

UNIVERSIDAD MOTOLINIA
U.N.A.M.

**Patrón Electroforético y Cantidad Total de
Proteínas en Sujetos Normales y sus
Variaciones en los Diversos Estados Fisiológicos**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
PRESENTA

ROSA MARIA DIAZ REYNOSO

MÉXICO, D. F.

1962



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 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.

Este trabajo se llevó a cabo en el Departamento de Investigación de Metabolismo, Biofísica y Fisiología Cardiopulmonar Aplicada del Hospital de la Raza del I.M.S.S., bajo la dirección del Sr. Dr. Rodolfo Limón Lason, a quien agradezco su dirección, especialmente en el desarrollo del capítulo de Análisis Estadístico.

Agradezco las facilidades para la elaboración de éste trabajo a la Dirección de este Hospital, así como al personal del Departamento de Hemodinamia.

A LA MEMORIA DE MI PADRE.

A MI MADRE

A MIS ABUELITOS

A MIS HERMANOS.

- I.—INTRODUCCION
- II.—BASES FISIOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS
- III.—MATERIAL Y MÉTODO
- IV.—ANÁLISIS ESTADÍSTICO
- V.—RESULTADOS
- VI.—CONCLUSIONES
- VII.—BIBLIOGRAFÍA

INTRODUCCION

El plasma sanguíneo contiene una variedad muy grande de proteínas. Algunas como las albúminas, globulinas y fibrinógeno se encuentran en concentración relativamente elevada. Los progresos realizados en el estudio de las proteínas, permitieron observar posteriormente que algunos de estos grupos no eran homogéneos, sino que estaban formados por sustancias proteicas de propiedades semejantes, en cuanto a su precipitación por sales. Un papel importante en estos procesos desempeñó el método de análisis electroforético introducido por Tiselius.

El método de análisis electroforético es la medida de la diferente movilidad de las moléculas proteicas, sometidas a una diferencia de potencial eléctrico y estando en solución a un pH determinado.

La electroforesis se realiza utilizando una celda que ha sido esquematizada en la figura 1. La muestra, en este caso el plasma o suero, se coloca en la parte inferior de la celda. El volumen del tubo en U, se completa con una solución amortiguadora.

Aplicando una diferencia de potencial eléctrico a la solución, las moléculas proteicas, debido a su carga eléctrica, se desplazarán con una velocidad que dependerá, si las demás condiciones (principalmente la temperatura) son constantes, de la carga eléctrica de las mismas.

Cada tipo de molécula proteica presente en una mezcla, se des-

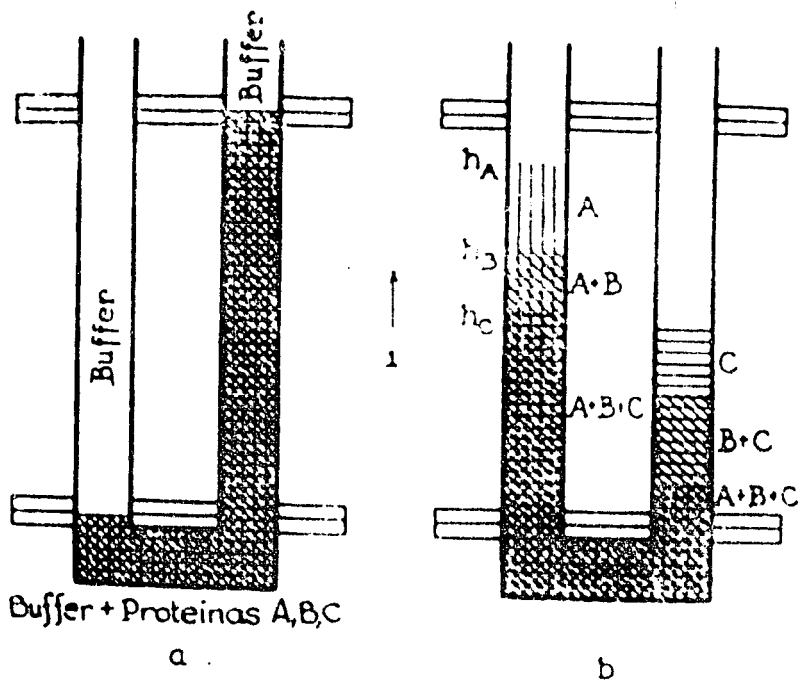


Figura 1.

plazará con una velocidad diferente, lo cual determinará después de un cierto tiempo, una concentración diferente de las mismas a diversas alturas de los brazos de la celda. Esta separación es parcial ya que como se puede observar en la figura 1 (b), sólo las proteínas A y C, cuyos puntos isoeléctricos están más separados, son las que se obtienen puras. Este desplazamiento se realizará en el ánodo en un sentido contrario al que tiene lugar en el cátodo.

Proteínas sin color no permitían reconocer a las proteínas disueltas de la solución libre de ellas. Por tal motivo en un principio sólo se podía trabajar con proteínas coloreadas, como la hemoglobina y la hemocianina; en esta época la electroforesis sólo se usó para determinar el punto isoeléctrico de las proteínas así como su velocidad de migración. La dificultad que presentaba la falta de color de la línea delimitante, fue solucionada por Tiselius con una idea genial: deferenció el índice de refracción propio de las proteínas, del de la mezcla y el de la solución amortiguadora sola. El índice de refracción se incrementa con el aumento en el contenido de proteína; el aumento de este índice es de 0.018 a 0.019 por cada gramo de proteína en 100 ml. de solvente.

Estos desplazamientos que producen una modificación en el índice de refracción del medio, son llamados "diagramas" de electroforesis, que identifican a las diversas fracciones proteicas y permiten determinar sus proporciones relativas.

Con la ayuda de un sistema óptico adecuado se dejan ver estos campos de refracción; Tiselius empleó el sistema óptico de schlieren, para observación y fotografía de los límites por fraccionamiento entre soluciones incoloras.

En la figura 2 puede observarse el esquema del sistema óptico de schlieren, en el cual un lente esférico S (lente de schlieren), forma en una imagen de la abertura A, por donde pasa la luz. La cámara esférica del lente C, se afoca sobre la celdilla, un canal de la cual se muestra en E en el dibujo, y forma una imagen de la celdilla en la pantalla P. Si el fluido en el canal es homogéneo, esta imagen estará uniformemente iluminada.

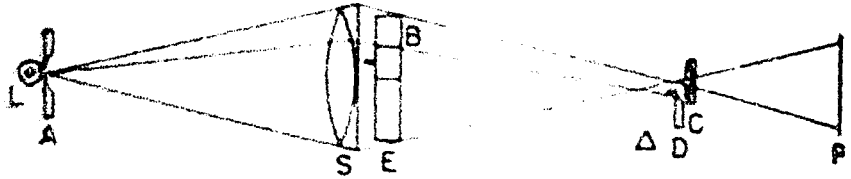


Figura 2.

Microelectroforesis.—Este método fue introducido por Antweiler, y tiene por objeto hacer más sencillo el de Tiselius; en él se emplea plasma dializado del que se requieren solamente 0.2 ml. En él se aumento la sensibilidad de medición a 25 veces más en relación con el sistema óptico de schlieren.

Electroforesis en papel.—Wieland y Fischer así como Haugaard y Kroner, depositaron aminoácidos sobre tiras de papel filtro, previamente impregnados con solución de fosfatos de pH 6.2; Durrum hizo algo semejante, con lo que sentó las bases técnicas y químicas de la electroforesis en papel. Encontraron que los mejores límites para el pH de las soluciones amortiguadoras son 8.5 a 9.0, ya que están muy por encima del punto isoeléctrico de las proteínas y sus componentes los aminoácidos.

