

## Cuarenta años de investigación del líquido cefalorraquídeo en el Instituto de Neurología y Neurocirugía

### Forty years of cerebrospinal fluid research at The Institute of Neurology and Neurosurgery

Alina González-Quevedo<sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0003-1952-4704>

Rebeca Fernández Carrera<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-5742-8337>

Marisol Peña Sánchez<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0003-1924-944X>

Sergio González García<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0002-2359-9656>

María Caridad Menéndez Saínez<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-1708-3952>

Melany Betancourt Loza<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-2009-330X>

Isabel Fernández Almirall<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-6643-9476>

<sup>1</sup>Instituto de Neurología y Neurocirugía “Prof. Dr. José Rafael Estrada González”. La Habana, Cuba.

<sup>2</sup>Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. Facultad de Ciencias Médicas “Miguel Enríquez”. La Habana, Cuba.

\*Autor para la correspondencia: [aglez@infomed.sld.cu](mailto:aglez@infomed.sld.cu)

---

#### RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo describir cómo se desarrolló la introducción de diversas técnicas para el estudio del líquido cefalorraquídeo y los principales resultados obtenidos en la investigación clínica en el Instituto de Neurología y Neurocirugía hasta la actualidad. La introducción de técnicas específicas para la investigación del líquido cefalorraquídeo comenzó al inicio de la década de 1980, con el estudio inmunológico del líquido cefalorraquídeo. Se incluyeron técnicas para la determinación de proteínas totales, electroforesis de disco en gel de poliacrilamida, cuantificación de albúmina e inmunoglobulinas G, M y A en líquido cefalorraquídeo y suero, cálculo de cocientes dimensionales

(Q albúmina e índice IgG) para la evaluación del estado funcional de la barrera sangre-líquido cefalorraquídeo y la síntesis intratecal de IgG, respectivamente. Se evaluó también la actividad de las metaloproteinasas 2 y 9 en líquido cefalorraquídeo. Recientemente, se introdujo la focalización isoelectrica del LCR para la detección más sensible de bandas oligoclonales de IgG. Todo ello permitió el empleo de estas técnicas para el diagnóstico e investigación de diversas enfermedades neurológicas con componente neuroinflamatorio en nuestro instituto y en los servicios de Neurología de todo el país, así como para la evaluación de algunos ensayos clínicos en enfermedades del sistema nervioso con moléculas cubanas. Por otro lado, con la investigación de sustancias neurotransmisoras y sus metabolitos se obtuvo información de utilidad en la investigación fisiopatológica de algunas enfermedades neurodegenerativas y en la neuropatía epidémica que sobrevino a principios de la década de los noventa. Finalmente, se realizaron investigaciones de importancia para la obtención de rangos y patrones normales en líquido cefalorraquídeo de los diferentes biomarcadores estudiados en nuestro instituto.

**Palabras clave:** líquido cefalorraquídeo; síntesis intratecal de IgG; barrera sangre-líquido cefalorraquídeo; bandas oligoclonales; desórdenes neurológicos.

## ABSTRACT

The article aims to describe how the introduction of various techniques for the study of cerebrospinal fluid was developed and the main results in clinical research at the Institute of Neurology and Neurosurgery to date. The introduction of specific techniques for the investigation of cerebrospinal fluid began in the early 1980s, with the immunological study of cerebrospinal fluid. Techniques were included for the determination of total proteins, polyacrylamide gel electrophoresis, quantification of albumin and immunoglobulins G, M and A in cerebrospinal fluid and serum, calculation of dimensional quotients (Q albumin and IgG index) for the evaluation of the functional state of the blood-cerebrospinal fluid barrier and intrathecal IgG synthesis, respectively. The activity of metalloproteinases 2 and 9 in cerebrospinal fluid was also assessed. Recently, isoelectric focusing of CSF was introduced for the more sensitive

detection of IgG oligoclonal bands. All this made possible the use of these techniques for the diagnosis and investigation of various neurological diseases with a neuroinflammatory component in our institute and in Neurology services throughout the country, as well as for the evaluation of some clinical trials in diseases of the nervous system with Cuban molecules. On the other hand, with the investigation of neurotransmitter substances and their metabolites, useful information was obtained in the pathophysiological investigation of some neurodegenerative diseases and in the epidemic neuropathy that occurred in the early 1990s. Finally, important research was carried out to obtain normal ranges and patterns in cerebrospinal fluid of the different biomarkers studied in our institute.

**Keywords:** cerebrospinal fluid; intrathecal synthesis of IgG; blood-cerebrospinal fluid barrier; oligoclonal bands; neurological disorders.

Recibido: 06/06/2021

Aprobado: 19/07/2021

---

## Introducción

El análisis del líquido ceforraquídeo (LCR) constituye una herramienta básica para el diagnóstico, seguimiento e investigación de las enfermedades del sistema nervioso. Durante los últimos veinte años, la introducción de técnicas avanzadas no invasivas de neuroimagenología, así como de metodologías altamente sensibles y específicas para la determinación en sangre de proteínas cerebro-específicas, han desplazado el análisis convencional del LCR para algunas enfermedades neurológicas. No obstante, el análisis bioquímico del LCR continúa teniendo un gran impacto en el diagnóstico y evaluación del pronóstico en diversas enfermedades neurológicas, así como en la investigación de la fisiopatología de enfermedades neurodegenerativas.<sup>(1)</sup>

El líquido ceforraquídeo contribuye a las necesidades metabólicas del cerebro; sirve como medio para el intercambio de nutrientes, productos de desechos, así

como para la señalización entre el tejido nervioso y la sangre, a través de la barrera sangre-LCR (BS-LCR).<sup>(2)</sup> Debido al estrecho contacto del LCR con el fluido extracelular del cerebro, su composición refleja directamente la composición molecular y el metabolismo cerebral. No obstante, su composición también es muy dependiente de la sangre, por lo que deben existir métodos que nos permitan conocer si las alteraciones encontradas en su composición provienen del sistema nervioso o de la periferia. La complejidad de la composición del LCR depende de las diferencias en la fisiología de la barrera sangre-LCR, que permite que las moléculas y hasta células pasen de la sangre al LCR a través de sistemas de transporte activo y pasivo, con diferentes grados de selectividad para los diversos componentes a trasladar.<sup>(3)</sup>

Los estudios de la composición proteica del LCR han sido los más utilizados desde mediados del siglo pasado para el diagnóstico e investigación de las enfermedades neurológicas. Estos van desde el simple estudio citoquímico, que determina la composición celular y la concentración de proteínas totales, el fraccionamiento de las proteínas por métodos electroforéticos, hasta los métodos más sofisticados para la determinación de proteínas específicas en el LCR.

En el Instituto de Neurología y Neurocirugía “Prof. Dr. José Rafael Estrada González” (INN) se comenzaron a introducir los estudios especializados del LCR para su utilización en la clínica neurológica desde finales de 1979, con el fraccionamiento de las proteínas del LCR. Estos fueron los primeros estudios inmunológicos del LCR realizados en el país, los cuales quedaron asentados en el libro de registro del laboratorio de Neuroquímica desde finales de 1979 (Fig. 1). Antes de esto se realizaba solamente el estudio citoquímico del LCR, que incluía proteínas totales, reacción de Pandy, glucosa y conteo celular.



