

24/16



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
"ZARAGOZA"

OBTENCION DE LAS CIFRAS NORMALES DE PROTEINAS PLASMATICAS EN NIÑOS MEXICANOS POR ELECTROFORESIS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A N:

BLANCA ARACELI LARA VAZQUEZ

MA. DE LOURDES GUADARRAMA ALCANTARA





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

	Pag
Introducción	1
CAPITULO I	
Fundamento de la elección del tema.	3
Planteamiento del problema.	4
Hipótesis	5
Objetivos.	6
CAPITULO II	
<u>Generalidades</u>	8
Proteínas	9
Clasificación	10
Estructura	11
Metabolismo	12
Digestión	12
Utilización	14
Metabolismo de aminoácidos	18
Proteínas Plasmáticas	18
Prealbúmina	19
Albumina	19

	Pag
Globulinas	21
Fibrinógeno	26
Electroforesis de proteínas	27
Interpretación	31
CAPITULO III	
<u>Material y Métodos.</u>	
Determinación de proteínas totales Biuret	34
Electroforesis de proteínas	36
CAPITULO IV	
<u>Resultados</u>	40
CAPITULO V	
<u>Conclusiones.</u>	52
CAPITULO VI	
<u>Bibliografía</u>	54
Anexos	57

INTRODUCCION

El propósito de este trabajo es establecer los valores de referencia en una población infantil mexicana, a fin de poseer valores reales que se adapten a las condiciones alimentarias y socioeconómicas del país. Ya que los datos con los que se cuenta son tomados de poblaciones totalmente diferentes a la nuestra.

Se trabajó con una población que va de recién nacidos a 15 años considerada clínicamente sana. A cada uno de los niños se le determinó previamente Biometría hemática, exámen coproparasitoscópico, exámen general de orina, transaminasa glutámico piruvica, transaminasa glutámico oxalacética, bilirrubinas, para poder ser considerados dentro de nuestra población en estudio.

Posteriormente se les determinó el contenido total de proteínas así como su patrón electroforético, ya que este proporciona datos de las fracciones proteicas plasmáticas consideradas mas importantes en el establecimiento de un diagnóstico clínico.

Se considera necesario este parámetro proteico debido al papel que desempeñan en el organismo como transporte, defensa etc.

CAPITULO I

FUNDAMENTO DE LA ELECCION DEL TEMA

En la determinación de proteínas plasmáticas es necesario y de importancia predominante el establecimiento de los valores de referencia en la población mexicana.

Debido a que los valores que se toman como patrón provienen de otros países, en los que como consecuencia lógica las condiciones socioeconómicas y alimenticias difieren mucho a las del país.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Como hemos mencionado anteriormente las cifras de referencia de proteínas plasmáticas varían de una región geográfica a otra.

Algunos de los antecedentes que se podían señalar son los siguientes: Cada mexicano consume 50.0 g de proteínas y alrededor de 2500 calorías diarias, mientras que cada ciudadano de los Estados Unidos de Norteamérica consume 98.0 g de proteínas y alrededor de 3500 calorías diarias.

Nos hemos referido a los datos antes mencionados del país vecino ya que la mayoría de las técnicas provienen de este país.

Se reportan valores hasta 9.0 g/dl que en nuestra población rara vez se llegan a encontrar.

HIPOTESIS

Debido a que las condiciones socioeconómicas y alimentarias de los niños mexicanos son diferentes a las de los niños de otros países, consideramos que el patrón electroforético de nuestra población sera diferente.

OBJETIVOS

- A) Determinar los valores de referencia de proteínas plasmáticas en niños mexicanos por electroforesis.
- B) Realizar un estudio estadístico de los valores obtenidos.
- C) Valorar la importancia de la cuantificación de proteínas plasmáticas en la emisión de un diagnóstico.

CAPITULO II

GENERALIDADES

El principio de la electroforesis se conoce aproximadamente hace 178 años. En 1807 un físico ruso de nombre Alexander Reuss, observó que cuando se pasaba una descarga eléctrica a través de un tubo conteniendo agua y arcilla, las partículas coloidales de arcilla se movían al electrodo positivo. Michael Faraday, en Inglaterra y E.B. Du Boy Reymond en Alemania, confirmaron este descubrimiento y ampliaron estos conceptos demostrando que algunas partículas con carga negativa en solución o suspensión se movían hacia el electrodo positivo, y que las partículas con carga positiva se movían hacia el electrodo de carga contraria.

Observaron también que las partículas se movían a diferentes velocidades dependiendo del número de cargas que portaban; a mayor número, mayor velocidad de migración. (1).

Así el camino se abrió para el uso de la electroforesis como un método de separación de partículas de una mezcla de acuerdo a sus propiedades eléctricas. Poco a poco la teoría de la electroforesis fue construyéndose hasta una estructura lógica y los métodos fueron desarrollados para su aplicación en el laboratorio.

El método más antiguo en el estudio del comportamiento de las partículas con carga cuando se sometían a una corriente eléctrica se denominó "Electroforesis microscópica" (2). Consistía en observar y medir la migración de las partículas en solución o suspensión, las cuales estaban contenidas en un tubo de vidrio en posición horizontal sobre la platina de un microscopio, siendo de gran ayuda para el estudio de algunas reacciones inmunológicas y en el comportamiento de células sanguíneas.

Esto pareció dejar fuera la observación de moléculas prácticamente invisibles, pero la química proporcionó las bases e hizo posible el estudio indirecto de las proteínas con la introducción de una pequeña esfera de cuarzo dentro de una solución proteica. Las moléculas se adhieren a la esfera formando una densa capa, de este modo la proteína unida a la superficie de cuarzo responde a la corriente eléctrica de acuerdo al número y signo de las cargas (3).

Fue hasta el año de 1937, cuando el químico Arne Wilhelm Kaurin Tiselius, introdujo el método llamado "Electroforesis de frente móvil o libre". (4,5,6,7). Consistía en vertir en un tubo con la forma de "U" una solución de proteínas, sobre esta se depositaba cuidadosamente una solución electrolítica (amortiguador), se aplicaba una corriente eléctrica a temperatura constante en ausencia de vibraciones.

Tiselius, analizando el suero de la sangre encontró que la fracción conocida como globulinas no era más que una mezcla de tres substancias que él llamó; alfa, beta y gamma globulinas (8).

La electroforesis de frente móvil fue durante muchos años el método más valioso para el análisis cuantitativo de mezclas complejas de proteínas plasmáticas, el método que substituyó a este por su sencillez y mayor capacidad de resolución es la electroforesis de zona. En este método, la electroforesis de la disolución acuosa de proteínas se realizó habitualmente en una matriz sólida o soporte, tal como papel filtro, gel de almidón o gel de policrilamina, materiales que son hidratados y porosos pero que poseen rigidez mecánica (9).

Proteínas.

Las proteínas son polímeros macromoleculares compuestos de L-aminoácidos unidos por enlaces peptídicos. Algunos de los 20 aminoácidos comunes que se encuentran en las proteínas tienen grupos funcionales ionizables que les confieren propiedades de carga eléctrica en solución. Las proteínas funcionan en las células en forma de elementos estructurales y dan a ellas su capacidad enzimática (10,11,12).

Los primeros conocimientos de las propiedades de las proteínas se adquirieron del estudio de algunos materiales naturales que se obtienen con facilidad y cuya composición es fundamentalmente proteica. Se encontró que sustancias comunes como el suero de la sangre, albúmina de huevo y la leche coagulaban al calentarse o al ser tratadas con ácidos fuertes. Cuando estas sustancias se sometieron a análisis químico, se encontró que contenían grandes cantidades de nitrógeno. Con base en su composición química similar, los químicos pensaron inicialmente que todos estos materiales proteicos constaban de distintas combinaciones de alguna subunidad básica no identificada. A medida que se mejoraron los métodos para la separación de proteínas y las técnicas de análisis químico, fue evidente que esto no era cierto. Aunque muchas proteínas tenían propiedades muy similares, definitivamente se trata de compuestos distintos.

Clasificación.

Las proteínas son polímeros de aminoácidos mezclados, y como tales, contienen carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. La mayor parte contiene azufre, fósforo y algunos otros elementos minerales. Las proteínas se pueden subdividir y clasificar en distintos grupos generales. Se dividen en dos clases principales basándose en su composición; proteínas simples y conjugadas. Las simples, son aquellas que por hidrólisis producen solamente aminoácidos sin ningún otro producto principal orgánico o inorgánico. Contienen habitualmente 50% de carbono, 7% de hidrógeno, 23% de oxígeno, 6% de nitrógeno y de 0 a 3% de azufre. Las proteínas conjugadas son aquellas que por hidrólisis no solamente producen aminoácidos sino también otros componentes orgánicos o inorgánicos, la porción no aminoácida de una proteína conjugada se denomina "grupo prostético".

