



**Valor Diagnóstico de la Euglobulina sérica  
en las Enfermedades Infecciosas**

**TESIS**

**LUZ DEL SOCORRO ALBORES ZARATE**

**MEXICO, D. F.**

**1967**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta 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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE QUIMICA

---

**Valor Diagnóstico de la Euglobulina sérica en las  
Enfermedades Infecciosas**

**LUZ DEL SOCORRO ALBORES ZARATE**

**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

**1967**

**JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE.**

**PRESIDENTE:** Q.F.B. FERNANDO VELEZ OROZCO.

**VOCAL:** Q.F.B. RAMON CUEVARA ESTRADA.

**SECRETARIO** Q.F.B. GUADALUPE VELEZ PRATT.

**1er. SUPLENTE** \_\_\_\_\_

**2do. SUPLENTE** \_\_\_\_\_

**SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:** HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO.

**NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL JUSTIFICANTE:** Luz del Socorro Albores Zúrate.

**Firma:** *Luz del Socorro Albores Zúrate*

**NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL ASESOR:** Q.F.B. Guadalupe Velez Pratt.

**Firma:** *Guadalupe Velez Pratt*

**NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL SUPERVISOR TECNICO:** Q.F.B. Salvador Martín Sosa.

**Firma:** *Salvador Martín Sosa*

*A mis padres:*

**SR. PROFR. EDUARDO J. ALBORES G.  
SRA. MARTHA E. ZARATE DE ALBORES.**

*Cuyos ejemplos de rectitud y abnegación han sido la guía y el sostén que han permitido ver realizados mis anhelos; como una humilde recompensa a su amor y a sus sacrificios.*

*A mi hermana. con mucho cariño.*

*Con amor, a  
PEPE.*

*Con sincera admiración y gratitud al Sr.  
Q. F. B. SALVADOR MARTIN SOSA  
cuya valiosa dirección fue posible  
realizar esta tesis.*

*A todos y a cada uno de mis maestros y amigos,  
a quienes siempre recordaré con cariño.*

**AL HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO,**  
*con agradecimiento por las facilidades que  
se me concedieron para llevar a cabo  
este estudio.*

**AL HONORABLE JURADO.**

## C O N T E N I D O

- I.—INTRODUCCION.
- II.—GENERALIDADES.  
HISTORIA.  
DESARROLLO DE INSTRUMENTACION FISICOQUIMICA Y DE PROCEDIMIENTOS DE FRACCIONAMIENTO.  
PROBLEMAS DE NOMENCLATURA.  
EL SISTEMA DE LAS GLOBULINAS GAMMA: definición, propiedades físicas.  
ORIGEN CELULAR DE LAS INMUNOGLOBULINAS.  
SOBREPRODUCCION DE INMUNOGLOBULINAS.  
MACROGLOBULINAS O COMPONENTES 19S DE SUE-RO NORMAL.  
MACROGLOBULINAS.  
PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS DE MACROGLOBULINAS NORMALES Y PATOLOGICAS.
- III.—MATERIAL Y METODO.
- IV.—RESULTADOS.
- V.—DISCUSION.
- VI.—CONCLUSIONES.
- VII.—BIBLIOGRAFIA.



## INTRODUCCION

En el estudio realizado por Biro (1) sobre niveles séricos de euglobulina en sujetos adultos aparentemente sanos y en individuos también adultos con diversos padecimientos clasificables como infecciosos, fueron obtenidas evidencias de que la concentración de tales componentes del suero se eleva en pacientes con artritis reumatoide ó con infecciones bacterianas agudas.

Si bien esta prueba no es de carácter específico desde el punto de vista de la etiología de la infección, debe considerarse de interés diagnóstico por varias razones:

a) Es sencilla y de fácil realización por el Laboratorio.

b) El número de "falsas positivas" y de "falsas negativas" es pequeño.

c) En ausencia de artritis reumatoide ó de fibrosis intersticial difusa pulmonar (padecimientos en los que se eleva el nivel de euglobulina sérica), una concentración anormal de euglobulina en el suero, superior a 2.5 unidades, indica con gran seguridad la existencia de una infección bacteriana activa.

d) La elevación del contenido de euglobulina en el suero ocurre con bastante rapidez, alcanzando su valor máximo aproximadamente una semana después de iniciarse la infección, y más o menos con la misma rapidez re-

torna a niveles normales (2.5 unidades o menos) una vez que la infección ha sido eliminada.

c) La euglobulina sérica no aumenta en padecimientos no infecciosos en los que se presentan hiperglobulinemia, lo cual permitiría diferenciar, por ejemplo, una fiebre reumática activa de una endocarditis bacteriana subaguda.

El objeto del presente trabajo ha sido estudiar los niveles de euglobulina sérica en niños exclusivamente, en los cuales presentan gran incidencia los padecimientos de carácter infeccioso de etiología bacteriana y viral.

## GENERALIDADES

A través de sus innumerables componentes proteínicos, el plasma contribuye a satisfacer las necesidades de nitrógeno, al mantenimiento de la presión osmótica, del pH, y del equilibrio hidroelectrolítico, al transporte de iones metálicos, ácidos grasos, esteroides, hormonas, drogas, etc. está en continua disponibilidad como una fuente nutricional de aminoácidos para los tejidos y como regulador de la actividad celular, y para la defensa frente a la invasión y el daño por medio de la acción de anticuerpos y otros factores séricos (2). Como evidencia de su importancia fisiológica y como componentes de un sistema metabólicamente dinámico, las proteínas plasmáticas fluctúan en las enfermedades, con respecto a sus componentes mayores, albúminas y globulinas, y a los componentes menores, tales como las enzimas metabólicas transitorias que pueden reflejar daño tisular y daño celular. El interés en los cambios de las proteínas plasmáticas como respuesta a padecimientos ha conducido a innumerables estudios clínicos y a impulsado investigaciones minuciosas sobre la naturaleza y funciones de las proteínas plasmáticas.

## HISTORIA

Aunque el suero debe haber sido conocido desde hace mucho tiempo, a causa de la sinéresis del coágulo, era a la sangre completa a la que se atribuían virtudes recuperativas y rejuvenecedoras en la antigüedad. Por eso se atribuye a los primitivos egipcios haberse bañado en sangre, y a los romanos haber bebido la que fluía de los gladiadores agonizantes. Sin embargo, en la ley hebrea, fueron colocadas sanciones contra la "comida de sangre", y escrupulos religiosos similares fueron alzados frente a los primeros intentos de transfusión.

Con el tiempo, las funciones del plasma vinieron a ser conocidas y sus proteínas fueron estudiadas aprovechando su disponibilidad y facilidad de aislamiento. La albúmina y la fibrina sanguíneas fueron analizadas primeramente por Liebig y Mulder en 1830 en que el término "proteína" fue introducido.

Sin embargo, el estudio de los componentes del suero se inició hace alrededor de un siglo, cuando diversos investigadores observaron la formación de un precipitado en suero diluido y acidificado ligeramente. Panum en 1851 designó el precipitado como "sero-caséina" para distinguirla de la seroalbúmina, pero Schmitz en 1862 introdujo el nombre de globulina para la fracción proteínica que era insoluble en agua. Heynsius demostró, en 1869, que el precipitado insoluble en agua era similar al obtenido en la saturación con NaCl, y más tarde otros investigadores emplearon sales diferentes para la precipitación de globulinas. La introducción de la precipitación fraccionada con sulfato de amonio como un medio de separación de las proteínas séricas se atribuye a Hofmeister.

Al iniciarse este siglo llegó a ser obvio que la "globulina total" podía ser fraccionada por diálisis frente a agua y por precipitación con sal. El término "euglobulina" (globulina verdadera) fué introducido para la fracción que precipitaba en la diálisis frente al agua entre 28% y 33% de saturación con sulfato de amonio, y la fracción precipitada subsecuentemente por elevación de la saturación a 34%—46% fué designada "pseudoglobulina" (globulina falsa), la cual se diferencia de la euglobulina por ser soluble en agua pura o al menos en solución salina muy diluida. Más tarde, se desarrolló una gran variedad de términos a medida que fueron desarrollados otros procesos de fraccionamiento (3).

20-25%	saturación (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> :	precipitación del fibrinógeno
33%	" "	precipitación de euglobulina (definición posterior: precipitación por dilución con agua destilada) (4).
50%	" "	precipitación de pseudoglobulina.

Las albúminas permanecen disueltas.

