

Electroforesis de proteínas en el líquido cefalorraquídeo normal de niños y adultos

González-Quevedo Monteagudo Alina,* Fernández Carriera Rebeca,†
León Ortiz Mabel M.,‡ González García Sergio,§ Irma Vicente Valdés||

RESUMEN

Antecedentes y objetivo: El fraccionamiento de las proteínas del LCR constituye una herramienta básica para el diagnóstico y seguimiento de algunas enfermedades neurológicas, para lo cual es imprescindible tener información acerca de los patrones normales. El objetivo del presente trabajo es presentar los resultados obtenidos en nuestro laboratorio para el LCR normal de niños y adultos. **Métodos:** Se empleó la electroforesis de disco en gel de poliacrilamida al 7.5% para el fraccionamiento de las proteínas del suero y LCR en 109 niños y 55 adultos de ambos sexos. Los geles fueron teñidos con azul brillante de Coomassie para la obtención del patrón electroforético de las proteínas y con reactivo NAD1 para el revelado paralelo de las bandas de haptoglobinas en el suero. **Resultados y Conclusiones:** Las concentraciones de proteínas del LCR y la fracción gama, fueron significativamente más bajas y la fracción prealbúmina más elevada en los niños en comparación con la de los adultos. La presencia de bandas de haptoglobinas en el LCR no fue indicativa de alteración de la permeabilidad de la barrera sangre-LCR, ya que se encontraron en 65.7% de los niños y en 79.6% de los adultos. La técnica empleada permitió obtener información rápida, sencilla y precisa, de utilidad como apoyo en el diagnóstico y seguimiento de algunas enfermedades del sistema nervioso y los resultados nos han servido de base para la interpretación en el laboratorio de los patrones patológicos.

Palabras claves: electroforesis en gel de poliacrilamida, líquido cefalorraquídeo, haptoglobinas, líquido cefalorraquídeo normal.

Electrophoresis of proteins in the normal cerebrospinal liquid of children and adults

ABSTRACT

Introduction and objective: Cerebrospinal (CSF) protein fractioning is a basic tool for the diagnosis and follow-up of some neurological diseases, thus information on the normal electrophoretic patterns is essential. The objective of this work is to present the results obtained in our laboratory for normal CSF from children and adults. **Methods:** 7.5% polyacrylamide gel electrophoresis was employed for serum and CSF protein fractioning in 109 children and 55 adults of both genders. Gels were stained with Coomassie Brilliant Blue to obtain the general protein pattern and with NAD1 reagent to reveal serum haptoglobin bands. **Results and conclusions:** The CSF protein concentration and the gamma fraction were lower, and the prealbumin-1 fraction was higher in children than in adults. The presence of haptoglobin bands in the CSF was not indicative of increased permeability of the blood-CSF barrier, as they were encountered in 65.7% of children and in 79.6% of adults. The technique employed allowed the acquirement of rapid and precise information, which is very useful for the diagnostic support and follow-up of some diseases of the nervous system and has been the basis for the interpretation of pathological electrophoretic patterns in our laboratory.

Key words: Polycrylamide gel electrophoresis, cerebrospinal fluid proteins, haptoglobins, normal cerebrospinal fluid.

INTRODUCCIÓN

El análisis del LCR constituye una herramienta básica para el diagnóstico y seguimiento de algunas enfermedades neurológicas. El fraccionamiento de las proteínas del LCR por diferentes métodos ha tenido una gran importancia a lo largo de las últimas décadas y aún en la actualidad, cuando algunos plantean que las técnicas imagenológicas de avanzada han desplazado el estudio de rutina del LCR.¹