Las proteínas conjugadas pueden clasificarse de acuerdo con la naturaleza química de sus grupos prostéticos, de este modo tenemos; nucleoproteínas, lipoproteínas, fosfoproteínas, glucoproteínas (13,14,15,16). Cada tipo de molécula proteica posee, en su estado nativo una forma tri

dimensional característica que constituye su conformación. Las proteínas pueden clasificarse en dos formas principales, según su conformación; "Proteínas fibrosas": son físicamente resistentes, insolubles en agua o en soluciones salinas diluidas. Se hayan constituidas por cadenas polipeptídicas ordenadas de modo paralelo a lo largo de un eje, formando fibras, o laminas largas. Las proteínas fibrosas son los elementos básicos estructurales en el tejido conjuntivo de los animales superiores, tales como la colágena de los tendones y la matriz de los huesos, la alfa queratina del cabello, cuerno, uñas, plumas y la elastina del tejido conjuntivo elástico (17,18). Las "proteínas globulares", están constituidas por cadenas polipeptídicas plegadas estrechamente de modo que adoptan formas esféricas o globulares. La mayor parte de las proteínas globulares son solubles en el sistema acuoso y difunden con facilidad, desempeñan una función móvil y dinámica en la célula. De la gran variedad de enzimas que se conocen hasta la fecha, casi todas son proteínas globulares como lo son anticuerpos, hormonas y muchas proteínas que desempeñan función de transporte, como la seroalbúmina y la hemoglobina (19,20). Algunas proteínas se hayan situadas entre los tipos fibroso y globular, entre ellas la miosina y el fibrinógeno.

Estructura.

La estructura de las proteínas suele comentarse en términos de los diversos niveles de complejidad de las interacciones que hay en la estimación de una estructura característica. Desde este punto de vista, se puede considerar la organización de las proteínas al nivel de la estructura primaria, secundaria, terciaria o cuaternaria.

La estructura primaria de una proteína se refiere al orden de sucesión característica de los residuos de aminoácidos en la cadena del polipéptido que están enlazados en forma covalente mediante enlaces de péptidos y a la posición de los enlaces de disulfuro que forman enlaces cruzados dentro o entre las cadenas peptídicas. Aunque este orden de sucesión primario precisa una estructura química característica, la estructura puede desdoblarse o encorvarse para interactuar con ella misma en distintas

formas y estas interacciones determinan lo que se llama la estructura secundaria de la proteína. En la mayor parte de los casos, estas interacciones ocurren entre los oxígenos de carboxilo o hidrógeno de grupo amida y amino. El tipo de interacciones por los enlaces hidrógeno que se forman, dividen las proteínas en dos grupos amplios ya sean estructuras helicoidales o una variedad de estructuras en capa. Un segmento largo de estructura secundaria ordenada dentro de una proteína puede asumir un número casi infinito de conformaciones y la ordenación característica que resulta a este nivel de interacción se llama estructura terciaria. Además de esto, dos o más cadenas polipeptídicas idénticas o diferentes, pueden formar asociaciones enlazadas estables no covalentes que constituyen la estructura cuaternaria de la proteína.

Metabolismo.

Las proteínas ingeridas se hidrolizan en aminoácidos libres por la acción combinada de las proteasas gástricas, pancreáticas e intestinales, los aminoácidos que se liberan son absorbidos en el intestino delgado. Algunos aminoácidos se emplean para la síntesis de proteínas tisulares, y los demás se metabolizan mediante la liberación del grupo en forma de amoníaco, urea o ácido urico.

El valor nutricional de una proteína depende de la abundancia relativa y equilibrio de estos aminoácidos esenciales en la proteína dada. La ingestión de aminoácidos para la síntesis de proteínas tisulares es fundamental en animales superiores. Los aminoácidos que no se necesitan para la síntesis de proteína tisular se someten a desaminación, y el esqueleto de carbono se metaboliza para obtención de energía.

Digestión.

La cantidad promedio de ingestión para un ser humano es de 50 a 100 g de proteínas por día. Su digestión se inicia en el estómago en donde las

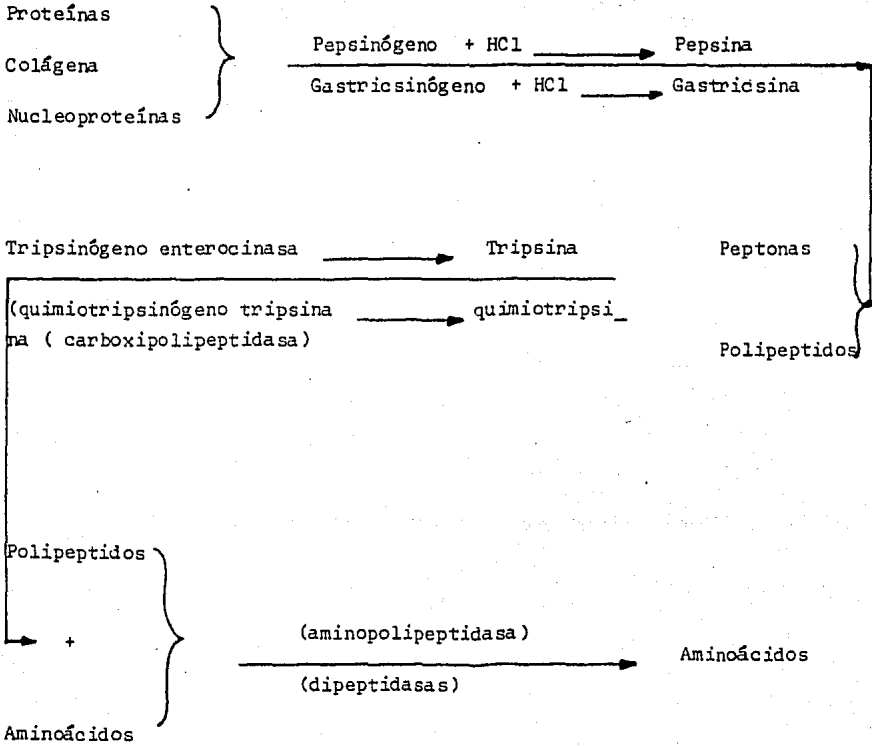


Fig. No 1 Digestión de Proteínas.

enzimas pepsina y gastricsina la degradan parcialmente a un pH ácido junto con la acción de HCl (21,22,23,24).

La digestión completa ocurre en el intestino delgado por las enzimas tripsina (endopeptidasa) carboxipolipeptidasa (exopeptidasa) y quimio tripsina (endopeptidasa). La acción combinada de estas degradan las moléculas a aminoácidos libres y péptidos pequeños. Como en el caso de la digestión de carbohidratos, la hidrólisis final se verifica por la acción de hidrolasas de la mucosa intestinal. Parte de esta acción hidrolítica ocurre en el interior del intestino delgado, pero la mayor parte ocurre probablemente a medida que el péptido se pone en contacto con el borde epitelial o dentro de la célula de la mucosa. Las hidrolasas a cuyo cargo está la transformación final del péptido en aminoácidos se llama aminopolipeptidasa y dipeptidasa. (fig No 1)

Los aminoácidos son transportados hacia los tejidos por medio de la sangre. Al entrar en las células individuales, por un proceso de transporte que requiere energía, se incorpora al metabolismo.

Utilización.

Las proteínas que se ingieren con la dieta cotidiana son degradadas hasta aminoácidos, los cuales entran al organismo y cumplen dos funciones generales; síntesis de nuevas proteínas y formación de compuestos no proteicos de importancia fisiológica.

