

DOCUMENTO

Racionalización del uso clínico de la separación electroforética de las proteínas séricas sobre acetato de celulosa

Sociedad Española de Química Clínica, Comité Científico, Comisión de Valor Semiológico de las Magnitudes Bioquímicas

D. Dot Bach, X. Fuentes Arderiu (Presidente), E. Cases Regany, E. Frey González, I. Idoate Cervantes, M. Martínez Casademont, J. Miró Balagué, J.M. Queraltó Compañó, P. Valdiguié.

Consultor: J. Gras Riera.

Documento G, Fase 3, versión 1

Introducción

La electroforesis de las proteínas séricas sobre acetato de celulosa, cuya presentación de resultados constituye el denominado proteinograma sérico, permite la separación de las mismas en cinco o seis grupos de bandas proteicas, albúmina (α_1 , α_2 , β (ó β_1 y β_2) y γ -globulinas) evidenciables tras la tinción con un colorante adecuado y cuantificables, como fracción de masa, mediante densitometría⁽¹⁾.

La solicitud del proteinograma sérico es frecuente en la mayoría de laboratorios clínicos. No obstante, en un estudio⁽²⁾, se ha observado que si se utiliza un petitorio constituido por perfiles, en el cual el proteinograma no se incluye en ninguno de ellos, sino que debe solicitarse de forma individual, se produce una disminución en la demanda superior al 70 %.

Además de no existir un método de referencia para la realización del proteinograma, la utilidad de éste como método de detección de cambios en la composición proteica del suero está en discusión, fundamentalmente porque en la actualidad existen técnicas con una mayor detectabilidad y especificidad analítica, que permiten la determinación de cada una de las proteínas del suero de forma individualizada^(3,4).

A continuación se revisa y discute la calidad analítica y el valor semiológico de proteinograma, con y sin densitometría, con el fin de racionalizar su utilización clínica.

Calidad analítica

Al revisar un programa internacional reciente de control de calidad entre laboratorios⁽⁵⁾, se aprecia que únicamente una fracción de 0,10 de los laboratorios participantes obtiene un coeficiente de variación analítico interserial aceptable (menor o igual que la mitad del coeficiente de variación biológica intraindividual^(6,7), sólo para la albúmina y las globulinas β y γ , mientras que una fracción de laboratorios igual a 0,75, no alcanza el coeficiente de variación analítico interserial deseable para ninguna fracción proteica (tabla I).

Al considerar la inexactitud en el programa de control de calidad mencionado, se observa que los coeficientes de variación de las medias obtenidas por cada uno de los 20 laboratorios participantes para cada fracción proteica, presentan una dispersión elevada en las de menor fracción de masa (tabla II).

Valor semiológico

El proteinograma sérico se utiliza para el diagnóstico o seguimiento de algunas enfermedades en las que interesa detectar variaciones en la proporción de las proteínas del suero. Hasta hace poco tiempo no existía ningún otro método que permitiera la determinación individualizada de dichas proteínas, pero actualmente el proteino-

grama puede ser reemplazado por la determinación de otras magnitudes bioquímicas con mayor sensibilidad y especificidad diagnósticas^(4,8).

El proteinograma típico del síndrome nefrótico se caracteriza por un descenso de la fracción de masa de la albúmina y de las α_1 y γ -globulinas, así como por un aumento de la fracción de masa de las α_2 y β -globulinas. Estos hallazgos sólo se observan en aquellos casos en los que la enfermedad está ya muy avanzada y, por lo tanto, la electroforesis de las proteínas ya no aporta nada nuevo al diagnóstico. Además, el proteinograma sérico típico del síndrome nefrótico puede corresponderse con el de otros estados patológicos, como son ciertas enfermedades en las que existen pérdidas proteicas (enfermedad celíaca y enteritis regional, ente otras) y también con alguna colagenosis^(3,8,9).

El proteinograma típico de la cirrosis hepática pone de manifiesto una disminución de la concentración de albúmina y un aumento de la concentración de las globulinas séricas, aunque sólo suele presentarse en la fase avanzada de la enfermedad⁽⁹⁾. La concentración sérica de albúmina es un excelente indicador de la severidad de la cirrosis⁽¹⁰⁾; su determinación es mejor realizarla por métodos químicos o inmunológicos, sin necesidad de separación del resto de proteínas séricas, ya que poseen mayor calidad analítica⁽⁵⁾ y son más practicables. La elevación de las distintas fracciones de las globulinas y el cociente entre las concentraciones, o fracciones de masa, de albúmina y globulinas séricas, realmente poseen escaso interés clínico en las hepatopatías⁽¹⁰⁾.

