

# TRABAJOS DE COLABORACION

---

CIUDAD SANITARIA DE LA SEGURIDAD SOCIAL "RUIZ DE ALDA"  
GRANADA

SERVICIO DE ANALISIS CLINICOS

Jefe de Servicio: Prof. Dr. PERAN TORRES

## ELECTROFORESIS DE PROTEINAS EN LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO

J. A. ARREBOLA NACLE; M. MUROS DE FUENTES y F. PERAN MESA

### INTRODUCCION

El estudio de las proteínas del líquido cefalorraquídeo, ha significado un importante avance en el diagnóstico de muchos procesos neurológicos. Sin embargo, examinando los trabajos de los primeros autores se observa que no ha habido la evolución que lógicamente cabría esperar.

Esto debe atribuirse en parte, a la dificultad para encontrar un sistema idóneo de concentración del líquido cefalorraquídeo, y también a la falta de poder resolutivo de los primeros sustratos. La aparición de nuevos sistemas de concentración que requerían menor cantidad han hecho que superados estos problemas de orden técnico, la electroforesis del líquido cefalorraquídeo, ha de excepción en algunas enfermedades neurológicas.

Es por tanto muy importante que cada laboratorio, de acuerdo con la técnica y sustrato empleados, dé a los clínicos unos valores controles que marquen la normalidad en la metódica empleados.

## MATERIAL Y METODOS

La mayor dificultad estriba en la obtención de sujetos controles, y es el mismo problema con el que se enfrentan la mayoría de los autores de este tipo de trabajos.

Es excepcionalmente raro que existan sujetos voluntarios dada la creencia general de que la punción lumbar es una exploración grave.  
 ción económica ba dan  
 como sujetos controles enfermos aquejados de alteraciones no orgánicas del sistema e  
 líquidos cefalorraquídeo obtenidas en el curso de raquianestias.  
 En nuestro  
 muestras normales, que nos han sido facilitadas por el Servicio de Neurocirugía.

### APARATOS

Empleamos el equipo "Beckman" de electroforesis en microzona compuesto por:

Fuente de alimentación  
 Cubeta de microzona mod. R-101  
 Micro aplicador de muestras  
 Densitómetro de microzona mod. 111

### REACTIVOS

1.º Membranas de acetato de celulosa tipo "sartorius"

2.º Solución buffer:

Veronal ... ..	4,405 g.
Veronal sódico... ..	24,605 g.
Agua destilada ... ..	4,000 ml.
pH=8,6. Molaridad 0,036. Fuerza iónica	0,075

3.º

Colorante Ponceau S. ... ..	0,5 g.
Acido tricloroacético ... ..	7,5 g.
Acido sulfosalicílico ... ..	7,5 g.
Agua destilada... ..	200 ml.

## 4.º Solución decolorante:

Acido a	...	100	ml.
Agua destilada c. s. p.	...	2.000	ml.

## 5.º Solución deshidratante:

Alcohol metílico puro.

## 6.º Solución transparentadora:

Dioxano...	...	70	ml.
Isobutanol...	...	30	ml.

## METODICA EXPERIMENTAL

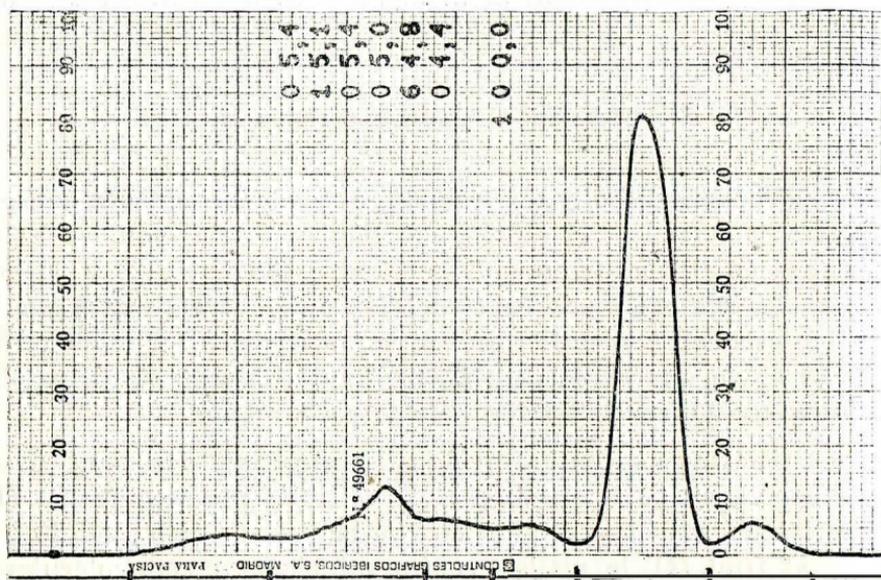
Como hemos dicho anteriormente, el primer problema que encontramos al efectuar el estudio del líquido cefalorraquídeo es su concentración. La proteína por cien, lo que exige una concentración de cien veces para que la electroforesis tado. Es obvio que en el caso de un líquido hiperproteico patológico el grado de concentración exigido sería menor.