Por este procedimiento se ha establecido que las proteínas del plasma normal se distribuyen en el diagrama electroforético en cinco componentes principales, que corresponden a la albúmina, fibrinógeno y a las tres globulinas: α , β y γ .

De todos ellos, la albúmina es el componente que se desplaza más rápidamente, y además el que se encuentra en mayor proporción. Le siguen en orden decreciente de velocidad las α -globulinas, luego las β -globulinas y finalmente las γ -globulinas.

El fibrinógeno, que generalmente se señala con la letra α tiene una movilidad muy parecida a la de la β -globulina en el plasma del hombre y aparece en el diagrama como un pico en esta fracción.

En el suero se identifican las cuatro fracciones del plasma y el pico de la β -globulina aparece homogéneo porque no existe fibrinógeno.

El análisis electroforético del suero y del plasma se emplea también para estudiar desviaciones del diagrama normal, en casos patológicos, y constituyen un elemento auxiliar muy útil en clínica médica.

Este tipo de electroforesis solucionó la falta de visibilidad en la separación de las proteínas, ya que después de haberse fraccionado el suero de la tira de papel, éstas se colorean y se hacen visibles.

En los siguientes puntos pueden resumirse las ventajas que presenta es este método:

1.—Poca cantidad de muestra y la posibilidad de repetir el análisis varias veces.

2.—La capacidad de la celda es mayor por lo que pueden hacerse varios problemas a la vez.

3.—Este método es menos sensible a la temperatura y convección que el de Tiselius.

...4.—La separación o fraccionación de las proteínas es más clara, sobre todo la separación de las globulinas α_1 y α_2 .

5.—La facilidad de archivar las tiras de papel, para posibles estudios posteriores.

BASES FISIOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS

Las proteínas del plasma poseen funciones de carácter general y otras de naturaleza más específica. Su carácter de anfólitos, capaces de ceder y fijar iones hidrógeno, y por lo tanto de reaccionar con ácidos y bases, hace que sean uno de los componentes de la sangre que contribuyen a la regulación del equilibrio ácido-básico y al transporte del anhídrido carbónico.

Otra función general e importante, es su contribución a la conservación del volumen normal de la sangre y a la regulación del equilibrio en la distribución del agua y de los electrolitos entre la sangre y los tejidos. En esta función, la presión osmótica de las proteínas es de gran importancia. Si bien es mucho menor que la producida por las sales, la fácil difusión de éstas últimas equilibra rápidamente las diferencias de presión.

La presión osmótica (oncótica) de las proteínas determina, en la parte arterial de los capilares, al contrarrestar la acción de la presión sanguínea, una disminución de la velocidad del paso del agua y las sustancias disueltas en ella, al líquido intersticial. En la parte venosa del capilar, la presión sanguínea es menor que la presión osmótica protéica, y ésta última contribuye, por lo tanto a favorecer el paso del líquido intersticial a la sangre. Por éste motivo la disminución de las proteínas (hipoproteinemia) es causa de la acumulación anormal de agua en los tejidos, lo que se conoce con el nombre de edema.

La albúmina por su mayor concentración y menor peso molecular,

contribuye en un 80 a 90 por ciento a la presión osmótica originada en los coloides. Por eso la disminución de la albúmina, aun nie la cantidad de globulina sea normal, puede llegar a producir edema.

El empleo con éxito de las transfusiones de plasma o de suero, albúmina en el tratamiento del shock, quemaduras y estados de hipoproteinemia, se debe principalmente a esta participación de las proteínas plasmáticas en la regulación del equilibrio en la distribución del agua y de los electrolitos entre la sangre y los tejidos.

La viscosidad del plasma deriva casi exclusivamente de su contenidos en proteínas. Cuanto más asimétrica es la molécula de proteína, tanto más viscosas son sus soluciones.

La demostración de la existencia de un equilibrio dinámico entre las proteínas plasmáticas y las presentes en los tejidos, por la realización de algunas experiencias que demuestran una utilización de las primeras cuando la nutrición proteica es deficiente, han hecho pensar que constituyen una especie de reserva del organismo.

Otra función de las proteínas plasmáticas sería el actuar como transporte de sustancias de diversa naturaleza, que se encuentran en la sangre. Se han encontrado fracciones protéicas unidas a metales (hierro, cobre, etc.), al pigmento biliar, bilirrubina, etc.

Las proteínas plasmáticas están sometidas a un continuo proceso de descomposición y formación a pesar de la constancia de su concentración. Son sustancias que están en equilibrio dinámico con los procesos metabólicos que tienen lugar en el organismo, en especial los del metabolismo protéico. La existencia de este equilibrio dinámico se ha podido demostrar administrando aminoácidos marcados con átomos isotópicos; se ha visto que se incorporan a las proteínas sanguíneas, lo que representa un índice de su formación. Si se suspende la ingestión de éstos aminoácidos van desapareciendo lentamente de las proteínas, y ésto indica la continua descomposición de estas últimas.

El principal órgano donde se forman las proteínas plasmáticas es el hígado. Mediante la perfusión de este órgano (rata), con sangre

oxigenada y el aminoácido lisina marcado con carbono radioactivo, se ha podido medir por la incorporación del mismo a las proteínas de la sangre empleada, que toda la albumina y el fibrinógeno y un 30 por ciento de las globulinas se forman en el hígado. Estas experiencias están de acuerdo con la observación de que en la hepatectomía, o en las lesiones hepáticas, se observa una disminución de la sueroalbúmina.

No se posee orientación precisa sobre el lugar de formación extra-hepática de las globulinas. Las gama globulinas según algunos hechos, no del todo concluyentes, se formarían en los linfocitos.

En general, una buena alimentación protéica favorece la formación de las proteínas, mientras que los estados de mal nutrición la dificultan y, en casos prolongados, puede producirse hipoproteïnemia.

Podemos resumir las funciones básicas de las proteínas como sigue:

Papel nutritivo, pues el plasma total o la sueroalbúmina inyectados en los vasos son utilizados en el metabolismo protéico del organismo.

Coagulación de la sangre, que se debe al fibrinógeno del plasma que se transforma en fibrina por acción de la trombina.

Viscosidad de la sangre, la cual constituye una resistencia a la circulación y el trabajo del corazón así como a la presión sanguínea.

Presión osmótica, que tiende a retener el agua en los capilares.

Estabilidad de la suspensión de los eritrocitos, que depende sobre todo de las globulinas y después de las albúminas.

Inmunidad, las sustancias protectoras contra las bacterias se hallan principalmente en las pseudoglobulinas, mejor dicho en las gama globulinas.

Equilibrio ácido-básico, en medio alcalino con relación al punto isoeléctrico las proteínas funcionan como ácidos débiles, en medio ácido como álcalis débiles.



Aparato para diálisis.

MATERIAL Y METODO

En el trabajo se describen los hallazgos obtenidos del estudio de 100 sujetos normales, divididos en dos grupos de 50, de acuerdo con su sexo. La edad de los pacientes varía entre los 7 y los 68 años. Se les extrajo una muestra de sangre de 10 ml., que inmediatamente se trasvasó a un tubo cónico de centrifuga, donde se dejó coagular para obtener el suero. Este debe ser no hemolizado. Para certificar ésto, se llevó a cabo en cada uno de ellos la reacción de Mayer, y se descartaron todos aquellos que presentaron la reacción aunque fuera débilmente positiva.

Pipetas graduadas de 0.2, 2.0, 5.0 y 10.0 ml; tubos de vidrio perfectamente limpios.

Los reactivos se conservan en frascos de polietileno.

La dosificación de las proteínas totales, se hizo por el método de Kjeldhal con arrastre de vapor.