- Las tesis desarrolladas en el laboratorio con la temática del LCR: 2 de técnico medio (1978 y 1985), 3 de diploma - licenciaturas en Farmacia, Bioquímica y Biología (1989, 1998 y 2015, respectivamente), 5 tesis de terminación de residencia (1990, 2005, 2015, 2016 y 2019), una tesis de maestría (2008) y una de doctorado (2003).

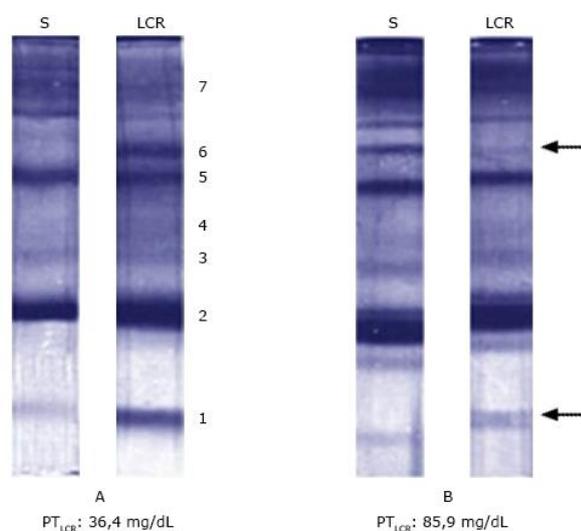
## Estudio inmunológico del LCR

El análisis de inmunoglobulinas, de proteínas específicas y la citología del LCR pueden brindar información valiosa para el diagnóstico de diversas enfermedades neurológicas, especialmente en aquellas donde se sospecha una etiología infecciosa o autoinmune.<sup>(1)</sup>

El germen del estudio inmunológico del LCR en el INN incluyó la introducción del fraccionamiento electroforético de las proteínas del LCR. La electroforesis de proteínas en LCR permite visualizar y cuantificar patrones de proteínas en muestras paralelas de LCR/suero, que pueden reflejar la presencia de un estado inflamatorio, y brinda información acerca de la homeostasis del sistema nervioso a través del estado de la permeabilidad de la BS-LCR.

Las primeras separaciones electroforéticas se realizaron sobre un soporte de acetato de celulosa, con tinción de nigrosina, que requería la concentración del LCR debido al bajo contenido de proteínas. Posteriormente, se adaptó una técnica utilizada en el laboratorio para el fraccionamiento de proteínas solubles del músculo por electroforesis de disco en gel de poliacrilamida,<sup>(4)</sup> en combinación con el método original descrito por Ornstein y Davies en LCR, que no requería concentración.<sup>(5)</sup> La separación electroforética de proteínas en LCR y suero se realizó con el empleo, como soporte, de geles de poliacrilamida a 7,5 % (PAGE-LCR), seguido de tinción de las fracciones proteicas con Azul Brillante de Coomassie R-250.<sup>(6,7)</sup> Como resultado se logró la visualización y cuantificación de siete fracciones proteicas (Fig. 2), clasificadas en cinco patrones electroforéticos:<sup>(2)</sup>

- Patrón electroforético normal
- Daño de barrera sangre-LCR (BS-LCR)
- Patrón ganmaglobulínico con o sin bandas oligoclonales (BOC)
- Daño de BS-LCR y BOC
- Patrón degenerativo



Fuente: Archivo del Laboratorio de Neurobioquímica, del INN.

**Fig. 2** - Electroforesis de disco de proteínas de suero/LCR en gel de poliacrilamida. 1: prealbumina o transtirretina, 2: albúmina, 3:  $\alpha_1$ , 4:  $\alpha_2$ , 5:  $\beta_1$ , 6:  $\beta_2$ , 7:  $\gamma$ . A) LCR normal. B) LCR con disfunción de la barrera S-LCR.

La aplicación de las muestras de LCR para la separación electroforética requería cuantificar con exactitud las proteínas totales, para lo cual se utilizó una modificación de la técnica de *Lowry* y otros,<sup>(8)</sup> con lo cual se sustituyó el método turbidimétrico con ácido sulfosalicílico que se utilizaba en aquel momento en el Laboratorio Clínico para la determinación de proteínas totales, por una técnica más sensible.

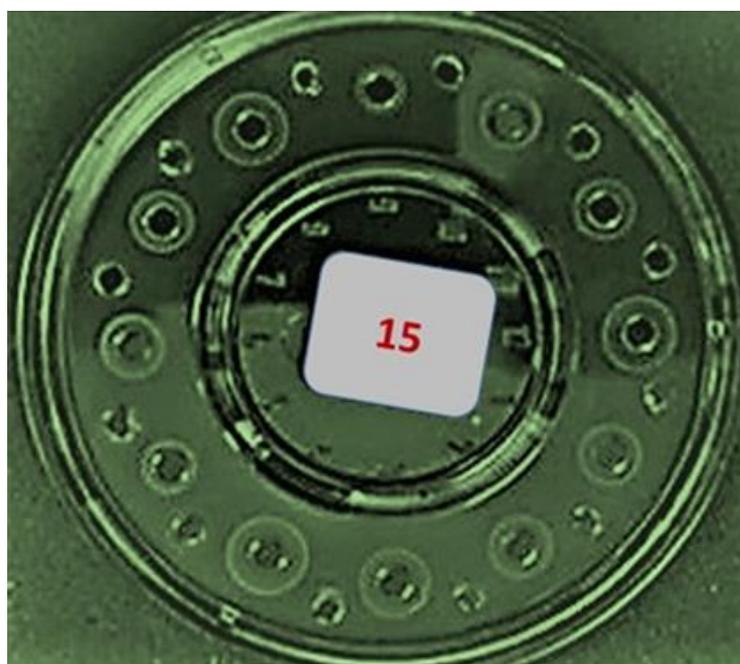
El análisis proteico del LCR a través de la electroforesis de disco de las proteínas en gel de poliacrilamida brinda información importante acerca del estado

funcional de la BS-LCR y la síntesis intratecal (SIT) de las inmunoglobulinas; ofrece ventajas significativas por su simplicidad, reproducibilidad y alta resolución.

A partir de 1981, con la incorporación del Laboratorio de Neuroinmunología, se comenzaron a montar técnicas inmunológicas cualitativas en suero y LCR para la identificación de alteraciones de IgG, IgA e IgM por inmunoelectroforesis de ambos fluidos en gel de agarosa, seguida de inmunofijación con antisueros antitotal, anti-IgG, anti-IgA y anti-IgM. Con estas técnicas fue posible evaluar el estado inmunológico del LCR en el síndrome de Guillain Barré, miastenia gravis, epilepsia, entre otras enfermedades neurológicas.<sup>(9,10,11,12)</sup>

Aunque la electroforesis e inmunoelectroforesis aportan información de interés para la práctica clínica, estas presentan las limitaciones propias de las técnicas cualitativas, por lo que ulteriormente se complementó la información con la introducción de métodos cuantitativos, simples y accesibles.