La mayoría de las proteínas del LCR proceden del plasma, aunque una pequeña proporción está constituida por

proteínas específicas del sistema nervioso o sintetizado dentro del neuroeje.^{2,3} El paso de las proteínas al LCR está limitado de una forma importante por la presencia de la barrera sangre-LCR (BS-LCR) que restringe el paso de las macromoléculas, fundamentalmente en función de su peso y radio molecular.^{4,5} Existe una íntima relación del LCR con el espacio extracelular del cerebro y la médula, por lo que la composición del LCR refleja la actividad normal y la patológica del sistema nervioso central.⁶ El análisis del LCR ha ido desde la determinación del contenido total de proteínas, hasta el fraccionamiento de las mismas por técnicas electroforéticas, inmunolectroforéticas y

* Especialista de Segundo Grado en Bioquímica Clínica, Investigador Titular. Laboratorio de Neuroquímica. Instituto de Neurología y Neurocirugía. La Habana, Cuba.

† Investigador Auxiliar. Laboratorio de Neuroquímica. Instituto de Neurología y Neurocirugía. La Habana, Cuba.

‡ Especialista de 1er grado en Anestesiología. Hospital Ortopédico "Fructuoso Rodríguez". La Habana, Cuba.

§ Investigador Agregado. Laboratorio de Neuroquímica. Instituto de Neurología y Neurocirugía. La Habana, Cuba.

|| Técnica de Investigación. Laboratorio de Neuroquímica. Instituto de Neurología y Neurocirugía. La Habana, Cuba.

focalización isoelectrica, pasando por los patrones de datos integrados basados en la cuantificación de albúmina e inmunoglobulinas y de proteínas derivadas del sistema nervioso.^{1,7-9} A pesar de que la focalización isoelectrica da resultados más sensibles para la detección de bandas oligoclonales,¹⁰ la electroforesis de las proteínas del LCR constituye una primera aproximación y puede estar al alcance de todos los neurólogos en los servicios de rutina de cualquier hospital, brindando además información importante acerca del estado funcional de la barrera sangre-LCR, así como la posibilidad de valorar diferentes patrones en función de las características del fraccionamiento proteico. Los medios de soporte más utilizados en la práctica han sido los geles de agarosa y de poliacrilamida. La electroforesis en gel de poliacrilamida ha sido aplicada al LCR por diversos investigadores^{7,11,12} y ha demostrado tener ventajas significativas por su simplicidad, reproducibilidad y alta resolución, así como por no requerir de la concentración del LCR.^{8,13}

Es necesario caracterizar los patrones electroforéticos normales del LCR para estar en condiciones de detectar resultados alterados en las distintas enfermedades neurológicas. El objetivo de este trabajo es presentar los resultados de nuestro laboratorio en el LCR normal en niños y adultos, empleando la electroforesis de disco en gel de poliacrilamida.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección de sujetos para la obtención del LCR normal

El estudio se realizó en dos grupos:

1. 109 pacientes entre dos meses hasta 15 años de edad (48 niñas y 61 niños) que acudieron al Instituto de Neurología y Neurocirugía por sospecha de meningoencefalitis, pero en quienes no se demostró afectación del sistema nervioso.
2. 55 enfermos (30 hombres y 25 mujeres) con edades comprendidas entre 16 y 94 años, sometidos a cirugía ortopédica con anestesia espinal. Sin antecedentes de enfermedades neurológicas, neoplásicas, infecciosas o psiquiátricas.

Obtención de las muestras de LCR y suero:

1. Se obtuvieron 2 mL de LCR por punción lumbar no traumática, descartándose aquellos turbios, pigmentados o con presencia de hematíes después de centrifugados a 1,000 RPM durante 10 minutos, y cuando el estudio citoquímico o microbiológico demostró algún signo de alteración.

2. Se extrajeron 2 mL de sangre por punción venosa para obtener suero, la cual fue centrifugada a 2,500 RPM durante 10 minutos.
3. Las muestras de LCR y suero se conservaron a -20 °C hasta su procesamiento.

