

69

429

32(54)



*ANA ELISA ESQUIVEL ORTIZ*  
**MEXICO, D. F.**

1957



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.

52 (02)

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
-----  
ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS QUIMICAS

*"METODO ELECTROFORETICO PARA  
DETERMINACION DE SEROPROTEINAS"*

**TESIS**

Que para su examen profesional de QUIMICO  
presenta

*ANA ELISA ESQUIVEL ORTIZ*

TIPOGRAFICA ORTEGA  
Siempreviva N° 99 (Xotapingo)  
México, D. F. - 1957

*A MIS PADRES, con mi  
gratitud y mi amor.*

*A MI HERMANA  
con todo cariño.*

*A MIS MAESTROS*

*Hago patente mi profundo agradecimiento  
para el Sr. Dr. LEONEL FIERRO DEL RIO,  
bajo cuya dirección se llevó a cabo el presente trabajo.*

*A MIS COMPAÑEROS*

## CAPITULOS

- I.—INTRODUCCION
- II.—ANTECEDENTES HISTORICOS
- III.—MATERIAL Y REACTIVOS
- IV.—METODOS
- V.—METODOS ESTADISTICOS
- VI.—RESULTADOS
- VII.—COMENTARIOS
- VIII.—RESUMEN
- IX.—BIBLIOGRAFIA

## CAPITULO I

### INTRODUCCION

La electroforesis, llamada algunas veces también cataforesis o ionoforesis, consiste en el movimiento de los iones o partículas coloidales en solución, cargadas bajo la influencia de un campo eléctrico.

La velocidad de este movimiento es una función de la polaridad, o sea de la carga eléctrica neta de dichas partículas, así como de su peso molecular, número de grupos ionizables, su constitución y forma y otros factores tales como la electroosmosis y la adsorción.

A un pH ácido respecto de su punto isoelectrico, las partículas tienden a emigrar hacia el cátodo y a un pH alcalino de dicho punto emigran hacia el ánodo; en su punto isoelectrico tienen una carga neta igual a cero, por lo tanto no hay movilidad alguna.

Tiselius (13) en sus trabajos sobre separación electroforética descubrió que, tomando en cuenta las diferencias entre las movilidades electroforéticas, se podía hacer un análisis exacto de mezclas de sustancias. Sin embargo, el método de Tiselius requiere aparatos sumamente costosos y complicados en su manipulación y por lo tanto poco prácticos en la rutina diaria de los laboratorios clínicos, técnicos y científicos.

No obstante, estos primeros trabajos han servido de base al método de la electroforesis sobre papel húmedo e iniciado su uso en los campos analíticos.

La electroforesis sobre papel ha sido aplicada al examen de dos grupos principales de sustancias, a saber:

iones pequeños, orgánicos e inorgánicos y coloides grandes, tales como proteínas y polisacáridos.

En la actualidad su uso se ha extendido grandemente a la química de alimentos, bacteriología, investigación de virus y a la química industrial.

En este método, las partículas de que se encuentra formada la sustancia en experimentación, se distribuyen sobre la tira de papel en zonas más o menos bien definidas, dependiendo de un control cuidadoso de la concentración de los electrolitos de la solución, la naturaleza y concentración de la muestra, la porosidad y calidad del papel filtro usado y de la tensión eléctrica aplicada.

De lo anterior se deduce la necesidad de efectuar la electroforesis a un pH constante, para lo cual es necesario usar una solución tampón, formada generalmente por un ácido débil y una de sus sales.

La fuerza iónica es también de suma importancia, ya que un aumento en ella ocasiona un descenso en la movilidad electroforética; esto es debido a que los iones absorbidos por las partículas pueden comunicarle a aquella su carga eléctrica, dependiendo por lo tanto el punto isoeléctrico del contenido del tampón en iones así como de la valencia de los mismos. Con los iones tampón, polivalentes no está bien definida la velocidad de migración de proteínas, aún con pH y fuerza iónica constante, por lo que se prefiere usar iones monovalentes.

La posibilidad de obtener resultados simultáneos, la sencillez y brevedad de este método así como el bajo costo de los aparatos utilizados, hacen que sea ya ampliamente usado, a pesar de ser relativamente nuevo.

Por lo expuesto anteriormente, se ha escogido como tema para este trabajo el estudio de un método electroforético sobre papel filtro para separación de seroproteínas, tanto humanas en estados normales y patológicos; como de algunos tipos de animales, debido a la importancia tan grande que tienen las proteínas en las funciones biológicas de los individuos.

## CAPITULO II

### *ANTECEDENTES HISTORICOS*

La idea de usar soluciones estabilizadoras de electrolitos en los experimentos sobre migración iónica, data de 1886, en que Lodge usando gelatina como medio estabilizador, en tubos de vidrio, determinó las velocidades migratorias de un gran número de iones inorgánicos midiendo el movimiento de franjas coloridas o la formación de anillos de precipitado. Arrhenius en el mismo año publicó en un estudio las relaciones entre la fluidez de electrolitos estabilizadores con gelatina y la conductabilidad de las mismas soluciones de sales inorgánicas.

Sin embargo, no fué sino hasta 1938 en que Tiselius, con ayuda de un nuevo aparato para electroforesis y un método sensitivo para medir las franjas resultantes, encontró que el suero sanguíneo contiene albúmina y tres globulinas designadas como alfa, beta y gamma, respectivamente.

El año de 1939 fué pródigo en publicaciones sobre técnicas electroforéticas. Strain describió un método en el que dos electrodos se insertan en columnas de alúmina del tipo usado en adsorción cromatográfica. Coolidge describió otra técnica en donde se utilizan pequeñas muestras de soluciones séricas y en el mismo año, von Klobusitzky y König publicaron un método en el que por primera vez se empleaban tiras de papel filtro, no habiendo tenido su trabajo el éxito esperado.

En los años posteriores se destacaron los trabajos de Berraz, en Argentina, el cual describe una técnica para la

separación electroforética de iones inorgánicos; los de Lecoq, describiendo una técnica muy similar a la usada por Strain; Consden, Gordon y Martin en 1946, publicaron la separación de amino ácidos y Hugaard y Kroner anunciaron los resultados de algunos experimentos en los que se combinó la cromatografía y la electromigración para la separación de mezclas de proteínas.

Después, llevando adelante el trabajo de Tiselius, este método sencillo fue utilizado en 1949-1950, casi simultánea e independientemente por Th. Wieland y Fisher, por Turba y Erenkel, en Alemania y por Durrum en EE.UU., para la microseparación de proteínas y amino ácidos e inmediatamente después por Grassmann y colaboradores en un método cuantitativo para análisis de suero.

En los últimos años ha habido un enorme incremento en el desarrollo de los métodos analíticos por migración electroforética. En muchos laboratorios sirven como técnicas adaptables para la corroboración, exploración y control.

El aumento de aplicaciones y la multiplicación de investigadores interesados en su uso han estimulado el progreso de la ciencia relativa a las sustancias químicas y sus reacciones.