Entre los métodos cuantitativos utilizados se incluyó la cuantificación de albúmina, IgG, IgA e IgM en suero y LCR por inmunodifusión radial simple, que se basa en la difusión del antígeno a través de un soporte de agarosa que contiene el antisuero específico (Fig. 3).



*Fuente:* Archivo del Laboratorio de Neurobioquímica del INN.

**Fig. 3** - Placa de inmunodifusión radial simple preparada en el laboratorio para cuantificación de albúmina e IgG en LCR y suero.

Con las determinaciones de las concentraciones de albúmina e inmunoglobulinas en LCR y suero, se introdujo el cálculo del cociente Q-albúmina (Qalb) y el índice de IgG. Ambos son utilizados extensamente en los estudios clínicos y de investigación en humanos: el Qalb, como marcador del estado funcional de la BS-LCR, con valores normales dependientes de la edad,<sup>(13)</sup> y el índice IgG, como reflejo de un proceso de SIT de dicha inmunoglobulina en el sistema nervioso central (SNC), con valores normales por debajo de 0,7.<sup>(14)</sup>

$$Qalb = \text{Alb}_{\text{LCR}} / \text{Alb}_{\text{suero}}$$

$$\text{Índice IgG} = (\text{Alb}_{\text{LCR}} / \text{Alb}_{\text{suero}}) / (\text{IgG}_{\text{LCR}} / \text{IgG}_{\text{suero}})$$

Con el montaje de todas estas técnicas, a partir de 1982 se introdujo en el INN y por primera vez en el país, el estudio inmunológico completo del LCR, lo cual permitió brindar apoyo asistencial para el diagnóstico neurológico no solamente al INN, sino también a todas las provincias del país que lo solicitaban. Hay una gran experiencia acumulada desde entonces en el estudio inmunológico del LCR (más de 11 500 pacientes investigados hasta la fecha). Se han aplicado en el diagnóstico e investigación de enfermedades del sistema nervioso central y periférico, lo cual ha permitido definir patrones diferenciales de utilidad diagnóstica e investigativa.<sup>(2)</sup>

Entre los principales resultados obtenidos se puede mencionar el predominio del incremento de la permeabilidad de la BS-LCR en el Síndrome de Guillain Barré, que se asoció a la severidad neurológica de la enfermedad, así como a sus días de evolución;<sup>(15)</sup> la alta frecuencia de BOC específicas del LCR y síntesis intratecal de IgG en la esclerosis múltiple;<sup>(16,17)</sup> la mayor frecuencia de daño de la BS-LCR y menor de BOC en la neuromielitis óptica y polineuropatía crónica inflamatoria desmielinizante idiopática (CIDP).<sup>(18,19)</sup> Los principales hallazgos en enfermedades desmielinizantes fueron presentados en el VIII Congreso Latinoamericano de Esclerosis Múltiple (LACTRIMS 2014) celebrado en Perú.<sup>(20)</sup>

El estudio inmunológico del LCR en la investigación de la neuropatía epidémica que azotó a nuestro país a principios de la década de los noventa, permitió

demostrar alteración de la permeabilidad de la BS-LCR en la tercera parte de los pacientes, asociada a una mayor severidad de la afectación neurológica, pero no con la severidad del daño oftalmológico.<sup>(21,22,23,24)</sup> Hasta donde se conoce, esta fue la primera descripción en la literatura acerca de las alteraciones del LCR en pacientes con mieloneuropatías nutricionales o tropicales.

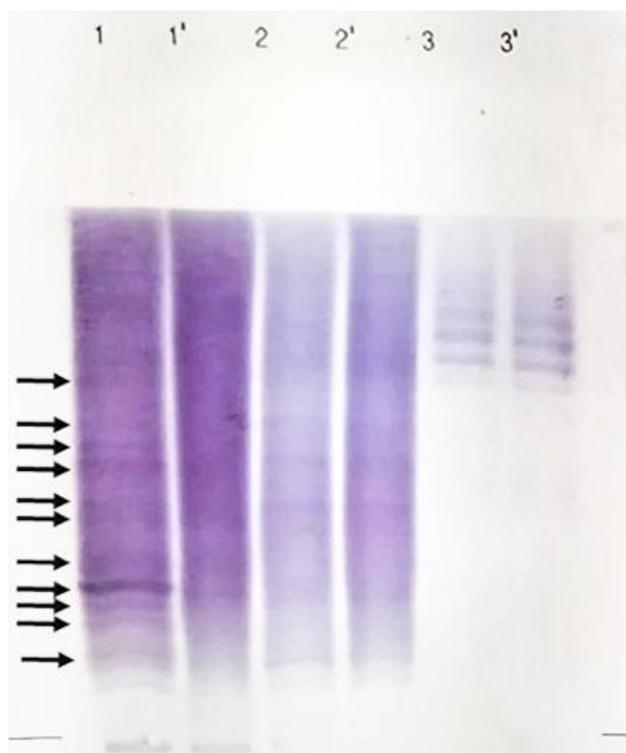
Se encontraron patrones diferenciales entre los pacientes con ictus isquémico,<sup>(25)</sup> en pacientes con miastenia gravis, en epilepsia y en diferentes tipos de demencia.<sup>(10,11,26)</sup>

Estos métodos también se han empleado como parámetros de laboratorio para evaluar la efectividad de fármacos en ensayos clínicos en esclerosis múltiple (EM), específicamente en el tratamiento con Interferón alfa-1b recombinante y con Biomodulina-T.<sup>(27,28)</sup> De igual manera, se aplicaron en la evaluación del ensayo clínico con Interferón alfa-1b recombinante en la esquizofrenia paranoide.<sup>(29)</sup>

Debido a la dificultad para la adquisición de los inmunodiagnosticadores comerciales, se realizaron otras adaptaciones de técnicas para las cuantificaciones de albúmina e IgG en LCR. Entre estas se puede señalar la evaluación del antisuero IgG humano obtenido en carnero por los laboratorios Labex (Santiago de Cuba), para la cuantificación de la IgG en suero y LCR.<sup>(30,31)</sup>

En los últimos años se trabajó en la adaptación de los estuches de UMELISA Microalbuminuria (Tecnosuma, Cuba) para la cuantificación de albúmina en LCR y de los estuches para la determinación de IgG en suero (CPM Scientifica Technologie Biomediche, Italia) para la cuantificación de IgG en LCR.<sup>(32)</sup>

A partir de 2015, se logró la introducción de la focalización isoelectrica del LCR con inmunofijación de IgG para el análisis de las BOC en el INN, con la compra de un sistema automatizado de electroforesis Sebia<sup>®</sup>Hydrasys (SEBIA, Francia) (Fig. 4).



Fuente: Archivo del Laboratorio de Neurobioquímica del INN.

**Fig. 4** - Focalización isoeléctrica de LCR/suero en geles HYDRAGEL CSF (Sebia).  
1 y 1' : Paciente con esclerosis múltiple. Se observan numerosas BOC de IgG en LCR (1) que no están presentes en el suero (1').