Los aminoácidos absorbidos en el intestino se incorporan de manera continua a las proteínas tisulares. Así tenemos que en un animal adulto alimentado con una dieta proteínica adecuada, la ingestión de un aminoácido va seguida de su incorporación a proteínas tisulares; poco después de permanecer en una proteína tisular se le encuentra en otras proteínas y como producto de excreción proteica. Esto implica el concepto de la síntesis y la degradación constante de las proteínas, pero de tal manera equilibradas que una iguala a la otra y el resultado final es la estabilización de la estructura y de las funciones corporales (25,26). En seguida de haber penetrado en la célula, los aminoácidos se combinan

unos con otros, por acción de enzimas intracelulares y forman proteínas, por lo tanto, es probable que la concentración de aminoácidos dentro de las células sea siempre baja. Los conocimientos actuales parecen indicar que no existen en las células almacenamientos de aminoácidos como tales, sino en forma de proteínas. Sin embargo, muchas proteínas intracelulares pueden ser desdobladas rápidamente en aminoácidos otra vez por acción de enzimas intracelulares, a su vez estos aminoácidos difunden nuevamente hacia afuera de las células. Pueden desdoblarse así muchas enzimas celulares y otras proteínas funcionalmente activas, sin embargo, no participan en este mecanismo de almacenamiento reversible de aminoácidos, los genes del núcleo y proteínas estructurales como la colágena (27,28). Algunos tejidos intervienen más que otros en el almacenamiento de aminoácidos, sobre todo los que tienen metabolismo intenso. Por ejemplo, el hígado, riñones y mucosa intestinal órganos de gran tamaño que almacenan elevadas cantidades de proteínas. Cuando la concentración plasmática de aminoácidos cae por debajo de sus valores normales, estos empiezan a salir de las células para reponer las cifras plasmáticas. La disminución de aminoácidos intracelulares constituye el estímulo que inicia el desdoblamiento de proteínas extracelulares para formar nuevos aminoácidos. La concentración plasmática de cada tipo de aminoácidos conserva así valores más o menos normales (29,30) (fig.No 2).

Algunas hormonas pueden modificar el equilibrio entre proteínas tisulares y aminoácidos circulantes, la, del crecimiento y la insulina aumentan la formación de proteínas tisulares, mientras que las glucocorticoides corticosuprarrenales aumentan la concentración de aminoácidos circulantes. Se pueden sintetizar proteínas a partir de los aminoácidos del plasma y con igual rapidez dichas proteínas pueden volverse a desdoblar para formar aminoácidos plasmáticos, existe un equilibrio constante entre dichos aminoácidos y las proteínas de cada célula corporal. La consecuencia lógica es que también hay equilibrio entre las diversas proteínas celulares. Por ejemplo, si un tejido pierde proteínas, puede sintetizar otras nuevas proteínas a partir de los aminoácidos circulantes; a su vez, estos son repuestos a expensas de proteínas de otras células. Estos efectos son muy claros en el caso de la síntesis de proteínas en células cancerosas.

Cada tipo de células pueden almacenar proteínas hasta cierto límite. Cuando se alcanza este, los aminoácidos en exceso en la circulación se desdoblan en productos nuevos y se emplean para liberar energía, o se convierten en grasa, para ser almacenados como tales (31,32). Cuando los tejidos pierden sus proteínas, es posible la restitución pronta de las mismas a expensas de proteínas plasmáticas. De hecho, proteínas plasmáticas enteras pueden penetrar en las células reticuloendoteliales, allí son desdobladas en aminoácidos que vuelven a la sangre y son utilizados para elaborar proteínas celulares. En esta forma las proteínas plasmáticas sirven de reserva y fuente inmediata de aminoácidos para los tejidos que los requieren.

La velocidad con que el hígado sintetiza proteínas plasmáticas depende de las cifras de aminoácidos en sangre, al faltar estos, se reduce la concentración proteica. Por otra parte, si existe en sangre exceso de proteínas, mientras existen pocas en las células, las proteínas plasmáticas se utilizan para elaborar proteínas tisulares. Por lo tanto, se establece un equilibrio constante entre proteínas plasmáticas, aminoácidos de la sangre y proteínas tisulares.

Se han calculado mediante estudios con elementos radioactivos que cada día se sintetizan aproximadamente 400 g de proteína corporal como parte del estado continuo de flujo de aminoácidos.

Los principales caminos que siguen los aminoácidos en el interior del organismo son los siguientes:

Utilización de los aminoácidos para síntesis de proteínas tisulares, plasmáticas, hormonales.

Fragmentación de aminoácidos en dos partes: el grupo amino y el residuo desaminado, este último puede ser oxidado completamente o entrar a formar parte de la molécula de hidratos de carbono o de grasa. El grupo amino se elimina por vía renal de modo directo formando productos de desecho.

Transformación de los aminoácidos en distintas sustancias de interés fisiológico. De esta manera se pueden convertir unos aminoácidos en otros, o entrar a formar parte de sustancias nitrogenadas como el núcleo porfirínico, la taurina, peptidos activos, pigmentos, vitaminas, hormonas.

CELULAS CORPORALES

CELULAS HEPATICAS

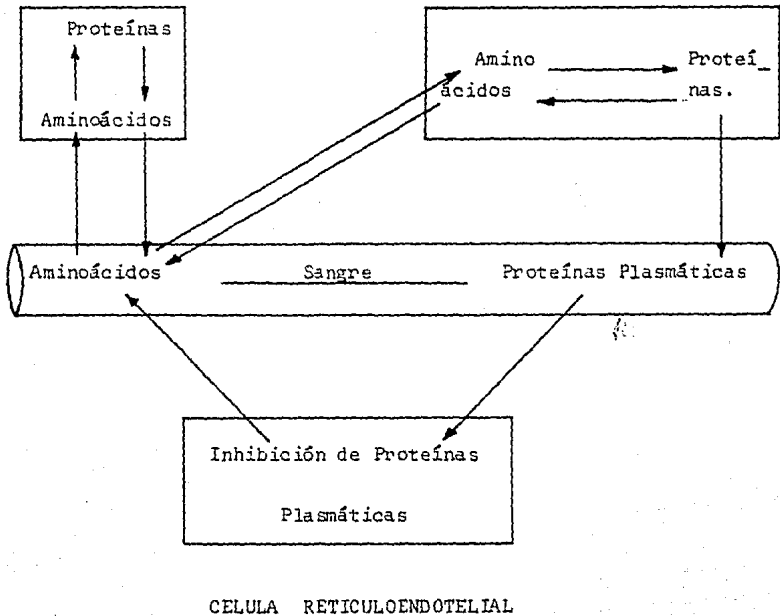


Fig No 2 Equilibrio Proteico.

Metabolismo de Aminoácidos.

Aunque la mayor parte de los aminoácidos ingeridos se emplean para síntesis de proteínas, hay un metabolismo continuo del exceso. Las vías metabólicas generales que intervienen son las que separan el grupo amino y desvían el esqueleto de carbono del aminoácido a alguna otra vía;

- I.- Desaminación de los aminoácidos, transaminación, y el proceso formado por la unión de los dos anteriores o transdesaminación.
- II.- Descarboxilación de los aminoácidos con formación de aminas.
- III.- Utilización de residuos desaminados y destino del grupo amino con dos eventualidades. A).- Captación de nitrógeno y formación de urea. B).- Formación de sustancias nitrogenadas de interés fisiológico como son bases púricas, creatina, etc.

Proteínas Plasmáticas.

Aunque las proteínas de los tejidos son de importancia vital para el organismo, las de la sangre, debido a su accesibilidad, son más importantes en términos de información de laboratorio clínico. No solo pueden estudiarse convenientemente las proteínas plasmáticas, sino que ocupan una posición central en el metabolismo proteico, interaccionan virtualmente con todos los tejidos o células del organismo y están íntimamente relacionadas con el metabolismo proteico en el hígado.

Las proteínas plasmáticas son una mezcla muy compleja, no solo de proteínas simples sino también de proteínas mixtas o conjugadas, tales como glucoproteínas y diversos tipos de lipoproteínas. Las proteínas plasmáticas tienen diversas funciones, entre estas transporte; el mantenimiento del equilibrio osmótico (albúmina); defensa contra las infecciones (inmunoglobulinas); la hemostasia (los factores de la coagulación); la contribución a las necesidades del nitrógeno y la regulación de la actividad y función celular.

El hígado es la única fuente de nitrógeno, protrombina y albúmina. La mayor parte de las globulinas alfa y beta son también de origen hepático, pero las gammaglobulinas se originan en las células plasmáticas y linfáticas. En realidad las gammaglobulinas son las únicas proteínas secretadas por células de los ganglios linfáticos aislados. Existen diversas pruebas que señalan que el sistema reticuloendotelial participa en la formación de anticuerpos. Esto asocia a este sistema con la producción de gammaglobulinas.

Las proteínas de la dieta son precursoras de las proteínas del plasma. Existe una relación directa entre la cantidad y calidad de las proteínas ingeridas y la formación de las proteínas del plasma, incluyendo también la producción de anticuerpos. No todas las proteínas de la dieta son igualmente efectivas en suministrar los materiales para la regeneración de las proteínas del plasma.

Las proteínas plasmáticas se dividen en tres grupos principales:

- 1) Albúmina.
- 2) Globulinas.
- 3) Fibrinógeno.

