

Fig. 11. Detalle de la figura anterior.

La función de los granulocitos neutrófilos en los mecanismos de defensa ante la infección, es de tipo inespecífico. Es la primera reacción ante la infección o la agresión del espacio subaracnoideo por un agente tóxico o irritante. En el caso de la T.B., se refiere que esta reacción primaria va seguida de la acción de los macrófagos y de los linfocitos, estos últimos con reacción inmunológica específica.

Desde este punto de vista existen dos elementos celulares inmunológicamente activos, los cuales estuvieron presentes en el LCR de nuestro paciente: el linfocito y la célula plasmática.

En los últimos años se ha demostrado que ambos elementos celulares independientemente de su acción, bien sea directa o mediada por anticuerpos, pueden a su vez actuar sobre otros elementos celulares en los complejos mecanismos de defensa. Los linfocitos por los llamados mediadores solubles o linfoquinas sobre otras poblaciones celulares principalmente macrófagos frente a parásitos celulares previamente tolerados facultativamente como los bacilos tuberculosos (*Dumode, 1969 y Mackaness, 1962*), produciendo el desarrollo de fagolisosomas que destruyen a estos últimos. Las células plasmáticas, por la acción opsonizante, facilitando la fagocitosis por agrupamiento de las bacterias y destrucción secundaria de las mismas.

Microscopia electrónica

Las características ultraestructurales de los granulocitos neutrófilos observados en el LCR no difieren de las descritas en la literatura para este tipo celular (*Ham, 1969*).

La presencia de vacuolas y vesículas, la densidad y cantidad de granulaciones específicas y la presencia de filopodias sugieren un aumento de la actividad endocítica y móvil que puede estar relacionada con los mecanismos de defensa frente al bacilo TB.

No podemos comparar estos estudios por no existir en la literatura estudios similares del LCR de la METB por microscopia electrónica; no obstante, no creemos que del estudio realizado en este caso se pueden establecer diferencias con las características propias de este elemento celular bien estudiado en la sangre y en el LCR con los microscopios fotónicos.

Las formas juveniles encontradas, al igual que ante otras infecciones, sugieren la reactividad inespecífica aumentada. Estas pudieron ser bien diferenciadas de las formas maduras, sobre todo por la forma del núcleo en herradura, la escasa densidad de la cromatina nuclear y la pobreza de las granulaciones específicas.

Las formas linfocitarias sí presentaron características especiales que es necesario destacar por diferenciarse de las características ultraestructurales conocidas descritas en los linfocitos.

Algunos autores han descrito en los estudios de microscopia óptica (*Dufresne, 1972*) en varias ocasiones la presencia de elementos celulares de aspecto linfocitario en la METB que por su relación núcleo-citoplasma corresponden a este tipo celular y, sin embargo, por su tamaño dos a cuatro veces mayor que los linfocitos, se separan de los caracteres propios a estas células. Además, dicho autor ha señalado que la distribución de la cromatina en el núcleo en tales células, es en forma de masas densas a diferencia de la cromatina observada en el monocito, célula con la que se debe diferenciar y en la que la cromatina está difusamente distribuida en el núcleo.

Sayk denominó a estas células: "Células linfoides".

En nuestros estudios pudimos apreciar elementos celulares que reunían las características señaladas por dicho autor (Figs. 5 y 6), o sea, la relación núcleo-citoplasma era propia del linfocito, así como la distribución de la cromatina nuclear y, además, presentaban un tamaño que no era propio de este tipo celular. Sin embargo, la presencia de filopodias en el citoplasma complicaba aún más su diferenciación en este caso con los monocitos, así como sus características mitocondriales que por su densidad lo asemejaban más a los monocitos.

Para algunos autores los monocitos derivan de los linfocitos y para otros ambos elementos celulares, sobre todo en las inflamaciones crónicas del sistema nervioso central, proceden de una célula común del espacio leptomeningeo (*Dufresne, 1972*).

