

INTERÉS CLÍNICO DE LA ELECTROFORESIS DE PROTEÍNAS

Corte Arboleya Z, Zakariya-Yousef Breval F, Lequerica Fernández P, Ferreiro Artime N, Gutiérrez Cecchini B, Venta Obaya R

Introducción

La electroforesis de proteínas plasmáticas, o proteinograma, es una técnica que permite la separación de las proteínas en función de su migración diferencial al ser sometidas a un campo eléctrico.¹ Dependiendo del medio de soporte utilizado para la separación, pueden distinguirse dos metodologías distintas: electroforesis capilar y electroforesis en gel de agarosa, siendo ésta última la empleada en nuestro laboratorio.

El estudio electroforético de proteínas, en suero u orina, es una de las pruebas especiales más solicitadas debido a la información clínica que pueden ofrecer².

Fracciones Proteicas

La electroforesis de proteínas permite la separación de las proteínas plasmáticas en 5 fracciones: Albúmina, Alfa-1, Alfa-2, Beta y Gamma, obteniéndose un perfil proteico completo que permite un análisis tanto cualitativo como semicuantitativo de las mismas³. Las principales proteínas constituyentes de las distintas fracciones, así como su función y repercusión clínica se recogen en la *Tabla 1*.

Facultativos del Laboratorio de Bioquímica

Rafael Venta Obaya. Jefe de Servicio

Área de Cromatografía y Medicamentos. Ext. 24217

Sofía Álvarez Geijo. Especialista de Área

Área de calidad. Ext. 24076

Olvido Álvarez Lecue. Especialista de Área

Área de Orinas y Líquidos. Ext. 24110

María Teresa Avello López. Especialista de Área

Área de Bioquímica Urgente. Ext. 24110

Mercedes Cándenas Arroyo. Especialista de Área

Área de Hormonas y Marcadores Tumorales. Ext. 24076

María Victoria Gacimartín García. Especialista de Área

Área de Bioquímica General. Ext. 24076

Beatriz Gutiérrez Cecchini. Especialista de Área

Área de Electroforesis y Esterilidad. Ex. 23014

Zoraida Corte Arboleya. Residente. Ext. 23014

Nicolás Ferreiro Artime. Residente. Ext. 23014

Fátima Zakariya-Yousef Breval. Residente. Ext. 23014

Paloma Lequerica Fernández. Residente. Ext. 23014

Proteína/Función	Significado Clínico de Variaciones en su Concentración
Albúmina	<u>Aumento:</u> Deshidratación
1. Mantenimiento P oncocítica intravascular	<u>Disminución:</u> Hiperhidratación, síntesis disminuida (malnutrición, malabsorción, disfunción hepática), pérdidas (ascitis, neuropatía, nefropatía), inflamación.
2. Fijación y transporte de sustancias	Varía con la edad
Fracción $\alpha 1$	
$\alpha 1$Antitripsina	<u>Aumento:</u> Reacciones inflamatorias
Inhibidor de proteasas, principal componente de la fracción.	<u>Disminución:</u> Enfisema pulmonar, cirrosis, desnutrición, déficit congénito
$\alpha 1$Glicoproteína ácida	<u>Aumento:</u> Gestación, reacciones inflamatorias
Reactante de fase aguda. Función desconocida	
$\alpha 1$Fetoproteína	<u>Aumento:</u> Embarazo, marcador tumoral en hepatocarcinoma
En el feto, similar a la albúmina	
Fracción $\alpha 2$	
$\alpha 2$Macroglobulina	<u>Aumento:</u> Nefropatías, diabetes, embarazo
Inhibidor de proteasas	<u>Disminución:</u> Artritis reumatoide, mieloma
Haptoglobina	<u>Aumento:</u> Estrés, inflamación aguda, neoplasias, IAM, linfoma de Hodgkin
1. Fijación hemoglobina	<u>Disminución:</u> Hepatopatías, anemia hemolítica
2. Conservación hierro	
3. Previene daño renal en hemólisis	
Ceruloplasmina	<u>Aumento:</u> Tto con anticonceptivos orales, embarazo, inflamación
Fijadora de cobre	<u>Disminución:</u> Enfermedad de Wilson
Fracción β	
Transferrina	<u>Aumento:</u> Anemia ferropénica
Transporte hierro	<u>Disminución:</u> Hepatopatías, Enfermedad renal, neoplasias, inflamación.
Hemopexina	<u>Aumento:</u> Inflamaciones agudas, neoplasias
Transporte grupo hemo	<u>Disminución:</u> Anemia hemolítica
β Lipoproteínas	<u>Aumento:</u> Nefropatías, hiperlipemias
Transporte lípidos y hormonas	<u>Disminución:</u> Inanición
C3	<u>Aumento:</u> Inflamaciones agudas,
Mecanismo de defensa humoral	<u>Disminución:</u> Infecciones, Enfermedades Autoinmunes.
Fracción γ	
Inmunoglobulinas(Ig)	<u>Aumento:</u> Enfermedades hepáticas, infecciones crónicas, lupus eritematoso, gammopatías monoclonales
Vehículo de la respuesta inmunológica	<u>Disminución:</u> Edad avanzada, niños, leucemia linfocítica crónica, mieloma de cadenas ligeras, síndrome nefrótico