La resultante expansión de los conocimientos ha sido tan rápida, tan grande y tan diversa, que en la actualidad cerca de 4.000 trabajos se han publicado, con los diferentes métodos, aplicaciones, modificaciones y limitaciones de las técnicas; por lo que en esta corta introducción histórica no se puede dar una relación extensa sobre ello, citándose sólo el desenvolvimiento general.

Los anteriores datos sobre bibliografía fueron extraídos del libro sobre electroforesis de McDonald, con referencia (13).

## CAPITULO III

### MATERIAL Y REACTIVOS

#### I.—MATERIAL.

##### a).—Aparato (Fig. 1).

El aparato usado para efectuar la electroforesis es una modificación del descrito por E. L. Durrum (2). Dicho aparato está formado por una celda rectangular de lucite de 31.5 cm. de largo por 14.5 cm. de ancho y con una altura de 10 cm. (a). Está dividida longitudinalmente en dos compartimentos iguales, correspondientes al ánodo y al cátodo (b); tienen además, un tubo de hule (c) conectado a ambos lados de los compartimentos, el cual tiene por objeto igualar los niveles de la solución reguladora a ambos lados al principiar el experimento.

En la pared opuesta están las conexiones de los electrodos (d) en la parte exterior, introduciéndose a través de unos pequeños orificios, cada uno en su compartimento correspondiente. Dichos electrodos están constituidos de dos alambres de platino colocados paralelamente a las paredes longitudinales de la celda, desde el extremo donde se encuentran las conexiones hasta la mitad de la misma donde están sujetas por medio de un pequeño tornillo (e).

La celda se cubre por medio de una tapa de forma piramidal (f), del mismo material.

La modificación entre este aparato y el usado por E. L. Durrum, consiste en una pared adicional de lucite (g)

colocada en cada compartimento, entre la pared longitudinal y la pared central, dejando sólo un pequeño espacio de 3 cm. para que haya una comunicación indirecta de los electrodos con el resto de la solución. Esta modificación tiene por objeto el prevenir la difusión de los productos de los electrodos hacia el final de las tiras de papel filtro.

El soporte para colocar las tiras es removible y está formado esencialmente por tres varillas del mismo material, colocadas simétricamente en forma de V invertida (h).

La corriente eléctrica para efectuar la disociación proviene de una pequeña fuente de poder provista de un voltímetro y un amperímetro.

b).—Papel filtro.

Se utilizó papel filtro Munktel No. 20, cortado en tiras de 32 cm. x 3.8 cm. Con una marca ligera de lápiz se señala exactamente la mitad de la tira, tenido así un punto de referencia tanto al colocar la tira sobre el soporte como al aplicar el suero.

c).—Fotocolorímetro Leitz, con celdillas adecuadas y filtro verde correspondiente a una longitud de onda de 535 milimicrones.

d).—Para colocar el suero sanguíneo en la tira se usó un aparato especial llamado "striper", marca Spinco (Fig. 2). Para las operaciones de secado, teñido y lavado de las tiras se utilizó un cristalizador rectangular Pyrex de 34 cm. x 20 cm.

e).—Tubos de ensaye, embudos y pipetas para el fraccionamiento químico de proteínas.

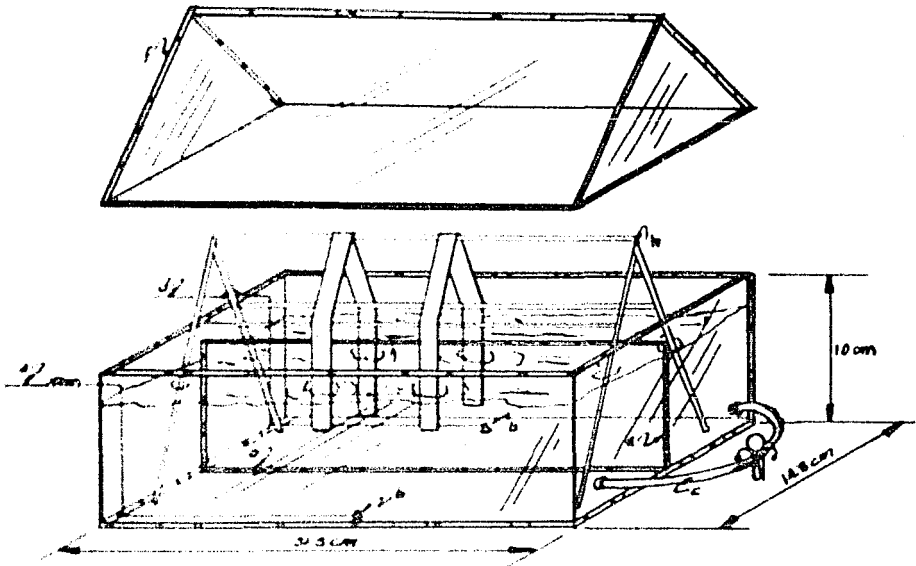


FIG 1

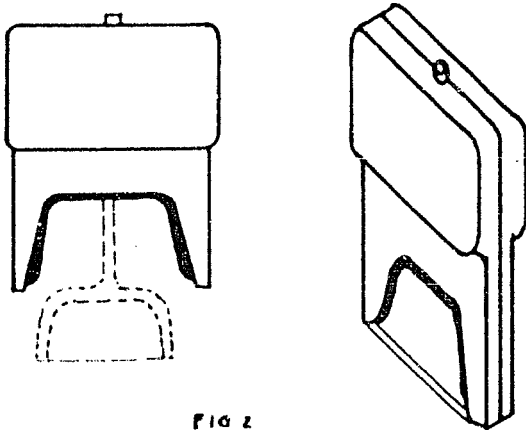


FIG 2

## 2.—REACTIVOS.

### a).—Solución reguladora.

La solución tampón usada para la migración electroforética es la de Michaelis, formada por barbital y barbital sódico, de pH 8.6 y fuerza iónica de 0.05.

Esta solución se obtiene diluyendo en un litro de agua 20.6 g. de barbital sódico y 3.86 g. de ácido dietil barbitúrico; una vez disueltas perfectamente las sustancias, se hace una segunda dilución en proporción de 1:1 quedando así la solución lista para emplearse.

### b).—Colorante.

Azul de bromofenol .....	0.1 g.
Cloruro mercúrico .....	5.0 „
Acido acético .....	5.0 ml.
Agua destilada .....	1 000 „

Se disuelve el cloruro mercúrico en agua destilada, calentando ligeramente si es necesario, se agrega el ácido acético y el azul de bromofenol y se disuelven perfectamente, llevándolo a un litro exactamente con agua destilada.

### c).—Solución de lavado.—Solución de ácido acético al 0.5%

### d).—Solución eluyente.—Para extraer el colorante de las tiras, se hizo la elución con NaOH 0.1N.

### e).—Reactivo de Weichselbaun.

Tartrato sódico potásico .....	1.8 g.
Sulfato de cobre pentahidratado .....	0.6 „
Yoduro de potasio .....	1.0 „
NaOH 0.2N .....	200 ml.