PROCESAMIENTO

Se determinó la concentración de proteínas totales (PT) del LCR por el método de Lowry,¹⁴ con base en una curva de calibración con albúmina bovina Fracción V (100 mg/dL) y los resultados se expresaron en mg/dL. El fraccionamiento de las proteínas del LCR se llevó a cabo por electroforesis de disco en gel de poliacrilamida al 7.5%, según la técnica descrita por Ornstein y Davies.¹⁵ El LCR se utilizó sin concentrar y el suero fue diluido 1:200 con solución salina fisiológica. Se aplicaron de 40-60 µg de proteínas en cada gel y se corrieron paralelamente LCR y suero de cada individuo. El suero se corrió por duplicado para realizar la tinción con azul brillante de Coomassie en uno y la tinción para la identificación de los fenotipos de haptoglobinas (Hp) en el otro.

La corrida electroforética se realizó en tubos de 70 x 7 mm, aplicando una corriente de 2.5 mAmp x tubo durante 90 minutos. En ambas cámaras electroforéticas se utilizó solución tampón de corrida TRIS 5 mM/Glicina 0.38 M, pH 8.3 y como marcador del frente de corrida se empleó azul de bromofenol. La tinción de las bandas proteicas se realizó sumergiendo los geles hasta el día siguiente en azul brillante de Coomassie R-250 al 0.25%, disuelto en metanol - ácido acético-agua (5:1:5). La decoloración de los geles se llevó a cabo con una mezcla de metanol-ácido acético-agua (5:1:5) hasta la visualización total de las bandas. Se realizó la lectura densitométrica de los geles de LCR en un densitómetro DESAGA y se calcularon los porcentajes de las fracciones proteicas.

Para la identificación de los fenotipos de Hp, el suero fue mezclado antes de la corrida electroforética con hemolizado de glóbulos lavados para formar el complejo hemoglobina-haptoglobina y así poder identificar el fenotipo de Hp por su movilidad electroforética según la tinción de NADI (α -naftol y p-fenilendiamina).¹⁶ Posteriormente las bandas de Hp observadas fueron comparadas con las bandas obtenidas en los geles de LCR y suero teñidos con azul de Coomassie.

Análisis estadístico:

Para la confección de la base de datos y el análisis estadístico se utilizó el paquete estadístico STATISTICA 6.1 para Windows. Se empleó el análisis de varianza de una vía para la comparación múltiple de medias, seguido

de la prueba de Tukey *pos hoc* en el caso de que se obtuviera significación estadística. Para la comparación de dos medias se utilizó la prueba t de Student. Se calculó el coeficiente de correlación de Pearson para establecer la correlación entre la concentración de proteínas totales y el porcentaje de prealbúmina-1 en el LCR. En todos los casos se trabajó con un nivel de significación de $p < 0.05$.

RESULTADOS

En la figura 1A se muestran las corridas electroforéticas de suero y LCR de un sujeto normal. Se observaron ocho zonas en el LCR, distribuidas del ánodo hacia el cátodo en el siguiente orden: pre-albúmina 1 (Palb1) o transtirretina, pre-albúmina 2 (Palb-2) u orosomucoide, albúmina, α -1, α -2, β -1, β -2 (tau) y γ . Al comparar los patrones electroforéticos de LCR y suero destaca que la Palb1 y la β -2 (tau) no estaban presentes en este último, característica que lo diferencia del LCR, aunque en algunos pacientes se puede observar una bandita muy tenue de Palb-1 en el suero, la cual tiene una movilidad menos anódica que en el LCR; la fracción Palb-2 no se observó en todos los LCR.