A su vez las globulinas se dividen en:

- Alfa.
- Beta (B).
- Gamma Inmunoglobulinas (Ig).

Prealbúmina.

Es una proteína formada por una cadena polipeptídica (99%), con un peso molecular de 50 000. Su función principal es la unión que tiene con la tiroxina.

Albúmina.

No todas las proteínas han sido tan ampliamente estudiadas como la albúmina. Debido a que es abundante en plasma, fue la primera en ser ana-

lizada por Liebing y Mulder en 1930.

Es una larga cadena polipeptídica constituida por unos 580 aminoácidos, tiene un peso molecular de 66 210 daltons, un contenido de carbohidratos de 0.08% compuesta principalmente de hexosa y acetilhexosamina, tiene un contenido de lípidos de 0.2%, con un punto isoelectrico de 4.9. Es extremadamente soluble en agua. En una separación electroforética de proteínas sericas a pH 8.6, tiene una rápida migración hacia el ánodo. Tiene las siguientes funciones:

Amortiguadora.- Tanto las proteínas plasmáticas como la hemoglobina muestran una acción importante en la regulación del pH sanguíneo (7.4-7.5). la acción amortiguadora reside en los grupos imidazólicos del aminoácido histidina que forma parte de la molécula proteínica.

Transporte.- Las substancias no solubles en agua, como la bilirrubina, ácidos grasos y otros se adhieren a la albúmina quizás a zonas ricas en aminoácidos no polares lo que resulta muy útil para facilitar su transporte, hormonas, principalmente las esteroides, algunos farmacos (aspirina, digitálicos, barbituricos, etc) se unen a la albúmina y así son transportados a la sangre, al igual el transporte de dos terceras partes de calcio, el resto viaja como calcio en solución.

Presión Osmótica.- La albúmina produce el 75-80% del efecto osmótico debido a las proteínas plasmáticas totales. El paso del agua y sustancias disueltas a través de las paredes de los capilares depende de las presiones diferenciales entre los espacios intra y extra vasculares. Entran en juego la presión hidrostática intracapilar debido al empuje cardiaco y a la presión osmótica a un lado y otro de la pared capilar.

Correlación Clinicopatológica.

Síndrome nefrótico.
 Desnutrición
 Discracia de células plasmáticas.
 Cirrosis hepática.
 Infecciones importantes.
 Trauma quirúrgico y accidental.
 Enteropatía exudativa.
 Eclampsia, uremia.

Hepatitis infecciosa aguda. ↓
 Insuficiencia cardiaca congestiva aguda. ↓
 Enfermedad de los linfáticos.
 Hipoproteinemia.

Globulinas.

La fracción globulínica de las proteínas séricas es una mezcla muy compleja. Entre los componentes de particular interes se encuentran:

1.- Mucoproteínas y glucoproteínas.- Constituyen combinaciones de un carbohidrato (hexosamina) con globulinas y se encuentran principalmente en las fracciones alfa 1 y alfa 2 de las globulinas. Meyer define a las mucoproteínas (mucoides) como aquellos compuestos que contienen más del 4% de hexosaminas y considera glucoproteínas a los compuestos que contienen menos de esa cantidad.

2.- Lipoproteínas.- Aproximadamente el 3% de las proteínas plasmáticas son combinaciones de lípidos y proteínas que migran con las alfa globulinas, y más o menos el 5% de compuestos semejantes a los anteriores migran con las beta globulinas.

Las lipoproteínas probablemente funcionan como transportadoras de los lípidos del plasma puesto que la mayor parte de las grasas del mismo se encuentran asociadas a ellas. Estas combinaciones proporcionan un vehículo para el transporte de grasa en un medio predominantemente acuoso.

3.- Proteínas fijadoras de metales.- Las globulinas que se combinan estequiométricamente con el hierro y el cobre comprenden aproximadamente el 3% de las proteínas del plasma. Un ejemplo de proteína plasmática que fija el hierro es la siderofilina (transferrina), su principal función es el transporte de hierro en el plasma. También se ha aislado del plasma normal una proteína fijadora de cobre de color azul verdoso, esta proteína es la ceruloplasmina, que contiene aproximadamente 0.34% de cobre y tiene un peso molecular de 150 000.

4.- Gammaglobulinas.- Esta fracción es la que contiene la mayor cantidad de los anticuerpos circulantes, las llamadas inmunoglobulinas, que constituyen una familia de proteínas íntimamente relacionadas y poseen

actividad de anticuerpos. Basados en estudios electroforéticos, inmunológicos y de ultracentrifugación, se han dividido a las inmunoglobulinas (Ig) en tres grupos por orden creciente de movilidad electroforética, estas son IgG, IgA, e IgM.

Alfa 1 globulinas.

Mientras que la albúmina es una molécula homogénea, las fracciones globulínicas constan de un número de proteínas diferentes, de movilidad electroforética similar, pero no relacionadas químicamente. La fracción incluye un número de glucoproteínas y otros diversos componentes. Lipoproteínas son de significado clínico importante en el transporte de lípidos. Antitripsina alfa 1 es una glucoproteína del plasma con un peso molecular de 54 000 formada de 381 aminoácidos y 12.4% de carbohidratos, constituye el 70% de la fracción, esta enzima se ha encontrado disminuída en ciertas formas hereditarias de enfermedad pulmonar crónica.

La glicoproteína ácida alfa 1 tiene un peso molecular de 44 100 constituye el 30% de la fracción alfa 1. Aunque es bastante desconocida su función, parece inhibir la hemoaglutinación del virus inactivado de la influenza e inactivar la progesterona. La transcortina, globulina fijadora del cortisol y la globulina fijadora de tiroideas (TBG), migran también en la fracción alfa 1.

Correlación Clinicopatológica.

Hipoproteïnemia.

Infecciones crónicas y agudas.

Lupus eritematoso.

Carcinomatosis.

Colelitiasis.

Ictericia obstructiva debido a neoplasia.

Inflamación con fibrosis del árbol biliar.

Alfa 2 globulinas.

Como las globulinas alfa 1, esta fracción consiste principalmente de glucoproteínas, incluyendo una de alto peso molecular llamada macroglobulina alfa 2, también denominada alfa II antiplasmina, constituye casi el 70% de la fracción alfa 2, funciona como inhibidor de la plasmina, y transportador para algunas hormonas. Su concentración en el plasma varía con la edad, se cree que está involucrada con el crecimiento. Es una molécula altamente inmunogénica. Los componentes clínicamente importantes incluyen haptoglobulina que fija la hemoglobina libre en el plasma, constituye el 20% de la fracción alfa II. La ceruloplasmina de importancia en el transporte del cobre, tiene un peso molecular de 150 000. Además de la eritropoyetina, las enzimas colinesterasa, lactatodeshidrogenasa y fosfatasa alcalina, también migran en esta fracción.

Correlación Clinicopatológica.

Artritis Reumatoide.	↑
Infarto de miocardio.	↑
Necrosis hapatocelular aguda.	↑
Síndrome nefrótico.	↑
Enteropatía proteica.	↑
Diabetes mellitus.	↑
Toxemia de preñez.	↑

Beta globulinas.

Estas incluyen las lipoproteínas B que son de menor densidad (LDL) que las lipoproteínas (HDL). Las B lipoproteínas son una de las cuatro clases principales de las lipoproteínas del plasma, es una macromolécula con un peso molecular de 2.400,000 en donde los lípidos son transportados en el plasma. Estas lipoproteínas de baja densidad contienen 46% de colesterol, 20% de péptidos, 2% de carbohidratos, 10% de triglicéridos y

22% de fosfolípidos. La hemopexina que fija el hem (pero no la hemoglobina) y el plasminógeno, forma inactiva de la plasmina (que lisa los coágulos de fibrina), migran también en la región B₁. Más aún la transferrina (siderofilina) que fija y transporta el hierro en el plasma migra en esta misma, posee un peso molecular de 80 000, constituye el 60% de la fracción B.

Como lo hacen muchos de los componentes del complemento el C₃ que es el más abundante se refiere como globulina tiene un peso molecular de 185 000, forma parte del sistema de complemento (conjunto de glicoproteínas plasmáticas), está constituido por 9 complementos que son C-1, C-2, C-3, C-4, C-5, C-7, C-8, C-9.

Gamma globulinas (Inmunoglobulinas)

De todas las proteínas plasmáticas ninguna ha sido intensamente estudiada durante los últimos años como las gamma globulinas. Debido a que poseen la actividad de anticuerpo.