Se disuelven en 80 ml. de NaOH 0.2N el tartrato sódico potásico, se agrega el  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  y se disuelve por agitación, se mezcla enseguida el KI y se lleva a 200 ml. con NaOH 0.2N.

f).—Suero fisiológico.—NaCl al 8.5/1000

g).—Soluciones de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  al 20.27%, al 27.73% y al 15.75%

### 3.—MATERIAL CLINICO.

Los exámenes se hicieron en personas agrupadas como sigue:

a).—Sanos, formados por personas sin enfermedades aparentes al examen médico.

b).—Cirróticos, formados por enfermos con cirrosis hepática difusa de La anec, y

c).—Diabéticos, formados por enfermos con Diabetes Mellitus en tratamiento.

En animales, los estudios se hicieron en conejos, gatos y ratas, todos al parecer sanos.

## CAPITULO IV

### M E T O D O

Las proteínas pertenecen a un grupo de sustancias que se caracterizan porque al hidrolizarse dan multitud de amino ácidos diferentes; estos amino ácidos tienen carácter anfótero, es decir son vectores simultáneos de carga positiva y negativa. En presencia de un medio ácido reaccionan como bases y viceversa.

La magnitud de la carga eléctrica de las proteínas se debe en gran parte al número y constitución de estos amino ácidos, ya que funcionan como grupos ionizables.

El fraccionamiento proteínico se realizó por separación electroforética; la cantidad total de proteínas en el suero se obtuvo por método químico y, así mismo, por este último método se llevó a cabo la separación fraccionada de las seroproteínas, con el objeto de hacer un estudio comparativo entre ambos métodos.

#### I.—MÉTODO ELECTROFORÉTICO.

a).—Aplicación del suero y desplazamiento electroforético.

Con ayuda del "striper" se coloca en la tira de papel filtro el suero por analizar, sobre la línea marcada con lápiz; esta tira es previamente colocada sobre el soporte y humedecida con la solución reguladora por medio de un gotero o pipeta. Después de aplicado el suero, se cubre el aparato con la tapa, se conectan los electrodos a la fuente de poder y se regula la tensión eléctrica a 150 voltios, efectuándose el desplazamiento electroforético en el término de 16-18 horas.

Pueden ponerse simultáneamente en el aparato seis tiras de papel filtro, equivalentes a seis sueros diferentes, o bien, solamente tres sueros, siendo dos tiras para cada uno de ellos.

Después de efectuarse la electroforesis propiamente dicha, se retira el soporte del resto del aparato, una vez desconectado y se secan las tiras en el horno a 100-110°C. en posición horizontal, por espacio de 20 minutos.

b).—Teñido y lavado.

Cuando se hayan secado las tiras se sumergen en una solución de azul de bromofenol por espacio de 20 minutos, al cabo de los cuales se retira el colorante y se lavan con la solución de ácido acético diluido tantas veces como sea necesario, para obtener una solución residual límpida e incolora. A continuación se secan las tiras nuevamente, quedando listas para la elución posterior.

c).—Elución.

Para la estimación de las cantidades relativas de las fracciones proteínicas en las diferentes zonas teñidas, se usaron dos procedimientos:

El primero de ellos consiste en la elución de las fracciones totales de proteína. Para esto, se corta la tira en cinco fracciones localizadas por medio del colorante, correspondientes a las albúminas, alfa<sub>1</sub>, alfa<sub>2</sub>, beta y gamma globulinas; se diluyen en un determinado volumen de NaOH 0.1N (en este caso 20 ml.) y se dejan reposar por espacio de 30 minutos, agitando ocasionalmente; se pasan a las celdas fotoeléctricas para leerse en el fotocolorímetro, tomando como tubo testigo uno que contenga NaOH 0.1N; la suma total de las densidades ópticas corresponde al total de proteínas obtenidas por el método químico y las fracciones proteínicas están, por lo tanto, en razón directa de sus densidades ópticas leídas en los diferentes tubos.

En el segundo procedimiento usado, la tira se corta en secciones de 5 mm. de espesor, a partir de la zona más intensamente colorida correspondiente a las albúminas, y tomando como blanco una sección donde no haya coloración; se les agrega a cada tubo 8 ml. de NaOH 0.01 N por espacio de 30 minutos, agitando los tubos a diferentes intervalos y se procedió como en el caso anterior. Se hizo una gráfica con las lecturas obtenidas, o sea las densidades ópticas contra distancia migratoria.

Una vez obtenida la gráfica, se determina el área bajo curva de las diferentes fracciones con ayuda de un planímetro, así como el área total, la cual corresponde a la cantidad de proteínas totales; con estos datos se calcula la cantidad de proteínas correspondiente a cada fracción.

Otro procedimiento usado para la determinación de las fracciones seroprotéicas, es por medio de la balanza; pesando las fracciones de la gráfica correspondientes a cada fracción proteínica, siendo la suma de todas ellas, la cantidad de proteínas totales y efectuándose los cálculos como en el caso anterior.

## 2.—DETERMINACION DE PROTEINAS TOTALES.

En la determinación de proteínas totales se siguió la técnica de Weichselbaum debido a su rapidez y exactitud.

En un tubo de fotocolorímetro se colocan 0.1 ml. de suero, 5 ml. de suero fisiológico y 5 ml. de reactivo de Weichselbaum y se agita repetidamente el tubo hasta obtener una coloración uniforme. Se lleva a baño maría por espacio de 30 minutos y con una temperatura constante de 31°C.

La lectura se hace con filtro verde correspondiente a una longitud de onda de 535 milimicrones y usando como testigo una solución de 5 ml. de suero fisiológico y 5 ml. de reactivo de Weichselbaum.

El % de proteínas totales se obtuvo multiplicando la densidad óptica por 31.4 correspondiente al factor obtenido al calibrar el fotocolorímetro.

### 3.—FRACCIONAMIENTO DE PROTEÍNAS.

En tres tubos de ensaye se coloca lo siguiente:

*Tubo 1.*—A 0.5 ml. de suero sanguíneo se le agrega 7.5 ml. de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 27.73%. Se lleva el tubo a la estufa durante toda la noche y se filtra. Del filtrado se toman 1.6 ml., se agregan 3.5 ml. de suero fisiológico y 5 ml. de reactivo de Weichselbaum.

*Tubo 2.*—A 0.5 ml. de suero sanguíneo se le agregan 7.5 ml. de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 20.27%. Se lleva el tubo a la estufa durante toda la noche y se procede como en el tubo uno.

*Tubo 3.*—A 0.5 ml. de suero sanguíneo se le agregan 10 ml. de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 15.75%. Se dejan reposar en la estufa durante toda la noche; se filtran y del filtrado se toman 5 ml. adicionando 5 ml. de reactivo de Weichselbaum.