Tabla 1: Principales proteínas plasmáticas, Función y Significado Clínico

Proteinogramas Séricos

En ausencia de enfermedad, el proteinograma sérico muestra un perfil electroforético caracterizado por

bandas de perfil policlonal, con una relación porcentual entre las distintas fracciones proteicas que se mantienen mas o menos constantes^{2,1}. (Figura 1)

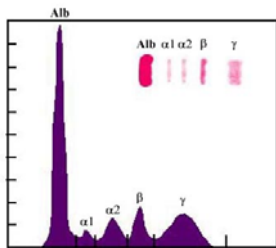


Figura 1: Perfil electroforético normal

Alteraciones en este perfil electroforético normal pueden asociarse a una gran variedad de enfermedades y/o condiciones fisiológicas. Por esta razón, el proteinograma sérico es una herramienta de relativa utilidad en la

evaluación del estado general del paciente y fundamental, en el diagnóstico y seguimiento de Gammopatías Monoclonales^{1,3,4}.

Consideraciones Preanalíticas

La realización del proteinograma requiere de la extracción de una muestra de suero, no siendo válidas las muestras de plasma, ya que presentan fibrinógeno detectable, el cual da lugar a una banda rápida en Gamma que puede ser confundida con un componente monoclonal^{2,4}. Así mismo, se recomienda evitar en lo posible la hemólisis y la lipemia de las muestras, ya que pueden generar artefactos que dificulten la interpretación del proteinograma⁵.

Se desaconseja la realización de esta técnica en aquellos pacientes que presenten procesos inflamatorios agudos que cursen con concentraciones de PCR elevadas. Este reactante de fase aguda migra en la fracción Gamma, y puede interpretarse erróneamente como un componente monoclonal^{3,4}.

Utilidad Clínica del Proteinograma Sérico en la Evaluación del Estado General del Paciente

La detección de un descenso de la fracción Alfa-1, sin que exista causa clínica asociada (insuficiencia hepatocelular, malnutrición o pérdidas proteicas), puede ser indicativa de una deficiencia genética de Alfa-1 Antitripsina (A1AT)^{1,4,6}. Aproximadamente 1 de cada 4000 individuos presenta una deficiencia homocigota de la A1AT (fenotipo ZZ) que se asocia al desarrollo de enfermedades pulmonares o hepáticas. Sin embargo, el proteinograma (preferentemente el realizado por electroforesis capilar) sólo puede considerarse como una prueba de cribado, debiendo confirmarse la sospecha clínica mediante la cuantificación y/o actividad funcional de la A1AT.

Tradicionalmente, el proteinograma sérico se considera una prueba eficaz para el seguimiento de otras patologías como son el síndrome nefrótico, la cirrosis hepática o procesos inflamatorios. Sin embargo, se cuestiona su utilidad a este respecto debido a la baja

especificidad de esta técnica y a su carácter semicuantitativo, recomendándose la determinación cuantitativa de las proteínas de interés por su mayor sensibilidad y especificidad.