Hereman (1959) recomendó el empleo del término "inmunoglobulinas" para hacer referencia al sistema de proteínas muy relacionadas aunque no idénticas que son capaces de actuar como anticuerpos. Posteriormente la Organización Mundial de la Salud recomendó una terminología uniforme en la cual se indicaba cada fracción de anticuerpos con una letra mayúscula precedida de la letra Ig para inmunoglobulina: IgG para la inmunoglobulina G, IgA para la inmunoglobulina A, IgM para la inmunoglobulina M, IgD para la inmunoglobulina D e IgE para la inmunoglobulina E.

Correlación clinicopatológica.

Inmunoglobulina G (IgG).

Mieloma[†]G

Cirrosis hepática.

Agammaglobulinemia, congénita y adquirida.

Hipogammaglobulinemia, transitoria.

Disgammaglobulinemia.
Enteropatía.
Síndrome nefrótico.
Hepatitis viral.
Neumonía.
Tuberculosis pulmonar crónica.
Cistitis crónica.
Pielitis crónica.
Colecistitis crónica.
Endocarditis crónica.

Inmunoglobulina A (IgA).

Mieloma λ A.
Ataxia telangiectásica.
Agammaglobulinemia.
Hipogammaglobulinemia, transitoria.
Disgammaglobulinemia.
Enteropatía con pérdida de proteínas.
Cirrosis nutricional.
Endocarditis bacteriana.
Tiroiditis autoinmune.
Tuberculosis avanzada.
Eritema nodoso.
Sarcoidosis.
Enfermedades de hipersensibilidad crónica.

Inmunoglobulina M (IgM).

Macroglobulinemia de Waldenström.
Enfermedades parasitarias.
Agammaglobulinemia.
Hipogammaglobulinemia.
Disgammaglobulinemia.

Enteropatía con pérdida de proteínas. †

Inmunoglobulina D (IgD).

Mieloma γ D. †

Fibrinógeno.

El fibrinógeno es el precursor de la proteína formadora del coágulo de fibrina. Mediante la acción de la trombina, los péptidos se desdoblán de la molécula de fibrinógeno. Estos péptidos se han designado como el fibrinopéptido A y el fibrinopéptido B. La molécula residual se ha designado como monómero de la fibrina. En condiciones ordinarias los monómeros se polimerizan para formar un coágulo de fibrina.

La fibrina polimerizada existe por lo menos en dos formas. En presencia del factor XII (factor estabilizador de la fibrina), de trombina y calcio el polímero de fibrina forma enlaces cruzados y el coágulo resultante no es soluble en urea. En ausencia del factor XIII fracasa la formación de enlaces cruzados de los filamentos de fibrina y el coágulo resultante es soluble en urea y en ácidos débiles. Se ha estimado que mientras el fibrinógeno este presente en el plasma a niveles mayores de 100 mg/dl, las pruebas de coagulación de una fase no serán muy prolongadas.

El fibrinógeno tiene un peso molecular de alrededor de 340 000. Existe en el plasma de los sujetos normales en cantidades de 300 a 400 mg/dl.

Es menos soluble que la mayoría de las otras proteínas plasmáticas y puede precipitarse en el plasma mediante una saturación al 25% de sulfato amónico. No se ve en la electroforesis habitual de las proteínas séricas, ya que se consume en la coagulación. Sin embargo si la electroforesis se realizó en el plasma, el fibrinógeno aparecerá como un punto al lado proximal del pico beta o sea entre la región beta y la globulina.

Electroforesis de Proteínas.

La electroforesis, es tal vez el más poderoso de los descubrimientos clínicos. El uso más importante es como instrumento diagnóstico. Su combinación con reacciones de inmunoprecipitación dieron principio a nuevas áreas de la ciencia.

Las proteínas son anfotéricas y pueden tener carga positiva o negativa dependiendo del pH de la solución en que se encuentran.

Si se considera a una proteína como una cadena larga de aminoácidos la carga neta de la proteína es descrita más fácilmente.

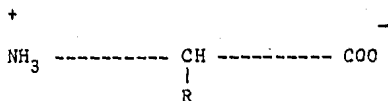


Fig. No. 3 Aminoácido neutro.

La fórmula anterior representa un aminoácido neutro, o el pH en el cual las cargas negativas y positivas son iguales, a esto se le conoce como punto isoeléctrico (P.I.). Sin embargo si estos aminoácidos son sometidos a distintos pH (ácido o alcalino) la carga neta en el grupo será negativa o positiva.

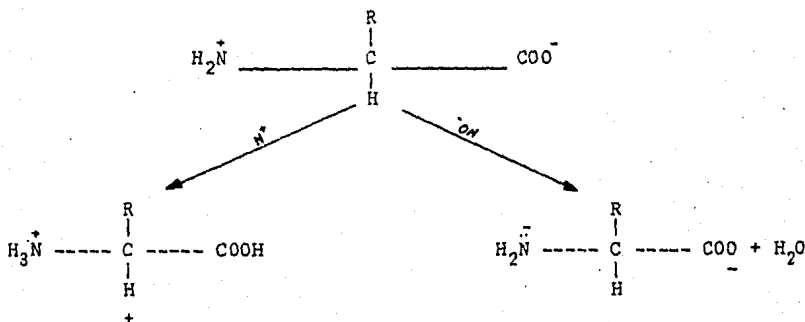


Fig. No 4 Cargas proteicas.

Cuando es sometida una proteína a pH ácido adquirirá una carga neta positiva; a pH alcalino la proteína tendrá una carga neta negativa. Fig No 4.

Las proteínas cargadas positivamente muestran una mayor adsorción que las cargadas negativamente, por lo tanto las proteínas con carga negativa se prefieren en electroforesis.

La electroforesis se realiza sobre un soporte, este puede ser el acetato de celulosa que es una matriz uniformemente formada, la cual semeja la estructura de una esponja o panal de miel si se expandiera varios miles de veces. El acetato de celulosa, dependiendo de su contenido en acetilos y longitud de cadenas puede ser extremadamente inerte y fuerte o altamente frágil y fácilmente atacado por los disolventes. La carga neta de las proteínas, tamaño del poro, carga, voltaje, tiempo, forma de la proteína, peso molecular, fuerza iónica son los factores responsables de la separación. Por ejemplo alfa 2 macroglobulina con un peso molecular de casi 1,000 000 y un punto isoeléctrico (P.I.) de 5.9 se desplaza fácilmente tanto como la haptoglobulina con un peso molecular de 1 000 000 y un P.I. de 6.1 en un amortiguador salino. En la electroforesis de proteínas se utilizan soluciones reguladoras con pH mayor de 8, por lo tanto, en una solución reguladora con un pH de 8.8 la albúmina (P.I. 4.7) tendrá una carga neta máxima, y la gamma globulina (P.I. 7.2) su carga neta mínima. Si sometemos estas dos proteínas a una electroforesis con movilidad completamente dependiente de la carga, la albúmina tendrá mayor movilidad que la gamma globulina Fig No 5.

También deben considerarse la naturaleza de la matriz, distribución del poro, acetilación, disolventes residuales, agentes activos en acetato de celulosa; es imposible en base a estos presentar una fórmula o grupo de fórmulas para explicar y pronosticar el movimiento, ya que este es tan lento como variado al igual que el tipo de acetato de celulosa, como sabemos su variedad es infinita (33).

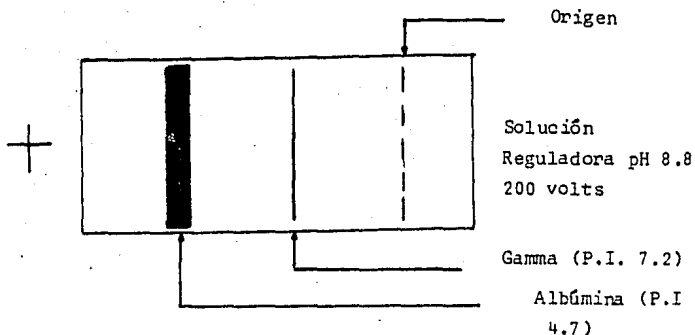


Fig No 5 Diferencia de Movilidad
entre Albúmina y gammaglobulina
sometidas a electroforesis.

Fuerza Iónica.

Es la unidad de concentración de la actividad electrolítica de una solución. Esta unidad adquiere significado cuando moléculas cargadas se someten al efecto de un campo eléctrico, (electroforesis) y tiene en cuenta no solo la concentración iónica, sino también su carga. La fuerza iónica de la solución reguladora influye grandemente en la velocidad, ya que a mayor fuerza iónica menor velocidad de movimiento, por lo tanto las bandas se reducen. El amperaje es directamente proporcional a la fuerza iónica y debe tomarse en cuenta cuando se selecciona la fuerza iónica de la solución reguladora. En la práctica se puede trabajar con fuerza iónica de 0.01, pero la fuerza iónica óptima para la separación de las proteínas es de 0.05.