Los tres tubos se llevan a baño maría por espacio de 30 minutos a una temperatura constante de 31°C. Las lecturas se hacen con filtro verde de 535 milimicrones.

Al multiplicar la densidad óptica del tubo uno por 31.4 nos dará directamente el valor de las albúminas; el tubo dos nos dará de igual manera el valor de las albúminas más las alfa globulinas y el tubo tres multiplicándolo por el factor 13.0 nos dará el valor de las albúminas, más alfa y beta globulinas.

Por lo tanto, la diferencia entre el tubo 2 y el tubo 1 nos dará la cantidad de alfa globulinas y el tubo 3 menos el tubo 2 corresponde al valor de las beta globulinas. El valor de gamma globulina se obtendrá por diferencia entre las proteínas totales y el tubo 3; y por último, la cantidad de albúmina se obtendrá directamente del tubo 1.

## CAPITULO V

### METODOS ESTADISTICOS

Los resultados obtenidos se utilizaron para calcular los siguientes parámetros:

1.—Promedio o Media Aritmética (M); es igual a la suma de los términos de cada serie dividida entre el número de término (n):

$$M = \frac{\sum X}{n}$$

2.—Desviación media cuadrática, calculada por medio de la siguiente fórmula:

$$D. S. = \frac{\sum X^2}{n} - M^2$$

en donde ( $\sum X^2$ ) representa la suma de los cuadrados de los valores obtenidos, (n) el número de casos y ( $M^2$ ) el promedio aritmético al cuadrado.

Como en este trabajo el número de casos es menor de treinta, la fórmula anterior se modifica empleando:

$$\frac{\sum X^2}{n-1} \text{ en vez de } \frac{\sum X^2}{n}$$

3.—Error Estándar del promedio (E. S.) el cual se obtiene al dividir la desviación estándar entre la raíz cuadrada del número de casos:

$$E. S. = \frac{D. S.}{\sqrt{n}}$$

como en el valor anterior, como el número de casos es menor de treinta, se dividirá la desviación estándar entre la raíz cuadrada del número de casos menos uno:

$$E. S. = \frac{D. S.}{\sqrt{n - 1}}$$

4.—El coeficiente de significación estadística o índice de Fisher ( $C_f$ ) se usó en este trabajo para comparar los valores obtenidos en los diferentes estados patológicos, de acuerdo con la fórmula:

$$C_f = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{\frac{E. S.}{2} + \frac{E. S.}{2}}}$$

es decir, es el cociente de la diferencia de los promedios aritméticos entre la raíz cuadrada de la suma de los errores estándar del promedio.

La regla de Fisher dice: "si  $C_f$  resulta mayor que 2, la diferencia observada entre los grupos se deberá a accidentes del muestreo menos de 5 veces en 100, por lo tanto se puede considerar "Estadísticamente Significante".

Sin embargo, con objeto de hacer más claras las diferencias, consideramos como valor estadístico útil, 3.1, con lo cual hay una probabilidad en 500 de que una determinación coincida en los dos grupos comparados.

## CAPITULO VI

### RESULTADOS

Los individuos clasificados previamente en tres grupos, correspondientes a sanos, cirróticos y diabéticos, y los resultados de las pruebas practicadas a todos ellos, se encuentran comprendidos en los cuadros I, II y III respectivamente.

Los valores obtenidos en la separación electroforética de sueros de diferentes especies de animales se consignan en el cuadro IV. Sólo se efectuó la separación proteínica por electroforesis debido a la poca cantidad de suero disponible.

Los parámetros de dichos grupos calculados por el sistema de Frederic T. Jung (8) ya descrito, se resumen en los cuadros V y VI.

El Promedio Aritmético, la Desviación Media Cuadrática y el Error Estándar se calcularon para todos los grupos. El índice de Fisher se calculó para el grupo de cirróticos y para los diabéticos comparados con el grupo de normales y entre sí, como se verá en el cuadro VII. Los demás grupos son demasiado pequeños para efectuar estos cálculos.

Los enfermos de cirrosis presentan una disminución en las albúminas y aumento de las gamma globulinas con el subsecuente aumento de globulinas totales. Esta diferen-

cia se encuentra tanto en el método químico como en el electroforético, por corte de gráfica y corte fraccionado.

Los diabéticos no presentan alteración alguna de las fracciones seroprotéicas, en relación con los sujetos normales, con excepción de una disminución en las albúminas obtenidas por el corte fraccionado, en el método electroforético.

Las Medias Aritméticas de las fracciones seroproteínicas obtenidas en ratas, conejos y gatos se transformaron a porcentajes, quedando para las ratas los valores de 36-37%, 25-29%, 21-22% y 14-16% correspondientes a albúmina y alfa, beta y gamma globulinas, respectivamente. Comparados estos porcentajes con los hallados por Gyessing (6), los cuales corresponden a 42-45%, 25-29%, 18-21% y 16-18, se ve una gran similitud en ambos casos.

En los conejos se encontraron los valores de 56-58% de albúminas, 42-44% de alfa globulinas, 13-16% para beta globulinas y 10.5-13% de la fracción gamma globulina; estos valores presentan un porcentaje mayor en albúminas, alfa y beta globulinas y menor en gamma globulinas que los encontrados por Deutsche (1), correspondientes a 51% de albúminas, 14% de alfa y beta globulinas y 21% de gamma globulinas.

Los porcentajes de las fracciones correspondientes a los gatos son: 47-51% para albúminas y 21-20%, 13-14% y 15-10% para alfa, beta y gamma globulinas. En comparación con los datos publicados por Moore (14), los cuales son 36%, 24%, 12% y 28%, por él llamados como fracciones 1, 2, 3 y 4, se nota una diferencia notable en la primera y última fracción en comparación con los obtenidos en este trabajo.