La electroferesis se hizo en un aparato Spinco modelo R, que consta de: Dos celdas tipo Durrum y fuente de energía. Las tiras se evaluaron por medio de un densitómetro registrador, previamente calibrado que está equipado con un integrador automático.

El aparato para electroferesis está diseñado para separar los componentes de una solución, en la que los diferentes solutos, poseen distinta velocidad de migración electroforética y más tarde evaluar las

cantidades de tales componentes. Entre las más importantes características de éste práctico sistema se encuentra el logro de un análisis reproducible de gran exactitud, como cosa de rutina. Otra ventaja es que el registro automático de los resultados finales constituye una gráfica permanente que se puede archivar para estudios posteriores.

Se utiliza papel filtro Schleicher y Schuell 2043A mgf, que permite un tiempo de tinción mucho más rápido.

CELDA PARA ELECTROFORESIS EN PAPEL

Las celdas son de tipo Durrum, consta de una vasija con tapa, un soporte y un bastidor para secar, además de su equipo auxiliar. La celda contiene ocho tiras de papel. La solución amortiguadora se almacena en el recipiente de la vasija; cada vasija contiene cuatro placas de desviación para evitar que los productos de electrodo lleguen a las tiras de papel. Una puerta entre ambos recipientes hace posible que el nivel del fluido sea igual en los dos lados de la vasija. Unos electrodos de alambre de platino se extienden a lo largo de toda la celda, para garantizar que todas las tiras contengan una cantidad uniforme de electricidad. Las tiras de papel no se sumergen en la solución amortiguadora, en lugar de ello cada tira toca una mecha de papel Schleicher y Schuell 472, cuya parte inferior está sumergida en la solución amortiguadora. Consecuentemente, al final de una vuelta o recorrido, cuando la tira individual deja de hacer contacto con la mecha, no queda excedente alguno de solución amortiguadora en el papel, que pudiera redistribuirse al secar. Como resultado de lo anterior el diagrama de la tira no se pone borroso, por lo que no es necesario cortar o secar.

FUENTE DE ENERGIA

La fuente de poder tiene dos salidas de corriente regulada que proporcionan fuerza para la celda de electroforesis, y puede energizar a una o dos celdas. Los tapones de corriente están polarizados para que la polaridad pueda ser invertida si así se desea. La doble fuente de poder está constituida de tal manera que puede proporcionar a voluntad del operador una diferencia de potencia de 0 a 500 volts, o una corriente de 0 a 50 MA.

Cuando se trabaja con las dos celdas simultáneamente se puede leer la cantidad de corriente que fluye a través de cada una si se oprime cualquiera de los dos botones, que para éste efecto hay en el frontal de la fuente de poder.

DENSITOMETRO REGISTRADOR

Este aparato permite evaluar por medio de la densitometria el material coloreado o manchado, que se ha separado por medio de la electroforesis o la cromatografia, a lo largo de una tira de papel filtro. La unidad usada en este trabajo, se ha adaptado para examinar, registrar e integrar la densidad óptica de las tiras de papel para analizar las proteínas del suero.

El aparato realiza automáticamente dos funciones, en una sola operación: primero funciona como un densitómetro de registro calibrado y así mide y registra la cantidad de luz que es absorbida por el material distribuido sobre la tira de papel.

A medida que el densitómetro examina la muestra, una pluma registradora dibuja automáticamente la curva de la densidad del color contra la distancia examinada a lo largo de la tira de papel. La segunda función es la de integrar automáticamente y simultáneamente el área bajo la curva obtenida. La pluma del integrador indica esta área dibujando marcas de dientes de sierra fáciles de contar. De esta manera el área registrada, por debajo de cada componente de la muestra analizada, está cuantitativamente relacionada con ese componente particular.

Equipado con una rueda descentralizada especial y con filtros de interferencia de 500 milimicrones, el densitómetro registra linealmente la concentración de tintura de azul de bromo fenol en tiras de papel filtro manchado. El valor de integración o área bajo cada sección de la curva es así proporcional a la cantidad de tintura del componente escogido.

DETERMINACION DE LAS PROTEINAS TOTALES

El método típico para la determinación de las proteínas totales es

el de oxidación y digestión tipo Kjeldhal convirtiendo el nitrógeno presente en amoníaco y determinando este despues. Para el análisis de la sangre, con la limitación inherente a la cantidad de muestra disponible, se reemplaza el macro método por un micro Kjeldhal.

MICRO-KJELDHAL.

Reactivos

Selenio pulverizado

Acido sulfúrico o clorhídrico 0.02N con indicador.

Indicador:

Azul de metileno	0.825 g.
Rojo de metilo	1.250 g.
Alcohol neutro cby	1.000 ml.

Hidróxido de sodio 0.20 N. Comprobar la equivalencia en volúmenes con la solución anterior

Acido sulfúrico concentrado

Fenofaleina en alcohol al 1%

Sulfato de sodio anhidro (paquetes de 1 g. cada uno).

Técnica

En una matraz de Kjeldhal, se colocan 0.2 ml del suero no hemolizado, adicionar un gramo de sulfato de sodio anhidro más selenio pulverizado (lo que coga la punta del agitador), más cinco mililitros de ácido sulfúrico concentrado

Colocarlo en el aparato de digestión y calentarlo primero lentamente hasta desaparición del color. (el líquido debe quedar transparente). Se calienta durante 5 minutos más y se deja enfriar totalmente. No debe quedar en el fondo del matraz ninguna partícula negra u obscura.

Se diluye con agua destilada hasta cerca de la mitad del matraz. se agregan perlas de vidrio y se monta en el aparato de destilación. (por arrastre de vapor). En un matraz erlenmeyer se colocan 10 ml de ácido 0.02 N exactamente medidos. se colocan para recibir el destilado. teniendo la precaución que la punta del refrigerante esté introducida en la solución valorada de ácido.

Al matraz que contiene la muestra digerida se le agregan unas gotas de fenoftaleina y se estratifican 20 ml de solución de hidróxido de sodio concentrada. Previamente se determina ésta cantidad. titulando 5 ml de ácido sulfúrico concentrado. de tal manera que la sosa neutralice y quede en exceso. Después de verter ésta se tapa rápidamente el matraz y se comienza la destilación. Cuando han pasado unos 10 o 20 ml del destilado se detiene el arrastre. y se lava el refrigerante con un poco de agua destilada. que se recibe también en el matraz erlenmeyer.

El exceso de ácido que queda en el matraz erlenmeyer. se titula con la solución 0.02N de sosa; se hacen los cálculos empleando la fórmula siguiente:

$$\frac{10 \text{ ml} \times 0.02 \times 0.014}{0.02} = 10 \text{ ml} \times 0.14 \times N$$

(N = 0.035) 6.25 = gramos de proteínas totales en 100 ml de suero.

DETERMINACION DE LAS FRACCIONES PROTEICAS

Reactivos

Solución amortiguadora de veronal. con pH de 8.6

Metanol calidad AR.

Solución del colorante azul de bromo fenol en metanol.

Solución acuosa de ácido acético glacial al 5%.

Hidróxido de amonio.

Técnica

La técnica empleada para la separación de las fracciones protéicas por electroforesis en papel, se divide en tres pasos:

- 1.—Depósito de la muestra en las tiras de papel.
- 2.—Fijación, coloración y lavado de las tiras.
- 3.—Lectura de las tiras.

