

Determinación en sangre de la enzima enolasa específica neuronal en niños con encefalopatías agudas: Valor pronóstico de secuelas neurológicas

A. Verdú Pérez, T. Garde Morales¹, M. Martínez Campos¹, R. Rinaudo Zanirato, J.A. Alonso Martín¹

Resumen. *Objetivos:* Evaluar si hay correlación entre el valor de la enzima enolasa específica neuronal (EC 4.2.1.11) en sangre en niños afectados de encefalopatías agudas no traumáticas con alteración grave del nivel de conciencia y las secuelas neurológicas encontradas posteriormente.

Métodos: Se determinó la actividad en sangre de enolasa específica neuronal, por radioinmunoensayo, entre las 24 y 72 horas del inicio de la encefalopatía en 9 niños con edades entre 7 meses y 5 años, y en un grupo control (n = 10). La etiología de la encefalopatía fue: encefalitis viral (n = 4), casi ahogamiento (n = 2), shock (n = 2), y parada cardíaca (n = 1). Se evaluó el estatus neurológico 18 meses tras el proceso encefalopático.

Resultados: Los valores en sangre de enolasa específica neuronal en los niños con encefalopatía que presentaron secuelas neurológicas (n = 4, mediana = 68,9 ng/ml, rango 35,0-95,6) fueron significativamente superiores a los de los niños con encefalopatía que no presentaron secuelas (n = 5, mediana = 15,8 ng/ml, rango 9,7-18,7) con p < 0,05. No se encontraron diferencias entre los niños sin secuelas y los del grupo control (mediana = 7,7 ng/ml, rango 4,1-12,7).

Conclusiones: La determinación de la enolasa específica neuronal en sangre puede aportar información útil para la predicción de secuelas neurológicas en niños con encefalopatías agudas de origen no traumático.

An Esp Pediatr 1998;48:17-20.

Palabras clave: Enolasa específica neuronal; Daño cerebral; Coma.

NEURON-SPECIFIC ENOLASE IN CHILDREN WITH ACUTE ENCEPHALOPATHIES: RELATIONSHIP WITH THE NEUROLOGICAL OUTCOME

Abstract. *Objective:* The objective of this study was to evaluate if there is a correlation between blood levels of the enzyme neuron-specific enolase in children with non-traumatic acute encephalopathies with severe alterations in consciousness and the neurological sequelae.

Patients and methods: Neuron-specific enolase (EC 4.2.1.11) activity in plasma was measured by radioimmunoassay in 9 children aged 7 months to 5 years, who suffered acute encephalopathy and coma of non-traumatic origin. The etiology was acute viral encephalitis (n = 4), near drowning (n=2), shock (n = 2) and cardiac arrest (n = 1). Blood samples were obtained between 24 and 72 hours after the onset of encephalopathy. The neurological status was evaluated 18 months after the onset of encephalopathy in the 8 surviving patients (1 patient with brain death criteria died in the acute stage).

Unidad de Neuropediatría. ¹Servicio de Pediatría. Hospital «Virgen de la Salud». Toledo.

Correspondencia: Dr. A. Verdú Pérez. Unidad de Neuropediatría. Hospital «Virgen de la Salud». Avda. Barber, 30. 45004 Toledo.

Recibido: Diciembre 1996

Aceptado: Junio 1997

Results: Enzyme activities were significantly higher in the children who showed neurological sequelae (median 68.9 ng/ml, range 35.0 - 95.6, n = 4) than in those who did not present neurological abnormalities (median 15.8 ng/ml, range 9.7 - 18.7, n = 5), with p < 0.05. No differences were found between the latter and the control group (median 7.7 ng/ml, range 4.1 - 12.7, n = 10).

Conclusions: It appears that the presence of elevated neuron-specific enolase in blood is predictive of neurological outcome in children with acute encephalopathies of non-traumatic origin.

Key words: Neuron-specific enolase. Brain damage. Coma.