C U A D R O I . - S A N O S

Numero	Nombre	P.T.	METODO ELECTROFORETICO														METODO QUIMICO				
			Corte fraccionado							Corte grafica							A	G	α	β	δ
			A	G	α <sub>1</sub>	α <sub>2</sub>	α	β	δ	A	G	α <sub>1</sub>	α <sub>2</sub>	α	β	γ					
1	I.C.	6.7	4.1	2.6	0.1	0.8	0.9	1.1	0.6	4.3	2.4	0.1	0.3	0.4	1.0	1.0	4.9	1.8	0.9	0.5	0.4
2	A.G.	6.6	4.2	2.4	0.2	0.6	0.8	0.9	0.7	4.3	2.3	0.2	0.5	0.7	0.9	0.7	4.1	2.5	1.0	0.3	0.7
3	J.M.	6.1	3.6	2.5	0.2	0.7	0.9	1.0	0.6	3.9	2.2	0.2	0.4	0.6	0.7	0.9	3.8	2.3	1.2	0.4	0.7
4	C-25	7.3	4.4	2.9	0.3	0.8	1.1	0.9	0.9	4.9	2.4	0.3	0.6	0.9	0.8	0.7	4.1	3.2	1.2	0.9	1.1
5	C-22	7.9	4.9	3.1	0.4	0.7	1.1	0.9	1.1	4.0	3.3	0.3	0.9	1.2	1.1	1.0	4.4	3.5	1.1	0.9	1.5
6	C-12	7.3	3.5	3.8	0.4	1.0	1.4	1.0	1.4	4.5	2.8	0.2	0.8	1.0	1.0	0.8	3.6	3.7	1.3	1.0	1.4
7	A.E.	7.2	4.3	2.9	0.3	0.7	1.0	1.0	0.9	4.0	3.2	0.2	0.6	0.8	1.3	1.1	4.2	3.0	0.8	1.2	1.0
8	F.P.	7.0	4.4	2.6	0.4	0.6	1.0	0.7	0.9	4.5	2.5	0.2	0.5	0.7	1.0	0.8	4.8	2.2	1.0	0.7	0.5
9	M.H.	7.2	5.0	2.2	0.3	0.7	1.0	0.7	0.5	5.4	1.8	0.2	0.7	0.9	0.6	0.8	4.4	2.8	1.2	0.6	1.0
10	F.M.	7.3	4.7	2.6	0.3	0.4	0.7	0.8	1.1	5.0	2.3	0.2	0.4	0.6	0.9	0.8	4.0	3.3	1.4	0.9	1.1
11	C.L.	7.0	4.2	2.8	0.3	0.4	0.7	1.3	0.8	5.0	2.0	0.2	0.4	0.6	0.9	0.5	3.7	3.3	1.0	1.2	1.1
12	G.V.	7.0	4.2	2.8	0.1	0.4	0.5	0.9	1.4	4.5	2.5	0.1	0.3	0.4	0.7	1.4	3.8	3.2	1.1	0.9	1.2
13	C.I.	6.9	3.8	3.1	0.3	0.8	1.1	1.2	0.8	3.8	3.1	0.3	0.8	1.1	1.2	0.8	4.2	2.7	0.9	0.9	0.9
14	O.C.	7.0	4.1	2.9	0.2	0.8	1.0	1.1	0.8	3.9	3.1	0.2	0.8	1.0	1.4	0.7	3.9	3.1	1.1	1.2	0.8
15	M.M.	7.9	4.7	3.2	0.2	0.7	0.9	1.1	1.2	5.1	2.8	0.1	0.6	0.7	1.4	0.7	5.1	2.8	0.7	0.8	1.3
16	C-1	7.4	3.4	4.0	0.3	1.1	1.4	1.3	1.3	4.0	3.4	0.3	0.8	1.1	1.3	1.0	4.7	2.7	1.0	0.6	1.1
17	C-2	8.2	4.2	4.0	0.4	1.0	1.4	1.7	0.9	4.3	3.9	0.5	1.0	1.5	1.5	0.9	4.9	3.3	1.3	0.9	1.1
18	C-19	5.9	3.4	2.5			0.6	0.6	1.3								3.2	2.7	0.9	0.7	1.1
19	C-7	6.6	3.4	3.2			0.9	1.0	1.3								4.3	2.3	1.2	0.4	0.7
20	C-5	8.1	4.0	4.1			1.7	1.3	1.1								4.3	3.8	1.0	1.3	1.5
21	E.S.	7.2	4.3	2.4	0.2	0.5	0.7	0.7	1.0	4.8	2.4	0.2	0.5	0.7	0.8	0.9					
22	A.A.	7.0	5.3	1.7	0.1	0.5	0.6	0.6	0.5	5.3	1.7	0.2	0.5	0.7	0.6	0.4					
23	A.G.	7.8	5.7	2.1	0.1	0.4	0.5	0.6	1.0	5.2	2.6	0.2	0.5	0.7	0.9	1.0					
24	C-30	7.2	4.3	2.9	0.3	0.7	1.0	1.2	0.7	4.8	2.4	0.2	0.7	0.9	0.9	0.6					
25	C-25	7.8	5.2	2.6	0.3	0.8	1.1	1.1	1.4	5.5	2.3	0.3	0.6	0.9	1.0	0.4					

CUADRO II.- CIRROTICOS

Numero	Nombre	METODO ELECTROFORETICO														METODO QUIMICO					
		Corte fraccionado							Corte grafica							A	G	P	B	Y	
		P.F.	A	G	P	B	Y	A	G	P	B	Y									
1	C-3	6.4	2.3	4.1	0.5	1.1	1.6	1.3	1.2	1.9	4.5	0.4	1.1	1.5	0.9	2.1	1.8	4.6	1.0	1.4	2.2
2	C-19	6.7	3.2	3.5	0.4	0.6	1.0	0.9	1.6	2.6	4.1	0.3	1.0	1.3	1.1	1.7	3.4	3.3	1.0	0.8	1.5
3	C-20	7.3	3.4	3.9	0.4	1.0	1.4	1.2	1.3	3.3	4.0	0.4	0.7	1.1	1.1	1.8	3.6	3.7	1.2	0.7	1.8
4	C-22	7.1	3.2	3.3	0.3	0.3	0.9	0.9	1.5	3.7	3.4	0.4	0.7	1.1	0.8	1.5	3.0	4.1	1.9	0.7	1.5
5	C-19	7.0	3.7	3.3	0.2	0.5	0.7	0.8	1.9	3.2	3.2	0.2	0.6	0.8	0.7	1.7	2.7	4.3	1.6	1.0	1.7
6	C-11	3.2	3.0	5.2	0.4	1.0	1.4	1.2	2.6	3.6	4.6	0.5	1.2	1.7	1.3	1.6	2.5	5.7	1.4	0.7	3.6
7	C-8	6.4	2.9	3.5	0.4	0.6	1.0	0.7	1.2	3.0	3.4	0.3	0.5	0.8	0.9	1.7	2.4	4.0	1.6	0.7	1.7
8	C-13	7.0	3.4	3.6	0.2	0.7	0.9	0.9	1.3	3.2	3.8	0.3	0.5	0.8	1.0	2.0	3.3	3.7	1.1	0.8	1.8
9	C-19	7.0	2.6	4.4	0.4	1.0	1.4	1.4	1.6	2.2	4.2	0.3	0.9	1.2	1.8	1.7	2.7	4.3	1.5	1.1	1.7
10	C-16	7.6	4.3	3.3	0.2	0.7	0.9	1.0	1.4	4.5	3.1	0.2	0.4	0.6	1.1	1.4	4.3	3.8	1.0	0.4	1.9
11	C-14	5.7	1.7	4.0	0.3	0.6	0.9	1.4	1.7	1.9	3.8			0.8	1.2	1.8	1.3	4.4	0.8	1.0	1.7
12	C-21	7.9	3.3	4.6	0.5	0.9	1.4	1.2	2.0	3.7	4.2			0.8	0.6	2.8	2.7	5.2	1.5	1.0	2.7
13	C-11	8.5	4.6	3.9			0.8	0.9	2.2	4.9	3.6			0.7	0.8	2.1	3.3	5.2	1.5	0.4	3.3
14	C-12	5.4	1.2	3.6			0.6	1.2	1.8	1.0	4.4			1.1	1.2	2.1	2.0	3.4	0.9	1.1	1.4
15	C-16	6.4	1.9	4.5			0.8	0.4	3.8	1.6	4.2			0.4	0.4	4.0	1.2	5.2	0.8	1.4	3.0
16	C-12	5.4	1.2	3.6			0.6	1.2	1.8	1.1	4.3			1.1	1.2	2.0	2.0	3.4	1.0	0.6	1.8
17	C-21	6.3	2.6	3.7	0.2	0.3	0.5	1.0	2.2								1.9	4.4	1.6	0.5	2.3
18	C-22	8.4	3.6	4.2	0.4	0.9	1.3	1.5	2.0								3.3	5.1	1.1	1.0	3.0
19	C-20	5.3	1.6	3.7	0.3	0.8	1.1	1.0	1.6								1.0	4.3	0.8	0.8	2.7
20	C-7	7.4	2.7	4.7	0.5	0.7	1.2	1.4	2.1								2.7	4.7	1.1	1.1	2.5
21	C-18	5.9	1.5	4.4	0.4	0.5	0.9	1.3	2.2								2.7	3.2	0.8	0.7	1.7
22	C-25	8.1	2.6	5.5	0.6	0.9	1.5	1.7	2.3								1.4	6.7	2.1	0.8	3.8
23	C-14	6.5	2.0	4.5			1.6	0.5	2.4								1.5	5.0	1.5	1.1	2.4
24	C-21	7.5	3.1	4.4			0.8	0.9	2.7								3.0	4.5	1.1	1.0	2.4
25	C-16	6.5	2.0	4.5			0.9	1.6	2.0								1.1	5.0	1.0	1.0	3.0
26	C-6	6.3	2.4	3.9			1.0	0.5	2.4								1.5	4.8	0.9	0.9	3.0
27	C-17	7.4	2.8	4.6			1.3	1.4	1.9								3.0	4.4	1.7	1.2	1.5
28	C-19	7.4	3.2	4.2			1.0	1.4	1.8								2.0	5.4	2.0	1.4	2.0