En los geles de suero que se tiñeron para la identificación de los fenotipos de Hp se pudieron identificar los tres fenotipos: Hp 1-1, Hp 2-1 y Hp 2-2 (Figura 1B). Al comparar los geles de LCR y suero teñidos con azul de Coomassie con el gel teñido para Hp, se pudo determinar que en las corridas teñidas con azul de Coomassie:

1. El fenotipo Hp 1-1 se caracterizó por una sola banda, con una movilidad electroforética entre β -2 y γ , mientras que la zona γ del LCR estaba teñida homogéneamente y no se observaba ninguna banda superpuesta.
2. El fenotipo de Hp 2-1 se caracterizó por presentar la banda de movilidad intermedia entre β -2 y γ , con banditas estrechas superpuestas sobre el fondo de la zona γ .
3. El fenotipo de Hp 2-2 se caracterizó por presentar solamente las banditas estrechas superpuestas sobre el fondo de la zona γ .

La concentración de PT del LCR en niños desde los dos meses hasta los 15 años de edad se presenta en la tabla 1. Se observaron valores más elevados de las mismas en los dos niños con dos meses de edad, sin embargo, a partir de los tres meses las diferencias entre las medias de los grupos no resultaron significativas.

Tabla 1
Proteínas totales del LCR normal en niños según la edad

Edad	n	Proteínas totales (mg/dL)
0-2 meses	2	72.1 \pm 14.3
3-12 meses	21	31.4 \pm 10.8
1-5 años	39	27.8 \pm 6.3
6-10 años	29	26.6 \pm 8.7
11-15 años	16	32.8 \pm 8.4
Total	107	29.0 \pm 8.5 *

Los resultados se expresan como $M \pm DS$. * Media sin incluir el grupo entre 0-2 meses. ANOVA: $F = 2.709$, $p = 0.049$ (Tukey N/S).

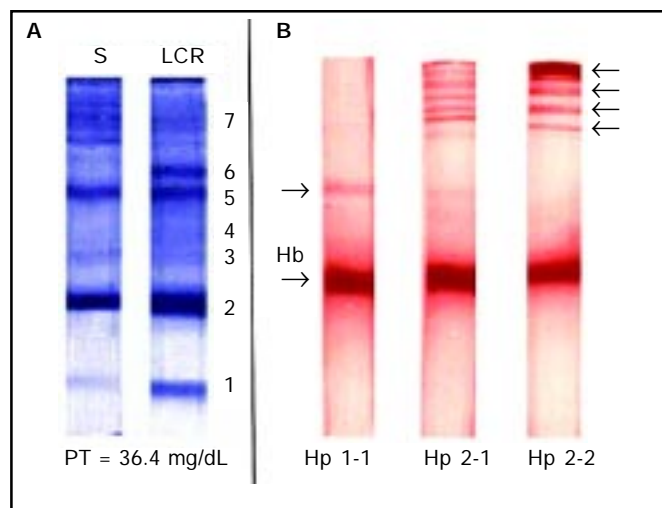


Figura 1. A. Electroforesis del LCR en gel de poliacrilamida. Tinción con Azul Brillante de Coomassie. Fracciones: 1. Prealbumina; 2. Albumina; 3. Alfa-1; 4. Alfa-2; 5. Beta-1; 6. Beta-2; 7. Gamma. B. Electroforesis del suero en gel de poliacrilamida con tinción NADI para revelar haptoglobinas. Las flechas señalan las bandas de haptoglobinas en los 3 fenotipos (Hp 1-1, Hp 2-1 y Hp 2-2). Hb: hemoglobina.

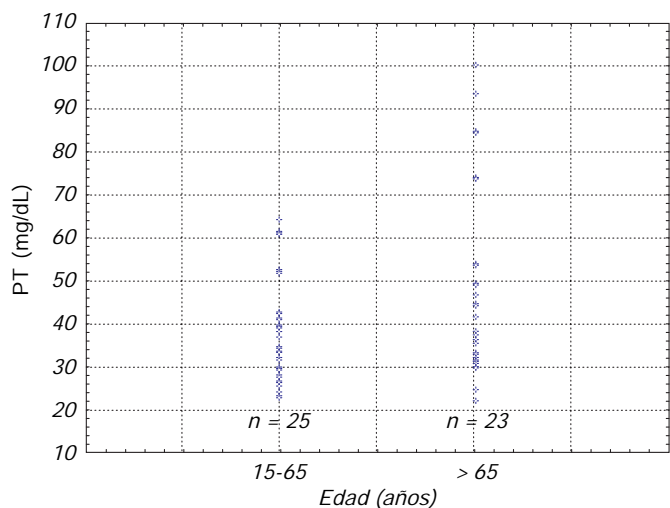


Figura 2. Concentración de proteínas en el LCR normal de adultos según edad. Mann-Whitney: $Z = -1.053$, $p = 0.29$.