Introducción

La predicción del pronóstico neurológico en niños afectados de encefalopatías agudas es importante y difícil. La dificultad se debe a la escasez semiológica (pacientes en coma con depresión marcada de todas las respuestas neurológicas), y al artefacto producido con frecuencia por la medicación (relajantes musculares para ventilación mecánica, barbitúricos a altas dosis para «protección» cerebral, etc.). Exploraciones como la TAC, el EEG o los potenciales evocados, pueden aportar información valiosa sobre el alcance del daño cerebral. Pero con frecuencia su realización no es posible por motivos técnicos (p. ej.: riesgos de traslado del paciente crítico), o bien los resultados son de difícil interpretación (p. ej.: EEG en pacientes con medicación depresora del SNC). Todo ello ha motivado la investigación de diversos «marcadores» moleculares de la intensidad del daño cerebral, que pudieran ser determinados en sangre o LCR y que teóricamente no fueran afectados por la medicación administrada al paciente. Entre los marcadores más estudiados destacan el lactato y las enzimas creatín-fosfoquinasa-BB (CPK-BB) y enolasa específica neuronal (EEN). El lactato en LCR es un indicador de metabolismo anaerobio y refleja, por lo tanto, que ha habido hipoxia-isquemia cerebral, pero no implica que se haya producido necrosis neuronal. Mejor marcador de lesión tisular cerebral es la enzima intracelular CPK-BB, relativamente específica del tejido cerebral, y cuyos niveles en sangre o LCR en neonatos con asfisia perinatal se correlacionan con las secuelas neurológicas⁽¹⁾. Sin embargo, su rápida eliminación plasmática y el hecho de que también pueda ser liberada por el tejido intestinal y otros tejidos dificultan su aplicabilidad clínica⁽¹⁻³⁾. La EEN es considerada como el marcador enzimático más específico de daño neuronal^(4,5) y tiene la ventaja sobre la CPK-BB de una mayor vida media plasmática. La EEN en sangre y/o LCR

Tabla I Características clínicas principales y valores de EEN plasmática de los niños del estudio

Caso	Edad	Sexo	Etiología	Evolución	TAC/RMN	EEN (ng/ml)
1	28 m	M	Parada cardíaca	Fallecido	(-)	35,4
2	32 m	F	Encefalitis viral	Sin secuelas	Normal	13,3
3	37 m	M	Encefalitis viral	Epilepsia	Atrofia cortical	75,1
4	8 m	F	Deshidratación Shock	Retraso psicomotor	Atrofia cortical focal	70,4
5	5 a	F	Encefalitis viral Estatus epiléptico	Sin secuelas	Normal	8,7
6	19 m	M	Casi ahogamiento	Sin secuelas	Normal	9,7
7	7 a	M	Encefalitis viral	Sin secuelas	Normal	17,3
8	7 m	M	Encefalopatía y shock hemorrágico	Tetraparesia	Atrofia cortical difusa	95,6
9	17 m	F	Casi ahogamiento	Sin secuelas	Normal	16,7

se correlaciona con la extensión y la duración de la isquemia cerebral en modelos animales⁽⁶⁾ y se ha encontrado que tiene gran valor predictivo de secuelas neurológicas tras un accidente anóxico en seres humanos^(4,5,7,8).

El propósito de nuestro trabajo ha sido determinar las concentraciones de EEN plasmáticas en niños con encefalopatías agudas no traumáticas, y evaluar si hay relación entre dichas concentraciones y las secuelas neurológicas. En definitiva, valorar si es un marcador de daño neuronal.

Pacientes y métodos

Se determinó la actividad EEN en plasma en los pacientes del estudio (n = 9) y los controles (n = 10). Los datos clínicos más relevantes de los pacientes figuran en la tabla I. Todos padecían encefalopatías agudas no traumáticas con alteración grave del nivel de conciencia. Un paciente falleció por fallo multisistémico secundario a muerte cerebral (caso 1). En los pacientes supervivientes (n = 8) se determinó el estatus neurológico 18 meses tras el alta, con evaluación de la motricidad y desarrollo psicomotor y prueba de neuroimagen. Se consideraron secuelas neurológicas la existencia de trastorno motor central y/o un cociente de desarrollo inferior a 80 y/o la presencia de déficit sensoriales o epilepsia sintomática. Como controles se escogieron niños con rango de edad similar al de los pacientes, que estaban ingresados en el mismo momento y que no padecían enfermedad neurológica, hemato-oncológica o hubiesen sido sometidos a cirugía.