Los sos, desde la evaporación la liofilización acetna hipertónicas (5) (6), hasta las más recientes como la diálisis con aplicación de vacío (7) (8), y la ultrafiltración bajo presión positiva de aire (9).

Con método satisfactorio y mucho mas simple hemos usado el concentrador de muestras clínicas Minicón TM-D, consistente en una membrana con permeabilidad quince mil.

Los solutos retenidos por la membrana gravemente a medida que se produce la reducción de volumen. Este método requiere muy pocas manipulaciones del líquido cefalorraquídeo, junto a un volumen de muestras bastante pequeño: 5 ml. Además, al ser relativamente rápido y evitar la zona de exposición al aire, hace que la desnaturalización protéica sea menor.

Previamente a la concentración liberamos el líquido cefalorraquídeo de todo tipo de impurezas, mediante centrifugación. La técnica a seguir es idéntica a la del proteinograma sérico y se puede encontrar en el manual Beckman para electroforesis de microzona. La única modificación que hemos introducido consiste en una aplicación doble de la muestra sobre la membrana, lo que permite una coloración mas intensa de las distintas fracciones facilitando su posterior lectura en el densitómetro.



## RESULTADOS

En la tabla siguiente exponemos los valores obtenidos, expresados en % de las distintas fracciones.

Casos	Prealbúmina	Albúmina	Glob. $\alpha_1$	Glob. $\alpha_2$	Glob. $\beta$	Glob. $\gamma$
1	5,8	63,7	4,7	6,8	12,1	6,8
2	4,3	62,6	3,5	6,1	13,9	9,6
3	4,0	59,3	4,0	7,3	14,9	10,5
4	4,2	69,6	4,6	5,0	10,4	6,2
5	4,3	58,6	4,3	6,0	17,2	9,5
6	6,7	64	4,8	6,9	16	8,2
7	5,5	55,7	5,5	8,7	16,9	7,7
8	6,7	53,7	3,7	7,9	18,3	9,8
9	3,7	49,8	8,1	8,1	15,9	14,4
10	8,2	51,8	7,1	8,2	15,3	9,4
11	7,3	54,8	5,6	5,6	19,4	7,3
12	4,5	56,7	5,3	8,1	17,4	7,9
13	4,2	52,4	6,5	6,5	17,9	12,5
14	4,7	60	5,9	7,3	14	8
15	5,2	59,9	4,7	6,9	15,9	7,3
16	5,5	58	4,6	8	15,5	8,4
17	9,4	55,8	5,8	5,8	14,5	8,7
18	4,9	71,1	3,7	5,6	14,8	9,9
19	4,8	62,1	5,2	6	14,9	6,9
20	5,3	61,8	5,3	6,6	15,8	5,3
21	5,9	58,5	5,2	6,7	14,8	8,9
22	8	48,3	4,6	10,3	19,5	9,2
23	4,4	63,3	5,7	7	13,3	6,3
24	6,8	54,8	4,1	6,8	17,1	10,4
25	5,4	56,2	5,4	7,6	14,9	10,5
26	7	57,6	4,7	7,3	14,7	8,7
27	4,8	63	4,8	6,8	15,8	8,3
28	8,6	58	4,9	6	14,9	6,8
29	6,3	56,7	5,8	7,5	14,9	8,8
30	5,0	61,2	4,7	7,1	15,3	6,7