Aunque la electroforesis en gel de poliacrilamida aporta información acerca de la presencia de BOC en el LCR, la sensibilidad de esta técnica es menor que la focalización isoeléctrica. Por ejemplo, en la EM definida se ha establecido que en poblaciones caucásicas las BOC están presentes en 90 % - 95 % de los pacientes, mientras que con el empleo de electroforesis de zona (donde se incluye la electroforesis en gel de poliacrilamida), se obtiene entre 60 % - 70 % de positividad. Con el objetivo de homogenizar los resultados para el diagnóstico y la investigación, en 2005 se emitió un documento de consenso para el estudio del LCR en la EM, donde se estableció que el análisis más informativo era la evaluación cualitativa del LCR, con la utilización de la focalización isoeléctrica con inmunofijación de IgG.<sup>(33)</sup> A pesar de que no existe un biomarcador específico para el diagnóstico de la EM, la presencia de BOC de IgG en el LCR se ha reconocido como el biomarcador más informativo después de la imagen por resonancia magnética (IRM).<sup>(34)</sup>

Los primeros resultados obtenidos con esta tecnología en 41 pacientes neurológicos en el INN (14 con EM) fueron presentados en el IX Congreso Latinoamericano de Esclerosis Múltiple (LACTRIMS 2016) en Buenos Aires, Argentina.<sup>(35)</sup> La mayor frecuencia de BOC se observó en aquellos con el diagnóstico de EM (78,6 %). En los pacientes con otras enfermedades desmielinizantes se apreció en solo 13,6 % y en el grupo con otras enfermedades neurológicas no se detectaron BOC. Más recientemente, se evaluó una muestra mayor de pacientes con EM atendidos en el INN (47 con EM definida y 6 con CIS - síndrome clínicamente aislado). Se comprobó una prevalencia de BOC de 87 % en la EM definida y de 67 % en el CIS.<sup>(36)</sup> Existen controversias acerca de una menor prevalencia de BOC en pacientes con EM en países ubicados geográficamente en latitudes más bajas.<sup>(37,38)</sup> Los resultados obtenidos en esta cohorte de pacientes sugieren que la prevalencia en Cuba, aunque ligeramente menor, pudiera ser similar a la reportada en poblaciones caucásicas. La comparación entre los países latinoamericanos reveló una posible asociación con la latitud, pero esto debe ser investigado con más profundidad en el futuro, ya que existen pocos reportes que documentan la prevalencia de BOC en la región.

### Actividad de metaloproteinasas en LCR

Las metaloproteinasas (MMP) son proteasas que colectivamente pueden degradar los componentes proteicos de la matriz extracelular. En el SNC se ha demostrado que participan en la regulación y en la ruptura de la barrera hematoencefálica al degradar proteínas de la lámina basal y de las uniones estrechas, pero también en la remodelación vascular después del daño cerebral. En la EM y el ictus isquémico juegan un rol importante en las etapas iniciales del daño vascular desencadenado por mecanismos inmunológicos e hipóxicos, respectivamente.<sup>(39)</sup> A mediados de la década de los noventa se estableció una colaboración con el Prof. Gary A. Rosenberg, de la Universidad de Nuevo México en EE.UU., el cual entrenó al personal del laboratorio y donó los reactivos necesarios para el montaje de la actividad de MMP en el LCR. Dicha actividad fue determinada electroforéticamente por zimografía inversa en geles de poliacrilamida a 10 %,

los cuales polimerizaron con gelatina, como sustrato para la reacción de las MMP.<sup>(40)</sup>

Se desarrolló un proyecto de investigación con el objetivo de evaluar el estatus de las MMP en la EM, para lo cual se evaluaron 31 pacientes. Como resultado se demostró la visualización de la banda de MMP-9 en 61,3 % de los casos, mientras que en los controles no estuvo presente. No se observó asociación con el fenotipo clínico de la enfermedad, ni con la presencia de daño de la BS-LCR, pero sí con la presencia de BOC en el LCR. Por otro lado, el tratamiento inmunomodulador redujo la frecuencia de aparición de la MMP-9 en el LCR. En base a los resultados obtenidos, se sugirió la participación de la MMP-9 en los mecanismos inmunopatológicos de la EM y su posible utilidad como marcador en el seguimiento de esta enfermedad.<sup>(41)</sup>

También se realizó un estudio preliminar con una pequeña muestra de pacientes con ictus isquémico, en la cual se detectó un incremento de MMP-9 en el LCR con respecto al control, sin cambios en el contenido de MMP-2.<sup>(1)</sup> Se ha demostrado que después de la isquemia focal, se incrementa la expresión de MMP-9 tempranamente y juega un rol activo en el daño cerebral secundario.<sup>(42)</sup>

## Estudios de neurotransmisores monoaminérgicos y aminoacidérgicos en el LCR

Los desórdenes de los neurotransmisores monoaminérgicos constituyen un grupo heterogéneo de síndromes neurológicos que se caracterizan por defectos primarios y secundarios en la biosíntesis, degradación o transporte de dopamina, noradrenalina, adrenalina y serotonina. La demostración de estos desequilibrios permite establecer estrategias terapéuticas que se enfoquen en la corrección de la deficiencia a través de reposición de precursores monoaminérgicos, empleo de análogos, inhibición de la degradación y adición de cofactores enzimáticos para promover la producción de monoaminas.<sup>(43)</sup>

Otro grupo de neurotransmisores en el SNC está constituido por los aminoácidos. El glutamato, ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) y glicina son los principales aminoácidos con función neurotransmisora; los dos primeros median,

respectivamente, la excitación e inhibición fundamentalmente en el cerebro, y el último a nivel del tallo cerebral y la médula espinal.<sup>(44)</sup>

Finalizando la década de los ochenta, se montaron en el INN por primera vez las técnicas para la determinación de metabolitos de neurotransmisores monoaminérgicos en el LCR. Esto se pudo realizar después del entrenamiento de un investigador del Departamento de Neuroquímica del INN en la Universidad de British Columbia (Vancouver, Canadá), bajo la tutoría del Prof. Thomas L. Perry, neurólogo y profesor de esta universidad y un experto internacionalmente reconocido en el campo del estudio de aminoácidos y neurotransmisores en enfermedades neuropsiquiátricas y neurodegenerativas. En el laboratorio del Prof. Perry se procesaron las muestras de LCR y suero de pacientes con ataxias espinocerebelosas de la provincia de Holguín. En el LCR se encontró una disminución de etanolamina y no se detectaron alteraciones de los niveles de aminoácidos excitatorios (aspartato y glutamato) que pudieran sugerir la presencia de excitotoxicidad. Las concentraciones medias de los metabolitos de la dopamina en el LCR estaban significativamente disminuidas en los pacientes (ácido 3,4-dihidroxifenilacético - DOPAC y ácido homovanílico -HVA), lo cual se correspondía con la depleción neuronal dopaminérgica observada en la *sustancia nigra* de los pacientes autopsiados.<sup>(45)</sup>

Posteriormente, se introdujeron en el INN los estudios de neurotransmisores monoaminérgicos en LCR: 3-metoxi-4-hidroxifeniletiglicol (MHPG-metabolito de la noradrenalina), ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA, metabolito de la serotonina), DOPAC y HVA por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés) con detección electroquímica.