Voltaje, amperaje, calor y tiempo.

El voltaje es la fuerza de conducción de la electroforesis o la diferencia de potencial. A medida que el voltaje aumenta se incrementa la velocidad de movimiento electroforético, sin embargo el amperaje también aumenta en forma proporcional, por lo tanto, debe existir un factor limitante para el voltaje y amperaje.

Calor Volts. Corriente. Tiempo

Generalmente en los métodos sofisticados de dispersión del calor, el voltaje no debe excederse de 600 v/cm.

La movilidad aumenta cuando se eleva la temperatura, pero las proteínas pueden desnaturalizarse, por lo tanto, se debe tener cuidado de no exceder de 50°C. Otro inconveniente de la temperatura es que aumenta la evaporación y con esto la fuerza iónica, por consiguiente, la temperatura debe ser la del medio ambiente o más baja, esto se consigue disminuyendo el voltaje.

Movimiento del amortiguador Electro- Osmosis.

La principal ventaja de la electroforesis de zona sobre la de frente móvil, es la relativa estabilidad de la solución reguladora. Sin embargo, todavía persiste un grado de movilidad que afecta grandemente; la difusión libre (movimiento Browniano) está todavía presente aunque reducida grandemente debida a la matriz sólida. La matriz actúa como un capilar y a medida que se produce la evaporación los poros vacíos se llenan rápidamente desde los recipientes de la solución reguladora.

El mayor movimiento de la solución reguladora se debe a la electroósmosis. El acetato de celulosa contiene grupos polares, hidroxil (OH) y acetilo ($-\text{CH}_2\text{COO}^-$) los cuales llegan a estar cargados cuando se exponen a una diferencia de potencial (voltaje). Estos grupos cargados negativamente tienden a moverse hacia el ánodo. Sin embargo están ligados químicamente a los grupos acetilo de la celulosa. Puesto que si una fuerza existe en una dirección, de acuerdo a Newton una fuerza igual debe ser

exhibida en dirección opuesta. Esta fuerza de reacción estará representada por la solución reguladora moviéndose hacia el cátodo. Considerando de nuevo nuestra solución proteica de albúmina (P.I. 4.7) y gamma (P.I. 7.2) en una solución reguladora alcalina (8.8) Fig No 6. Ambas estarán cargadas negativamente por lo tanto seran atraídas hacia el ánodo. Sin embargo, la fuerza electroosmótica es generalmente mayor que la fuerza electroforética sobre las gamma globulinas; y muy frecuentemente la gamma globulina se moverá hacia el cátodo. Es posible alcanzar un punto sobre la tira donde estas dos fuerzas sean iguales y el movimiento proteico resulta nulo. Literalmente las proteínas alcanzan un punto de equilibrio.

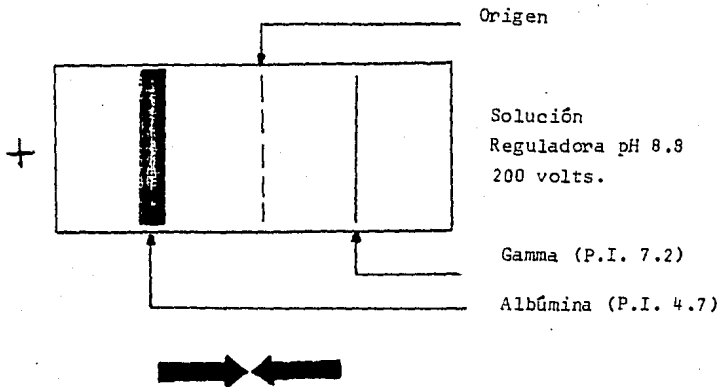


Fig No. 6 Fuerza Electro - Osmótica.

Interpretación.

En los últimos 5 años ha habido magníficos adelantos para reducir tiempo y dificultad en la obtención de buenos patrones electroforéticos. No hay procedimientos que sean capaces de detectar ampliamente un espectro

de estados de enfermedad o salud como la electroforesis de proteínas en suero.

Unos cuantos laboratorios clínicos comprenden todos los aspectos del patrón electroforético, el cual está contenido completamente en un reporte que contiene 5 fracciones proteicas valuadas en una gráfica.

Una comprensión básica de los componentes mayores que integran las 5 fracciones del estándar de proteínas pueden incrementar considerablemente el significado de la electroforesis, e implica un diagnóstico clínico de más largo alcance.

En orden de movimiento, de cátodo a ánodo, las fracciones individuales han sido nombradas; gamma (γ), beta (β), alfa 2 (α_2), alfa 1 (α_1), globulinas y albúmina (alb). Fig No. 7.

Cada una de estas 5 fracciones está compuesta de numerosas entidades proteicas específicas. Debido a su similitud en carga y límite de resolución las proteínas aparecen como una fracción. Aun cuando no identifiquemos las características de estas proteínas, la fisiopatología de estas subfracciones está ampliamente establecida por métodos como:

a) Inmunodifusión (alfa 1, antitripsina, alfa 2 macroglobulina, factor C_3 del complemento). b) Nefelometría (Ig A, IgG, IgM), para entender suficientemente su significado clínico.

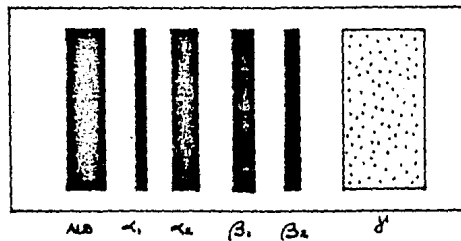


Fig No. 7 Patrón Normal de Proteínas
en suero sobre acetato de celulosa.

Antes de hacer un análisis sofisticado de la gráfica electroforética es necesario obtener patrones relativamente consistentes y estar familiarizados con las gráficas normales. Fig No. 8

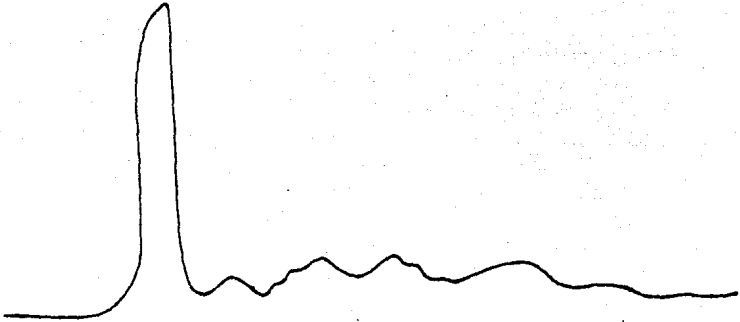


Fig No.8 Ubicación de las principales
proteínas en el trazo electro_
forético.
(empleando un patrón proteínico)

CAPITULO III

MATERIAL Y METODOS

Determinación de Proteínas Totales (Biuret).

Material Biológico.

- 0.1 ml de suero.

Material de labora_ torio.

- Tubos de ensaye.
- Pipetor automatico.
- Puntillas para pipetor automatico.
- Pipetas volumetricas de 5 ml.
- Espectrofotómetro de Coleman.

Reactivos.

- Reactivo de Biuret

Fundamento:

De los métodos colorimétricos usados en el análisis de proteínas el más empleado por su sencillez y reproducibilidad es el método de Biuret.

La reacción de Biuret se fundamenta en que al reaccionar un reactivo alcalino de cobre con una sustancia que contiene dos o más enlaces peptídicos, se produce color azul violeta debido al complejo que se forma entre el ión cúprico y dos enlaces peptídicos adyacentes.

Procedimiento.

Pipetear en los tubos la solución como se indica en el siguiente cuadro.

No.	Tubos	Blanco	Problema	Lab - Trol*	Monitrol *
1	Agua	0.1 ml	--	--	--
2	Suero Prob.	--	0.1 ml	--	--
3	Subs. Conc. Conocida	--	--	0.1 ml	0.1 ml
4	Reac.de Biuret	5.0 ml	5.0 ml	5.0 ml	5.0 ml

Agitar y dejar reposar 30 minutos.

Leer a longitud de onda de 550 nm con filtro correspondiente (verde) ajustando a 100% de transmitancia o cero de absorbancia con el blanco de reactivo. El color es estable dos horas.

* Sustancias comerciales de concentración conocida.

Electroforesis de Proteínas.

Material Biológico.

- Suero.

Material de Laboratorio.