Depósito de las muestras en las tiras de papel filtro:

- a) Preparar la vasija de la celda con la solución amortiguadora hasta la marca mínima.
- b) En la placa de desviación externa se coloca un mechero, para evitar que la tira de papel se introduzca en la solución amortiguadora.
- c) Se colocan las tiras en el bastidor.
- d) Colocar el bastidor en el soporte de la celda, cuidando que las tiras queden firmemente adheridas al mechero.
- e) Tapar la celda.
- f) Por la ranura de la tapa y empleando el embudo especial, se humedecen las tiras con solución amortiguadora. Se debe observar en la vasija la marca máxima de la cual no debe pasar la solución.
- g) Conectar la celda por medio del contacto que viene de la fuente de energía.
- h) Encender la fuente de energía, y calibrar la corriente que debe pasar a la celda utilizando para ello el amperímetro.
- i) Colocar la muestra en las tiras de papel, utilizando para ello la micropipeta especial.
- j) Tapar la celda perfectamente, y cubrirla con papel negro, que tiene por objeto favorecer el desplazamiento de las proteínas; mantenerlo en ésta forma por 16 horas.

k) Pasado éste tiempo se apaga la fuente de poder y se desconecta la celda. Se destapa ésta y se extiende el bastidor.

l) Colocar el bastidor en la estufa por 15 minutos, cuidando que la temperatura no pase de 120 grados.

Fijación, coloración y lavado de las tiras

Para estos pasos se utiliza el equipo auxiliar, cajas y rejillas especiales.

a) Una vez secas las tiras se pasan a la rejilla.

b) Se coloca la rejilla en la caja No. 1 que contiene el metanol que se utiliza como fijador.

c) En la caja No. 2 se coloca el colorante, a donde se introducen las tiras por 30 minutos. Como el colorante está en solución de metanol que es sumamente volátil hay que cuidar la concentración, marcando el nivel que debe tener el frasco, para poder reponerlo con metanol y usarlo varias veces.

d) En las cajas No. 3, 4 y 5 se coloca solución lavadora de ácido acético glacial al 5%. Se colocan las tiras en cada una de las cajas por seis minutos. La solución de la caja No. 5 debe ser nueva para cada determinación, con el objeto de que las tiras queden perfectamente limpias.

e) Una vez sacadas las tiras de la solución lavadora deben secarse; lo que puede hacerse tanto en la estufa a temperatura no mayor de 120 grados cuando la rapidez del resultado lo exige así, o colocando las tiras entre dos láminas de papel filtro especiales para éste uso.

f) Ya secas las tiras, se colocan en atmósfera de hidróxido de amonio (utilizando solución de hidróxido de amonio que contenga de 28 a 30% de amoníaco), durante no menos de 15 minutos ni más de cuatro horas.

Lectura de las tiras

Se utiliza el densitómetro. Si las tiras no van a ser leídas inme-

diatamente después de secadas, pueden guardarse antes de introducirse en atmósfera de amoníaco, pues si permanecen fuera de ella disminuye el color desarrollado, dando en la gráfica obtenida resultados bajos.

a) Se enciende el aparato 15 minutos antes de hacer las lecturas.

b) El papel graficado especial se coloca en la parte superior del aparato. Encendiendo los botones correspondientes a la lámpara y plumas.

c) Se ajusta el aparato, después de haber colocado la tira en la ranura especial. El cero se ajusta con el botón correspondiente, se vira el botón calibrador hacia la derecha y se ajusta el punto máximo. Debido a que este ajuste se hace con la parte de la tira que está exenta de color, es sumamente importante, que ésta quede perfectamente lavada, pues de lo contrario dará un ajuste falso.

d) Una vez ajustado el aparato, se regresa el botón calibrador a su punto de origen, se colocan las plumas y se enciende el botón del integrador, con lo cual comienza a correr la tira. Se obtiene así una curva mediante la cual se pueden valorar las fracciones portéicas.

La valoración de estas curvas, se hace de la manera siguiente:

El integrador es lineal. Moviendo la manivela hasta colocar la pluma del registrador a la altura de un centímetro sobre el papel, a partir de la línea cero, la aguja del integrador deberá producir 10 picos por cada centímetro de recorrido. Colocando la pluma del registrador a la altura de 10 centímetros de la línea de cero del papel, la aguja del integrador deberá trazar ahora 100 picos por cada centímetro de recorrido de la aguja registradora; por lo tanto para valorar las curvas obtenidas se deberá contar el número de picos comprendidos dentro de cada fracción, el cual se multiplica por 10 para obtener el número de milímetros cuadrados correspondientes. Si la curva de integración traspone 14 cm a partir de la línea de cero del papel, se deberá contar por separado el número de milímetros cuadrados comprendidos en el área que está sobre este límite, y se sumarán a la superficie correspondiente obtenida con el integrador. Se suma

el total de milímetros cuadrados obtenidos, y se saca el porcentaje correspondiente a cada fracción, dividiendo el número de milímetros cuadrados de cada proteína entre el total.

Como se conoce la cantidad de proteínas totales en gramos, obtenidas por el método de Kjeldhal, solo resta multiplicar el porciento de las fracciones por dicha cantidad para tener los resultados en gramos por ciento.

Ejemplos de las curvas obtenidas de muestras de sujetos normales, se muestran en la figura 1 y 2.

Por trabajos hechos sobre pacientes hepáticos, se ha demostrado que la curva normal se altera grandemente, sobre todo en lo que respecta a la disminución de albúmina, pudiéndose observar ésto en la figura 3 y 4, correspondientes a dos sujetos cirróticos.

Marion AC 43 660

Normal

Proteins Totales = 7.187

γ = 0.862

β = 0.845

α_2 = 0.452

α_1 = 0.199

A = 4.820

A/G = 2.0/1

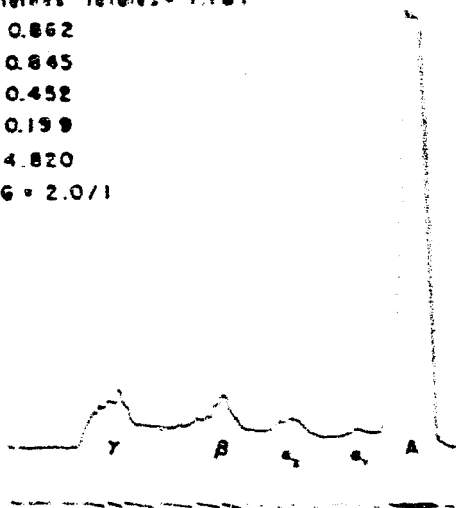


Figura 1

Inés S.M.

30 años

Normal

Proteínas Totales = 6.0187

γ = 0.798

β = 0.675

α_1 = 0.430

α_2 = 0.289

A = 3.875

A/G = 1.76/1

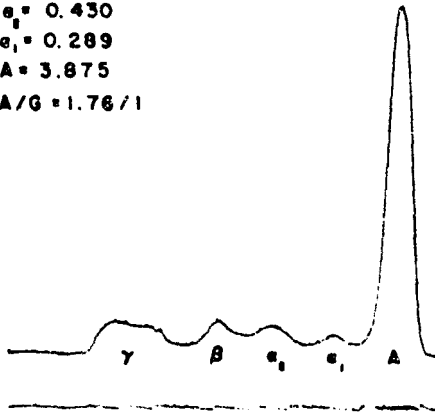


Figura 2.