En la tabla 2 se pueden observar las concentraciones de PT del LCR normal en los adultos distribuidos por grupos de edad. Aunque no se encontraron diferencias significativas entre los diferentes grupos, ni al comparar los adultos hasta 65 años con los de más de 65 años, si se observaron valores individuales incrementados en algunos pacientes del segundo grupo.

En la tabla 3 se presentan las concentraciones de PT del LCR y los porcentajes de las fracciones proteicas del mismo obtenidas por electroforesis en gel de poli(acrilamida) en niños y adultos. Se detectó una concentración media de PT significativamente más elevada en adultos con respecto a los niños ($p < 0.01$). La comparación de los porcentajes de las fracciones proteicas del LCR no mostró variaciones con la edad en la muestra de niños ni en la de adultos. Sin embargo, al comparar niños con adultos (Tabla 3), se observó un valor medio más bajo de p-alb1 ($p < 0.001$) y más alto de la fracción γ ($p < 0.01$) en el grupo de adultos.

El cálculo del coeficiente de correlación de Pearson mostró una correlación inversa ($r = -0.368$, $p = 0.0002$) entre la concentración de PT y el porcentaje de p-alb1 en niños, no así en adultos.

Tanto en niños como en adultos se observaron bandas estrechas de haptoglobinas correspondientes a los

fenotipos 2-1 o 2-2 en la fracción g del LCR (65.7 y 79.6% de los casos, respectivamente), confirmado por la tinción paralela de los geles para la detección de Hp.

DISCUSIÓN

Actualmente se discute mucho acerca de la utilidad del estudio de las proteínas del LCR para el diagnóstico de las afecciones del SNC, debido a la disponibilidad de métodos imagenológicos muy sensibles y no invasivos que brindan mucha información acerca del funcionamiento del SNC sin la necesidad de someter al paciente a una punción lumbar.

¿Han desplazado los métodos imagenológicos al análisis convencional del LCR?

Los avances en el estudio del LCR durante la última década demuestran un conocimiento mucho más amplio acerca de la función de la BS-LCR, así como de la neuroinmunología, que no puede ser sustituido por la información que brindan otros métodos complementarios. El análisis proteico del LCR tiene un papel importante para excluir o confirmar algunas condiciones neurológicas, así como para el seguimiento clínico de los pacientes.¹⁷ Recientemente un panel internacional de expertos se pronunció acerca de las pruebas necesarias para la evaluación estándar del LCR para el diagnóstico de la esclerosis múltiple.¹⁸

Hay muchas técnicas diferentes para evaluar el LCR y no existe un estándar constante entre los laboratorios para el procesamiento e información de los resultados. La electroforesis en gel de acrilamida tiene la ventaja de no necesitar concentración del LCR, como ocurre cuando se utiliza gel de agarosa o el acetato de celulosa como soporte, pero tiene el inconveniente de que las haptoglobinas corren en la zona gama lo cual introduce artefacto al evaluar la zona de las inmunoglobulinas. Es por eso que para ayudar en la interpretación del patrón electroforético, se corrieron paralelamente geles, los cuales fueron teñidos para revelar haptoglobinas.