- Membrana de acetato de celulosa.
- Papel secante
- Tiras de papel filtro.
- Dispensador de muestras (5 microlitros).
- Aplicador.
- Base de aplicador.
- Cámara de corrimiento.
- Integrador.
- Fuente de poder (0 a 500 volts).
- Probeta de 100 ml.

Reactivos.

- Solución reguladora Veronal sódico (pH 8.8)
- Colorante rojo de Ponceanu.
- Solución de ácido acético al 5%.
- Alcohol metílico (99.8%).
- Solución transparentizante (85 ml de metanol - 15 ml de ácido acético).

Fundamento:

El desplazamiento de las partículas coloidales en un campo eléctrico se denomina electroforesis. Además de la intensidad del campo eléctrico intervienen otros factores; la carga electroforética, forma y tamaño de las

partículas. Los diferentes tipos de proteínas muestran en un campo eléctrico diversos grados de emigración en relación con su forma, tamaño y carga. El pH de la solución (usualmente amortiguador de veronal sódico) en la que se introducen las proteínas juega un papel importante en lo que se refiere al tipo y cantidad de las cargas de cada partícula coloidal proteica.

Procedimiento:

- 1.- Coloque una membrana de acetato de celulosa en un recipiente con solución reguladora (veronal sódico pH 8.8) por 10 minutos.
- 2.- Mida 100 ml de solución reguladora (veronal sódico) y añada 50 ml en cada celda de la cámara de corrimiento.
- 3.- Coloque una tira de papel absorbente en cada celda de la cámara de corrimiento.
- 4.- Mientras pasan 10 minutos, ponga 5 microlitros de suero problema en los pozos numerados en la placa de depósito (capacidad 8 muestras).
- 5.- Saque la membrana del recipiente de la solución reguladora y colóquela entre dos pedazos de papel filtro (10 x 10 cms).
- 6.- Coloque en la base del aplicador en donde se depositará con el aplicador una pequeña muestra de cada uno de los sueros problema.
- 7.- Pase la membrana de la cámara de corrimiento teniendo cuidado de que el acetato toque perfectamente bien las tiras de papel absorbente.
- 8.- Conecte la cámara de corrimiento a una fuente de poder y seleccione un voltaje de 180 volts durante 17 minutos.
- 9.- Ponga transcurrido este tiempo la membrana en un recipiente que contenga colorante rojo de Ponceau durante 10 minutos con ligera agitación.
- 10.- Retire el colorante del recipiente y añada ácido acético al 5% durante 3 minutos.
- 11.- Repita el paso anterior hasta que las fracciones de proteínas sean nítidas y el resto del acetato de celulosa quede blanco.

- 12.- Pase la membrana a un recipiente y deje reposar con metanol durante 10 minutos.
- 13.- Retire el metanol y añada la solución clarificante (85 ml de metanol, 15 ml de ácido acético), durante 5 minutos.
- 14.- Coloque la membrana en una parrilla eléctrica a una temperatura entre 45 - 55 °C hasta que se clarifique completamente.
- 15.- Pase la membrana clarificada a un densitómetro para obtener la grafica correspondiente.

CAPITULO IV

RESULTADOS

Estos fueron obtenidos en el Hospital General de México de la S.S.A de muestras biológicas (sueros) clasificados clínicamente como normales.

Está se realizó de la siguiente manera:

1.- Interrogatorio.

Para conocer : sexo, edad, antecedentes patológicos personales, tipo y calidad de la alimentación.

2.- Pruebas de laboratorio.

Determinación de: Biometría hemática, exámen general de orina, copro-parasitoscópico, transaminasa glutámico pirúvica, transaminasa glutámico oxalacética, bilirrubinas.

El número de muestras biológicas (sueros) clasificados como normales fueron en total 533, de los cuales 46 corresponden a recién nacidos, 249 a hombres y 238 a mujeres clasificados de la siguiente manera, (Cuadro A).

Años Edad	Niñas	Niños
1 - 3	41	45
4 - 6	63	78
7 - 9	41	34
10 - 12	49	44
13 - 15	44	48

Cuadro A. Clasificación de la población considerando edad y sexo.

En las 533 muestras aparte de los exámenes citados se les determinó proteínas totales por el método de Biuret y electroforesis, los resultados obtenidos, así como la media, desviación estandar e intervalos de confianza (fueron determinados con 1.98 desviaciones estandar), los cuales se ilustran en los cuadros I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII.

Edad Años	Sexo	Media	Đ. estandar	I. confianza
Recien Nacido	Niña	5.42	0.92	4.52 - 6.32
	Niño	5.01	0.99	4.02 - 6.00
1 - 3	Niña	6.62	0.60	6.02 - 7.22
	Niño	6.63	0.66	5.97 - 7.29
4 - 6	Niña	7.34	0.86	6.48 - 8.20
	Niño	7.38	0.76	6.62 - 8.14
7 - 9	Niña	7.60	0.76	6.84 - 8.36
	Niño	7.46	0.78	6.68 - 8.24
10 - 12	Niña	7.65	0.87	6.78 - 8.52
	Niño	7.57	0.83	6.74 - 8.40
13 - 15	Niña	7.78	0.92	6.86 - 8.70
	Niño	7.88	0.73	7.15 - 8.61

Cuadro No I. Determinación de Proteínas Totales mg/dl (Biuret) en la Población Infantil.

Edad Años	Sexo	Media	D.estandar	I.confianza
Recien Nacido	Niña	2.98	0.89	2.09 - 3.87
	Niño	2.93	0.90	2.03 - 3.87
1 - 3	Niña	3.33	0.85	2.48 - 4.18
	Niño	3.39	0.79	2.60 - 4.18
4 - 6	Niña	3.47	0.80	2.67 - 4.27
	Niño	3.42	0.83	2.59 - 4.25
7 - 9	Niña	3.82	0.78	3.04 - 4.60
	Niño	3.80	0.79	3.01 - 4.59
10 - 12	Niña	3.96	0.87	3.09 - 4.83
	Niño	3.98	0.90	3.08 - 4.88
13 - 15	Niña	4.23	0.93	3.30 - 5.16
	Niño	4.28	0.86	3.42 - 5.14

Cuadro No. II. Determinación de Albúmina mg/dl en
la Población Infantil.

Edad Años	Sexo	Media	D. estandar	I. confianza
Recién Nacido	Niña	2.44	0.89	1.55 - 3.33
	Niño	2.39	0.91	1.48 - 3.30
1 - 3	Niña	3.19	0.78	2.14 - 3.97
	Niño	3.01	0.93	2.08 - 3.94
4 - 6	Niña	3.69	0.98	2.71 - 4.67
	Niño	3.79	0.93	2.86 - 4.72
7 - 9	Niña	3.70	0.88	2.97 - 4.73
	Niño	3.73	0.90	2.83 - 4.63
10 - 12	Niña	3.78	0.94	2.84 - 4.72
	Niño	3.52	0.99	2.53 - 4.51
13 - 15	Niña	3.73	0.94	2.79 - 4.67
	Niño	3.79	0.96	2.83 - 4.75

Cuadro No III. Determinación de Globulinas mg/dl
en la Población Infantil.

Edad Años	Sexo	Media	D. estandar	I. confianza
Recién Nacido	Niña	0.21	0.11	0.10 - 0.32
	Niño	0.22	0.10	0.12 - 0.32
1 - 3	Niña	0.24	0.11	0.13 - 0.35
	Niño	0.27	0.09	0.13 - 0.36
4 - 6	Niña	0.29	0.12	0.17 - 0.41
	Niño	0.31	0.10	0.21 - 0.41
7 - 9	Niña	0.30	0.14	0.16 - 0.44
	Niño	0.32	0.12	0.20 - 0.44
10 - 12	Niña	0.31	0.13	0.18 - 0.44
	Niño	0.30	0.11	0.19 - 0.41
13 - 15	Niña	0.31	0.12	0.20 - 0.44
	Niño	0.34	0.13	0.21 - 0.47

Quadro No IV. Determinación de Alfa₁ globulinas mg/dl en la Población Infantil.

Edad Años	Sexo	Media	D. estandar	I. confianza
Recién Nacido	Niña	0.62	0.22	0.40 - 0.84
	Niño	0.60	0.20	0.40 - 0.80
1 - 3	Niña	0.67	0.23	0.44 - 0.90
	Niño	0.65	0.21	0.44 - 0.86
4 - 6	Niña	0.76	0.27	0.49 - 1.03
	Niño	0.74	0.29	0.45 - 1.03
7 - 9	Niña	0.82	0.30	0.52 - 1.12
	Niño	0.80	0.29	0.51 - 1.09
10 - 12	Niña	0.87	0.32	0.55 - 1.19
	Niño	0.89	0.30	0.59 - 1.25
13 - 15	Niña	0.92	0.33	0.59 - 1.25
	Niño	0.94	0.34	0.60 - 1.28

Cuadro No V. Determinación de Alfa₂ globulinas mg/dl
en la Población Infantil.