CUADRO IV.- ANIMALES.

		METODO ELECTROFORETICO														
		Corte fraccionado							Corte gráfica							
CONEJOS																
		P.T	A	G	$\alpha_1$	$\alpha_2$	$\alpha_3$	$\beta$	$\gamma$	A	G	$\alpha_1$	$\alpha_2$	$\alpha_3$	$\beta$	$\gamma$
1	C-1	4.3	2.3	2.0	0.1	0.5	0.6	1.1	0.3	2.5	1.8	0.1	0.6	0.7	0.9	0.2
2	C-2	5.5	3.0	2.5	0.1	0.9	1.0	1.0	0.5	3.3	2.2	0.1	0.7	0.8	1.1	0.3
3	C-3	4.7	2.8	1.9			0.7	0.7	0.5	2.8	1.9			0.3	0.7	0.9
4	C-4	4.6	2.6	2.0			0.6	0.6	0.8	2.6	2.0			0.6	0.6	0.9
5	C-5	4.7	2.8	1.9			0.9	0.7	0.3	3.0	1.7			0.7	0.7	0.3
6	C-6	4.7	2.9	1.9			0.9	0.9	0.2	2.8	1.9			0.5	0.6	0.9
7	C-7	4.0	1.7	2.3			1.1	1.1	0.1	1.7	2.3			1.1	1.1	0.1
8	C-8	3.9	1.8	2.1			0.6	0.6	0.9	2.0	1.9			0.5	0.6	0.8
9	C-9	4.9	3.1	1.9			0.9	0.7	0.3	3.5	1.4			0.7	0.4	0.3
10	C-10	4.9	3.0	1.9			0.4	0.7	0.8	2.3	2.6			0.4	0.7	1.5
GATOS																
		P.T	A	G	$\alpha_1$	$\alpha_2$	$\alpha_3$	$\beta$	$\gamma$	A	G	$\alpha_1$	$\alpha_2$	$\alpha_3$	$\beta$	$\gamma$
1	C-1	6.1	3.3	2.8	0.5	0.7	1.2	0.7	0.9	3.9	2.2	0.6	0.9	1.5	0.3	0.4
2	G-2	7.1	3.0	4.1	0.5	1.5	2.0	0.8	1.5	3.1	4.0	0.4	1.5	1.9	0.8	1.3
3	G-3	6.1	3.4	2.7	0.2	0.4	0.6	0.9	1.2	4.3	1.9	0.1	0.4	0.5	0.9	0.5
4	G-4	7.1	2.6	4.5	0.5	1.5	2.0	1.1	1.4	3.1	4.0	0.4	1.0	1.4	1.5	1.1
5	G-5	5.4	2.4	3.0	0.2	0.8	1.0	0.7	1.3	2.0	3.4	0.3	0.8	1.1	1.0	1.3
6	G-6	5.2	2.5	2.7	0.3	0.6	0.9	0.8	1.0	2.5	2.6	0.3	0.7	1.0	0.8	0.9
RATAS																
		P.T	A	G	$\alpha_1$	$\alpha_2$	$\alpha_3$	$\beta$	$\gamma$	A	G	$\alpha_1$	$\alpha_2$	$\alpha_3$	$\beta$	$\gamma$
1	R-1	7.7	3.0	4.7	1.2	1.1	2.3	1.5	0.9	3.3	4.5	1.1	0.9	2.0	1.5	1.0
2	R-2	7.2	2.8	4.7	1.0	1.1	2.1	1.5	1.1	2.4	4.3	0.7	1.4	2.1	1.6	1.1
3	R-3	7.4	2.5	4.9	1.0	0.9	1.9	1.7	1.3	2.6	4.9	1.3	0.8	2.1	1.6	1.1
4	R-4	6.4	2.1	4.3	1.2	1.0	2.2	1.3	0.8	2.4	4.0	1.3	0.7	2.0	1.7	0.3

CUADRO V.