La disminución de la fracción de masa de las γ -globulinas que se observa en los déficits de inmunidad humoral sólo refleja los déficits de Ig G, que es el mayor componente de las γ -globulinas. Las concentraciones de Ig A y de Ig M pueden estar disminuidas sin que se aprecien cambios en el grupo de las γ -globulinas y pasar así desapercibida la inmunodeficiencia congénita más frecuente: el déficit de Ig A. La determinación de las concentraciones séricas de Ig G, Ig A e Ig M es esencial para el diagnóstico de déficits inmunitarios^(3,9,11).

El déficit de α_1 -antitripsina se podrá objetivar en el proteinograma por la práctica ausencia de la banda de las α_1 -globulinas en el caso de que el paciente sea homocigoto para el gen Z, no siendo así si se trata de un heterocigoto. Por lo tanto, el proteinograma no es una prueba diagnóstica eficaz para la detección precoz, y el consiguiente consejo genético, de los portadores de este déficit^(9,11).

Tabla II
Coefficientes de variación de las medias (CV_x) para cada fracción

Fracción	CV _x
Albúmina	5,0
α_1 -Globulinas	18,9
α_2 -Globulinas	22,7
β -Globulinas	18,2
γ -Globulinas	9,7

El proteinograma típico de la inflamación aguda se caracteriza por el incremento de la concentración de las llamadas proteínas reactivas de fase aguda, observándose un aumento de las fracciones de masa de las α_1 y α_2 -globulinas, correspondientes a α_1 -antitripsina, haptoglobina y ferroxidasa (ceruloplasmina) principalmente. Cambios similares aparecen en los procesos inflamatorios crónicos y en las infestaciones parasitarias, aunque frecuentemente también se produce un incremento difuso de la zona de las γ -globulinas. Sin embargo, la concentración sérica de proteína C reactiva, presenta una sensibilidad diagnóstica muy superior, y su determinación es la más indicada en el diagnóstico y seguimiento de los procesos inflamatorios (particularmente afecciones articulares como la artritis reumatoide)^(3,9).

La electroforesis de las proteínas del suero es imprescindible para la detección de aumentos oligo o monoclonales de determinadas inmunoglobulinas. Cuando existe una sospecha clínica de una gammapatía monoclonal, no debe utilizarse una determinación de inmunoglobulinas por métodos inmunoquímicos antes de realizar una electroforesis de las proteínas séricas, ya que los componentes monoclonales clínicamente significativos pueden no manifestarse como incrementos en la concentración de ninguna inmunoglobulina^(3,8,9,12).

Discusión

La calidad analítica de la determinación de la fracción de masa de los grupos de proteínas separados electrofóricamente sobre acetato de celulosa, no es la deseable. Además, de este método analítico, no existe un método

Tabla I
Coefficientes de variación analíticos interseriales (CV_{Ab}) correspondientes a los fractiles 0,10, 0,25 y 0,50 de 20 laboratorios participantes en un programa de control de calidad para las distintas fracciones proteicas, y coeficiente de variación biológico intraindividual (CV_{Bw}), dividido por 2, de cada una de ellas

Fracción	1/2 CV _{Bw}	CV _{Ab}		
		X _{0,10}	X _{0,25}	X _{0,50}
Albúmina	2,0	2,0	2,6	3,9
α_1 -Globulinas	5,0	9,7	11,1	12,7
α_2 -Globulinas	5,2	6,1	8,1	10,1
β -Globulinas	4,8	4,6	6,0	9,3
γ -Globulinas	5,6	5,2	6,0	7,3

de referencia ni patrones de calibración para la determinación, mediante densitometría, de la fracción de masa de cada uno de los grupos o bandas proteicas. En consecuencia, es difícil diseñar una estrategia para mejorar la calidad analítica de la electroforesis y densitometría de las proteínas séricas sobre acetato de celulosa.