No es sorprendente que el fraccionamiento de una mezcla tan compleja de proteínas como es el suero haya conducido a mucha confusión, especialmente antes del desarrollo de aparatos fisicoquímicos para la caracterización de las fracciones. Alrededor de 1920-25, procedimientos tales como el método de sulfato de sodio de Howe fueron agregados al manual de laboratorio químico clínico, y se despertó el interés en las variaciones de componentes plasmáticos en relación con las enfermedades. Euglobulina y Pseudoglobulina fueron redefinidos por Howe en términos de solubilidad en soluciones de sulfato de sodio. Howe (5) desarrolló un método de separación de las proteínas del suero sanguíneo en fracciones globulina y albúmina por precipitación con sulfato de sodio; en este procedimiento, Howe trató 1 ml. de suero con 30 ml. de sulfato de sodio al 22.2%, el cual dió una concentración final de sal de 21.5%. La fracción proteínica precipitada fue designada como la fracción globulina y lo que queda en solución como la fracción albúmina. La determinación del nitrógeno que queda en solución permitió el cálculo de la albúmina total. La substracción del nitrógeno albuminoideo del nitrógeno proteínico total del suero dió el nitrógeno globulínico, del cual pudo ser calculada la globulina total. Por precipitación del suero con soluciones de sulfato de sodio al 13.5, 17.4 y 21.5%, Howe obtuvo lo que él designó como euglobulina, pseudoglobulina y valeres globulínicos totales. Este método o alguna modificación del mismo, son aún muy usados en el Laboratorio Clínico y proporcionan resultados de valor en diagnóstico y tratamiento.

## DESARROLLO DE INSTRUMENTACION FISICOQUIMICA Y DE PROCEDIMIENTOS DE FRACCIONAMIENTO

La identificación, caracterización y separación de las proteínas plasmáticas fué grandemente facilitada por el advenimiento de la ultracentrífuga analítica de Svedberg y el aparato de electroforesis de límite móvil de Tiselius. El primer fraccionamiento de suero en la ultracentrífuga fue llevado a cabo en Uppsala por Pedersen en 1930, pero el campo gravitacional fue bajo para obtener la separación de albúmina y globulinas. Con el progreso de la ultracentrífuga, von Mutzenbecher logró la separación en 2 com-

ponentes principales (4.5 S y 6.8 S) más una pequeña cantidad de un material de alto peso molecular (17 S). Mc Farlane fue el primero en investigar a fondo, con la ultracentrífuga, los sueros normales humanos, de equinos y de bovinos. También inició el estudio de sueros humanos patológicos y de mezclas artificiales de albúmina y globulinas. En su trabajo y en el de Pedersen se halló una "proteína X", la cual variaba con la dilución del suero y la densidad de la solución. La "proteína X" estaba siempre asociada con lípidos, y un poco más tarde Gofman y sus colaboradores encontraron la explicación en el comportamiento de flotación de lipoproteínas de baja densidad. El resultado más importante de los primeros trabajos en la ultracentrífuga fué que condujeron al abandono del concepto de las proteínas como sistemas coloidales heterogéneos, cediendo así el lugar al concepto de que las proteínas existen como sustancias moleculares definibles y específicas, y sobre la base de este concepto ha sido posible tratar el estudio de las proteínas como una rama verdadera de la Química; en la actualidad se reconoce la existencia de moléculas proteínicas bien definidas en el plasma, en lugar de la antigua concepción de micelas de carácter coloidal, difusas, y aún cuando hasta hoy no se dispone de un esquema completo sobre la constitución molecular de las proteínas plasmáticas, se han hecho ya importantes progresos (6).

Por la misma época, Tiselius desarrolló el aparato de electroforesis de límite móvil capaz de cuantificaciones precisas en proteínas purificadas y en mezclas tales como el suero. Así descubrió y denominó las fracciones  $\alpha$ ,  $\beta$ , y  $\gamma$  globulina. La subdivisión de las globulinas en  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\delta_1$ ,  $\delta_2$ , etc., resultó de progresos posteriores en el aparato de Tiselius y de una mejor selección de soluciones amortiguadoras por investigadores posteriores.

Cuando los aparatos para la caracterización fisicoquímica de las proteínas estuvieron más ampliamente disponibles, otros investigadores como Kendall, Hewitt, Neurath, Mc Meekin y Green emprendieron la purificación de la albúmina del suero y el fraccionamiento de las globulinas usando soluciones de sulfato de amonio. (TABLA No. 1).

**TABLA 1.—Valores normales de las proteínas séricas en la separación electroforética sobre papel.**

Proteínas totales	Valores absolutos (g %)	Valores relativos en % de proteínas totales
	7.99 ± 0.33	
Albuminas	3.99 ± 0.29	54.6 ± 4.0
$\alpha_1$ -globulina	0.38 ± 0.09	5.2 ± 1.1
$\alpha_2$ -globulinas	0.65 ± 0.07	8.9 ± 1.3
$\beta$ -globulina	0.85 ± 0.11	11.7 ± 1.5
$\gamma$ -globulinas	1.42 ± 0.15	19.6 ± 2.1

Otro paso importante se dio al lograrse la separación electroforética de las proteínas en combinación con su análisis inmunológico. De este modo fué posible aislar las proteínas séricas de actividad antigénica e identificar las diversas fracciones por su movilidad electroforética, usando diversas coloraciones especiales y mediante el uso de antisueros específicos.

El fraccionamiento electroforético se realiza en 2 fases. Durante la primera las seroproteínas quedan separadas, como en la electroforesis ordinaria, en 5 fracciones. En la segunda fase, que se hace en gel de agar, se lleva a cabo la difusión de las fracciones electroforéticas "contra" antisueros obtenidos por inyección de suero humano a conejos, caballos, etc. De esta manera, cada seroproteína con estructura antigénica propia produce una zona-línea de precipitación claramente visible.

Al contrario de la extracción salina y las separaciones electroforéticas y por ultracentrifugación, la inmunoelectroforesis no permite determinaciones cuantitativas, aún cuando pueden hacerse estimaciones semicuantitativas recurriendo a técnicas adecuadas.

El desarrollo de nuevos métodos de separación y caracterización de proteínas según sus propiedades físicas y químicas, ha conllevado a modificaciones sucesivas de nomenclatura o de clasificación de muchas de ellas. Tenemos el caso de las albuminas, por ejemplo, que en un principio se definieron como aquellas proteínas séricas que permanecen disueltas en agua destilada a una sa-

turación de 50% de sulfato amónico; luego se definieron como aquellas proteínas que en la ultracentrífuga sedimentan con una constante de sedimentación de 4.6. La separación electroforética las definió como aquella fracción que más rápidamente se moviliza en pH básico. Por otra parte, ninguna de estas "fracciones albúmina" coincide del todo con las otras.

El método del etanol en frío, desarrollado por Cohn y colaboradores (7) alrededor de 1940, ha sustituido casi por completo a los métodos de fraccionamiento por precipitación salina utilizados por casi un siglo. Útiles aún, sobre todo para volúmenes reducidos de soluciones proteínicas, estos últimos métodos no permiten, por lo general, obtener fracciones de gran pureza; sin embargo, constituyen medios excelentes de separación si esta ha de completarse por procedimientos cromatográficos o electroforéticos.

El fraccionamiento del plasma por medio de etanol a diversas concentraciones, temperaturas y fuerzas iónicas, bases del método de Cohn, permite la separación simultánea o sucesiva de varios componentes en forma notablemente reproducible, inclusive por lo que toca a la pureza de cada uno de ellos. Además, es un procedimiento de gran flexibilidad y fácil de adaptar a las condiciones necesarias para una elevada producción de derivados plasmáticos.

El impacto del nuevo procedimiento en la historia de las proteínas plasmáticas fué aún mayor que el desarrollo de los aparatos de electroforesis y de la ultracentrífuga. La albúmina del suero humano fué cristalizada por primera vez y se inició la disponibilidad en gran escala de este producto como sustituto del plasma en transfusiones.

Un resultado inmediato fué un gran impulso a las investigaciones sobre las propiedades físicas de la albúmina sérica, lo que ha hecho de ésta la proteína mejor caracterizada desde el punto de vista físico químico. El fibrinógeno y la globulina gamma se obtuvieron altamente purificados para productos que rápidamente hallaron uso clínico; la albúmina es usada por inyección intravenosa para restaurar el volumen sanguíneo después de shock o trauma y la globulina gamma es aplicada intramuscularmente para profilaxis de sarampión, parotiditis, hepatitis, etc.