Edad Años	Sexo	Media	D. estandar	I. confianza
Recién Nacido	Niña	0.56	0.19	0.37 - 0.75
	Niño	0.59	0.21	0.38 - 0.80
1 - 3	Niña	0.90	0.20	0.74 - 1.14
	Niño	0.93	0.22	0.71 - 1.15
4 - 5	Niña	0.95	0.18	0.77 - 1.13
	Niño	0.97	0.19	0.78 - 1.16
7 - 9	Niña	0.99	0.19	0.80 - 1.18
	Niño	0.98	0.20	0.78 - 1.18
10 - 12	Niña	0.97	0.21	0.78 - 1.18
	Niño	0.99	0.20	0.79 - 1.19
13 - 15	Niña	1.00	0.22	0.78 - 1.22
	Niño	1.01	0.20	0.81 - 1.21

Quadro No VI. Determinación de Betas globulinas mg/dl
en la Población Infantil.

Edad Años	Sexo	Media	D. estandar	I. confianza
Recién Nacido	Niña	0.99	0.37	0.62 - 1.36
	Niño	0.97	0.35	0.62 - 1.32
1 - 3	Niña	0.91	0.40	0.51 - 1.31
	Niño	0.93	0.39	0.54 - 1.32
4 - 6	Niña	0.96	0.43	0.53 - 1.39
	Niño	0.99	0.41	0.58 - 1.40
7 - 9	Niña	1.08	0.45	0.63 - 1.53
	Niño	1.05	0.44	0.61 - 1.49
10 - 12	Niña	1.07	0.43	0.64 - 1.50
	Niño	1.11	0.41	0.70 - 1.52
13 - 15	Niña	1.12	0.40	0.72 - 1.52
	Niño	1.16	0.43	0.73 - 1.59

Quadro No VII. Determinación de Gamma globulinas mg/dl
en la Población Infantil.

Edad Años	Sexo	Media	D. estándar	I. confianza
Recién Nacido	Niña	1.24	0.56	0.68 - 1.80
	Niño	1.23	0.52	0.71 - 1.75
1 - 3	Niña	1.09	0.43	0.66 - 1.52
	Niño	1.12	0.45	0.67 - 1.57
4 - 6	Niña	0.98	0.47	0.51 - 1.45
	Niño	0.97	0.49	0.48 - 1.46
7 - 9	Niña	1.06	0.50	0.56 - 1.56
	Niño	1.04	0.51	0.53 - 1.55
10 - 12	Niña	1.09	0.54	0.55 - 1.63
	Niño	1.12	0.52	0.60 - 1.64
13 - 15	Niña	1.13	0.56	0.57 - 1.69
	Niño	1.15	0.53	0.62 - 1.68

Cuadro No. VIII. Determinación de la Relación A/G
en la Población Infantil.

DISCUSION DE RESULTADOS

- 1.- Con respecto a los valores obtenidos en la determinación de proteínas totales por el método de Biuret se encontró un aumento de éstas al incrementarse la edad. (cuadro I).
- 2.- En el patrón electroforético de esta población se encontró un aumento de globulinas y albúmina al incrementar la edad (cuadro II), al igual que las fracciones alfa 1, alfa 2, beta y gamma.
- 3.- En la relación albúmina / globulinas se observa una disminución a partir del nacimiento hasta alcanzar los 6 años, con un aumento posterior, esto puede deberse a que en la fracción globulinas se observa un incremento después de los 6 años en donde no aumenta tan considerablemente la albúmina.

CAPITULO V

CONCLUSIONES

En base a estos resultados, podemos considerar que el nivel alimenticio del niño aumenta ya que es la ingesta proteica la que proporciona un nivel adecuado de proteínas plasmáticas.

De acuerdo con la hipótesis propuesta al inicio de este trabajo se esperaba encontrar valores de referencia inferiores a los reportados por la literatura americana, sin embargo los valores obtenidos demuestran que no existe variación significativa entre unos y otros.

Esto nos hace pensar que la alimentación que reciben nuestros niños no es tan pobre en proteínas como lo suponíamos, y que aunque en la dieta no se consuman el mismo contenido y calidad proteica, unas proteínas son substituidas por otras y de esta manera la ingesta proteica es equilibrada.

Otra razón por la que consideramos no se encontró variación es que la muestra fué tomada de población de clase media que asiste al Hospital General de México de la S.S.A. la cual si no consume alimentos ricos en proteínas (leche, carne, huevo, pescado) todos los días por lo menos los consume cada tercer día.

Por lo anteriormente expuesto podemos concluir que los valores obtenidos de este estudio no pueden ser tomados como referencia para la población en general. Por lo tanto para que estos valores puedan ser aplicados en la población infantil en general, sería necesario realizar un estudio socioeconómico más minucioso y muestrear una población más variada considerando niños de toda la república.

CAPITULO VI

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Gray, G.W. Electroforesis . Scientific American Estados Unidos de Norteamerica 1951. pp 3 - 11
- 2.- Ref. 1 pp 3 - 11
- 3.- Ref. 2 PP 3 - 11
- 4.- Baker J.J.W. Biología e Investigación Científica. Fondo educativo interamericano S.A. Eds. 1a Ed. México 1967 pp 4389 - 4409.
- 5.- Golias, T.L. Manual de Electroforesis. Laboratorios Helena, S.A. Eds, Estados Unidos de Norteamerica 1974 pp 1- 29.
- 6.- Ref. 1 pp 3 - 11
- 7.- Harper, H.A. Review of Physiological Chemistry. Lange Medical Publications Eds. 15a Ed California 1975 pp 663 - 71, 199 - 203.
- 8.- Ref. 1 pp 3 - 11.
- 9.- Ref. 4 pp 4389 - 4409.
- 10.- Ref. 4 pp 4389 - 4409
- 11.- Laguna, J. Bioquímica. Fournier, S.A. Eds. 3a Ed México 1979 pp 30 - 47, 108 - 185, 426 - 525.
- 12.- Ref. 4 pp 4389 - 4409.

- 13.- Gyton, A.C. Tratado de Fisiología Medica. Interamericana, S.A. Eds. 3a Ed. México 1969, pp 815-816, 859-867.
- 14.- Ref. pp 815-816, 859-867.
- 15.- Ref. 11 pp 30-47, 108-185, 426-535.
- 16.- Todd Sanford, I Davidson, J.B. Henry Diagnostico Clínico por el laboratorio. Salvat Eds. 6a Ed. Barcelona España 1981, pp 578-579, 583-592.
- 17.- Ref. 4 pp 4389-4409.
- 18.- Ref 11 pp 108-185, 426-525.
- 19.- Ref 4 pp 4389-4409.
- 20.- Ref. 13 pp 815-816, 859-867.
- 21.- Ref 11 pp 108-185, 426-525.
- 22.- Pearson, E.M.S. Ingesta Metabolismo Equilibrio Vital. Norwich Pharma, Co. Eaton Laboratorios Eds. México 1978, pp 1-5.
- 23.- Ref 5 pp 1-29.
- 24.- Ref 11 pp 30-47, 108-185, 426-525.
- 25.- Ref 13 pp 815-816, 859-867.
- 26.- Ref 11 pp 30-47, 108-185, 426-525.
- 27.- Ref 13 pp 815-816, 859-867.

- 28.- Ref 11 pp 30-47,108-185,426-525.
- 29.- Ref 13 pp 815-816,859-867.
- 30.- Ref 11 pp 30-47, 108-185, 426-525.
- 31.- Ref 5 pp 1 - 29.
- 32.- Ref 4 pp 4389-4409.
- 33.- Ref 5 pp 1-29.

ANEXOS

Reactivo de Biuret.

Sulfato de CObre	1.5 grs
Yoduro de potasio	1.0 grs
Tartrato de sodio y potasio	6.0 grs.
Agua c.b.p.	1000 ml.

En un matraz volumetrico de 1000 ml. poner el sulfato de cobre y el tartrato de sodio y potasio y agregar aproximadamente 500 ml de agua destilada y agitar hasta la dilución , agregar con agitación constante 300 ml. de NaOH 2.5 N y mezclar.

Agregar el yoduro de potasio hasta dilución
Aforar a 1 lt. y conservar en frasco obscuro.