Este método analítico separa las proteínas del suero en varios grupos, y no en proteínas individuales, ya que posee poca capacidad resolutoria, con lo que es imposible que se pongan de manifiesto pequeñas variaciones de las proteínas individuales al quedar enmascaradas por las demás que forman parte del mismo grupo^(4,8). No obstante, debe tenerse en cuenta que para las tradicionales indicaciones del proteinograma no interesa el conocimiento de los cinco o seis grupos de proteínas, sino que en realidad sólo interesa alguna de las proteínas individuales, por lo que la alternativa al proteinograma no es un gran perfil de proteínas determinadas por métodos inmunoquímicos, sino la determinación de una o varias proteínas.

Existen evidencias claras de que la inspección visual de la tira electroforética por un observador capacitado, y comparándola con la de un suero no patológico, puede detectar todas las alteraciones de importancia clínica. Así pues, según numerosos autores, la determinación cuantitativa de estos grupos proteicos por densitometría no aporta más información clínicamente útil que la inspección visual^(3,4,13-15), aunque algún autor considera lo contrario⁽¹⁶⁾.

Concluyendo, se puede decir que la indicación fundamental, y tal vez única, de la separación electroforética de las proteínas del suero es el diagnóstico y seguimiento de las paraproteinemias, no siendo necesario recurrir a la determinación de la fracción de masa de cada grupo proteico. Con este fin, la información que puede hacerse llegar al clínico es la imagen de la separación electroforética (la tira de acetato de celulosa) con un comentario o simplemente, según el caso, un comentario sobre la imagen electroforética observada⁽³⁾.

Bibliografía

1. Kohn J. A cellulose acetate supporting medium for zone electrophoresis. *Clin Chim Acta* 1957; 2: 297-303.
2. Badia Valls J, Farrés Quesada J, Gimeno Bosch C, Guell Miró R. Protocolos diagnósticos de análisis clínicos en la asistencia primaria. *Circular Farmacéutica* 1986; 292: 202-7.
3. Whicher JT, Spence CE. Serum protein zone electrophoresis -an omoded test? *Ann Clin Biochem* 1987; 24: 133-9.
4. Kohn J. Introduzione alla giornata de studio 28 giugno 1980. En: Aguzzi F, Massaro L, dirs. *L'elettroforesi delle proteine nella pratica clinica* Milano: Labometrics, 1980: 7-19.
5. Merz+Dade. International Chem., Report ID: QAP220 December 1987.
6. Fraser C.G. Desirable performance standards for clinical chemistry test. *Adv Clin Chem* 1983; 23: 299-339.
7. Juan-Pereira LI, Fuentes Arderiu X. Intra-individual variation of the electrophoretic serum protein fractions. *Clin Chem* 1989; 35: 1544.
8. Whitby LG, Smith AF Beckett GJ. *Lecture notes on Clinical Chemistry*. 4ª ed. Oxford: Blackwell, 1988: 100.
9. Marshall WJ. *Illustrated textbook of Clinical Chemistry*. London: Gower, 1988: 208.
10. Podolsky DK, Isselbacher KJ. Diagnostic procedures in liver disease. En: Braunwald E, Isselbacher KJ, Petersdorf RG, Wilson JD, Martin JB, Fauci AS, dirs. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 12ª ed. New York: McGraw-Hill, 1987-1317.

11. Wolf L.P. Interpretation of electrophoretic patterns of serum proteins. *Clin Lab Med* 1986; 6:454.
12. Whicher JT, Calvin J, Riches P, Warren C. The laboratory investigation of paraproteinemia. *Ann Clin Biochem* 1987; 24: 119-32.
13. Gornall AG. *Applied biochemistry of clinical disorders*. 2ª ed. Philadelphia: Lippincott, 1986: 441.
14. Kahn SN, Strony LP. Imprecision of quantification of serum protein fractions by electrophoresis on cellulose acetate. *Clin Chem* 1986; 32: 356-7.
15. Aguzzi F, Jayakar SD, Merlini G, Petrini G. Electrophoresis: cellulose acetate vs. agarose gel, visual inspection vs densitometry. *Clin Chem* 1981; 27: 1944-5.
16. Schreiber WE. More on quantifying protein fractions after electrophoresis. *Clin Chem* 1986; 32: 1432.