	METODO ELECTROFORETICO						METODO QUIMICO											
	Corte fraccionado			Corte grafica														
	S A N O S																	
	P.T.	A	G	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	P.T.	A	G	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	P.T.	A	G	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$
M	7.18	4.31	2.87	0.96	0.99	0.92	7.17	4.66	2.51	0.78	0.95	0.78	7.18	4.22	2.91	1.06	0.84	1.01
D.S.	1.59	1.09	0.57	0.49	0.34	0.37	1.88	0.95	1.06	0.41	0.45	0.72	0.74	0.43	0.85	0.31	0.31	0.82
E.S.	0.34	0.22	0.17	0.10	0.07	0.08	0.41	0.21	0.23	0.09	0.10	0.16	0.17	0.10	0.20	0.07	0.07	0.19
	C I R R O T I C O S																	
	P.T.	A	G	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	P.T.	A	G	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	P.T.	A	G	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$
M	6.89	2.78	4.11	1.03	1.10	1.98	6.87	2.91	3.96	0.99	0.97	2.00	6.89	2.42	4.47	1.27	0.93	2.27
D.S.	1.54	0.98	0.98	0.39	0.84	0.64	1.98	1.38	1.15	0.42	0.36	0.81	1.54	0.96	1.19	0.76	0.38	0.82
E.S.	0.30	0.19	0.19	0.08	0.16	0.12	0.51	0.35	0.30	0.11	0.09	0.21	0.30	0.18	0.23	0.15	0.07	0.16
	D I A B E T I C O S																	
	P.T.	A	G	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	P.T.	A	G	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	P.T.	A	G	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$
M	6.56	3.33	3.43	1.16	1.14	1.13	6.98	3.83	3.15	1.08	1.07	1.00	6.81	3.56	3.25	1.17	0.91	1.17
D.S.	1.62	0.89	0.84	0.10	0.41	0.39	1.85	1.07	0.29	0.40	0.11	0.40	2.44	1.09	0.93	0.39	0.47	0.49
E.S.	0.33	0.18	0.17	0.02	0.08	0.08	0.45	0.26	0.07	0.10	0.03	0.10	0.58	0.26	0.22	0.09	0.11	0.12

CUADRO VI

		METODO ELECTROFORETICO									
		Corte fraccionado					Corte gráfica				
		C O N E J O S									
	P.T.	A	G	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	A	G	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$
M	4.62	2.69	2.03	0.76	0.80	0.47	2.65	1.97	0.63	0.74	0.60
D.S.	0.66	0.99	0.70	0.03	0.33	0.34	1.04	0.74	0.30	0.33	0.40
E.S.	0.18	0.33	0.23	0.01	0.11	0.11	0.35	0.25	0.10	0.11	0.13
		G A T O S									
	P.T.	A	G	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	A	G	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$
M	6.16	2.87	3.20	1.28	0.80	1.21	3.16	3.00	1.23	0.87	0.90
D.S.	2.89	1.34	2.98	0.93	0.40	0.61	1.66	1.64	1.89	0.54	0.56
E.S.	1.29	0.60	0.75	0.37	0.17	0.27	0.74	0.72	0.84	0.23	0.24
		R A T A S									
	P.T.	A	G	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	A	G	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$
M	7.17	2.52	4.65	2.12	1.50	1.03	2.65	4.52	2.05	1.60	0.87
D.S.	4.18	1.52	2.70	1.24	0.88	0.62	1.58	1.11	1.18	1.09	0.56
E.S.	2.93	1.09	1.89	0.99	0.62	0.43	1.11	0.78	0.84	0.78	0.39

CUADRO VII

	CORTE FRACCIONADO						
	P.T.	A	G	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	
	Normales y Cirróticos	0.60	5.26	4.87	0.55	0.94	7.36
	Normales y Diabéticos	1.31	3.59	2.32	1.96	1.41	1.45
Diabéticos y Cirróticos	0.73	2.10	2.66	1.59	0.23	5.90	
	CORTE GRAFICA						
	P.T.	A	G	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	
	Normales y Cirróticos	0.46	4.29	3.84	1.47	0.15	5.00
	Normales y Diabéticos	0.28	2.48	2.66	2.22	1.50	1.63
Diabéticos y Cirróticos	0.16	2.12	2.64	0.61	1.05	4.32	
	METODO QUIMICO						
	P.T.	A	G	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	
	Normales y Cirróticos	0.70	8.75	5.16	1.27	0.91	5.07
	Normales y Diabéticos	0.53	2.01	1.14	0.67	0.54	0.71
Diabéticos y Cirróticos	0.12	3.61	3.84	0.57	0.16	4.91	

## CAPITULO VII

### COMENTARIOS

Es indudable que el método electroforético sobre papel filtro es sumamente preciso, además de ser breve y sencillo en sus manipulaciones.

El hecho de que en éste método la cantidad de suero necesario sea muy pequeña, le da cierta preferencia sobre el método químico, ya que en este último es necesario una cantidad mucho mayor.

La solución reguladora no es indispensable cambiarla en cada prueba, ya que se hicieron 10 ó 15 determinaciones usando una misma solución tampón, obteniéndose franjas bien definidas; sin embargo, es aconsejable la conveniencia de alternar los electrolitos en cada separación electroforética para evitar la precipitación de las substancias sobre los mismos, con las consecuentes variaciones en el pH de la solución que induciría a resultados erróneos.

Otra de las ventajas inherentes a éste método es el poco costo del aparato, así como lo fácil que resulta su construcción.

En relación a los dos procedimientos usados para la elución de las tiras teñidas, es recomendable el corte de las franjas totales coloridas correspondientes a cada fracción de proteínas, debido a que se simplifican las operaciones en comparación con las efectuadas en el segundo sistema antes

recerse a los publicados por Deutsche y Moore, respectivamente.

Estos cambios observados entre uno y otro método son debidos a que es imposible obtener un mismo patrón electroforético de no efectuarse la separación en las mismas condiciones.

Por último, es preciso hacer constar que en todas las determinaciones efectuadas, se tuvieron las debidas precauciones en las operaciones y manipulaciones así como un control cuidadoso de los reactivos utilizados. Las soluciones de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  para la precipitación de proteínas se conservaron en el horno constantemente a una temperatura de  $37^\circ\text{C}$ ., para evitar su cristalización, y se tuvo un control debido sobre la solución reguladora, así como del tiempo y tensión eléctrica utilizada durante la separación electrofética.

mencionado, siendo los resultados en ambos casos ampliamente satisfactorios.

Sin embargo, si se cuenta con aparatos especiales para leer las densidades ópticas de las tiras sin necesidad del laborioso corte de tirillas seccionales, se puede determinar el porcentaje de las diferentes fracciones, una vez obtenida la gráfica, midiendo tanto las áreas parciales como el área total por medio de un planímetro; o bien, pesando dichas fracciones en la balanza, previamente cortadas. Este último sistema es más efectivo por tener un margen menor de error que al usar el planímetro, el cual requiere mayor práctica para un correcto uso.

Es muy interesante el hecho de que en el organismo cirrótico se nota una perturbación en la capacidad de formación de sero-albúminas, sintetizadas por el hígado; y en cambio, hay una hiperglobulinemia debido al aumento de células plasmáticas que se encuentran frecuentemente en la médula ósea, que es la que sintetiza las globulinas.

La discreta disminución de las albúminas obtenidos por uno de los métodos en los diabéticos, se debe probablemente a las perturbaciones metabólicas secundarias y a la alteración del metabolismo de la glucosa, siendo esta diferencia no muy marcada debido a que dichos enfermos se encuentran en el Hospital en tratamiento.

Otro dato digno de apreciación es la diferencia en el total de proteínas obtenidas en las diferentes especies de animales, ya que es notable una menor cantidad de dichas proteínas en los conejos, no así en los gatos y ratas que se encuentran relativamente en la misma proporción que en el suero humano.

