

PUESTA A PUNTO DE LA TÉCNICA DE ISOELECTROENFOQUE E INMUNODETECCIÓN DE INMUNOGLOBULINA A EN EL CONTEXTO ASISTENCIAL COMO APOYO AL DIAGNÓSTICO DE LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE

Elena Gálvez Salinas, María Isabel García Sánchez (1), Rafael Rodríguez Daga (2)

(1) Biobanco, Hospital Universitario Virgen Macarena, Calle Dr. Fedriani 3, Sevilla

(2) Centro Andaluz de Biología del Desarrollo, Universidad Pablo de Olavide, Ctra. de Utrera, Km 1, 41013 Sevilla

INTRODUCCIÓN

Afectados

- Mundo: **2,5 mil.**
- Europa: **700,000**
- España: **47,000**
- 1,800** casos nuevos al año



El 70% de los diagnósticos se realiza a los 20 – 40 años de edad

Tres mujeres afectadas por cada hombre



Entre 5 y 15 años menos de esperanza de vida



¿EN QUÉ CONSISTE?

El 15% de los afectados tiene un familiar con EM



Hay más de 30 síntomas asociados



Es el resultado del daño a la mielina, una materia grasa protectora que rodea las fibras nerviosas del sistema nervioso central. Cuando la mielina es dañada, interfiere en los mensajes entre el cerebro y otras partes del cuerpo



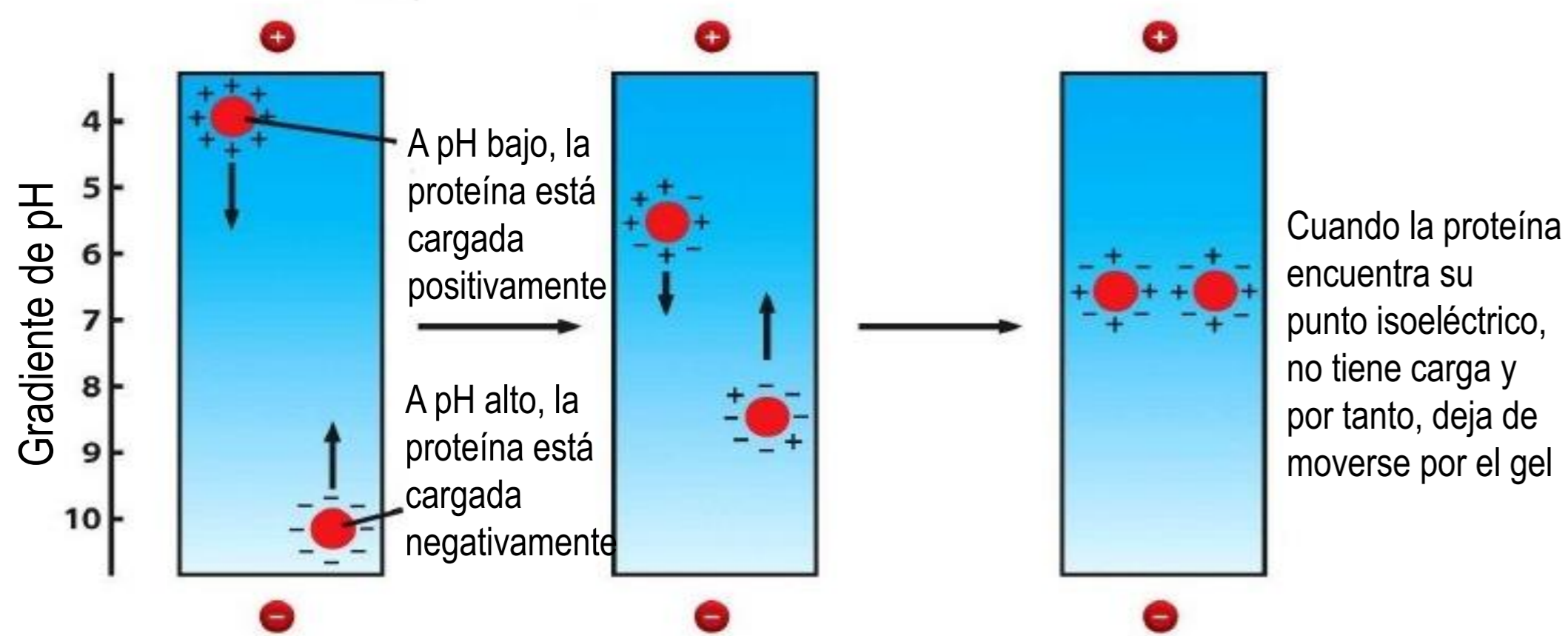
OBJETIVOS



El objetivo principal de este trabajo Fin de Máster es la puesta a punto de la técnica para la determinación de las bandas oligoclonales de IgA con el fin de incorporarla a la práctica clínica diaria como un dato bioquímico más de apoyo al diagnóstico final de los pacientes con sospecha de enfermedad desmielinizante, ampliando así la caracterización del LCR con los valores de la IgA como dato de laboratorio de interés.

MÉTODOS

ISOELECTROENFOQUE



- Todas las proteínas presentan un pH característico llamado **punto isoeléctrico** en el cual su carga neta es cero.
- En el enfoque isoeléctrico las proteínas son sometidas a una electroforesis en la cual se establece un gradiente de pH mediante una mezcla de anfolitos
- Cada proteína se mueve hasta un punto en que su carga neta es cero, es decir, hasta alcanzar la zona de pH de su punto isoeléctrico

RESULTADOS



Concentración de la muestra en LCR y suero	5 mg/L	
Volumen de muestra cargado	10 µl	
Anfolitos	2,5 ml pH 5 - 8	
Tipo de reducción	DTT	
Programa de isoelectroenfoco	Potencia	20 W
	Voltaje	1200 V
	Amperaje	150 mA
	Tiempo de recorrido electroforético	1500 V/h
Concentración anticuerpo primario	8,4 µl de anticuerpo primario en 70 ml de solución de bloqueo	
Concentración anticuerpo secundario	14 µl de anticuerpo primario en 70 ml de solución de bloqueo	

CONCLUSIONES

Un método preciso y adecuado para la separación y detección de proteínas procedentes del LCR, son los requisitos mínimos para el diagnóstico de enfermedades inflamatorias neurológicas, así como para las investigaciones de inmunoglobulinas monoclonales. Con esta puesta a punto se pretende dar nueva información al clínico que le ayude al diagnóstico de la enfermedad. La experiencia con la cohorte de casos que trata le permitirá valorar hasta qué punto este dato es de interés en el diagnóstico y en el pronóstico definitivo de la EM.

REFERENCIAS

- [1] J. Kamińska, O. M. Koper, K. Piechal, and H. Kemona, "Stwardnienie rozsiane-etiopatogeneza i możliwości diagnostyczne," *Postep. Hig Med Dosw.*, vol. 71, pp. 551–563, 2017, doi: 10.5604/01.3001.0010.3836.
- [2] B. I. Yamout and R. Alroughani, "Multiple Sclerosis," pp. 212–225, 2018.
- [3] F. Chiodi, A. Sidén, and E. Ösby, "Isoelectric focusing of monoclonal immunoglobulin G, A and M followed by detection with the avidin-biotin system," *Electrophoresis*, vol. 6, no. 3, pp. 124–128, 1985, doi: 10.1002/elps.1150060305.
- [4] K. B. Elkon, "Isoelectric focusing of human IgA and secretory proteins using thin layer agarose gels and nitrocellulose capillary blotting," *J. Immunol. Methods*, vol. 66, no. 2, pp. 313–321, 1984, doi: 10.1016/0022-1759(84)90343-0.