La introducción del uso de iones metálicos (Zn) permitió el fraccionamiento más fino del plasma y la purificación de componentes menores. Si bien la colección y el fraccionamiento de plasma sanguíneo en gran escala, sobre todo por el método del etanol en frío, continúa siendo de gran importancia terapéutica, dicho método está cayendo en desuso en el laboratorio de investigación debido al advenimiento de la cromatografía en columnas de celulosa, de resinas intercambiadoras de iones y de otros compuestos también útiles para ese propósito.

## PROBLEMAS DE NOMENCLATURA

Aunque son fáciles de describir colectivamente, las proteínas plasmáticas presentan problemas de identificación, clasificación y nomenclatura. Esto es debido a su variedad, la enorme variación en concentración de componentes individuales, y la incertidumbre respecto a la inclusión de proteínas celulares transitorias y enzimas del sistema circulatorio.

Ya que la mayoría de las proteínas del plasma carecen de una actividad biológica específica conocida, su identificación está basada en propiedades electroforéticas o de solubilidad. El estudio de la bioquímica comparativa de las proteínas plasmáticas proporciona medios para el conocimiento mejor del desarrollo evolutivo y de las interrelaciones filogenéticas.

Los problemas de nomenclatura mencionados derivan del hecho de que históricamente las proteínas plasmáticas fueron primero denominadas y definidas por su solubilidad en agua y en soluciones salinas, después agrupadas dentro de 5 clases principales (por Tiselius) de acuerdo a su movilidad electroforética y a un pH limitado, definidas nuevamente en términos de solubilidad en etanol frío, y luego separadas por inmunoelectroforesis y electroforesis en gel de almidón en numerosos componentes de los cuales no todos han sido identificados. Una clasificación diferente es usada si las proteínas son agrupadas de acuerdo a su tamaño, carga o función. Las designaciones empleadas pueden referirse a la movilidad electroforética relativa, la identificación inmunológica o el polimerfismo genético.

La tendencia actual en la nomenclatura de las proteínas plas-

máticas es eliminar designaciones basadas en el método de detección o de fraccionamiento, y asignar nuevos nombres denotando la función especial de cualquier proteína una vez que ha sido aislada y caracterizada.

## EL SISTEMA DE LAS GLOBULINAS GAMMA.

### 1.—Definición.

Desde la introducción de la separación electroforética, se califican como globulinas gamma las proteínas séricas pertenecientes a la fracción de menor velocidad migratoria, en pH alcalino de 8.6. Sin embargo, no hay división totalmente definida entre las globulinas gamma y la fracción grande próxima: las globulinas beta; hay proteínas con movilidades intermedias entre las de las fracciones  $\alpha$  y  $\beta$  principales y en diferentes laboratorios la misma fracción proteínica puede ser descrita como globulina  $\beta$ ,  $\beta_2$ , o  $\tau$  (6).

La mayor parte de los anticuerpos se encuentran en la fracción gamma. En el organismo humano, el déficit de globulinas gamma, se traduce en disminución de resistencia frente a las infecciones. La asociación de anticuerpo precipitante con globulina gamma fue mostrada por primera vez por Tiselius y Kabat. En el suero de un conejo fuertemente inmunizado, la fracción globulina gamma estuvo presente en concentración considerablemente más alta que en el suero de un animal no inmunizado, mientras que las otras fracciones permanecieron inalteradas. Si los anticuerpos son eliminados por precipitación con el antígeno, la fracción gamma decrece mientras que las otras se mantienen constantes prácticamente. Este tipo de experimento ha sido repetido con frecuencia con sueros de diferentes especies y bajo diversas condiciones, y la asociación de anticuerpos precipitantes con globulina gamma parece ser un fenómeno general. Sin embargo, en diversas especies, como el caballo por ejemplo, el anticuerpo precipitante también está relacionado con otra fracción, detectable en un animal no inmune, con una movilidad entre las de los picos  $\beta$  y  $\delta$  (8).

Investigaciones comparativas realizadas con inmunosueros, antes de la absorción específica de anticuerpos y después de ella, dan por resultado la comprobación de que los anticuerpos circu-

lantes emigran en parte con las globulinas gamma y en parte con las beta. Por medio de la inmunoelectroforesis, puede mostrarse que proteínas con las estructuras antigénicas características de las proteínas que constituyen la masa principal de las proteínas contenidas en el vértice gamma del diagrama electroforético, también emigran con las globulinas beta y parcialmente con la alfa 2, tal como lo había postulado anteriormente Wuhrman (8) basándose sólo en observaciones clínicas. En estos hallazgos se fundamenta una segunda significación del concepto globulina gamma; según el cual la fracción globulinica gamma abarca a las proteínas que debido a su especial estructura antigénica precipitan con los anticuerpos anti-gamma. Definida en esta forma abarca todos los anticuerpos circulantes en el plasma. Se encuentran principalmente en el vértice gamma de la electroforesis libre y sobre papel, aunque también en pequeña cantidad en el vértice de las globulinas beta y alfa 2. El concepto electroforético e inmunológico de las globulinas gamma resulta exacto para la masa principal de las problemáticas moléculas proteínicas, no necesitando de más diferenciación para objetivos de la práctica clínica, pero desde el punto de vista teórico es necesario complementar este concepto, dilucidando si se habla de globulina gamma en el sentido electroforético o inmunológico.

## 2.—Propiedades físicas de las globulinas gamma.

### Electroforesis.

La característica más obvia del comportamiento de las globulinas gamma y anticuerpos es su amplio espectro de movilidad; Tiselius y Kabat (6) examinaron sueros antineumococo de caballo, cerdo, vaca, conejo, mono y hombre, y hallaron que mientras que en las 3 últimas especies los anticuerpos tenían la misma movilidad que la globulina gamma inerte, la mayor parte de los anticuerpos en los sueros de vaca, cerdo y caballo estaban asociados con un componente electroforético diferente que se movía entre las fracciones beta y gamma.

Deutsch y colaboradores determinaron en 1946, que la globulina gamma humana normal podía también ser dividida en 2 fracciones con movilidades medias significativamente diferentes, es de-

cir. observaron una fracción proteínica que en el campo eléctrico mostraba una movilidad mayor que las globulinas gamma clásicas, aun cuando su velocidad de migración era inferior a las de las globulinas beta. Designaron esta fracción como globulina  $\delta_1$  y llamaron globulina  $\delta_2$  a la fracción electroforética clásica. En la electroforesis del plasma, el fibrinógeno emigra entre las globulinas beta y gamma.

Estas globulinas presentan muchas características comunes con globulinas gamma: (8). Muestran una similitud antigénica parcial, es decir, poseen en parte las mismas o similares estructuras químicas de superficie. Son sintetizadas por los mismos tipos celulares que las globulinas gamma y su comportamiento metabólico es igual o muy parecido. Al igual que las globulinas gamma no son sintetizadas, o sólo en muy escasas cantidades, por el recién nacido, y su presencia en el suero parece depender de un estímulo antigénico; en las agammaglobulinemia disminuyen, en general, las 3 globulinas paralelamente. Además, tienen la misma función biológica de portadoras de la defensa humoral específica contra las infecciones.

Ciertas enfermedades ocasionan el aumento en el suero de proteínas relacionadas con las 3 clases de globulinas gamma normales (9). Así, en el mieloma múltiple aparecen en el suero grandes cantidades de proteína que poseen muchas de las propiedades de las globulinas  $\delta_1$  y  $\delta_2$ , incluyendo características antigénicas compartidas. En la macroglobulinemia ocurre la síntesis de grandes cantidades de una proteína semejante a la macroglobulina  $\delta_1$ . Estas globulinas patológicas difieren de las globulinas normales correspondientes en que son mucho más homogéneas electroforéticamente.

De acuerdo con la nomenclatura de Deutsch, estos 3 grupos de proteínas han sido designadas como globulinas  $\delta_{1A}$ ,  $\delta_{1B}$  y  $\delta_2$ , y sus características principales se resumen en la Tabla 2.

Las globulinas  $\delta_1$  constituyen la fracción más importante de las globulinas gamma, cuantitativamente. Las  $\delta_{1A}$  tienen un peso molecular semejante al de las  $\delta_1$ , pero se diferencian de ellas por su contenido en carbohidratos considerablemente más alto y por las diferencias de solubilidad que esto origina.