Se cuantificaron las concentraciones de MHPG, DOPAC, HVA y 5-HIAA en LCR normal, en pacientes con enfermedad de Parkinson virgen de tratamiento y en ataxias espinocerebelosas dominantes y recesivas.<sup>(46)</sup> En los pacientes con enfermedad de Parkinson las concentraciones de metabolitos en el LCR no se diferenciaron del control, aunque la relación 5-HIAA/HVA estaba incrementada. Los pacientes con ataxias espinocerebelosas, todos residentes en Ciudad de La Habana, difirieron fundamentalmente en la concentración de HVA en el LCR: disminuida en los pacientes con herencia dominante, lo que coincide con los

hallazgos neuroquímicos anteriormente referidos,<sup>(45)</sup> y aumentada en la herencia recesiva, lo cual podía sugerir la existencia de diferentes mecanismos fisiopatológicos con relación al metabolismo de las monoaminas. Dos años después, resultados muy similares fueron reportados por *Higgins* y otros en ataxias autosómicas dominantes.<sup>(47)</sup>

También fueron investigados los metabolitos monoaminérgicos en pacientes con demencia tipo Alzheimer y mixta en colaboración con el Centro Internacional de Restauración Neurológica (CIREN), en los cuales se evidenció disminución de MHPG, HVA y 5-HIAA; fue más pronunciada la disminución de HVA en la forma mixta, lo cual coincidía con mayores alteraciones motoras.<sup>(48,49)</sup> En pacientes esquizofrénicos se observó un desequilibrio en los sistemas neurotransmisores monoaminérgicos dado por un tono dopaminérgico aumentado, disminución de la relación 5-HIAA/ HVA y reducción de la actividad noradrenérgica, más acentuada esta última en aquellos con síntomas negativos y en malos respondedores al tratamiento neuroléptico.<sup>(50)</sup>

A partir de 1997 y en colaboración con el Laboratorio de Neuroquímica del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, se incursionó en la investigación de aminoácidos neurotransmisores en pacientes con la neuropatía epidémica acaecida en Cuba a principios de la década de los noventa.

Se determinaron las concentraciones de 22 aminoácidos en suero y LCR de pacientes con neuropatía óptica epidémica por HPLC con detección fluorescente y se reportó incremento significativo de ácido glutámico y ácido aspártico en LCR. La presencia de un exceso de aminoácidos excitatorios en el LCR de estos pacientes sugería que mecanismos neurotóxicos relacionados con excitotoxicidad estuvieran involucrados en la fisiopatología de la enfermedad y apoyaban los resultados de estudios neurocognitivos realizados que indicaban que no solamente estaba afectado el sistema nervioso periférico, sino también el sistema nervioso central.<sup>(51,52,53)</sup>

También se investigó la participación del metanol y los folatos en la neuropatía óptica epidémica, dado el reporte de la presencia de pequeñas cantidades de metanol en muestras de ron de destilación casera tomadas en la provincia de Pinar del Río. Para esto se cuantificaron, en colaboración con la Universidad

de Wisconsin-Milwaukee, las concentraciones de formato (metabolito del metanol) y de folatos (cofactores indispensables en los mecanismos de detoxificación del metanol) en LCR y suero de pacientes de esa región. En el organismo, el metanol se convierte en ácido fórmico, y es la acumulación de este lo que interfiere directamente con el transporte de electrones en la cadena respiratoria. El análisis de LCR y suero de 62 pacientes con neuropatía óptica bilateral en la provincia Pinar del Río evidenció una marcada deficiencia de folatos en más de 50 % de los casos y una elevación de formato en aproximadamente 25 %, que se asoció con la severidad de la neuropatía óptica. Se concluyó que un estado de deficiencia crónica de ácido fólico, conjuntamente con la ingestión de pequeñas cantidades de metanol en las bebidas alcohólicas podría comprometer la función mitocondrial, al facilitar en algunos pacientes la afectación del nervio óptico.<sup>(53,54,55)</sup>

### Investigación del LCR normal

La obtención de LCR normal como punto de comparación para la investigación de biomarcadores ha constituido un reto a lo largo de varias décadas ya que, por incuestionables estándares éticos, la toma de LCR de un sujeto sano no es un procedimiento admitido, por considerarse un proceder invasivo que conlleva ciertos riesgos. Internacionalmente, se ha reconocido que el desarrollo de biobancos de LCR para la obtención de muestras bien caracterizadas, colectadas de manera óptima y adecuadamente almacenadas, es crucial para la investigación de biomarcadores. La mayoría de los estudios han incluido grupos controles a partir de pacientes con aparente sintomatología neurológica en los cuales se ha excluido retrospectivamente una afectación del sistema nervioso, grupos muy pequeños de voluntarios sanos, pacientes con enfermedades neurológicas no inflamatorias (en el caso de biomarcadores inflamatorios) y pacientes sometidos a anestesia raquídea para procedimientos quirúrgicos, entre otros.<sup>(56)</sup>

El Centro Médico Universitario de Groningen, en los Países Bajos, instauró el Biobanco Anestésico de LCR en 2016, con el objetivo de coleccionar y almacenar LCR, que facilitaría la futura investigación neurocientífica con diferentes biomarcadores. En el biobanco se incluyen muestras de LCR con el suero

correspondiente de pacientes que reciben anestesia raquídea para ser sometidos a cirugía electiva.<sup>(57)</sup>

Desde los primeros momentos, la necesidad de disponer de rangos normales para las diferentes determinaciones en LCR que se iban introduciendo en el INN constituyó un reto a resolver. Para los controles de los estudios inmunológicos de LCR, se obtuvo LCR por punción lumbar de 164 individuos (55 adultos y 109 niños) sin enfermedad neurológica conocida. En los adultos el LCR se extrajo antes de la aplicación de anestesia raquídea en sujetos que iban a ser sometidos a cirugía ortopédica en el Hospital Ortopédico “Fructuoso Rodríguez”. Los LCR normales en edades pediátricas fueron obtenidos de niños desde un mes de nacido hasta 15 años de edad, que fueron atendidos por sospecha de meningoencefalitis en el Hospital Pediátrico “Pedro Borrás Astorga”, diagnóstico que fue posteriormente descartado. Los principales resultados fueron publicados, entre los que destacan los rangos de referencia para las proteínas totales y la descripción del patrón normal en la electroforesis del LCR. Se reportaron diferencias entre los patrones de niños y adultos, dadas fundamentalmente por concentración más baja de proteínas totales en el LCR de los niños, así como patrones electroforéticos disímiles.<sup>(7,8)</sup> Estos resultados permitieron obtener información rápida y precisa, que ha servido de base para la interpretación en el laboratorio de los patrones patológicos observados en algunas enfermedades del sistema nervioso.