La muestra de sangre se obtuvo entre las 24 y 72 horas del inicio clínico de la encefalopatía aguda excepto en el caso 1 en que se obtuvo a las 92 horas. Se obtuvo consentimiento informado de los padres para la realización de la determinación en los pacientes de estudio y los controles. Tras la separación del plasma éste se mantuvo congelado a -90 °C hasta el momento de la determinación analítica. En caso de detectarse hemólisis se obtuvo inmediatamente una nueva muestra sanguínea exen-

ta de hemólisis. La actividad EEN se midió por radioinmunoensayo según el método descrito por Brown y cols.⁽⁹⁾. Debido al pequeño número de pacientes y a la distribución no normal de los valores de EEN se utilizó el test no paramétrico de Mann-Whitney para las comparaciones pareadas; los valores de EEN se expresan como mediana y rango.

Resultados

Nuestro hallazgo principal ha sido que la EEN, un marcador de daño cerebral agudo, estaba elevada de forma significativa en los niños que presentaron secuelas neurológicas. En la figura 1 se representan los valores individuales de EEN plasmática de los pacientes que presentaron secuelas, incluido el paciente fallecido por muerte cerebral (grupo 1), de aquéllos que no presentaron déficit (grupo 2) y de los controles. Los valores de EEN en los niños del grupo 1 (68,9 ng/ml, 35,0-95,6) fueron significativamente superiores a los valores de los niños del grupo 2 (15,8 ng/ml, 9,7-18,7) con $p < 0,05$. No hubo diferencias significativas entre los valores de EEN de los niños del grupo 2 y los valores del grupo control (7,7 ng/ml, 4,1-12,7; $p = 0,09$). Si consideramos como teórico límite superior de la normalidad el valor situado 2SD por encima del valor medio de la EEN en el grupo control (14,7 ng/ml) no hubo falsos negativos en nuestra serie, mientras que hubo tres falsos positivos (casos 5, 7 y 9). No obstante, en estos tres casos, los valores de EEN plasmática fueron levemente superiores al límite superior de la normalidad y no se produjo «solapamiento» con las cifras encontradas en los casos del grupo 1.

Discusión

La enolasa (EC 4.2.1.11), una enzima glucolítica, tiene 5 isoenzimas. Las que contienen la subunidad gamma (EEN) se encuentran predominantemente en las neuronas. En diversos trabajos se ha mostrado que la EEN es liberada tanto al LCR como al plasma tras eventos dañinos para el sistema nervioso cen-

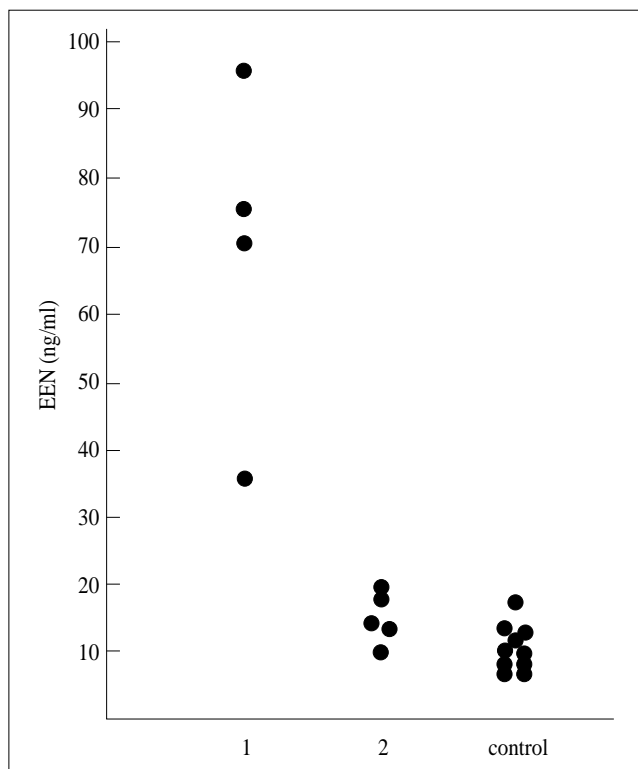


Figura 1. Distribución de los valores de enolasa en los grupos de estudio. 1: Pacientes con secuelas neurológicas. 2: Pacientes sin secuelas neurológicas. $1 > 2$; $p < 0,05$; $2 >$ control, n.s.