**TABLA 2.- Características de las globulinas gamma normales.**

CARACTERISTICAS	GLOBULINA.		
	(según la nomenclatura de Deutch)		
	$\gamma_{1A}$	$\gamma_{1A}$	$\gamma_2$
	SINONIMOS		
$P_{2A}$	$P_{2A}$ , 1954-	$\gamma$ , 75 $\beta$ -, $\gamma_{55}$	
<b>CONSTANTE I . SEDIMENTACION</b> S <sub>20,w</sub>	7S (65%) 10.5S(10%) 13S (5%)	18-20S	6-7S
<b>MOVILIDAD ELECTROFORETICA.</b> (en buffer de Michaeli a pH 8.6) (10 <sup>-5</sup> cm <sup>2</sup> /volt. seg.)	1.2 a - 3.6 (media 2.2)	aprox.-2	-0.6 a -3.0 (media -0.7)
<b>COMPOSICION QUIMICA:</b>			
% Nitrógeno -----	16.20%	14.47%	15.64%
Lipidos -----	-	-	-
Carbohidratos totales -----	10.66%	9.8%	2.50%
Hexosas -----	4.75%	5.20%	1.23%
Fucosa -----	0.22%	0.62%	0.29%
Hexosamina -----	3.75%	2.90%	1.14%
Ac. neuramínico -----	1.74%	1.70%	0.22%
<b>CONTENIDO EN SUERO NORMAL:</b>			
Media -----	112 mg%	75 mg%	1.40 mg%
Número de casos -----	25	22	25

## ORIGEN CELULAR DE LAS INMUNOGLOBULINAS

El parentesco estructural y funcional de estas proteínas ha conducido a darles el nombre de inmunoglobulinas (Heremans, 1959) (10) y a incluirlas en el grupo de las globulinas gamma.

Es generalmente aceptado que las inmunoglobulinas son originadas y puestas en circulación por células del sistema linfocítico (8), especialmente las células plasmáticas o las precursoras de células plasmáticas (11), debido a que ha podido comprobarse lo siguiente:

a) Durante la inmunización en animales y en el hombre, hay aumento de células plasmáticas.

b) Hay una relación lineal entre el nivel sérico de globulinas gamma y las células plasmáticas de la médula ósea (Martin y Neuberger 1957).

c) En extractos de tejidos constituidos de preferencia por células plasmáticas, existen grandes cantidades de globulinas gamma y anticuerpos.

d) Las células plasmáticas aparecen en el niño al final del primer trimestre de vida, es decir, cuando comienza a sintetizar los 3 componentes del sistema globulínico gamma.

e) En la agammaglobulinemia (síndrome de déficit de anticuerpos) faltan las células plasmáticas en todos los órganos.

f) La existencia de anticuerpos en células plasmáticas puede comprobarse por procedimientos inmunohistoquímicos; por medio de técnicas de anticuerpos fluorescentes puede hacerse evidente la presencia de anticuerpos en el citoplasma de la célula plasmática, sobre todo de la célula plasmática joven. Estas células, cuando son examinadas bajo microscopio electrónico, muestran una "laminación" característica del retículo endoplásmico altamente diferenciado.

g) Las células plasmáticas disponen de un aparato capacitado para la síntesis y secreción de proteínas y contienen gran cantidad de ácido ribonucleico citoplásmico.

## SOBREPRODUCCION DE INMUNOGLOBULINAS

Uno de los problemas en cualquier estudio detallado de las inmunoglobulinas circulantes es su evidente heterogeneidad, y el hecho de que puede ocurrir un exceso de una especie independientemente de la concentración de las otras.

El análisis electroforético de sueros en los que hay aumentos significativos de las globulinas gamma permite separarlos en 2 grupos: aquellos en los cuales el incremento es difuso y heterogéneo, y aquellos en los que el incremento está confinado a una franja discreta o sea globulina electroforéticamente homogénea.

*Condiciones frecuentemente asociadas con incrementos difusos de inmunoglobulina (11).*

- 1.—*Enfermedades virales: linfogranuloma, mononucleosis infecciosa, hepatitis.*
- 2.—*Enfermedades bacterianas: infecciones estafilocócicas severas crónicas, tuberculosis crónica.*
- 3.—*Micosis fungoides.*
- 4.—*Enfermedades protozoales: paludismo crónico, leishmaniasis visceral.*
- 5.—*Enfermedades con bases autoinmunes: lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide, tiroiditis de Hashimoto, anemia hemolítica adquirida.*

*Condiciones asociadas con incrementos discretos de inmunoglobulinas.*

- 1.—*Las mielomatosis y condiciones asociadas.*
- 2.—*Las macroglobulinemias.*
- 3.—*La hipergammaglobulinemia benigna esencial.*

*Crioglobulinas.*

Crioglobulinemia es la precipitación espontánea de globulinas

a medida que el suero se enfría de la temperatura fisiológica a 20°C o menos. Las crioglobulinas son, casi sin excepción, inmunoglobulinas; el poder evidenciarlas depende de la concentración relativa de estas y las otras proteínas séricas, particularmente albúmina.

#### *Condiciones clínicas asociadas con crioglobulinemia.*

*Neoplasias del sistema linforeticular:* leucemia linfática, linfosarcoma, sarcoma de la célula reticular, plasmocitoma intra y extra medular.

*Enfermedades del tejido conectivo:* artritis reumatoide, poliartritis nodosa, lupus eritematoso diseminado, síndrome de Sjögren.

#### *Hepatitis crónica*

*Discracias proteínicas primarias:* macroglobulinemia, hiperglobulinemia benigna esencial.

### MACROGLOBULINAS O COMPONENTES 19S DE SUERO NORMAL

Aunque la existencia de anticuerpos de alto peso molecular se conoce desde hace tiempo, sólo recientemente ha sido reconocida su amplia distribución y su importancia inmunológica como una clase distinta de anticuerpos.

La estructura polimérica de las macroglobulinas es de considerable interés químico, pero la idea de representarlas como polímeros simples de globulinas gamma de bajo peso molecular y anticuerpos no es correcta; aunque relacionadas entre sí, hay diferencias inmunológicas y químicas entre las formas monoméricas de las macroglobulinas y las globulinas gamma ordinarias (12). No se sabe aún si la estructura polimérica hace a estos anticuerpos más efectivos en su reacción con ciertos antígenos, pero existe ya alguna evidencia de que son agentes aglutinantes más efectivos de antígenos grandes como los glóbulos rojos y bacterias. Los antígenos utilizados en todos los estudios en que se han producido estos ti-



pos de anticuerpos en animales de laboratorio, han sido eritrocitos y bacterias, pero no se sabe aún si existe alguna relación directa entre el gran tamaño de estos antígenos y la producción de anticuerpos de alto peso molecular.

Las diferencias entre las macroglobulinas y las globulinas de bajo peso molecular son muchas; sin embargo, existen evidencias de que poseen agrupamientos antigénicos comunes, es decir, están relacionadas inmunológicamente (13). Las macroglobulinas representan, por lo tanto, una clase distinta de proteínas, las cuales son una parte de y están relacionadas con la gran familia de las globulinas gamma.

Este componente tiene una velocidad de sedimentación entre 17 y 20S y constituye del 2 al 5% de las proteínas séricas totales; un componente similar es también observado en muchos sueros animales, como el suero de conejo que tiene tal componente en concentración un poco más baja que el suero humano.

Recientemente ha sido demostrado que el componente 19S normal está formado de 2 clases muy diferentes de proteínas que pueden separarse fácilmente por electroforesis; una emigra como globulina  $\delta$  y la otra como globulina  $\alpha_2$  (14). Ambas macroglobulinas pueden obtenerse en forma altamente purificada por ultracentrifugación repetida, y luego separarse por electroforesis de zona (15), o bien por el proceso opuesto, es decir, separando primero el suero por electroforesis y luego analizando cada fracción electroforética en la ultracentrífuga.

Se han llevado a cabo experimentos para determinar la concentración relativa exacta de los 2 constituyentes y se ha obtenido la impresión de que la proteína alfa-2-19S se encuentra en concentración un poco más alta, generalmente (16).

#### MACROGLOBULINA $\delta$ .

Este es el componente de interés en el presente trabajo, ya que la euglobulina sérica es una medida de la cantidad de macroglobulina $\delta$ .

Heidelberg y Pedersen demostraron por primera vez (1937) la existencia de anticuerpos en la fracción  $\alpha_2$  19S, en suero de

caballo que contenía anticuerpos para el polisacárido del neumococo; este hallazgo ha sido repetido para numerosos anticuerpos y en diversas especies de animales (6). Hay también actualmente evidencias considerables de que los antígenos proteínicos producen primeros anticuerpos "19S" y después anticuerpos "7S", lo cual indicaría su importancia biológica al aparecer durante las primeras fases de la respuesta inmunológica.