Desde 2016 han surgido inquietudes con respecto a la importancia de establecer en los laboratorios rangos normales de proteínas totales en LCR según grupos etarios y sexo, ya que la utilización del clásico valor superior de referencia (45 mg/dl) puede conllevar a sobreestimar la frecuencia de proteínas totales elevadas en personas mayores de 50 años.<sup>(58,59,60,61)</sup> En ocasiones, la elevación de las proteínas resulta una información clave para establecer la presencia de afectaciones del sistema nervioso central y periférico, por lo que definir con mayor precisión el límite superior resulta fundamental para excluir falsos positivos. Recientemente, se realizó en nuestro laboratorio un estudio más amplio de las concentraciones normales de proteínas totales en LCR, para lo cual se evaluaron retrospectivamente los LCR recibidos para análisis entre 2008 - 2018, apoyados en el método de Bhattacharya, que se basa en la obtención de valores

de referencia a partir de valores obtenidos previamente en el laboratorio durante el proceso de diagnóstico.<sup>(60)</sup> Después de la estricta aplicación de los criterios de inclusión y exclusión, se incluyeron 930 muestras de LCR. Se confirmó el incremento de las proteínas totales con la edad reportado con anterioridad<sup>(8)</sup> y se resaltó la importancia de tener en cuenta la estratificación por edad, sobre todo en los pacientes mayores de 50 años, para la interpretación de los resultados.<sup>(62,63)</sup> También se obtuvieron LCR normales como punto de comparación para las investigaciones que se realizaron con metabolitos de las monoaminas en un grupo de 162 adultos, en el momento en que fueron sometidos a anestesia raquídea para cirugía electiva. Se establecieron los valores de referencia para el LCR normal en el adulto y se constató la presencia de una estrecha correlación entre las concentraciones de 5-HIAA y HVA.<sup>(46)</sup>

Hasta donde se conoce, la primera referencia documentada en la literatura científica acerca de la obtención de LCR normal por punción lumbar antes de la aplicación de anestesia raquídea para cirugía en pacientes neurológicamente sanos fue realizada por nuestro grupo en 1993.<sup>(43)</sup>

## Conclusiones

La introducción de diversas técnicas especializadas para el estudio del LCR comenzó a partir de la década de 1980. Esto posibilitó su empleo para el diagnóstico diferencial e investigación de diversas enfermedades neurológicas con componente neuroinflamatorio y neurodegenerativo en el INN y en los servicios de Neurología del país, para la evaluación de algunos ensayos clínicos en enfermedades del sistema nervioso con moléculas cubanas y para la obtención de valores de referencia en el LCR normal.

## Referencias bibliográficas

1. Deisenhammer F, Bartos A, Egg R, Gilhus NE, Giovannoni G, Rauer S, et al. EFNS guidelines on disease-specific CSF investigations. *Eur J Neurol.* 2009;16:e156-e163.

2. González-Quevedo A, Fernández R, González S, Suárez I. Evaluation of the blood-cerebrospinal fluid barrier in neurological diseases. In: Montenegro PA, Juárez SM (eds.) *The Blood-Brain Barrier: New Research*. New York: Nova Science Publishers: 2012. p. 173-200.
3. Solar P, Zamani A, Kubíčková L, Dubový P, Joukal M. Choroid plexus and the blood-cerebrospinal fluid barrier in disease. *Fluids Barriers CNS*. 2020;17(1):35. Doi: <https://doi.org/10.1186/s12987-020-00196-2>
4. González-Quevedo A, Luis RS, González JN. Electroforesis de proteínas solubles de musculo humano normal en gel de poliacrilamida. *Rev Cub Invest Biomed*. 1982;1:89-95.
5. Smith I. *Chromatographic and electrophoretic techniques*. Vol. II. Zone electrophoresis. Great Britain: Pitman Press; 1968. p. 369-83.
6. González-Quevedo A, Olivares E, Fernández R, Araña J, González Z. Polyacrylamide gel electrophoresis of unconcentrated cerebrospinal fluid in children. *J Neurosci*. 1989;49:270.
7. González-Quevedo A, Fernández Carriera RA, León Ortiz MM, González García S, Vicente Valdés I. Electroforesis de proteínas del líquido cefalorraquídeo normal en niños y adultos. *Rev Mex Neuroci*. 2008;9(3):242-7.
8. Lowry OH, Rosebrough RJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951;193:265-75.
9. Caballero Poo G, Estrada González R, Villaescusa R. Tratamiento de la polirradiculoneuritis aguda tipo Landry-Guillain-Barré-Strohl con plasmaféresis. *Rev Cub Invest Biomed*. 1983;2:149-60.
10. Alfaro Capdegelle I, Díaz Avalos L, Luis González S. Estudios inmunológicos en pacientes afectados de miastenia gravis. *Rev Cub Med*. 1989;28(1-2):17-27.
11. Alfaro Capdegelle I, Ortega C, del Pino M, Hernández O, Sánchez JE, González-Quevedo A, et al. Cerebrospinal fluid in patients with epilepsy: some immunological aspects. *Acta Neurol Scand*. 1990;82(suppl. 133):26.
12. Pintado A, Alfaro I, del Pino M, Armas A, Hernández-Cossío O. Integrity of the blood brain barrier and anticonvulsant concentration in the CSF. *Epilepsia*. 1991;32(suppl 1):s115.

13. 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.
14. Link H, Tibbling G. Principles of albumin and IgG analyses in neurological disorders. III. Evaluation of IgG synthesis within the central nervous system in multiple sclerosis. *Scand J Clin Lab Invest.* 1977;37:397-401.
15. González-Quevedo A, Fernández Carriera R, Lestayo O´Farrill Z, Suárez Luis I, Mustelier Bécquer R, Luis González RS. An appraisal of blood-cerebrospinal fluid barrier dysfunction during the course of Guillain Barré syndrome. *Neurol India.* 2009;57(3):288-94.
16. Cabrera JA, Santana E, Vals O, Casanova M, Alfaro I, González-Quevedo A, et al. Clinical characterization of patients with Multiple Sclerosis defined in Cuba. *Rev Neurol* 1998;26:723-8.
17. Cabrera-Gómez JA, Santana-Capote E, Echazabal-Santana N, Casanova M, Gómez I, Ramos AM, et al. Estado actual de la esclerosis múltiple en Cuba. *Rev Neurol.* 2000;31(5):482-93.
18. Cabrera-Gómez JA, Kurtzke JF, González-Quevedo A, Lara-Rodríguez R. An epidemiological study of neuromyelitis optica in Cuba. *J Neurol.* 2009;256(1):35-44.
19. Cabrera-Lima AV, Estrada R, Santiago-Luis R, Alfaro I, González A, Galarraga-Inza J, et al. Polineuropatía crónica desmielinizante inflamatoria: una contribución a la caracterización de la enfermedad. *Rev Neurol.* 1999;28:772-8.
20. González-Quevedo A, Cabrera Gómez JA, Fernández Carriera R, Lestayo O´Farrill Z, González García S, Peña Sánchez M, et al. El empleo del estudio de las proteínas del LCR en enfermedades desmielinizantes del sistema nervioso central y periférico. VIII Congreso Latinoamericano de Esclerosis Múltiple (LACTRIMS). Lima, Perú. 2014 [citado: 14/06/2021]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/284177326\\_el\\_empleo\\_del\\_estudio\\_de\\_las\\_proteinas\\_del\\_lcr\\_en\\_enfermedades\\_desmielinizantes\\_del\\_sistema\\_nervioso\\_central\\_y\\_periferico](https://www.researchgate.net/publication/284177326_el_empleo_del_estudio_de_las_proteinas_del_lcr_en_enfermedades_desmielinizantes_del_sistema_nervioso_central_y_periferico)
21. Cabrera Gómez JA, González Quevedo A, Alfaro Capdegelle I, Cabrera Núñez JA. El estudio inmunológico del LCR en la Neuropatía Epidémica. *Rev Finlay.*

1993;7(1-4):148-56.