El Proteinograma Sérico en la Detección de Gammopatías Monoclonales

La electroforesis de proteínas séricas se considera la técnica de elección en el diagnóstico, evaluación y monitorización del tratamiento de Gammopatías Monoclonales^{1,3,4}.

Las Gammopatías Monoclonales son un conjunto de enfermedades caracterizadas por la proliferación de un único clon de linfocitos o células plasmáticas, el cual produce una inmunoglobulina (o fragmento de ella) anormal, denominada componente monoclonal^{1,2}. Dentro de este grupo de enfermedades destacan el Mieloma múltiple, la Macroglobulinemia de Waldenström, la amiloidosis primaria, la enfermedad de las cadenas pesadas, de cadenas ligeras y las Gammopatías Monoclonales de Significado Incierto, las cuales se caracterizan por presentar una concentración sérica del componente monoclonal <30 g/L, que se mantiene estable en el tiempo, y por no tener, habitualmente, proteína Bence Jones positiva.

Las características electroforéticas de estos componentes monoclonales hacen que sean detectables en un proteinograma sérico convencional por la aparición de una banda delimitada y homogénea localizada, generalmente, en la fracción Gamma o, con menor frecuencia, en las fracciones Beta y Alfa-2. Esta técnica presenta una elevada sensibilidad, permitiendo la detección de componentes monoclonales séricos incluso a concentraciones muy bajas^{1,3}.

Por otra parte, el descenso cuantitativo de la fracción Gamma (fisiológica en el caso de los niños por la inmadurez de su sistema inmune) puede ser el único signo visible en suero de la presencia de un mieloma de cadenas ligeras^{1,2,4}. Este hallazgo no debe ser considerado por sí mismo diagnóstico, recomendándose, una vez descartadas las causas de disminución secundaria conocidas (inmunodeficiencia aislada o total, tratamiento con corticoides, inmunosupresores, quimio o radioterapia), la determinación de la proteína de Bence Jones en orina, con el fin de confirmar la sospecha diagnóstica^{3,4}.

Por todo ello, la realización de un proteinograma sérico estará indicada ante la sospecha clínica de mieloma múltiple, amiloidosis primaria, Macroglobulinemia de Waldenström u otro tipo de alteración hematológica relacionada. Así mismo, está indicado en pacientes que presenten signos o síntomas que no hayan podido ser explicados por ninguna causa

conocida, y que puedan sugerir la existencia de alguna de estas enfermedades^{3,7}.

Utilidad de la Evaluación del Perfil Oligoclonal de las Inmunoglobulinas

Un perfil electroforético oligoclonal se define como aquel en el cual la fracción Gamma presenta tres o más picos estrechos debido al aumento de algunas subclases de Inmunoglobulinas, dando lugar a múltiples bandas monoclonales. Este patrón electroforético refleja la síntesis de anticuerpos frente a varios antígenos que, si bien puede observarse entre un 1-5% de individuos sanos, también puede asociarse a las siguientes patologías^{1,4}: enfermedades autoinmunes (artritis reumatoide, síndrome de Sjögren, lupus, etc), anticuerpos frente a proteínas víricas o respuestas autoinmunes en pacientes trasplantados con terapia inmunosupresora. Para estos últimos, la detección y seguimiento regular de la evolución del perfil oligoclonal puede ser de utilidad en el diagnóstico de un síndrome linfoproliferativo, que puede manifestarse por la aparición de una Ig preponderante en el contexto del perfil oligoclonal.

En cuanto a los anticuerpos frente a proteínas víricas, son las infecciones por VIH las que con mayor frecuencia se asocian a este perfil oligoclonal. Algunos estudios señalan que su aparición puede estar relacionado con las etapas iniciales de la enfermedad, en las cuales el sistema inmune es más robusto (mayor recuento de células CD4) y se encuentra altamente estimulado por la viremia, produciendo el consecuente aumento de la respuesta de las células B⁸.