De ahí que para estos autores tales células deben ser llamadas "células de retículo" y consideran que este polimorfismo está en relación con su capacidad funcional, pudiendo transformarse estas formas reticulomonocitarias en macrófagos, como una reacción inespecífica de las células del sistema reticuloendotelial. La presencia de las filopodias señaladas serían un elemento a favor de la función fagocítica (*Ito, 1970*).

Las células plasmáticas encontradas reunieron las características de este tipo celular con un retículo endoplasma abundante y rico en ribosomas. La presencia de este elemento celular en el LCR como en cualquier otra

parte del organismo está en relación con la formación de anticuerpos. Sus características no difieren de las encontradas para este tipo celular.

Puentes celulares

La presencia de contactos celulares con continuidad de los citoplasmas ha sugerido en estudios realizados por otros autores en otras condiciones experimentales, mecanismos de pasaje de antígenos de unos elementos celulares a otros. Este fenómeno ha sido estudiado y demostrado por varios autores entre macrófagos y células de la serie linfocítica y plasmática.

En los trabajos de Shöenberg y cols., (1964) se revela con el microscopio electrónico áreas de comunicación directa entre el citoplasma de los macrófagos y el de los linfocitos y células plasmáticas. Estos contactos son mayores en animales previamente inmunizados.

Este pasaje de información entre células a través de puentes celulares ha sido estudiado posteriormente en estudios de microscopia electrónica por autores tales como Pinto da Silva y Gilula, (1972); Gilula y cols., (1972); Kolodny, (1971) y Revel y cols., (1971) entre otros. Todos los autores citados se refieren a la importancia de tales contactos celulares en el pasaje de información antigénica en los mecanismos inmunológicos.

En el estudio de microscopia electrónica del LCR en nuestro paciente, la presencia de dichos contactos celulares puede sugerir la hipótesis en la METB del pasaje de la información antigénica entre polimorfonucleares (micrófagos) y de éstos a las células linfomonocitarias a través de dichos puentes celulares, lo cual, aunque no está demostrado en este trabajo, requiere estudios ulteriores que puedan confirmar estas suposiciones.

REFERENCIAS

- DUFFY P. E. AND SIMON J. Study of CSF cells by electron microscopy. A new method. *Archives of Neurology*, 21, 4, 1969.
- DUMODE. "Lymphokines": Non-antibody Mediators of Cellular Immunity Generated by Lymphocyte Activation. *Nature*, 224, 38, 1969.
- DUFRESNE J. J. Citología Práctica del Líquido Ceforraquídeo. *Ciba-Geigy*, 48, 33, 1972.

- GILULA N. B., REEVES O. R. AND STEINBACH A. Metabolic Coupling, Ionic Coupling and Cell Contacts. *Nature*, 235, 262, 1972.
- HAM A. W. Tratado de Histología. Inst. del Libro, 251, 1969.
- ITO U. Electron Microscopic Observation of cerebro-spinal Fluid Cells. *J. Electron Microsc.*, 19, 265, 1970.
- KOLODNY G. M. Evidence for Transfer of Macromolecular RNA Between Mammalian Cells in Culture. *Exptl. Cell Res.*, 65, 313, 1971.
- MACKANESS J. Cellular Resistance to Infection. *J. Exp. Med.*, 116, 381, 1962.
- PINTO DA SILVA P. AND GILULA N. B. Gap junctions in normal and Transformed Fibroblasts in Culture. *Exptl. Cell Res.*, 71, 393, 1972.
- REVEL J. P., YEE A. G. AND HUDSPETH A. J. Gap Junctions Between Electrotonically Coupled Cells in Tissue Culture and in Brown FAT. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 68, 2927, 1971.
- SCHONENBERG M. D., MUMAN U. R. AND MOORE R. D. Cytoplasmic interaction Between Macrophages and Lymphocytic Cells in Antibody Synthesis. *Science*, 143, 964, 1964.