El peso molecular de esta fracción es de 930,000 aproximadamente, las proteínas que la constituyen son precipitadas por soluciones de sulfato de amonio a concentraciones entre 1.1 y 1.6 M, así como por el agua destilada a pH 7, de ahí que deban ser calificadas de euglobulinas. Se ha calculado que corresponden al 5-10% de las globulinas gamma totales aún cuando todavía no se cuenta con métodos exactos para cuantificarlas. Un método que ha sido utilizado para medir niveles muy bajos de este componente en sueros agammaglobulinémicos y de recién nacidos, consiste en aislar por electroforesis zonal el material que emigra hacia el cátodo, y después colocar este material aislado en la ultracentrífuga analítica, en la cual se obtiene la medida relativa de los componentes 19S y 7S.

Un método que cuando menos permite observar este componente es la inmunoelectroforesis, y en tal caso recibe el nombre de globulina  $\beta_{11}$ .

Por medio de pruebas inmunológicas ha podido demostrarse una relación muy estrecha entre las macroglobulinas  $\beta_1$  normales y las macroglobulinas patológicas de Waldenström; esta similitud se extiende a cierto número de anticuerpos de alto peso molecular tales como las isoaglutininas y las aglutininas en frío.

#### Constituyentes $\alpha$ : 19S.

Esta proteína tiene una velocidad de sedimentación muy cercana a 19S, es rica en carbohidratos y se asemeja considerablemente a la macroglobulina  $\beta_1$ , en este aspecto; sin embargo, inmunológicamente no muestra ninguna relación con esta última. La coincidencia en velocidad de sedimentación es muy notable y sugiere la posibilidad de una relación básica a pesar de las diferencias inmunológicas.

En sueros de enfermos nefróticos se encuentran cantidades muy elevadas del componente  $\alpha_2$  19S, lo cual puede producir la falsa impresión de que se trata de casos de macroglobulinemia de Waldenström; esta posibilidad de confusión puede presentarse en otros padecimientos y es importante eliminarla, lo cual puede hacerse determinando la concentración de euglobulina en el suero patológico: la macroglobulina alfa 2 no da ordinariamente una prueba de Sia positiva, en tanto que las de Waldenström dan por lo general, aunque no invariablemente, una fuerte reacción positiva (6).

## PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS DE MACROGLOBULINAS NORMALES Y PATOLOGICAS

### 1.—*Comportamiento heterogéneo en la ultracentrífuga.*

La ultracentrífuga es una máquina de concepción simple pero de disposición compleja e ingeniosa. Ha demostrado ser un instrumento extraordinariamente útil en investigación bioquímica desde que fué inventada por Svedberg, quien recibió el premio Nobel en 1926 por este invento. El coeficiente o constante de sedimentación ( $s$ ) es una expresión de la velocidad de sedimentación de una molécula en un campo centrífugo de intensidad conocida;  $10^{-13}$  unidades absolutas (centímetros seg por dinas por gramo) es equivalente a 1 Svedberg (S), el cual es un término de convención común. El valor S de una proteína es expresado bajo condiciones normales de un solvente agua, a dilución infinita y a 20 °C ( $S_{15,w}$ ) (13).

Una de las características de las macroglobulinas es que la fracción 19S está asociada siempre con otros componentes de constante de sedimentación aún más alta, de aproximadamente 26 y 32S. Por medio de diversas técnicas de precipitación los componentes más pesados pueden ser concentrados o eliminados en gran parte de la fracción 19S. Estos componentes más pesados no se disocian en soluciones de urea o soluciones amortiguadoras ácidas y tienen una estabilidad similar al componente principal 19S, pero compuestos sulhidrilo como el mercaptoetanol los disocian completamente en unidades con una velocidad de sedimentación de aproximadamente 7S (17). Estas observaciones sugieren que son entidades reales y no formas poliméricas en equilibrio con el componente 19S.

## II.—*Variaciones en movilidad.*

También en su comportamiento electroforético se manifiestan como no unitarias y abarcan moléculas de diversas velocidades de migración. Las macroglobulinas  $\beta$  normales son, por lo tanto, electroforéticamente heterogéneas y se extienden de la región gamma media hacia el área de las globulinas beta. (18).

## III.—*Contenido de carbohidratos.*

Una de las características más distintivas de las macroglobulinas es su alto contenido en carbohidratos; son las más ricas en carbohidratos entre todas las globulinas gamma fisiológicas, conteniendo cerca del 10% en peso (19). Este valor es notoriamente más alto que los valores obtenidos para la globulina gamma 7S ordinaria que es aproximadamente de 2.5%.

## IV.—*Composición de aminoácidos y grupos terminales.*

Se dispone de relativamente pocos resultados concernientes a la composición de aminoácidos de las macroglobulinas, especialmente gracias a procedimientos cromatográficos cuantitativos en columna. Las observaciones más extensas son las de Pernis y colaboradores, quienes mostraron variaciones en la composición de aminoácidos de las macroglobulinas, de persona a persona; encontraron bajo contenido de lisina. Grüner y col., en estudios de absorción ultravioleta para triptófano y tirosina hallaron valores relativamente bajos en 3 macroglobulinas.

Análisis de grupo terminal, llevados a cabo principalmente por Putnam han mostrado que el grupo amino terminal predominante es el ácido aspártico o el ácido glutámico en globulina gamma normal y proteínas de mieloma. (20) y la mayoría de las macroglobulinas examinadas tuvieron 1 ó 2 moles de ácido aspártico N-terminal por 160,000 unidades de peso molecular.

## V.—*Estructura polimérica y disociación.*

Algunos investigadores han postulado que las macroglobulinas representan proteínas poliméricas lo cual parece particularmente

probable en vista de la reacción cruzada obtenida con globulinas gamma de bajo peso molecular. Sin embargo, todos los intentos para disociarlas en soluciones de urea y soluciones amortiguadoras ácidas y alcalinas fallaron. No fué sino hasta que Deutsch y Morton en 1957, e independientemente Glenchur y col. usando compuestos sulfhidrilo especialmente mercaptoetanol, que se lograron progresos en este sentido. Deutsch y Morton notaron que el mercaptoetanol y también la cisteína causaban una reducción en la velocidad de sedimentación de la macroglobulina de 19S a aproximadamente 7S; en presencia de iodoacetamida pudieron obtenerse unidades monoméricas estables (14). La reasociación pudo obtenerse también en ausencia de iodoacetamida por simple diálisis para eliminar el mercaptoetanol. Se obtuvo evidencia de que las moléculas reagregadas eran diferentes de la macroglobulina nativa y se observó generalmente un mayor número de especies que también diferían en propiedades de solubilidad y movilidad. Las unidades monoméricas disociadas mostraron la especificidad inmunológica de la macroglobulina madre y antiseros para ésta pudieron ser absorbidos completamente con las unidades disociadas. Ellos concluyeron que las macroglobulinas estaban compuestas probablemente de agregados de las globulinas gamma 7S, y aún cuando actualmente se considera que esta conclusión es errónea, aportaron una técnica muy valiosa para la comprensión de la estructura de los anticuerpos macroglobulina (21).

Se ha establecido ya que una amplia variedad de compuestos sulfhidrilo pueden disociar las macroglobulinas en unidades más pequeñas. La disociación resulta en pérdida de la actividad anticuerpo de estas moléculas; así, en la mayor parte de los sistemas ensayados hasta ahora, las subunidades 6.5S de las globulinas  $\kappa$  19S parecen haber perdido su capacidad para actuar como anticuerpos. Esta actividad anticuerpo es restaurada provocando la reasociación de las moléculas, lo cual es de interés especial debido a que indica que la configuración de alto peso molecular es importante en la especificidad de estos anticuerpos; también acentúa el importante papel de las uniones disulfuro en la configuración de anticuerpos en general (22).

Una evidencia adicional de que los anticuerpos macroglobulina no son agregados de las globulinas gamma 7S se derivó de los estudios de Müller-Eberhard (19) y Kunkel sobre el contenido de

carbohidratos de anticuerpos 7S y 19S quienes hallaron que el 10% del peso del anticuerpo macroglobulina era carbohidratos, o sea por lo menos 4 veces el contenido de carbohidratos de las globulinas  $\gamma$ ; 7S por peso.