Atlantic S.F. Co. 104-105-1002-4

Carbons

Proximate Analysis: 7.15%

101 values

$r = 0.706$

$\beta = 0.509$

$\alpha_1 = 0.275$

$\alpha_2 = 0.555$

$\delta = 0.405$

$\Delta H = 12.450$

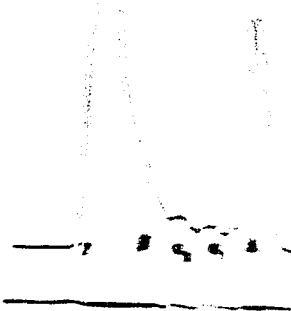


Figure 1

Francisco G.R. Cd:160-23-761-E

Cirreals
30 años

Proteínas Totales = 5.99

γ = 2.066

β = 0.132

α_2 = 0.464

α_1 = 0.133

A = 2.765

A/G = 0.710/1

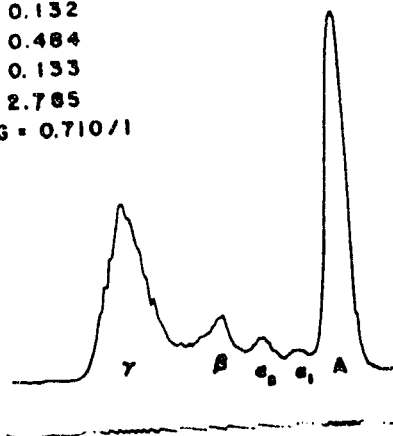


Figura 4.

ANALISIS ESTADISTICO

Para efectuar el análisis estadístico se emplearon los datos obtenidos de las 100 muestras normales, haciendo las siguientes determinaciones:

MEDIA ARITMETICA

La media aritmética de un grupo pequeño de elementos individuales se puede obtener mediante la suma de todos los elementos y división de la suma entre el número de elementos que se utilizaron. Esto, para material no agrupado, se expresa:

$$\bar{X} = \frac{\sum (X)}{N}$$

en donde:

\bar{X} = media aritmética.

N = número de elementos.

X = valor individual de cada elemento.

MEDIA CUADRATICA

La media cuadrática, es la raíz cuadrada del promedio de los cuadrados de todos los elementos. Se representa por la siguiente fórmula:

$$Q_m = \sqrt{\frac{\sum (x^2)}{N}}$$

en donde:

Q_m = media cuadrática.

La media cuadrática se utiliza para computar la desviación estándar.

M O D O

El modo es el valor más frecuente o más común a condición de que haya un número suficientemente grande de elementos para dar una distribución pareja. El valor del modo corresponderá al del punto máximo (ordenada) de una frecuencia de distribución, si la distribución es pareja o ideal.

La modal de una distribución es el punto alrededor del cual los elementos tienden a estar más frecuentemente concentrados. Se le puede considerar como el valor más típico o más probable de una serie. Por este motivo es obvio, que la modal no se afecta por la presencia de uno o de unos pocos valores extremadamente altos o bajos. No se puede hallar el modo de un grupo de elementos si no se les ordena en una serie de distribución de frecuencia.

No es posible hacer una determinación de frecuencia del modo, matemáticamente exacta, pero hay métodos para obtener el modo con una aproximación razonablemente exacta. El punto medio de la clase modal no se puede usar como valor del modo ya que su valor cambiará conforme varía la frecuencia de los intervalos de clase inmediatos (a derecha y a izquierda o por arriba y abajo).

Si se reduce el tamaño del intervalo de clase modal esto tenderá más y más a hacer que el modo coincida con el punto medio del grupo de mayor frecuencia. Sin embargo, esta reducción del tamaño del intervalo de clase está decididamente limitada por el número de elementos incluidos en la distribución. Si hubiera un número infinitamente pequeño, el punto medio del intervalo de clase con la ma-

yor frecuencia será el valor del modo. En la práctica no existe esta situación ideal, por lo que es necesario una aproximación algo más exacta que el simple punto medio.

El valor del modo es enteramente independiente de la presencia de elementos extremos y es un promedio de posición, por todo esto es el promedio más descriptivo.

A pesar de que hemos presupuesto anteriormente que los valores dentro de un grupo de distribución están parejamente distribuidos, esto no es así, sino que hay una tendencia a gravitar hacia el punto de mayor densidad. El valor de la modal se puede aproximar con la fórmula:

$$Mo = Lmo + \frac{fa}{fa + fb} C$$

en donde:

Lmo = Límite inferior del grupo modal.

fa = frecuencia del intervalo de clase por encima del grupo modal.

fb = frecuencia del intervalo de clase por abajo del grupo modal.

C = Tamaño del intervalo de clase.

Cuando hablamos de intervalo de clase y usamos el término "por abajo", nos referimos a las clases que se encuentran en dirección de los valores más bajos.

M E D I A N A

La mediana es el valor del elemento central cuando los elementos están ordenados de acuerdo con su tamaño. Si el número de elementos es par, el punto medio se toma como la media aritmética de los dos elementos centrales. La mediana es un promedio de posición, mientras que la media aritmética es un promedio calculado.

Para calcular la mediana con datos no agrupados, deben arreglarse u ordenarse los elementos de menor a mayor.

Se registra el tamaño del valor central y si tiene un número par de elementos habrá dos valores centrales por lo que se tomarán ambos valores y su promedio se tomará como la mediana. En caso de que los elementos sean ímpares, el número colocado exactamente en medio será la mediana.

La mediana está afectada por el número de elementos y tiene como ventajas el de no estar afectada ni distorsionada por elementos extremos por lo cual es un valor más típico de la serie debido a esta independencia de valores poco comunes. Entre sus desventajas está el de tener mayores errores estándar y probable.

DISPERSION

El promedio o el valor típico tiene poca utilidad si no conocemos el grado de variación de los demás elementos alrededor del valor central.

Si la dispersión alrededor de la medida de tendencia central es muy grande es obvio que tiene poca importancia como valor típico.

DESVIACION ESTANDAR

La desviación estándar es una forma especial de desviación alrededor de la media. Se le computa obteniéndose la media cuadrática de las desviaciones alrededor de la media aritmética de todos los elementos. Por lo tanto la desviación estándar se obtendrá mediante la siguiente fórmula:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x^2)}{n}}$$

σ = desviación estándar.

en donde:

X = desviaciones alrededor de la media.

N = número de elementos.

Puesto que la suma de las desviaciones alrededor de la media aritmética suman un total de cero, es necesario descartar los signos cuando se obtiene el valor promedio.

La desviación estándar está afectada por todos y cada uno de los elementos. Si la distribución es "normal" o en forma de campana, encontramos que:

a) Si sobre el eje de las "X" y a ambos lados de la media aritmética medimos una desviación estándar encontraremos que el 68.26% de los casos se encontrarán dentro de estos límites.

b) Si medimos dos desviaciones estándar quedarán incluidos el 95.4% de todos los elementos.

c) Si medimos tres desviaciones estándar hallaremos incluidos el 99.73% de todos los valores.

En el caso de que haya una distribución con moderado skewness estos valores sólo serán aproximaciones, razón por la cual decimos generalmente que se encuentra contenido el 68% de los valores dentro de la distancia de una sigma alrededor de la media, el 95% para dos sigmas y casi todos los valores, 99.7% para tres sigmas.

V A R I A N C I A

Con el objeto de relacionar la medida de la dispersión con su promedio lo convertimos a la forma de por ciento para lo cual dividimos la desviación estándar entre la media aritmética; a esta medida se le llama también coeficiente de Variación y le damos el signo de V:

$$V = \frac{\sigma}{\bar{X}} \cdot 100$$

SK E W N E S S

Este término representa el grado en que se distorsiona la curva de la distribución de frecuencias y la manera en que se separa de la llamada distribución 'normal'. Cuando una distribución es prácticamente simétrica es natural que coincidan la media, la mediana y el modo. Si la distribución es simétrica, "skewness", los valores de estos promedios se separarán, siendo la media aritmética la que más se separa del modo debido a que es la que más se modifica por los valores extremos.

Se deduce que podemos medir el grado de skewness ya que si éste es muy grande altera el por ciento de casos contenidos dentro de uno, dos o tres sigmas.