tral. Así, Scarna y cols.⁽⁴⁾ han descrito una relación entre los niveles de EEN plasmáticos y en LCR y la intensidad del daño cerebral en adultos con comas de origen diverso. Persson y cols.⁽⁵⁾ encontraron una buena correlación entre los niveles de EEN en plasma y LCR y el tamaño del infarto cerebral en pacientes con accidente cerebrovascular isquémico. Nara y cols.⁽¹⁰⁾ han descrito una relación inversamente proporcional entre el nivel de EEN plasmático y el «Glasgow Coma Score» en niños con situación de coma de origen no traumático. Recientemente, Thornberg y cols.⁽¹¹⁾, en una población de neonatos con asfisia perinatal han encontrado que el nivel de EEN en LCR se correlaciona con la intensidad de la asfisia y que, por lo tanto, tiene un gran valor predictivo de secuelas neurológicas. Nuestra serie, aunque pequeña en el número de pacientes, nos ha mostrado que la determinación de la EEN en plasma aporta una información fiable sobre la gravedad del daño cerebral, ya que en todos los casos en los que su valor estaba significativamente elevado hubo secuelas neurológicas. Parece algo contradictorio que el paciente número 1, que falleció y se encontraba en situación de muerte cerebral, no presentase niveles de EEN mayores (al menos equiparables a los de los otros casos con secuelas neurológicas), pero se trata del caso en el que, por problemas extramédicos, se realizó la determinación más alejada en el tiempo desde el momento en el que se produjo la anoxia cerebral. No hay estudios que hayan abordado el problema de la evolución temporal de los va-

lores en sangre de la EEN, a excepción del de Horn y cols.⁽⁶⁾. Estos autores han observado experimentalmente un incremento en sangre máximo de la EEN entre las 48 y las 72 horas tras la anoxia cerebral, con una rápida disminución de los valores en las 48 horas siguientes. Podríamos presumir, de forma hipotética, que el nivel de EEN en dicho caso hubiese sido mayor de haberse determinado a las 48 horas. Los autores opinan que en el momento actual es difícil establecer una correlación cuantitativa entre el nivel de EEN en sangre y la severidad de las secuelas neurológicas, ya que el valor de EEN depende del momento en el que se realiza la determinación, pero, a falta de más estudios, es recomendable obtener la determinación entre las 48 y las 72 horas. El nivel en sangre de la EEN puede depender también del «perfil» temporal del daño cerebral. Así, en unas situaciones se produce una lesión cerebral aguda sin posterior progresión, mientras que en otras puede haber un daño cerebral continuado. La etiología en nuestra serie es heterogénea, pero todos los pacientes tienen en común una afectación cortical más o menos difusa (hipoxia, hipoperfusión cerebral, encefalitis). Por otro lado, lo que se ha pretendido averiguar con la determinación de la EEN es si ha habido necrosis neuronal, la cual, independientemente de su causa, es la que se correlaciona con las secuelas neurológicas.

Los estudios sobre la utilidad de la determinación de la EEN en patología neurológica aguda han sido escasos, por lo que su verdadera utilidad clínica no está establecida y hay algunos aspectos confusos. Por ejemplo, algunos autores dudan de su utilidad clínica ya que la EEN también está presente en plaquetas, células neuroendocrinas y, sobre todo en eritrocitos⁽⁹⁾. Creemos que una correcta extracción y separación del plasma, evitando la hemólisis, y descartando las muestras con hemólisis aunque sea mínima, eliminaría el riesgo de falsos positivos por esta causa. Por otro lado, debemos mencionar el estudio realizado en España por Pérez Lescure y cols.⁽¹²⁾, en 28 niños con traumatismo craneoencefálico, y en el que la determinación de la EEN en plasma no fue de utilidad como marcador pronóstico precoz. Los autores aducen que las secuelas no dependen tanto de la cuantía de la necrosis neuronal (que es lo que teóricamente mide la EEN) como de su localización, ya que lesiones pequeñas en zonas críticas (p. ej.: tronco cerebral) pueden causar grandes déficit neurológicos y lesiones relativamente extensas en zonas «silentes» pueden pasar clínicamente desapercibidas. El primer punto es cierto, y en dicho caso podría cuestionarse la sensibilidad del método para predecir secuelas. También por este motivo no hemos incluido a niños con traumatismo craneoencefálico grave en nuestro estudio. Pero es cuestionable el segundo supuesto, ya que es difícilmente asumible que una pérdida importante de tejido cerebral (objetivada en neuroimagen) sea silente. Quizás el «silencio» semiológico se deba a la ausencia de manifestaciones deficitarias motrices conspicuas, pero hay ciertos aspectos perceptivos, cognitivos y comportamentales de difícil detección inicial, con trascendencia a medio y largo plazo, y que precisan de un largo tiempo de seguimiento para su manifestación. Un ejemplo evidente sería el