Proteinogramas Urinarios

El estudio de la proteinuria mediante métodos electroforéticos permite realizar la separación de las proteínas existentes en la orina, constituyendo una herramienta eficaz para la detección de la Proteína de Bence Jones y una ayuda en la clasificación de la proteinuria detectada.

Consideraciones Preanalíticas

La muestra más adecuada para la realización de un proteinograma urinario dependerá de la indicación clínica del mismo. Si el objeto del proteinograma es la detección de la proteína de Bence Jones, se recomienda la recogida de la segunda orina de la mañana por conservar intactas las cadenas. Por otra parte, si se pretende realizar un estudio de la función renal mediante la caracterización de la proteinuria patológica, se recomienda la recogida de orina de 24h, ya que esta muestra permite eliminar las variaciones fisiológicas en la excreción de proteínas a lo largo del día.

Utilidad Clínica del Proteinograma Urinario

Proteinuria de Bence Jones

Las proteínas de Bence Jones son cadenas ligeras monoclonales (kappa o lambda) de las Ig o sus fragmentos, producidas y secretadas por células B derivadas de un clon que prolifera de forma anómala.

Debido al tamaño molecular relativamente pequeño de las cadenas ligeras libres, éstas se filtran a través de los glomérulos y son reabsorbidas y catabolizadas por las células tubulares proximales. Cuando se supera la capacidad de reabsorción tubular se excretan en la orina (proteinuria pre-renal).

El estudio de la proteinuria de Bence Jones está indicado ante la sospecha clínica de mieloma de cadenas ligeras, amiloidosis o enfermedad por depósito de cadenas ligeras y tras el hallazgo de una hipogamma no justificada en un proteinograma sérico⁹.

En el caso de mieloma la presencia de proteína de Bence Jones aporta información importante sobre el índice de masa tumoral y permite la monitorización de la enfermedad. Por otra parte, es útil para diferenciar una gammapatía monoclonal de significado incierto de las enfermedades proliferativas malignas de células plasmáticas.

Detección y clasificación de la proteinuria: Identificación del tipo de lesión renal.

La proteinuria fisiológica se define como aquella en la que la eliminación renal proteica está comprendida entre 50 y 150 mg/24 horas, detectándose menos de 30 mg/24 h de albúmina. Concentraciones de proteínas en orina superiores a 150 mg/24 horas se consideran proteinurias patológicas. En la tabla 2 se muestran los distintos tipos.

	Tipo de Proteinuria	Características
Sin Lesión Renal	Intermitentes	Trastorno funcional benigno
	Pre-renales	Hiperproducción asociada, generalmente, a neoplasias
	Post-renales	Proteínas de la linfa o del plasma que se encuentran en orina por hemorragia del tracto urogenital, infección o exudación. Se distinguen de las proteinurias glomerulares por la ausencia de proteínas de alto PM ¹⁰
Con Lesión Renal	Glomerulares	Proteinuria >1g/24h, con albúmina predominante (>70%). La más frecuente
	Tubulares	Proteinuria <1g/24h, con albúmina minoritaria (<30%). Asociadas a otros signos de lesión tubular (leucocituria, acidosis metabólica)
	Mixtas	Proteinuria >1g/24h, con albúmina <70%. Asociadas a insuficiencia renal

Tabla 2: Clasificación de las proteinurias patológicas

El proteinograma urinario se considera de utilidad en la diferenciación del tipo de lesión renal asociada a la proteinuria, si bien, la técnica que presenta mayor

sensibilidad y especificidad a este respecto es la cuantificación de las distintas proteínas en orina.

Proteinogramas en LCR

El contenido proteico del líquido cefalorraquídeo (LCR) proviene en un 80% del plasma, a través de la barrera hematoencefálica (BHE); mientras que el 20% restante se origina por síntesis intratecal. Por el efecto de la BHE la relación proteica entre LCR y plasma es de 1/350.

El objetivo principal de la separación proteica del LCR es la detección de bandas oligoclonales.