#### VI.—Propiedades inmunológicas.

Similitud entre macroglobulinas normales y patológicas: La especificidad inmunológica de las macroglobulinas patológicas ha sido conocida desde hace tiempo, aún antes de que fuera apreciada la presencia de una macroglobulina normal similar. Actualmente hay poca duda de que la macroglobulina normal está muy relacionada inmunológicamente a las macroglobulinas patológicas (23). Con el aislamiento de la macroglobulina normal resultó posible hacer antisueros específicos contra este componente, los cuales reaccionaron fuertemente con las macroglobulinas patológicas aún después de una absorción completa con globulina gamma 7S, aunque la mayor parte de las macroglobulinas reaccionan mejor con sus propios antisueros que con antisueros contra otras macroglobulinas. El problema de si las macroglobulinas patológicas poseen grupos determinantes que no se hallan en las normales es un problema aún en controversia.

Reacción cruzada con globulina gamma 7S normal: Existe considerable evidencia de que las macroglobulinas patológicas, así como la macroglobulina  $\gamma$  normal, están relacionadas inmunológicamente a la globulina gamma 7S ordinaria; anticuerpos para macroglobulina gamma humana dan reacciones cruzadas con globulina gamma 7S humana, lo que indica que ciertos determinantes antigénicos son compartidos y que ciertas estructuras antigénicas son únicas para cada una de ellas.

Pert er ha logrado desdoblarse anticuerpos de globulina gamma 7S de conejo, con papaína, una enzima proteolítica, y demostrado que se obtienen 3 grandes fragmentos o cadenas polipeptídicas, ligadas sin interrupción en la molécula intacta: 2 fragmentos de peso molecular 50,000 (cadenas A) que pierden su capacidad de combinación con el antígeno y un tercer fragmento de peso molecular cercano a 20,000 constituido al parecer por 2 cadenas B; las primeras constituyen las 3/4 partes de la molécula original (24)

y las segundas el resto. Es posible que futuros estudios muestren que las cadenas A son complejos de unidades más pequeñas, pero por ahora las 4 subunidades obtenidas por la ruptura de 5 uniones disulfuro son claramente demostrables (25).

En muestras purificadas de la inmunoglobulina 19S (gamma-1-macro) se ha mostrado que constan también de cadenas A y B en proporciones similares a las de la globulina 7S. Estudios de rotación óptica detallados de las 2 especies (Callaghan y Martin, 1964) muestran anomalías similares de comportamiento, lo que sugiere una colocación análoga de las cadenas individuales en las 2 moléculas. Las cadenas B de ambas especies poseen componentes antígenicos comunes, por lo que los antisueros preparados contra globulina 19S reaccionan frente a globulina 7S; por el contrario, las cadenas A que contienen la mitad de carbohidratos, parecen ser específicas (25).

Cohen (1963) y Cohen y Porter (1964) al investigar inmunoglobulinas normales y patológicas, concluyeron que no hay una variación marcada en la proporción relativa de las cadenas A y B en las diferentes proteínas, y que las diferencias en movilidad de estas proteínas se deben a diferencias en movilidad de las cadenas A y no de las cadenas B (22).

## MATERIAL Y METODO

Las determinaciones se efectuaron en sueros de niños que acudieron al Hospital Infantil de México entre Diciembre de 1965 y Septiembre de 1966, tanto al servicio de Consulta Externa como a diversos servicios de Hospitalización.

Se estudiaron 275 muestras de suero: 175 procedentes de niños con diagnóstico de algún padecimiento infeccioso, y 100 correspondientes a niños con diagnóstico de padecimiento no infeccioso.

El criterio principal para establecer el carácter infeccioso ó no de la enfermedad fué el diagnóstico clínico aceptado en el momento en que se tomó la muestra de sangre, el cual fué generalmente confirmado por pruebas de Laboratorio; en todos los casos se hizo una revisión minuciosa de las historias clínicas correspondientes.

En el grupo de "infecciosos", 89 casos fueron del sexo femenino y 86 del masculino, y las edades fluctuaron entre 3 meses y 13 años 7 meses; en el grupo de "no infecciosos", se contaron 46 casos del sexo femenino y 54 del masculino y las edades fluctuaron entre 5 días y 13 años 3 meses. En las tablas 3 y 4 se presenta la distribución de ambos grupos en relación a los padecimientos que se estudiaron:



**TABLA 1.- Grupo de niños con diagnóstico de enfermedades infecciosas.**

DIAGNOSTICO.	No. de casos		Edades.	
	Masc.	Fem.	Mínimo	Máximo
Hepatitis	18	22	3/12	10 4/12
Amigdalitis	19	21	2A	10 5/12
Tuberculosis pulmonar activa	9	6	2 4/12	9A
Pielonefritis	7	8	1A	13 7/12
Endocarditis bacteriana subaguda	7	7	2 2/12	12A
Infección por estreptococo beta hemolítico	5	8	1 2/12	11 7/12
Bronquitis	6	4	1A	10 6/12
Bronconeumonía	5	3	3/12	12A
Diarrea infecciosa	2	3	1A	5 7/12
Septicemia	-	4	3 5/12	6 6/12
Sinusitis	2	-	3 2/12	6A
Moniliasis oral	2	-	6/12	10A
Sarampión	1	1	1A	2 2/12
Tifoidea	1	-	7 1/12	
Púrpura trombocitopénica secundaria a infección	1	-	1A	
Adenitis cervical post infecciosa	1	-	5A	
Total -----	86	69	3/12	13 7/12

**TABLA 4.- Grupo de niños sin proceso infeccioso diagnosticable.**

DIAGNÓSTICO.	No. de casos		Edades	
	Masc.	Fem.	Mínima	Máxima
Glomerulonefritis crónica	12	8	2 2/12	13 3/12
Fiebre reumática activa	7	12	4A	11 10/12
Rinitis alérgica	11	4	3A	11A
Isoinmunización materno-fetal	6	4	5d	20d
Corea de Sydenham	5	5	6A	11 5/12
Lupus eritematoso disseminado	3	5	4A	12 2/12
Epilepsia	3	2	4 7/12	11 9/12
Tuberculosis pulmonar inactiva	2	1	6A	10 3/12
Asma	1	1	7A	10A
Hipoparatiroidismo	0	2	10A	11 10/12
Comunicación interventricular	1	1	4 8/12	6 7/12
Cirrosis post-necrótica	1	0	10 6/12	
Infarto pulmonar	0	1	9A	
Mongolismo	1	0	7A	
Microesferocitosis familiar	1	0	3 4/12	
<b>Total -----</b>	<b>54</b>	<b>46</b>	<b>5d</b>	<b>13 3/12</b>

## **Método**

Existen varias pruebas para determinar si un suero contiene cantidades aumentadas de euglobulina, algunas de ellas derivadas de la prueba original de Sía; dicha prueba fué utilizada por este investigador desde 1921 en un estudio de proteínas séricas en el Kala Azar, y posteriormente ha sido utilizada numerosas veces en estudios sobre macroglobulinemias (26).

El método es muy sencillo: se coloca una pequeña cantidad de suero en un tubo de ensayo y se le agrega un volumen igual de agua destilada, con gran cuidado para evitar que se mezclen ambos líquidos; la prueba es positiva si después de unos minutos aparece un anillo blanquecino y opaco en la interfase entre suero y agua.

En una variante de esta prueba (26), se pone agua destilada en una probeta (hasta unos 20 cms. de altura) y se agregan 1 ó 2 gotas de suero en la superficie del agua; se considera negativa la prueba si al descender el suero se mezcla con el agua sin observarse turbidez o precipitación, medianamente positiva (+) si hay turbidez sin flóculos visibles, positiva (++) si se forma un precipitado relativamente fino en el tercio superior de la probeta, y fuertemente positiva (+++) cuando hay floculación considerable que sedimenta con rapidez sin redisolverse.

En este trabajo se ha utilizado la modificación semicuantitativa de H.G. Kunkel, que consiste en mezclar suero y agua destilada y medir la densidad óptica de la mezcla por medio de un fotocolorímetro o espectrofotómetro. Los detalles de este método se describen a continuación.

1.—Obtener la muestra de sangre procurando evitar la hemólisis, separar el suero una vez retraído el coágulo y clarificarlo por centrifugación.