22. Alfaro I, González-Quevedo A, del Pino M, Serrano C, Lara R, González H, et al. Immunoglobulins in epidemic neuropathy in Cuba. *J Neurol Sci.* 1994;127:234-5.

23. González-Quevedo A, Fernández Carriera R, Santiesteban Freixas R, Alfaro Capdegelle I, Lara Rodríguez R, Vicente Valdés I, et al. Brain barrier dysfunction in Cuban epidemic optic neuropathy. *Eur J Neurol.* 2008;15:613-8.

24. González-Quevedo A, Suárez Luis I, González García S, Fernández Carriera R. Reply to the Letter to the Editor "Cuban Epidemic Optic Neuropathy (CEON) and actual methods to measure immune response in central nervous system". *Eur J Neurol.* 2009;16:e47. Doi: 10.1111/j.1468-1331.2008.02426.x.

25. Fernández Carriera R, González-Quevedo A, Lara Rodríguez R, León Ortiz MM, González García, S, Vicente Valdés I, et al. Electroforesis de proteínas del líquido cefalorraquídeo en pacientes con enfermedad cerebrovascular isquémica. *Rev Neurol.* 2002;35(10):908-12.

26. Robinson MA, González-Quevedo A, Lorigados L, Alonso JA, Pavón N, Macías R. Immune system response in Alzheimer's disease. En: Beregi E, Gergeley IA, Rajczi K (Eds). *Recent Advances in Aging Science.* Bologna: Monduzzi Editore S.p.A.; 1993. p.615- 8.

27. Cabrera JA, Santana E, Miró A, Gómez A, Echazábal N, Quevedo L, et al. Tratamiento de la Esclerosis Múltiple con Interferón alfa-2b recombinante. Estudio piloto. *Biotecnología Aplicada.* 1997;14(3):175-80.

28. González-Quevedo A, Alfaro I, Gámez L, Fernández R, Lara RF, Rodríguez R, et al. Evaluación del líquido cefalorraquídeo en pacientes con Esclerosis Múltiple tratados con Biomodulina T. *Rev Mex Neuroci.* 2007;8(1):18-22.

29. Cabrera JA, Cordero JR, Fernández O, Reyes B, Romero K, Simón J, et al. Treatment of schizophrenic disorder, paranoid type, with intramuscular recombinant alpha-2b interferon. *Biotherapy.* 1993;7(1):27-37.

30. Suárez-Luis I, Rodríguez-Rodríguez Y, González-Quevedo A, Fernández-Carriera R, Toledano-Pérez M, Rodríguez-Rodríguez PC, et al. Estudio inmunológico del líquido cefalorraquídeo con el empleo de un antisuero de IgG humano producido en Cuba. Evaluación preliminar. *Rev Neurol.* 2002;35(7):640-3.

31. Suárez Luis I, Rodríguez Y, González-Quevedo A, Fernández R, Toledano M, Vicente I. Evaluación de un antisuero anti IgG humano por la cuantificación de IgG en suero y LCR. *Rev Cub Quím.* 2004;16(3):442.
32. Betancourt Loza M, Cordero Eiriz A, Peña Sánchez M, González García S, Lorigados Pedres L, González-Quevedo A. Cuantificación de la inmunoglobulina G y la albúmina en el líquido cefalorraquídeo mediante las modificaciones de las técnicas para otros fluidos biológicos. *Rev Cub Neurol Neuroc.* 2016 [citado:14/06/21];6(1):9-16. Disponible en: <http://www.revneuro.sld.cu/index.php/neu/article/view/261>
33. 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: a consensus statement. *Arch. Neurol.* 2005;62(6):865-70.
34. Arrambide G, Tintore M, Espejo C, Auger C, Castillo M, Río J, et al. The value of oligoclonal bands in the multiple sclerosis diagnostic criteria. *Brain.* 2018;141(4):1075-84.
35. Betancourt Loza M, Peña Sánchez M, González García S, González-Quevedo A, Fernández I, Peña M, et al. IgG oligoclonal banding in the CSF for differential diagnosis in multiple sclerosis: Experience at the Institute of Neurology and Neurosurgery. *Mult Scler J.* 2017;23(1):151.
36. Peña-Sánchez M, Lestayo O´Farril Z, Valido Luna L, González-García S, Betancourt Loza M, Hernández-Díaz ZM, et al. CSF oligoclonal band frequency in a Cuban cohort of patients with Multiple Sclerosis. Comparison with Latin American countries and association with latitude. *Mult Scler Rel Dis.* 2020;45:102412. Doi: [10.1016/j.msard.2020.102412](https://doi.org/10.1016/j.msard.2020.102412).
37. Lechner-Scott J, Spencer B, de Malmanche T, Attia J, Fitzgerald M, Trojano M, et al. The frequency of CSF oligoclonal banding in multiple sclerosis increases with latitude. *Mult. Scler.* 2012;18(7):974-82.
38. Dobson R, Ramagopalan S, Davis A, Giovannoni G. Cerebrospinal fluid oligoclonal bands in multiple sclerosis and clinically isolated syndromes: a meta-analysis of prevalence, prognosis and effect of latitude. *J Neurol Neurosurg Psychiatr.* 2013;84(8):909-14.