Consideraciones Preanalíticas

Para su correcta separación por electroforesis convencional (electroforesis en gel de agarosa), es necesario realizar una preconcentración del LCR de 50 a 100 veces, con el fin de alcanzar una concentración de proteína de 25-40 g/L, así como la realización simultánea de un proteinograma en suero, necesario para una correcta interpretación del perfil electroforético obtenido. Cuando se emplea con este fin el LCR puede almacenarse hasta 3 días a 2-8°C.

Utilidad Clínica del Proteinograma en LCR

La principal utilidad clínica del proteinograma en LCR es la detección de bandas oligoclonales. La presencia de estas bandas en el LCR es un criterio diagnóstico de la esclerosis múltiple. Un 95% de los pacientes con esta enfermedad presentan altos niveles de Igs, con un patrón oligoclonal que no se altera con el tiempo. La evaluación de este perfil puede ser utilizado para el seguimiento del tratamiento. No obstante, hay que tener en cuenta que no es específico de la esclerosis múltiple, apareciendo también en el síndrome de Guillain-Barré o en la adrenoleucodistrofia.

Para la interpretación de estos patrones es necesaria la realización en paralelo del proteinograma en suero que nos permitiría diferenciar si el proceso es específico del sistema nervioso central, sistémico o sistémico con componente neurológico añadido.

La electroforesis también permite demostrar la presencia de LCR en rinorreas u otorreas identificando la transferrina- τ (desializada); ya que esta banda es indicativa de contaminación por LCR.¹¹

Conclusiones

- La principal utilidad clínica de la electroforesis de proteínas, tanto en suero como en orina, es la detección, diagnóstico, seguimiento y monitorización de Gammopatías Monoclonales.
- La realización del proteinograma sérico como técnica de rutina en la evaluación del estado general del paciente carece de utilidad. En estos casos, se recomienda la determinación de las proteínas específicas para cada caso por su mayor sensibilidad y especificidad.
- El estudio del perfil oligoclonal en LCR está indicado, fundamentalmente, para el diagnóstico de esclerosis múltiple, siendo necesaria la realización en paralelo del proteinograma sérico para su correcta interpretación.

Bibliografía

- ¹ Henry JB. El laboratorio en el diagnóstico clínico, 20ª edición. Madrid:Marbán libros, vol1 ;2005:249-262 pp
- ² Paredes FS, Díaz JP, Fernández MT. Aspectos básicos de bioquímica clínica. Madrid: Díaz de Santos;1997:45-62pp
- ³ Montes ML, Sánchez L, Ruano E, Rodríguez M. Protocolo de indicaciones e interpretación clínica de la inmunolectroforesis de las inmunoglobulinas en la práctica clínica. Medicine 2000; vol. 08 (25) 1303-1308.
- ⁴ Le Carrer D . Serum protein electrophoresis immunofixation. Ilustred interpretations. Laboratories Sebia Hispania ;2005.
- ⁵ Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, 3ª edition. Philadelphia (Pennsylvania):W.D. Saunders Company; 1995:524-526.
- ⁶ Slev PR, Williams BG, Harville TO, et al. Efficacy of the detection of the alpha1-antitrypsin "Z" deficiency variant by routine serum protein electrophoresis. Am J Clin Pathol 2008;130(4):568-572
- ⁷ Katzmann JA, Abraham RS, Dispenzieri A, et al. Diagnostic performance of quantitative κ and λ free light Caín assays in clinical practice. Clin Chem 2005;51(5):878-881
- ⁸ Kostantinopoulos PA, Dezube BJ, Pantanowitz L, et al. Protein electrophoresis and immunoglobulin análisis in HIV-infected patients. Am J Clin Pathol 2007;128(4):596-603
- ⁹ SEQC. Detección e identificación de la proteinuria de Bence Jones. Química Clínica 2003; 22 (5):392-394.
- ¹⁰Le Carrer D, Boucraut J. Electrophoresis and Immunofixation of urinary proteins. Illustred interpretations. Laboratoires SEBIA, 1999.
- ¹¹ Martínez Brú C, Llopart Alabern I. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular: Recomendaciones para el estudio de las proteínas del líquido cefalorraquídeo. Química Clínica 2002; 21(2):83-90.