Tomando en cuenta los valores obtenidos en las ratas, vemos que al traducirlos en valores relativos en porcentaje, tienen una gran similitud con los encontrados por Gyessing C. y Chameton A. (6). En cambio, los valores de las fracciones proteínicas en % de los conejos y gatos distan de pa-

recerse a los publicados por Deutsche y Moore, respectivamente.

Estos cambios observados entre uno y otro método son debidos a que es imposible obtener un mismo patrón electroforético de no efectuarse la separación en las mismas condiciones.

Por último, es preciso hacer constar que en todas las determinaciones efectuadas, se tuvieron las debidas precauciones en las operaciones y manipulaciones así como un control cuidadoso de los reactivos utilizados. Las soluciones de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  para la precipitación de proteínas se conservaron en el horno constantemente a una temperatura de  $37^\circ\text{C}$ ., para evitar su cristalización, y se tuvo un control debido sobre la solución reguladora, así como del tiempo y tensión eléctrica utilizada durante la separación electrofética.

## CAPITULO VIII

### *R E S U M E N*

Se hace una breve reseña de los datos históricos mas importantes acerca de la evolución de los métodos electroforéticos y sus aplicaciones.

Se emplea la técnica modificada de Durrum (2) para la separación electroforética de seroproteínas en papel. El teñido y elución de las tiras se efectúa de acuerdo con el procedimiento de Kunkel y Tiselius (10).

La valoración de proteínas totales se lleva a cabo por el método de Weichselbaum (20) y el fraccionamiento químico del suero por el de Kiebrick A. C. y Blonstein (9). Este último método se usa como base comparativa del método electroforético.

Se exponen los resultados obtenidos en 25 personas normales, 28 personas con cirrosis hepática y 25 personas diabéticas. Asimismo se dan a conocer las datos obtenidos en la separación electroforética de 10 sueros de gato, 6 sueros de conejo y 4 sueros de rata.

Se hace la comparación estadística de los diferentes resultados entre sí, haciendo caso omiso de los obtenidos en los animales.

Considerando los resultados obtenidos podemos demostrar que la cantidad de proteínas en valores absolutos, de

los cirróticos, mostró diferencias con los valores encontrados en sanos, de la siguiente forma: disminución de las albúminas, aumento total de globulinas y de la fracción gamma; en cambio, la cantidad de proteínas totales se conservó dentro de los límites normales e igualmente las globulinas alfa y beta.

Los diabéticos presentaron una disminución de las albúminas por el corte fraccionado del método electroforético, no siendo notable esta diferencia en las otras determinaciones.

Se hace una comparación de los promedios aritméticos traducidos a % de conejos, ratas y gatos, con los porcentajes encontrados por otros autores, encontrando un gran parecido en los sueros de rata, no así en conejos y ratas donde se encuentran algunas diferencias.

El trabajo presentado aquí sobre diferentes especies de animales está basado en un número relativamente pequeño de ellos. Sin embargo, es suficiente para establecer aproximadamente un patrón electroforético característico de dichas especies y para asegurar que existen variaciones en la distribución de las proteínas de la sangre para cada especie de animal.

Se hace un comentario del método electroforético, llegando a la conclusión de que además de ser sumamente fácil y breve, es bastante preciso, pudiendo utilizarse en determinaciones de rutina.

## CAPITULO IX

### BIBLIOGRAFIA

- 1.—Deutsche H. F. and Goodloe M. B.—*An electrophoretical survey of various animal plasmas*. J. Biol. Chem. 161: 1-20, 1945.
- 2.—Durrum E. L.—*A microelectrophoretic and microionophoretic technique*. J. Am. Chem. Soc. 72: 3943, 1950.
- 3.—Durrum E. L., Milton H. P. and Elizabeth R. B.—*Lipid detection in paper electrophoresis*. Science 116: 428, 1952.
- 4.—Flynn F. V. and de Mayo P.—*Microelectrophoresis of proteins on filter paper*. Lancet 2: 235, 1951.
- 5.—Griffiths L. L.—*The electrophoresis of serum and other body fluids in filter paper*. J. Lab. and Clin. Med. 41: 188, 1953.
- 6.—Gyessing C. E. and Chameton A.—*An electrophoretic study of plasma and plasma fractions of normal and injured rats*. J. Biol. Chem. 169: 657-65, 1949.
- 7.—Jencks W. P. and Durrum E. L.—*Paper electrophoresis as a quantitative method. Serum proteins*. The J. of Clin. Invest. 34: 1437, 1955.
- 8.—Jung, F. T.—*Exercises in the Arithmetic of Prediction*. Northwestern School, 1942.
- 9.—Kiebrick A. C. and Blonstein M.—*Fractionation of serum into albumina and alfa, beta and gamma globulins by sodium sulfate*. Am. J. Clin. Path. Tech. Suppl. 16. 40, 1946.

- 10.—Kunkel H. G. and Tiselius A.—*Electrophoresis of proteins on filter paper*. The J. of Clin. Invest. 31:677, 1952.
- 11.—Langan T. A., Durrum E. L. and Jencks W. P.—*Paper electrophoresis as a quantitative method. Measurement of Alfa and Beta lipoproteins cholesterol*. The J. of Clin. Invest. 34: No. 9: 1427, 1955.
- 12.—Lewis L. A., Schneider R. W., Mc. Cullagh E. P. and Clark J.—*Tiselius electrophoresis studies of plasma proteins in diabetes mellitus*. J. Clin. Endocrin. 4: 535-9, 1944.
- 13.—Mc. Donald H. J. *Ionography. Electrophoresis in Stabilized Media*. The Year Book Publishers Inc., Chicago, U.S.A. 1955.
- 14.—Moore H. Dan.—*Species differences in serum protein pattern*. J. Biol. Chem. 161: 21-26, 1945.
- 15.—Perlmann G. E. and Kaufman D.—*Effect of ionic strength and protein concentration in the electrophoretical analysis of human plasma*. J. Am. Chem. Soc. 67: 638-41, 1945.
- 16.—Rus E. M., Eder H. A. and Barr D.—*Protein Lipid relationship . . . in human plasma. I.—In normal individuals*. Am. J. Med. 11: 468, 1951.
- 17.—Seymour J. G. and Guzman Barro E. S.—*The electrophoretic analysis of the serum proteins in disease of the liver*. J. Clin. Invest. 22: 191-200, 1953.
- 18.—Strain H. H., Sato T. R. and Engelke J.—*Chromatography and Analogous Differential Migration Methods*. Anal. Chem. 26: 90, 1954.
- 19.—Swahn B.—*Studies on blood lipids*. Scand J. Clin. and Lab. Invest. 5, Suppl. 9, 1953.
- 20.—Weichselbaum T. J.—*An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood and plasma*. Am. J. Clin. Path. Techn. Suppl. 16: 40, 1946.