La concentración media de PT en los niños entre tres meses y 15 años no varió en los diferentes grupos de edad, pero fue más baja que en los adultos, mientras que los dos niños menores de tres meses tuvieron valores más elevados de PT. Resultados similares han sido reportados por otros autores.¹⁹

Se han reportado concentraciones muy altas de proteínas en el LCR del cerebro en desarrollo y neonatal, lo cual inicialmente se interpretó como consecuencia de una BHE inmadura. Existen evidencias de que el mecanismo pasivo de permeabilidad de la BHE (las uniones estre-

Tabla 2

Proteínas totales del LCR normal en adultos según la edad

Edad (años)	n	PT
16-19	4	30.0 ± 10.8
20-29	8	33.0 ± 5.6
30-39	13	33.3 ± 5.6
40-49	12	40.1 ± 11.2
50-59	5	41.7 ± 7.6
60-69	6	32.5 ± 9.5
≥ 70	7	37.7 ± 4.2
Total	55	35.8 ± 8.8

Los resultados se expresan como $m \pm DS$

Tabla 3

Concentración de proteínas y fracciones electroforéticas en gel de poli(acrilamida) del LCR normal en niños y adultos

	Niños	Adultos
PT (mg/dL)	26.2 ± 8.0	35.8 ± 8.8 **
p-alb1 (%)	10.1 ± 2.4	6.6 ± 1.5 ***
p-alb2 (%)	1.8 ± 1.0	1.3 ± 0.6
Alb (%)	33.6 ± 3.3	31.1 ± 4.2
a1 (%)	6.6 ± 1.6	7.5 ± 1.2
a 2 (%)	7.3 ± 1.3	8.0 ± 1.4
b1 (%)	15.2 ± 1.7	15.6 ± 1.2
b 2 (%)	8.2 ± 1.4	9.2 ± 1.7
γ (%)	17.8 ± 2.5	20.9 ± 1.9 **

Los resultados se expresan en $M \pm DS$. t de Student: ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

chas) que excluyen las macromoléculas del cerebro adulto está presente desde las etapas más tempranas del desarrollo cerebral, tanto a nivel de las células epiteliales del plexo coroideo, como a nivel de las células endoteliales de los capilares cerebrales. Sin embargo, se ha demostrado que existe un mecanismo en las células epiteliales del plexo coroideo –pero no en las células endoteliales del cerebro– que permite la transferencia de proteínas del plasma al LCR.²⁰ Esto aparentemente se logra por un mayor número de células transportadoras de proteínas a través de un mecanismo selectivo.²¹ La efectividad de este mecanismo declina rápidamente según progresa el desarrollo del cerebro. Se observaron valores individuales elevados en sujetos mayores de 65 años, también reportado por Tibbling y col.²² Esta situación debe tenerse presente al interpretar el estudio del LCR en ancianos.

Como ha sido descrito con anterioridad, se detectaron en el LCR fracciones mucho más intensas de pre-albumina I o transtirretina que en el suero.^{7,12} El porcentaje de prealbumina-1 fue bastante más elevado en el LCR de los niños que en el de los adultos coincidiendo esto con concentraciones más bajas de proteínas en el niño. Los valores elevados de pre-albumina I (con niveles bajos de proteínas) en los adultos se asocian con un patrón electroforético degenerativo, pero en los niños se considera normal.²³ El incremento de esta fracción en el LCR se ha relacionado con defectos en la circulación y absorción del mismo, ya que se sintetiza a nivel de los plexos coroideos de los ventrículos y su concentración va disminuyendo según avanza el LCR por el neuroeje.^{24,25} La correlación inversa entre PT y prealbumina-1 que encontramos en los niños es expresión de este mecanismo, pues el gradiente de concentración de proteínas aumenta de los ventrículos al LCR lumbar, lo cual coincide con una disminución de la concentración de prealbumina I en ese mismo sentido y es precisamente en los niños donde observamos un rango más amplio de concentraciones de prealbumina I.