39. Rosenberg GA. Neurological diseases in relation to the blood-brain barrier. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2012;32:1139-51. Doi: 10.1038/jcbfm.2011.197.
40. Rosenberg GA, Dencoff JE, McGuire PG, Liotta LA, Stetler-Stevenson WG. Injury-induced 92-kilodalton gelatinase and urokinase expression in rat brain. *Lab Invest.* 1994;71(3):417-22.
41. Fernández Carriera R, Fernández-Queija L, Lara Rodríguez R, Cabrera Gómez JA, Suárez Luis I, León Ortiz MM, et al. Metaloproteinasas de matriz en pacientes con esclerosis múltiple. *Medisur.* 2007;5(Especial ECV):51-7.
42. Bernardo-Castro S, Sousa JA, Brás A, Cecília C, Rodrigues B, Almendra L, et al. Pathophysiology of blood-brain barrier permeability throughout the different stages of ischemic stroke and its implication on hemorrhagic transformation and recovery. *Front Neurol.* 2020;11:594672. Doi: 10.3389/fneur.2020.594672.
43. Kurian MA, Gissen P, Smith M, Heales S, Clayton PT. The monoamine neurotransmitter disorders: an expanding range of neurological syndromes. *Lancet Neurol.* 2011;10:721-33.
44. Brady ST, Tai L. Cell Biology of the Nervous System. In: Brady ST, Siegel GJ, Albers RW, Price DL (eds). *Basic Neurochemistry. Principles of molecular, cellular and medical neurobiology.* UK: Academic Press, Elsevier; 2012. p. 4-25.
45. Orozco G, Estrada R, Perry TL, Araña J, Fernández R, González-Quevedo A, et al. Dominantly inherited olivopontocerebellar atrophy from Eastern Cuba. Clinical, neuropathological and biochemical findings. *J Neurol Sci.* 1989;93:37-52.
46. González-Quevedo A, García JC, Fernández R, Fernández Cartaya L. Monoamine metabolites in normal human cerebrospinal fluid and in degenerative diseases of the central nervous system. *Bol Estud Med Biol Mex.* 1993;XLI:13-9.
47. Higgins JJ, Harvey-White JD, Kopin IJ. Low lumbar CSF concentrations of homovanillic acid in the autosomal dominant ataxias. *J Neurol Neurosurg Psychiatr.* 1995;58(6):760. Doi: 10.1136/jnnp.58.6.760
48. García JC, González-Quevedo A. Decreased CSF monoamine metabolites in patients with Alzheimer's Disease. *Rev CENIC Cienc Biol.* 1997;28(1):27-9.
49. Bonet Roselló L, García Rodríguez JC, McPherson M, Boleda LM, González-Quevedo A, Legrá D. Niveles de los catabolitos de las aminas biógenas en líquido cefalorraquídeo de pacientes con demencia tipo Alzheimer y mixta. *Bioquímica.*

1998;23(1):801-4.

50. Llinás S, García JC, Caballero A, Peña LY, Ventura RE, González-Quevedo A, et al. Metabolitos de las monoaminas en líquido cefalorraquídeo de pacientes esquizofrénicos clasificados en síntomas positivos y negativos. *Rev Neuropsicofarm Clín.* 1996;1(3):9-14.

51. González-Quevedo A, Obregón F, Santisteban R, Fernández R, Lima L. Los aminoácidos como marcadores bioquímicos en la neuropatía óptica epidémica y endémica. *Rev Cub Med Trop.* 1998;50(suppl):241-4.

52. González-Quevedo A, Obregón F, Fernández R, Santiesteban R, Serrano C, Lima L. Amino acid levels and ratios in serum and cerebrospinal fluid of patients with optic neuropathy in Cuba. *Nutr Neurosci.* 2001;4(1):51-62.

53. González-Quevedo A, Santiesteban Freixas R, Eells JT, Lima L. Cuban epidemic optic neuropathy. An appraisal of the pathophysiological mechanisms. In: Albin Holmgren and Gerhard Borg (eds). *Handbook of Disease Outbreaks: Prevention, Detection and Control.* N.Y: Nova Science Publishers; 2010. p. 43-73.

54. Eells JT, González-Quevedo A, McMartin KE, Sadun A. Folate deficiency and elevated serum and CSF formate concentrations in patients with Cuban epidemic optic neuropathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1996;37(3):2259.

55. Eells JT, González-Quevedo A, Santiesteban R, McMartin KE, Sadun A. Deficiencia de folato y concentraciones elevadas de formato en suero y líquido cefalorraquídeo de pacientes con neuropatía óptica epidémica. *Rev Cub Med Trop.* 2000;52(1):21-3.

56. Teunissen CE, Tumani H, Engelborghs S, Mollenhauer B. Biobanking of CSF: International standardization to optimize biomarker development. *Clin Biochem.* 2014;47:288-92. Doi: 10.1016/j.clinbiochem.2013.12.024.

57. Tigchelaar C, Atmosoerodjo SD, van Faassen M, Wardenaar KJ, De Deyn PP, Schoevers RA, et al. The Anaesthetic Biobank of Cerebrospinal fluid: a unique repository for neuroscientific biomarker research. *Ann Transl Med.* 2021;9(6):455. Doi: <http://dx.doi.org/10.21037/atm-20-4498>.

58. Hegen H, Auer M, Zeileis A, Deisenhammer F. Upper reference limits for cerebrospinal fluid total protein and albumin quotient based on a large cohort of control patients: implications for increased clinical specificity. *Clin Chem Lab*

Med. 2016 Feb;54(2):285-92. Doi: 10.1515/cclm-2015-0253.

59. McCudden CR, Brooks J, Figurado P, Bourque PR. Cerebrospinal fluid total protein reference intervals derived from 20 years of patient data. Clin Chem. 2017;63:1856-65.

60. Kahlmann V, Roodbol J, van Leeuwen N, Ramakers CRB, van Pelt D, Neuteboom RF, et al. Validated age-specific reference values for CSF total protein levels in children. Eur J Paediatr Neurol. 2017;21:654-60.

61. Castellazzi M, Pizzicotti S, Lombardo I, Alfiero S, Morotti A, Pellegatti P, et al. Sexual dimorphism in the cerebrospinal fluid total protein content. Clin Chem Lab Med. 2020;58:1885-90. Doi: 10.1515/cclm-2020-0419.

62. González-Quevedo A, Peña Sánchez M, González García S. Editorial on “Cerebrospinal fluid total protein reference intervals derived from 20 years of patient data”. J Lab Precis Med. 2018;3:35. Doi: 10.21037/jlpm.2018.03.12

63. Betancourt Loza M, Peña Sánchez M, Menéndez Sainz MC, Fernández Almiral I, González-Quevedo A. Rango normal de proteínas totales en líquido cefalorraquídeo según grupos etarios y sexo. Rev Cub Neurol Neuroc. 2020;10(2):e383.

### Conflicto de intereses

No existen conflictos de intereses.

### Contribución de los autores

*Obtención de los datos:* Alina González-Quevedo Monteagudo, Rebeca Fernández Carriera, Marisol Peña Sánchez

*Análisis e interpretación formal de los datos del estudio:* Alina González-Quevedo Monteagudo, Rebeca Fernández Carriera, Marisol Peña Sánchez, Sergio González García, María Caridad Menéndez Saínz, Melany Betancourt Loza

*Investigación (realización de experimentos o recopilación de datos/evidencias):* Alina González-Quevedo Monteagudo, Rebeca Fernández Carriera, Marisol Peña Sánchez, Sergio González García, María Caridad Menéndez Saínz, Melany Betancourt Loza, Isabel Fernández Almirall

*Redacción del documento:* Alina González-Quevedo Monteagudo, Rebeca Fernández Carriera, Marisol Peña Sánchez, Sergio González García, María Caridad Menéndez Saínz, Melany Betancourt Loza

*Ejecución de revisión y correcciones al documento:* Alina González-Quevedo Monteagudo, Sergio González García