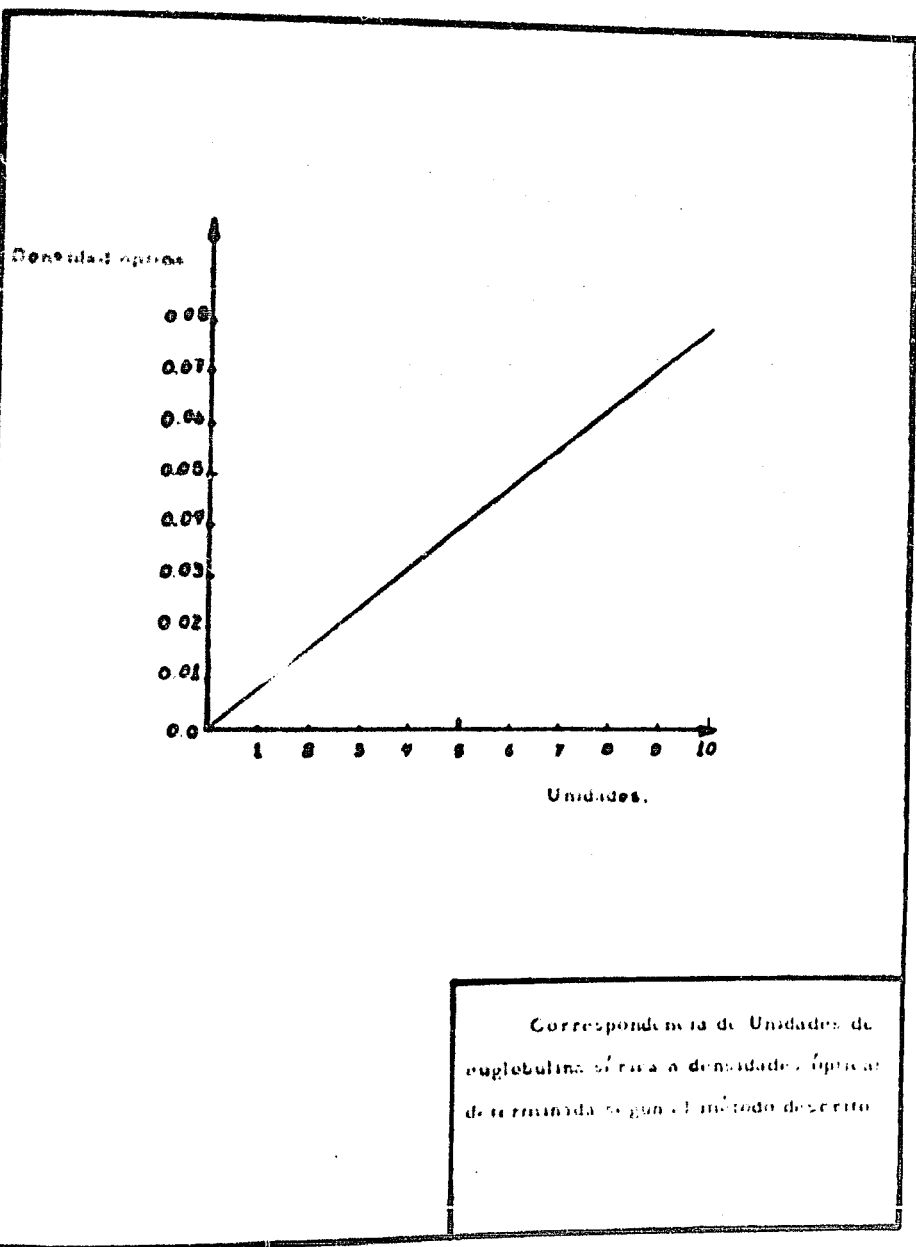
2.—Colocar 0.5 ml. de suero perfectamente claro en cada una de 2 celdillas o tubos calibrados de 12 x 75 mm.; agregar 2 ml. de agua destilada a una de ellas (problema) y a la otra 2 ml. de solución salina isotónica (blanco).

3.—Mezclar perfectamente bien el contenido de ambos tubos y dejarlos a temperatura ambiente durante 30 minutos.

4.—Mezclar nuevamente invirtiendo cada tubo una vez y medir la densidad óptica de ambos en un espectrofotómetro, utilizando luz monocromática de 650 milimicras de longitud de onda.

5.—Preparar una gráfica que permita convertir las lecturas de densidad óptica en unidades de euglobulina, de la siguiente manera: suspender 15 mg. de sulfato de bario anhidro en 100 ml. de agua destilada y agitar enérgicamente hasta obtener una dispersión uniforme; leer la densidad óptica de esta suspensión patrón usando agua destilada como blanco, es decir, como 0 de densidad óptica ó 100% de transmitancia. Asignar un valor de 10 unidades a la densidad óptica del patrón y construir la gráfica correspondiente en papel milimétrico, colocando en las abscisas las densidades ópticas y en las ordenadas las unidades. En este caso se obtuvo una densidad óptica promedio de 0.08 para 3 distintos patrones preparados como se indicó anteriormente, y esa lectura fue corroborada posteriormente en varias ocasiones.

Las lecturas de densidad óptica son por lo general muy bajas pero en pruebas por duplicado puede comprobarse que son exactas y reproducibles. Es muy importante realizar la prueba el mismo día en que ha sido obtenida la muestra de sangre ya que con rapidez el suero pierde  $\text{CO}_2$  y su pH se eleva a 8.5 - 9, y a este pH gran parte de la euglobulina es soluble en agua destilada por lo cual se obtendrían resultados bajos.



Correspondencia de Unidades de  
optobulino sírta a densidade óptica  
determinada según el método descrito.

**TABLA 5.- Resultados en el grupo de sueros de niños con diagnóstico de enfermedad infecciosa.**

DIAGNOSTICO.	No. de casos	MENOS DE 2.5U		MAS DE 2.5U	
		No.	%	No.	%
Hepatitis	40	1	2.5	39	97.5
Tuberculosis pulmonar activa	17	3	17.6	14	82.4
Pielonefritis	15	2	13.3	13	86.7
Endocarditis bacteriana subaguda	14	2	14.2	12	85.8
Infección por estreptococo beta hemolítico	13	1	7.7	12	92.3
Bronquitis crónica	10	2	20.0	8	80.0
Bronconeumonía	8	0	0	8	100.0
Diarrea infecciosa	5	1	20.0	4	80.0
Septicemia	4	0	0	4	100.0
Sinusitis	2	0	0	2	100.0
Moniliasis oral	2	0	0	2	100.0
Sarampión	2	0	0	2	100.0
Tifoidea	1	0	0	1	100.0
Púrpura trombocitopénica secundaria a infección.	1	0	0	1	100.0
Adenitis cervical post-infecciosa	1	0	0	1	100.0
Total .....	135	12	8.9	123	91.1
Amigdalitis	40	10	25.0	30	75.0

**TABLA 6.- Resultados en el grupo de sueros de niños sin proceso infeccioso diagnosticable.**

DIAGNOSTICO.	No. de casos	MENOS DE 2,5U		MAS DE 2,5U	
		No.	%	No.	%
Glomerulonefritis crónica	20	18	90	2	10,0
Fiebre reumática activa	19	18	94,2	1	5,8
Rinitis alérgica	15	15	100,0	0	0
Isomuntización materno-fetal	10	10	100,0	0	0
Cereza de Sydeman	10	10	100,0	0	0
Lupus eritematoso diseminado	8	7	87,5	1	12,5
Epilepsia	5	5	100,0	0	0
Tuberculosis pulmonar inactiva	3	3	100,0	0	0
Amia	2	2	100,0	0	0
Hipoparatiroidismo	2	2	100,0	0	0
Comunicación interventricular	2	2	100,0	0	0
Cirrosis post-neurótica	1	1	100,0	0	0
Infarto pulmonar	1	1	100,0	0	0
Mongolismo	1	1	100,0	0	0
Microosteomielitis familiar	1	1	100,0	0	0
<b>Total -----</b>	<b>100</b>	<b>96</b>	<b>96,0</b>	<b>4</b>	<b>4</b>

TABLA 7.- Casos en que se realizaron 2 ó 3 determinaciones de euglobulina sérica.

NOMBRE	EDAD	DIAGNOSTICO	EUGLOBULINA SERICA (Unidades)					
			Fecha	U	Fecha	U	Fecha	U
E.H.F.	2A	Hepatitis infecciosa	13-XI-65	7.6	29-XI-65	5.8	6-XII-65	5.1
L.M.C	1 7/12	" "	15-XI-65	5.1	30-XI-65	4.0		
B.B.H.	8A	" "	25-XI-65	2.8	9-XII-65	4.0	14-I-66	1.6
D.R.V.	2 6/12	" "	11-IV-66	8.8	25-IV-66	3.1		
G.C.V.F.	2 6/12	" "	4-IV-66	6.3	5-IV-66	6.0	15-IV-66	5.6
J.R.G.	6/12	" "	31-III-66	6.3	15-IV-66	8.9	25-IV-66	7.5
I.D.V.V.	1 6/12	Bronconeumonía	23-XI-65	2.8	25-XI-65	2.3	30-XI-65	1.6
M.C.O.C.	12 7/12	"	17-XI-65	9.5	18-XI-65	9.5		
V.C.B.	1A	Sarampión	29-III-66	3.5	5-IV-66	3.8		
A.A.R.	2 2/12	"	8-XI-65	2.8	15-XI-65	6.4		

• Presentó Bronconeumonía.