Puesto que la distancia entre la media y el modo en distribuciones con moderado skewness es tres veces la distancia entre la media y la mediana, se deduce que podemos medir el skewness, según:

$$S_k = \frac{3 (\bar{X} - med)}{\sigma}$$

Cuando la distribución es simétrica el valor del coeficiente de skewness es cero; cuando la curva es asimétrica por la existencia de cifras extremadamente grandes, estos valores aumentarán el de la media será mayor que el modo y el coeficiente S_k tiene un valor negativo, en el caso contrario el valor será, lógicamente, positivo.

CORRELACION LINEAR

Correlación positiva es aquella en la que valores pequeños de una serie se asocian con los valores pequeños de la otra serie, mientras que los valores grandes de una se asocian con los valores grandes de la otra. En la correlación negativa los valores pequeños de una serie tienden a asociarse con los valores grandes de la otra.

En la correlación linear perfecta los puntos en la grafica están en línea hacia arriba para la positiva y hacia abajo para la negativa.

El ángulo de la línea no afecta el grado de correlación puesto que éste está determinado, en gran parte, por las escalas seleccionadas para la gráfica de dispersión. Sin embargo, la línea recta es horizontal o vertical, la correlación es cero.

LA GRAFICA DE DISPERSION

Cuando se desean estimar los valores de la variable dependiente a partir de los de la variable independiente, se usa la "ecuación estimativa". Los términos independiente y dependiente no necesariamente implican causa y efecto.

Otro objetivo de la correlación es la determinación de la relación que existe entre dos variables. El grado de asociación se puede medir con el "coeficiente de determinación", el cual puede tener un valor tan bajo como cero, (lo que indica que no hay correlación) o tan alto como 1.0 (lo que indica correlación perfecta).

Como cifra alterna podemos usar, en lugar de la anterior "coeficiente de correlación", que es la raíz cuadrada del coeficiente de determinación, que varía entre ± 1.0 .

ECUACION ESTIMATIVA

La ecuación es la siguiente: $Y_c = a + b X$

Es necesario determinar el valor de las dos incógnitas a y b contenidas en la ecuación estimativa. Esto se hace mediante la solución de dos ecuaciones simultáneas, ya que existen dos incógnitas:

$$I. - \Sigma Y = Na + b \Sigma X$$

$$II. - \Sigma XY = a \Sigma X + b \Sigma X^2$$

En el caso de que se deseara estimar los valores de X_a a partir de valores conocidos de Y minimizando las desviaciones estándar

$$\sum (X - X_0)^2$$

ESTADÍSTICA

$$\sum X = Nc' + b'\sum Y$$

$$\sum XY = c'\sum Y - b'\sum Y^2$$

Este método de estimación se llama método computacional para que se pueda utilizar en los cálculos estadísticos se llama distribución y este estadístico se llama coeficiente de correlación que mide la diferencia que existe entre dos variables y se determina a partir de los datos estadísticos que se tienen.

$$S_{y.x} = \sqrt{\frac{\sum (Y - Y_0)^2}{N}}$$

Este estadístico se llama coeficiente de correlación y mide la diferencia que existe entre dos variables y se determina a partir de los datos estadísticos que se tienen.

$$S_{y.x} = \frac{\sum [Y - (c - bX)]^2}{N}$$

ESTADÍSTICA

$$S_{y.x} = \sqrt{\frac{\sum Y^2 - (c\sum Y - b\sum XY)}{N}}$$

dar horizontales al cuadrado $\sum (X - X_c)^2$ la ecuación
 estimativa sería:

$$\sum X = Na' + b'\sum Y$$

y

$$\sum XY = a'\sum Y + b'\sum Y^2$$

Como medida de exactitud de los valores estimados, computamos una que es muy similar a la desviación estándar: se llama *dispersión o error estándar del valor estimado*, y se basa en la diferencia que existe entre cada valor de Y y de Yc determinada a partir del valor pareado de X, según:

$$S_{y.x} = \sqrt{\frac{\sum (Y - Y_c)^2}{N}}$$

Para obviar la necesidad de resolver repetidas veces la ecuación estimativa, reescribimos la ecuación para $S_{y.x}$ poniendo $a + bX$ en lugar de Y_c , con lo que obtenemos:

$$S_{y.x} = \frac{\sum [Y - (a + bX)]^2}{N}$$

que se simplifica a:

$$S_{y.x} = \sqrt{\frac{\sum Y^2 - (a\sum Y + b\sum XY)}{N}}$$

Esta medida de la confiabilidad general de las estimaciones, nos dice que si la dispersión es normal alrededor de la ecuación estimativa, podemos esperar que cerca del 68% de los valores reales caigan verticalmente dentro de ± 1 $S_{y.x}$ de la ecuación estimativa; que alrededor del 95% caigan dentro de ± 2 $S_{y.x}$; y que cerca del 99.7% queden dentro de ± 3 $S_{y.x}$.

Si bien $S_{y.x}$ es una medida de la confiabilidad general de las cifras estimadas más que una medida específica aplicable a una estimación en particular, sin embargo se acostumbra a expresar las estimaciones individuales como ± 1 $S_{y.x}$.

COEFICIENTE DE DETERMINACION Y COEFICIENTE DE CORRELACION

Puesto que nos interesan todos los puntos de la gráfica y no sólo uno, vamos a elevar al cuadrado todas las desviaciones y totalizarlas y usamos el término "variación":

$$\text{Variación explicada} \quad \Sigma (Y_c - \bar{Y})^2$$

$$\text{Variación no explicada} \quad \Sigma (Y - Y_c)^2$$

$$\text{Variación total} \quad \Sigma (Y - Y_l)^2$$

El coeficiente de correlación, representado por r , es la raíz cuadrada del coeficiente de determinación, y toma el signo b en la ecuación estimativa.

La explicación anterior le confiere un significado real al valor obtenido para un coeficiente de correlación, ya que si elevamos un coeficiente de correlación al cuadrado, obtenemos el coeficiente de determinación, que es:

$$\frac{\text{Variación explicada}}{\text{Variación total}}$$

El coeficiente de determinación se define como proporción de la variación contenida en la variable dependiente que está explicada mediante el uso de la ecuación estimativa. Se ha explicado estadísticamente el 93% de la variación en la letra Y, el resto permanece o queda sin explicar el 7%. Este es el coeficiente de no determinación k^2 y se le puede obtener a partir de:

$$k^2 = \frac{\text{variación no explicada}}{\text{variación total}}$$

Es obvio que para cualquier juego de datos r^2 de $r = 1.0$. Sin embargo, $r = k = 1.0$, y sólo será igual a 1.0 cuando r o k (coeficiente de alineación) sea 1.0 o cero, pero bajo todas las demás condiciones será mayor que 1.0.

El símbolo Y_c aparece en dos de las expresiones, lo que obligaría a resolver la ecuación estimativa N veces para cualquier problema de correlación. Mediante la sustitución de $a + bX$ por Y_c y simplificando, obtenemos:

$$\text{Variación explicada: } a\sum Y + b\sum XY - \frac{(\sum Y)^2}{N}$$

$$\text{Variación no explicada: } \sum Y^2 - (a\sum Y + b\sum XY)$$

$$\text{Variación total: } \sum Y^2 - \frac{(\sum Y)^2}{N}$$

Como se ve, la suma de la variación explicada y la no explicada da la variación total:

En ocasiones puede ser deseable determinar el valor r sin determinar previamente a y b , puesto que a veces r es el único valor

que se necesita. Para esto usamos la fórmula "momento-producto de Pearson":

$$r = \frac{N \sum XY - \sum X \sum Y}{\sqrt{[N \sum X^2 - (\sum X)^2][N \sum Y^2 - (\sum Y)^2]}}$$

Cuando haya correlación negativa, el signo aparecerá en el numerador, ya sea porque $\sum X \sum Y$ excede $N \sum XY$ o porque, aunque raramente $\sum XY$ es negativo, $\sum XY$ sólo puede ser negativo si una o ambas series incluyen valores negativos.