## DISCUSION

Los valores normales relativos obtenidos por nosotros en los 30 casos controles, han sido:

Prealbúmina ... ..	5,7 ± 1,4 %
Albúmina... ..	58,3 ± 4,6 %
Globulina $\alpha_1$ ... ..	5,0 ± 0,9 %
Globulina $\alpha_2$ ... ..	7,0 ± 1,0 %
Globulina $\beta$ ... ..	15,5 ± 1,9 %
Globulina $\gamma$ ... ..	8,6 ± 1,9 %

## Nuestros resultados

tenidos por KAPLAN en 1967 (8), utilizando las mismas técnicas en los aspectos fundamentales, salvo en el método de concentración que KAPLAN utiliza filtración por vacío en sacos

## RESUMEN

Las proteínas del líquido cefalorraquídeo son concentradas por filtración a través de Minicón TM-D y separadas por electroforesis sobre acetato de celulosa. Los valores obtenidos en 30 pacientes normales son 5,7 ± 1,4 % para la prealbúmina; 58,3 ± 4,6 % para la albúmina, y 5,0 ± 0,9 %; 7,0 ± 1,0 %; 15,5 ± 1,9 %, y 8,6 ± 1,9 % para las  $\alpha_1$   $\alpha_2$   $\beta$   $\gamma$  globulinas, respectivamente.

## SUMMARY

The protein in cerebrospinal fluid were concentrated by filtration through Minicón

The values obtained on 30 normal patients were 5,7 ± 1,4 % for prealbumin; 58,3 ± 4,6 % for albumin and 5,0 ± 0,9 %; 7,0 ± 1,0 %; 15,5 ± 1,9 %; 8,6 ± 1,9 %, respectively, for  $\alpha_1$   $\alpha_2$   $\beta$  and  $\gamma$  globulins.

## RESUME

Les protéines du liquide céphalo-rachidien sont concentrés par filtration dans Minicón TD-M et séparés par électrophorèse sur acetate é celluloce. Les valeurs obtenis dan 30 patiens normals sont 5,7 ± 1,4 % pour le prealbúmina; 58,3 ± 4,6% pour l'albúmine. et 5,0 ± 0,9 %; 7,0 ± 1,0 %; 15.5 ± 1,9 %; 8,6 ± 1,9 %, pour les  $\alpha_1$   $\alpha_2$   $\beta$   $\gamma$  globulins, respectivement.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.—GOA, J. and L. TUETEN: "Electrophoresis of cerebrospinal fluid proteins in certain neurological diseases". *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 15, 152-158, 1963.
- 2.—GRIES, G., ALY, F. W., OLDERHAUSEN, H. F.: "Zur Methodik der Papier-elektrophorese des Liquor cerebrospinalis". *Klin. Wschr.*, 31, 644-649, 1953.
- 3.—BURTIN, P.: "Les proteines du liquide Cephalo-raquidien". In P. Grabar et Burtin *Analyse Immuno-Electrophoretique*, Masson. Paris 1960.
- 4.—ROBOZ, E., HESS, W. C., FOSTER, F. M. y TEMPLE, D. M.: "Paper Lelectrophoretic Studies in Multiple Sclerosis". *Neurology*, 4, 811-817, 1961.
- 5.—COLOVER, J. A.: "A microtechnique for Protein concentration suitable for quantitative electrophor". *Neurology*, 14, 559-560, 1961.
- 6.—MANUEL, Y. y DE ROUGEMONT, J.: "Electrophorese en Gel D'amidon du liquide cephalorraquidien dans le diagnostic des tumeurs intracranienes". *C. R. Soc. Biol.*, 156, 1852, 1.859-1.862, 1962.
- 7.—BURROWS, S.: "Simple method for concentration of cerebrospinal fluid for protein electroforesis". *Clin. Chem.* 11, 1068-1069, 1965.
- 8.—KAPLAN, A.: "Electrophoresis of cerebrospinal fluid proteins". *Amer. J. Med. Sci.*, 253, 549-555, 1967.
- 9.—LATERRE, Ch.: "Les proteines du liquide cefalo-rachidien a l'etat normal et pathologique". *Arsclia. Brucelas* 1965.