La fracción Tau (τ) o $\beta 2$ es característica del LCR (7) y nuestros resultados coinciden con lo reportado por otros autores. Esta fracción se distingue muy bien en la corrida electroforética del LCR, no así en el suero. Se ha planteado que el incremento de la fracción tau en el LCR puede ser un indicador de daño de la sustancia gris.²⁶

La aparición de los fenotipos de Hp 2-1 o 2-2 en el LCR ha sido considerada por algunos investigadores como indicativa de disfunción de la BHE.⁷ Takeoka y col.⁷ plantearon que sólo la Hp 1-1 fue detectada en el LCR de sujetos normales. En el presente trabajo demostramos la presencia de bandas de Hp 2-1 y 2-2 en un porcentaje elevado de muestras de LCR normal tanto en adultos como en niños (confirmado por la tinción específica para haptoglobinas realizada en paralelo). El hecho de que otros

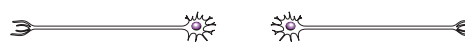
autores no las hayan detectado probablemente está relacionado con la sensibilidad del colorante utilizado para la tinción de las proteínas, pues es conocido que el Amido Negro tiene menor resolución para teñir las proteínas que el Coomassie. Chamoun y col.²⁷ encontraron Hp en sujetos normales sin ningún trastorno de la permeabilidad de la BHE, sin embargo, plantearon con reservas que las Hp son marcadores de la función de la BHE, aunque menos sensibles que las PT. Evans y Quick¹¹ también reportaron presencia de Hp en el LCR de sus controles. Nuestros resultados indican que el hallazgo de Hp en el LCR no es indicativo de alteración de la permeabilidad de la BS-LCR.

En la actualidad la utilidad del estudio del LCR y la necesidad de brindar opciones al alcance de cualquier laboratorio son indiscutibles. La electroforesis en gel de poliácridamida permite obtener información rápida, sencilla y precisa, valiosa como apoyo en el diagnóstico y seguimiento de algunas enfermedades del sistema nervioso. El presente trabajo nos ha permitido obtener los patrones electroforéticos del LCR normal y nos ha servido de base para poder interpretar en nuestro laboratorio los patrones patológicos propuestos para el LCR.^{7,11}

REFERENCIAS

1. Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. *Journal of the Neurological Sciences* 2001; 184: 101-22.
2. Fishman RA (ed.). *Cerebrospinal fluid in diseases of the nervous system*. 2nd. Ed. Philadelphia, Pennsylvania, W.B. Saunders Company; 1992.
3. Siegel GF, Agranoff BW, Albers RW, Fisher SK, Uhler MD (eds.). *Blood-Brain-Cerebrospinal Fluid Barriers*. In: *Basic Neurochemistry*. Lippincot-Raven Publishers; 1999.
4. Thompson EJ (ed.). *The CSF proteins: a biochemical approach*, Elsevier; 1988.
5. Saunders NR, Habgood MD, Dziegielewska KM. Barrier mechanisms in the brain. I. Adult brain. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1999; 26: 11-19.
6. Massaro AR, Scivoletto G, Tonali P. Cerebrospinal fluid markers in neurological diseases. *Ital J Neurol Sci* 1990; 11(6): 537-47.
7. Takeoka T, Shinohara Y, Furumi K, Mori K. Characteristic protein fractions of cerebrospinal fluid disc electrophoresis analysis. *Brain Res* 1980; 198: 147-56.
8. Alekseeva LA, Sorokina MN. Diagnostic significance of the cerebrospinal fluid protein spectrum in bacterial and viral meningitis in children. *Klin Lab Diagn* 2001; 7: 15-19.
9. Burcet J, Zabay JM, Usón M, Mulet J, Figuerola A, Viander C. Síntesis Intratecal de IgG valorada mediante diferentes fórmula: Interés del análisis multivariante para el diagnóstico de esclerosis múltiple. *Rev Neurol* 2000; 31(9): 812-16.
10. Masjuan J, Alvarez-Cermeño JC, García-Barragán N, Díaz-Sánchez M, Espiño M, Sádaba MC, et al. Clinically isolated syndromes. A new oligoclonal band test accurately predicts conversion to MS. *Neurology* 2006; 66: 576-8.
11. Evans JH, Quick DT. Polyacrylamide gel electrophoresis of spinal fluid proteins. *Arch Neurol* 1966; 14: 64-71.
12. Cerda M, Vielma J, Basauri L. Electroforesis en gel de poliácridamida de proteínas del líquido cefalorraquídeo. *Neurocirugía* 1978; 36(4): 330-3.
13. Fernández CR, González-Quevedo A, Lara RR, León OMM, González GS, Valdés IV. Electroforesis de proteínas del líquido cefalorraquídeo en pacientes con enfermedad cerebrovascular isquémica. *Rev Neurol* 2002; 35(10): 908-12.