desarrollo de una epilepsia postraumática.

En conclusión, nuestros resultados sugieren que, independientemente de la etiología, los valores altos en sangre de la EEN en niños con encefalopatía aguda no traumática son pronósticos de secuelas neurológicas posteriores. Somos conscientes de que el número de pacientes de nuestro estudio es escaso, pero estos resultados preliminares son significativos, por lo que creemos que es muy interesante la realización de más estudios con el objeto de establecer de forma más precisa en qué tipo de procesos encefalopáticos puede poseer un valor pronóstico fiable.

Bibliografía

- 1 Fernández F, Verdú A, Quero J y cols. Serum CPK isoenzyme in the assessment of brain damage in asphyctic term infants. *Acta Paediatr Scand* 1987; **76**:914-918.
- 2 Walsh P, Jedeikin R, Ellis G y cols. Assessment of neurologic outcome in asphyxiated term infants by use of serial CK-BB isoenzyme measurement. *J Pediatr* 1982; **101**:988-992.
- 3 Kumpel B, Wood SM, Anthony PP y cols. Umbilical cord serum creatine kinase BB in the diagnosis of brain damage in the newborn: problems in interpretation. *Arch Dis Child* 1983; **58**:382-383.
- 4 Scarna H, Delafosse B, Steinberg R y cols. Neuron-specific enolase as a marker of neuronal lesions during various comas in man. *Neurochem Int* 1982; **4**:405-411.
- 5 Persson L, Hardemark HG, Gustafsson J y cols. S-100 protein and neuro-specific enolase on cerebrospinal fluid and serum: Markers of cell damage in human central nervous system. *Stroke* 1987; **18**:911-917.
- 6 Horn M, Seger F, Schlote W. Neuron-specific enolase in gerbil brain and serum after transient cerebral ischemia. *Stroke* 1995; **26**:290-296.
- 7 Royds JA, Timperley WR, Taylor CB. Levels of enolase and other enzymes in the cerebrospinal fluid as indices of pathologic change. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1988; **19**:1140-1144.
- 8 Karkela J, Bock E, Kaukinen J. CSF and serum brain specific creatine kinase isoenzyme (CK-BB), neuron specific enolase and neural cell adhesion molecule as prognostic markers for hypoxic brain injury after cardiac arrest in man. *J Neurol Sci* 1993; **116**:100-109.
- 9 Brown K, Kynoch P, Thompson R. Immunoreactive nervous system specific enolase (14-3-2 protein) in human serum and cerebrospinal fluid. *Clin Chim Acta* 1980; **101**:257-264.
- 10 Nara T, Nozaki H, Nakae Y, Arai T, Ohashi T. Neuron-specific enolase in comatose children. *AJDC* 1988; **142**:173-174.
- 11 Thornberg E, Thiringer K, Hagberg H, Kjellmer I. Neuron specific enolase in asphyxiated newborns: association with encephalopathy and cerebral function monitor trace. *Arch Dis Child* 1995; **72**:F39-F42.
- 12 Pérez Lescure J, García Fernández E, Rodríguez Lombardía A, Ramil Fraga C, Quiroga Ordóñez E. Enolasa neuroespecífica y traumatismo craneoencefálico. *An Esp Pediatr* 1994; **40**:385-386.