## DISCUSION

Como puede verse en las tablas 5 y 6, es evidente que en el suero de niños con padecimientos de carácter infeccioso se produce una elevación de la euglobulina sérica fácilmente cuantificable por el método de Kunkel. Si bien es cierto que de algunas enfermedades infecciosas sólo pudieron estudiarse unos cuantos casos, se observa en general una tendencia casi invariable a presentar cifras de este componente sérico por arriba del valor máximo normal aceptado de 2.5 unidades, y lo mismo puede decirse en relación a los valores casi invariablemente inferiores a 2.5 unidades en los sueros obtenidos de niños que no presentaban un proceso infeccioso diagnosticable al momento de obtener la muestra de sangre.

En el grupo de casos de amigdalitis (40) se obtuvieron resultados aparentemente contrarios a lo que era de esperarse (Tabla 5); sin embargo, la explicación a esta discrepancia podría encontrarse en el hecho de que la mayoría fueron casos crónicos. De cualquier manera, será necesario realizar un mayor número de dosificaciones de euglobulina sérica en casos de amigdalitis aguda, de preferencia cuando se trate de un primer ataque de esta naturaleza, a fin de esclarecer la discrepancia ya mencionada. Debe tomarse en cuenta que, sobre todo en los niños, con frecuencia es difícil o imposible precisar la fase aguda del padecimiento, particularmente cuando los síntomas no son muy alarmantes, de ahí que en algunos casos pueda ocurrir que la muestra de sangre no sea tomada precisamente en la fase aguda, cuando la euglobulina alcanza concentraciones máximas en el suero.

Es interesante hacer notar que no se encontraron diferencias significativas en los resultados obtenidos en casos de infecciones bacterianas y en casos de infecciones virales, por lo que toca a la proporción de cifras de euglobulina sérica normales o elevadas; sin embargo, en los casos de hepatitis se registraron niveles particularmente altos de este componente del suero.

En la tabla 7 se encuentran los resultados obtenidos en 10 casos en los cuales fué posible realizar la cuantificación de la euglobulina del suero en 2 ó 3 ocasiones, en fechas relativamente próximas entre sí; el análisis de estos casos permite comprobar la reproducibilidad de los resultados (cuando las pruebas se realizaron en fechas muy cercanas) y la rapidez con que se altera los niveles séricos de euglobulina, la cual ha sido estimada por algunos investigadores en una semana aproximadamente en ambos sentidos, es decir, una semana para alcanzar niveles máximos a partir de el principio de la fase aguda de la enfermedad y una semana después de controlada la infección, para retornar a niveles normales.

La proporción de pruebas falsas positivas y falsas negativas es baja y coincide notablemente con la encontrada por Biro (1) en adultos. De acuerdo con este investigador, cuyos hallazgos en adultos han sido confirmados en este estudio, "en ausencia de artritis reumatoide y de fibrosis intersticial difusa de los pulmones, una euglobulina elevada (por arriba de 2.5 unidades) indica casi con certeza la presencia de una infección bacteriana activa y una euglobulina normal (inferior a 2.5 unidades) milita fuertemente en contra de tal posibilidad diagnóstica".

De acuerdo con nuestros resultados, la aseveración anterior puede ampliarse a los procesos virales, cuando menos aquellos incluidos en este estudio.

## CONCLUSIONES

La modificación de Kunkel a la prueba de Sía constituye un método sencillo y rápido para la detección de casos de macroglobulinemia; también es muy útil para precisar, en la gran mayoría de los casos, el carácter infeccioso o no de un padecimiento determinado, ya que permite cuantificar con facilidad y exactitud el nivel sérico de la euglobulina.

Se ha comprobado que en niños con padecimientos de carácter infeccioso de origen bacteriano o viral, se eleva el nivel sérico de euglobulina, mediante la determinación cuantitativa de este componente sérico por el método de Kunkel en 135 sueros obtenidos de niños con un proceso infeccioso y 100 sueros de un grupo control constituido por niños sin proceso infeccioso aparente. En 40 casos de amigdalitis se obtuvieron resultados aparentemente contradictorios (75% de cifras normales) quizás por tratarse de casos crónicos en su mayoría.

Se considera justificada la realización de un mayor número de pruebas para precisar la utilidad de este método de laboratorio en el diagnóstico y control de la evolución de otros padecimientos infecciosos no incluidos en este estudio.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.—Biro, C. E. (1964). "La determinación de la euglobulina sérica y su utilidad en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas". Arch. Inst. Card. Mex. XXXIV. No. 3: 328.
- 2.—Neurath, Hans. (1963). "The Proteins". 2a. Ed. Academic Press. New York.
- 3.—West, Edward Staunton. (1956). "Textbook of Biochemistry". 2a. Ed. Mac Millan. New York.
- 4.—Haurowitz, Félix. (1955). "Química y Biología de Proteínas". J. Wiley. New York.
- 5.—Howe, P. E. (1921). "The use of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of proteins in blood". J. Biol. Chem. 49: 93.
- 6.—Kunkel, Henry G. (1960). "The plasma proteins". Vol. 1. 2a. Ed. Academic Press. New York.
- 7.—Cohn, J. E., Strong, L. E., Hughes, W. L. (1946) J. Am. Chem. Soc. 68: 459.
- 8.—Wuhrmann-Märki. (1966). "Disproteinemias y Paraproteinemias". Ed. Científico Médica.
- 9.—Kunkel, H. G., Edelman, M.P., Heremans, J. F. (1960). "Immunological studies of human gama globulin". J. Exp. Med. 112:203.
- 10.—Heremans, J. F. (1959). Clin. Chim. Act. 4:96.

- 11.—Nichols, H. M. (1964). "The overproduction of immunoglobulins". *Proc. Roy. Soc. Med.* 57:752.
- 12.—Fink, C. W., Miller, W., Doward, B., Lo Spatullo, J. (1962). "The formation of macroglobulin antibody". *J. Clin. Inv.* 41:1415.
- 13.—Schon, A. H., Gyenes, L., Gordon, J., Richter and Rose, B. (1957). "Physico chemical and immunologic studies on macroglobulins". *J. Clin. Inv.* 36:456.
- 14.—Franklin, E.C. and Kunkel, H. G. (1957). "Immunologic differences between the 19S and 7S components of normal human gamma globulin". *J. Immunol.* 78: 11.
- 15.—Wallenius, G., Trautman, H., Kunkel, H.G. (1957). "Ultracentrifugal studies of major non lipid electrophoretic components of normal human serum". *J. Biol. Chem.* 225: 253.
- 16.—Mannik, M. and Kunkel, H. G. (1963) "Two major types of normal 7S-gamma globulin". *J. Exptl. Med.* 117: 213.
- 17.—Kunkel, H.G., Funderberg, H., and Ovary, Z. (1960). "Antibodies of high weight". *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 86: 966.
- 18.—Miller, F. and Metzger, H. (1965). "Characterization of a human macroglobulin". *J. Biol. Chem.* 240: 3325.
- 19.—Müller-Eberhard, Kunkel, H.G. (1956). "Two types of gamma globulin differing in carbohydrate content". *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 93: 146.
- 20.—Nigita y Putnam. (1963). "Antigenic relationships of Bence Jones proteins myeloma globulins and normal human gamma globulin". *J. Exptl. Med.* 117: 81.
- 21.—Edelman and Peulik. (1961). "Studies on structural units of the gamma globulins". *J. Exptl. Med.* 13: 861.
- 22.—Deutsch, H. F. and Morton, J. (1958) "Human serum macroglobulins and dissociation units". *J. Biol. Chem.* 231: 1107.
- 23.—Rosen, F. S. (1962) "The macroglobulins". *New. Engl. J. Med.* 267: 491.

24. —Wolheim, F. A., y Williams, R. S. Jr. (1966). "Studies on macroglobulins of human serum". *New Engl. J. Med.* 274: 61.
25. —Korngold, L. and Van Leeuwen, G. (1957) "Macroglobulinemia". *J. Exptl. Med.* 106: 467.
26. —Waldenström, J. and Laurell, C. B. (1961). "Sera with exceptional appearance and the euglobulin reaction as screen test". *Act. Med. Scand.* 170: Supl. 367: 97.