14. Lowry OH, Rosebrugh RJ, Farr AI, Randal RJ. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-75.
15. Smith I (ed.). *Chromatographic and electrophoretic techniques*. Vol. II. *Zone electrophoresis*. Great Britain: Pitman Press; 1968.
16. Grabar P, Bartin P (eds.). *Immuno-electrophoresis*. Barcelona: Ed. Toray-Masson; 1968.
17. Seyfert S, Kunzmann V, Schwertfeger N, Koch HC, Faulstich A. Determinants of lumbar CSF protein concentration. *J Neurol* 2002; 249: 1021-6.
18. Freedman MS, Thompson EJ, Deisenhammer F, Giovannoni G, Grimsley G, Keir G, et al. Recommended Standard of Cerebrospinal Fluid Analysis in the Diagnosis of Multiple Sclerosis. *Arch Neurol* 2005; 62: 865-70.
19. Biou D, Benoist JF, Nguyen-Thi C, Huong X, Morel P, Marchand M. Cerebrospinal fluid protein concentrations in children: Age-related values in patients without disorders of the nervous system. *Clin Chem* 2000; 46(3): 399-403.
20. Saunders NR, Habgood MD, Dziegielewska KM. Barrier mechanisms in the brain, II. Immature brain. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1999; 26: 85-91.
21. Johansson PA, Dziegielewska KM, Ek CJ, Habgood MD, Liddelow SA, Potter AM, Stolp HB, Saunders NR. Blood-CSF barrier function in the rat embryo. *J Neuroscience* 2006; 24: 65-76.
22. Tibbling G, Link H, Ohman S. Principles of albumin and IgG analysis in neurological disorders. I. Establishment of reference values. *Scand J Clin Lab Invest* 1977; 37: 385-90.
23. Gerbaut L, Ponsot G (eds.). Interpretation of the protein profile of cerebrospinal fluid in children. In: *Marker proteins in Inflammation*. 1984; 2: 369-73.
24. Cerda M, Vielma J, Martínez C, Basauri L. Polyacrylamide gel electrophoresis of cerebrospinal fluid proteins in children with nontumoral hydrocephalus. *Child's Brain* 1980; 6: 140-9.
25. Weisner B, Roethig HJ. The concentration of prealbumin in the cerebrospinal fluid (CSF), indicator of CSF circulation disorders. *Eur Neurol* 1983; 22: 96-105.
26. Strand T, Alling C, Karlsson B, Karlsson I, Winblad B. Brain and plasma proteins in spinal fluid as markers for brain damage and severity of stroke. *Stroke* 1984; 15(1): 138-44.
27. Chamoun V, Zeman A, Blennow K, Fredman P, Wallin A, Keir G, et al. Haptoglobins as markers of blood-CSF barrier dysfunction: the findings in the normal CSF. *J Neurol Sci* 2001; 182(2): 117-21.



Correspondencia: Dra. Alina González-Quevedo Monteagudo
Instituto de Neurología y Neurocirugía
Calle 29 esq. D, Vedado
C. Habana 10400, Cuba
Correo electrónico: aglez@infomed.sld.cu