RESULTADOS

Aplicando las fórmulas citadas en el análisis estadístico, se obtienen los valores tanto de las fracciones protéicas y proteínas totales, así como la relación que existe entre ellas.

HOMBRES

PROTEINAS TOTALES

	g%
Media aritmética	7.09
Media cuadrática	6.90
Modo	7.22
Mediana	6.97
Desviación estándar	0.59
Variación	0.083
Skewness	+0.20

8 GLOBULINA

	%	g%
Media aritmética	14.63	1.125
Media cuadrática	15.03	1.100
Modo	15.82	1.219
Mediana	14.40	0.995
Desviación estándar	4.44	.371
Variación	0.302	0.334
Skewness	+0.051	+0.034

β GLOBULINA

	%	g%
Media aritmética	9.75	.660

Media cuadrática	10.06	.670
Modo	8.53	.548
Mediana	9.65	.662
Desviación estándar	2.60	.242
Variación	.266	.242
Ekewness	-0.038	-0.015

α_2 GLOBULINA

	%	g%
Media aritmética	6.435	.448
Media cuadrática	6.470	.450
Modo	5.580	.331
Mediana	6.410	.443
Desviación estándar	1.500	.337
Variación	.233	.155
Skewness	0.015	0.014

α_1 GLOBULINA

	%	g%
Media aritmética	2.770	0.218
Media cuadrática	2.710	0.179
Modo	2.835	0.172
Mediana	2.700	0.190
Desviación estándar	0.608	0.340
Variación	0.219	0.155
Skewness	0.115	0.829

ALBUMINA

	%	g%
Media aritmética	66.140	4.706
Media cuadrática	65.060	4.510
Modo	66.000	4.940
Mediana	66.650	4.570
Desviación estándar	3.600	0.442
Variación	0.054	0.093
Skewness	0.301	0.141

RELACION A/G

	g%
Media aritmética	2.23/1.00
Media cuadrática	2.03/1.00
Modo	1.99/1.00
Mediana	2.00/1.00

Desviación estándar	0.480
Variancia	0.183
Skewness	+1.68

M U J E R E S

PROTEINAS TOTALES

	g%
Media aritmética	6.945
Media cuadrática	6.804
Modo	7.243
Mediana	6.780
Desviación estándar	0.516
Variancia	0.175
Skewness	+0.124

γ GLOBULINA

	%	g%
Media aritmética	15.133	1.038
Media cuadrática	15.071	1.050
Modo	13.428	0.975
Mediana	15.000	0.999
Desviación estándar	3.200	0.251
Variancia	0.211	0.208
Skewness	0.0415	+0.015

β GLOBULINA

	%	g%
Media aritmética	9.560	0.647
Media cuadrática	9.700	0.605
Modo	11.070	0.660
Mediana	9.580	0.649
Desviación estándar	2.28	0.135
Variancia	0.238	0.208
Skewness	-0.0199	-0.011

α_2 GLOBULINA

	%	g%
Media aritmética	6.735	0.496
Media cuadrática	6.900	0.470
Modo	5.620	0.461
Mediana	6.560	0.434
Desviación estándar	1.490	0.105

Variación	0.221	0.211
Skewness	0.011	0.068

α_2 GLOBULINA	g%	g%
Media aritmética	2.830	0.196
Media cuadrática	2.910	0.260
Modo	2.710	0.175
Mediana	2.810	0.193
Desviación estándar	0.771	0.011
Variación	0.272	0.259
Skewness	0.025	-0.070

ALBUMINA	g%	g%
Media aritmética	65.483	4.486
Media cuadrática	66.000	4.502
Modo	64.250	4.121
Mediana	65.110	4.485
Desviación estándar	5.080	0.470
Variación	0.074	0.104
Skewness	-0.073	-0.022

RELACIONA A G	g%	g%
Media aritmética	1.99	1.00
Media cuadrática	2.030	1.00
Mediana	1.870	1.00
Modo	1.940	1.00
Desviación estándar	0.305	
Variación	0.153	
Skewness	2.36	

Al observar estos valores se pone de manifiesto la poca variación de ellos, por lo que utilizando el modo se obtienen los siguientes valores más frecuentes o comunes:

PROTEINAS TOTALES	7.231g%	100	52
γ GLOBULINA	7.097g%	14.624%	
β GLOBULINA	0.604g%	9.804%	
α_2 GLOBULINA	0.396g%	5.600%	
α_1 GLOBULINA	0.173g%	2.770%	
ALBUMINA	4.530g%	64.450%	

Utilizando la fórmula "momento producto de Pearson", se saca el valor de r , que valoriza la correlación lineal que hay entre las diferentes fracciones y las proteínas totales, así como las fracciones protéicas entre sí.

Se dedujo que esta correlación es por lo general mala, ya que ninguna de las tabulaciones llegó a tener valores cercanos a 1.0.

La representación gráfica de la correlación entre la gama globulina y las proteínas totales se observa en la gráfica No. 1. Sus valores correspondientes son:

$$r = 0.845$$

$$r^2 = 0.063$$

$$k^2 = 0.936$$

$$\text{Variación explicada} = 0.107$$

$$\text{Variación no explicada} = 1.573$$

$$\text{Variación total} = 1.78$$

De todos los valores obtenidos ésta es la que guarda una mejor correlación, ya que su coeficiente r es el que más se acerca a 1.0

En la gráfica No. 2 corresponde a la relación entre la albúmina y la gama globulina. Se puede observar cómo esta correlación es negativa. Sus valores correspondientes son:

$$r = -0.1902$$

$$r^2 = 0.367$$

$$k^2 = 0.636$$

$$\text{Variación explicada} = 0.622$$

$$\text{Variación no explicada} = 1.090$$

$$\text{Variación total} = 1.710$$

A pesar de que esta correlación es mala, en trabajos hechos en pacientes con alteraciones hepáticas, se ha demostrado que esta correlación se pierde más aún.

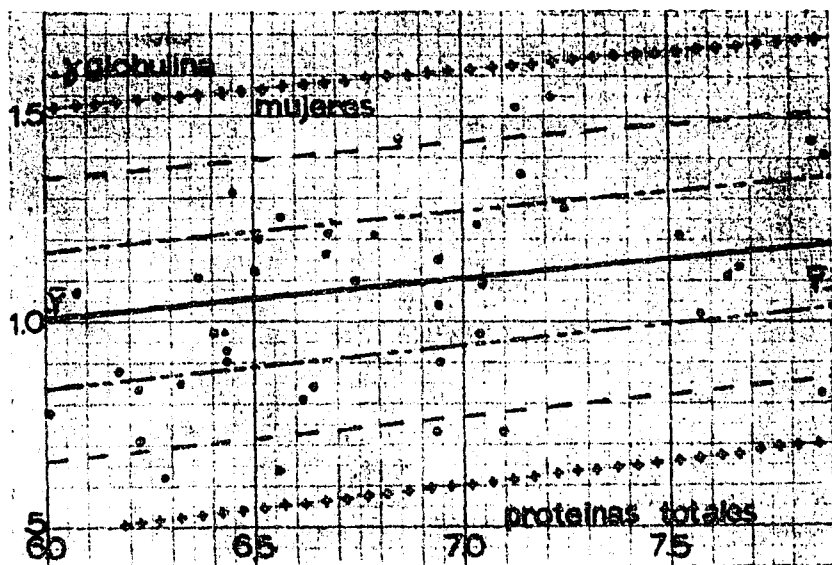
Por tabulaciones hechas entre las diferentes fracciones protéicas se encontraron los siguientes valores:

Gama globulina/proteínas totales:	r = 0.845
Albúmina/proteínas totales:	r = 0.406
Alfa ₁ globulina/proteínas totales:	r = -0.298
Gama globulina/albúmina:	r = -0.192
Beta globulina/albúmina:	r = -0.841
Alfa ₁ globulina/albúmina:	r = -0.307

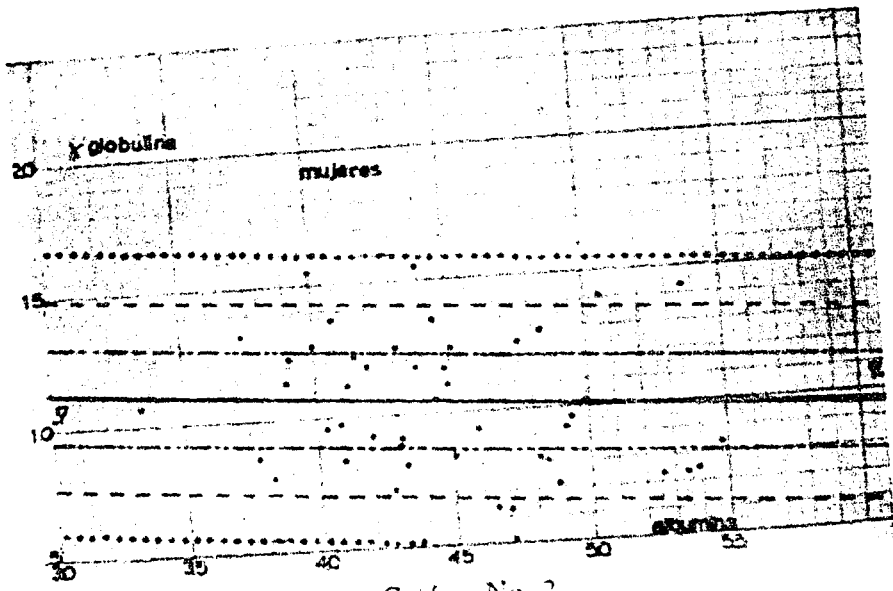
Para encontrar las diferencias y alteraciones que pueden sufrir las proteínas totales y sus fracciones, al pasar del estado de reposo al de ejercicio, se les tomó muestra de sangre, en cada uno de estos estados fisiológicos, a los ocho sujetos empleados para esta prueba.

Por lo que respecta a las proteínas totales, hubo un aumento en todos los casos, cuya media aritmética es de 0.424 g/l.

En todos los casos hubo variación de las fracciones protéicas, no pudiéndose determinar en qué proporción aumentan unas y disminuyen otras; pero lo hicieron de una manera que a primera vista parece anárquica pero que seguramente su estudio prolongado, demostrará que los cambios están en relación con el tipo de aceleración del metabolismo, y el poder dinámico de las proteínas.



Grafica No. 1



Gráfica No. 2

CONCLUSIONES

1.—Se describen los métodos para la determinación de las proteínas totales, así como de las diferentes fracciones protéicas.

2.—Se exponen los resultados obtenidos en 100 casos estudiados.

3.—Se hizo el análisis estadístico de las cifras encontradas y se llegó a las siguientes conclusiones:

- a) El procedimiento para determinar cuantitativamente las proteínas totales y sus fracciones es simple y exacto, bastando menos de 0.5 ml de suero problema.
- b) Las ventajas de éstos procedimientos permiten recomendarlos como métodos aplicables en la rutina.
- c) Como inconveniente podría citarse el costo del equipo.
- d) Se encontró que la Variancia es semejante y muy pequeña en todas las fracciones determinadas.

4.—Encontramos que todos los valores normales de las diferentes fracciones, están comprendidos entre la media aritmética más o menos tres desviaciones estándar, en tanto que la albúmina comprende valores normales únicamente entre la media aritmética más o menos DOS desviaciones estándar.

5.—Para determinar las proteínas, debe tomarse la muestra en condiciones de perfecto reposo, pues de lo contrario éstas pueden alterarse considerablemente y no obtenerse los valores realmente ciertos.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—*Abramson, H. A.* Simplified preparative electrophoresis at room temperature. *Science* 110, No. 2870:716, 1949.
- 2.—*Antweiler, H. H.* Die quantitative Elektrophorese in der Medizin Berlin-Gotinga-Heilderberg.
- 3.—*Astbury, X-Rayos* and the stoichiometry of the proteins. *Advances in Enzymology*, 6:63, 1943.
- 4.—*Block.* On the natura and origen of proteins. *J. Biol. Med.* 7:236, 1935.
- 5.—*Cann Jr., Bailey Hr.* Theory of isomerization equilibrium in electrophoresis. *Arch. Biochem.* 93:576-9, 1961.
- 6.—*Cohn.* The properties and functions of plasma proteins. *Chem. Rev.* 28:395, 1941.
- 7.—*Cann Jr., Kirkwood J. G.* The fractionation of proteins by electrophoresis convection. *Sympos Quant. Biol.* 14:9-23, 1950.
- 8.—*Durrum E. I.* Continuous electrophoresis and ionophoresis on filter paper. ARMY, Medical Service Field Research Laboratory Fort Knox, Kentucky. Project No. 6, 64, 12, AMSF.
- 9.—*De Nurath.* The structure of proteins. *J. Phys. Chem.* 44:297, 1940.
- 10.—*Neurath, H. y Bailey, K.* The Proteins, Vol. I. Academic Press, Nueva York, 1953.

- 11.—*Edsall J T. Advances in Protein Chem 3 354, 1947*
- 12.—*Edlbacher, S u P. Lehrbuch per physiol. Chemie Berlin, 1952*
- 13.—*Hock H. Comparison of electrophoretic patterns of human sera obtained in phosphate and diethylbarbiturate buffer. Biochem J, 46 5, 1950.*
- 14.—*Kekwick and M. Farson. The chemistry of the proteins and amino-acid. Ann. Rev. Biochem. 12 93, 1943*
- 15.—*Kurzer G. Filter paper electrophoresis, a simple method of determining blood proteins. Klin. Wochschr. 28 39, 1950*
- 16.—*Baldwin RL, Laughton PM, Alberty RA. Homogeneity and the electrophoresis behavior of some proteins. III. A general method for the determination of mobility distribution. J Phys. Colloid Chem. 55:1, 1951*
- 17.—*Lozza A. Apparatus and methods for paper electrophoresis of large amounts of blood samples for the separation and staining proteins fractionation. Karel. Osvobod. 13 55, 1947*
- 18.—*Paper H, Huerga I D I, Escobedo M, Bosc W, B. Smith J, I, Schaffner R. Correlation between electrophoresis and chemical partitions of serum proteins. Am. J. Clin. Path. 20 6, 1950.*
- 19.—*Kinkel H. G and Tscham A. G. Electrophoresis of protein of filter paper. J. Gen. Physiol. 25 42, 1951*
- 20.—*Schothan W. Physico-Chemical basis of electrophoresis. Med. Mschr. 4 6, 1950*
- 21.—*Vickerz. Evidence from organic chemistry regarding the composition of protein molecules. Ann. N.Y. Acad. Sci. 41 57, 1941.*
- 22.—*M. Lederer. "An introduction to Paper Electrophoresis and Related Methods", 2nd ed., pag. 149. Van Nostrand, Princeton, New Jersey, 1957.*
- 23.—*Bier, Electrophoresis, Theory, Methods and Applications. First edition. Academic Press Inc. New York, 1960*