SEROPROTEINAS HUMANAS ELECTROFORESIS AL PAPEL DE FILTRO*

Valores normales al nivel del mar (Lima) y en altura (Morococha) Comparación con el fraccionamiento químico: Método de Wolfson. Cohn, Calvary e Ichiva

Por

Luis Antonio Peña Matías**

INTRODUCCION

El estudio de las proteínas con los métodos electroforéticos ha adquirido un gran interés por ser un método preciso, que complementa y se complementa a su vez con los métodos de fraccionamiento químico y ultracentrifugación.

Este método se basa en el fenómeno de migración de las partículas coloidales cargadas eléctricamente, en un solución tampón en la que pasa la corriente eléctrica, permitiendo la separación de las partículas gracias a la velocidad específica de cada proteína.

Mientras que las investigaciones se han realizado en aparatos de electroforesis en medio líquido según Tiselius, sus aplicaciones han sido muy limitadas debido a su alto costo y manejo complicado. Pero desde hace pocos años se ha desarrollado y adquirido gran difusión la técnica de electroforesis sobre papel de filtro, que presenta ventajas prácticas a la vez teóricas abriendo un gran campo inexplorado de in-

^(*) Trabajo efectuado en los Laboratorios de la Cátedra de Fisiopatología e Instituto de Biología Andina (Resumido).

^(**) Expresamos nuestro agradecimiento a los Doctores Humberto Aste Salazar por sus enseñanzas así como al Prof. Alberto Hurtado y a los doctores Rodolfo Lozano, César Castillo y Guillermo Whithembury.

vestigaciones biológicas y clínicas para separar, caracterizar y dosificar las mezclas de compuestos orgánicos e inorgánicos como proteínas, lípidos, carbohidratos, enzimas, hormonas, etc.

El desarrollo de este método ha llegado a permitir la determinación cuantitativa de cada una de las fracciones proteicas demostrando superioridad sobre las antiguas técnicas empíricas menos precisas.

Sus aplicaciones en clínica son múltiples, tanto para formular un diagnóstico como para seguir el efecto de una terapéutica.

Este trabajo tiene por objeto la determinación de los valores normales y su margen de variación en nuestro medio, de las distintas fracciones proteicas según el método de electroforesis sobre papel, en un número adecuado de individuos aparentemente normales al nivel del mar, para que en trabajos posteriores en sueros patológicos hacer la comparación con la curva normal standard.

En segundo lugar, nuestro trabajo está destinado al estudio comparativo con el método de fraccionamiento químico descrito por Wolfson, Cohn, Calcary e Ichiva (85) con el objeto de establecer las ventajas e inconvenientes de cada uno de ellos.

Por último, nuestro interés ha sido dirigido al estudio del "espectro proteico" de los individuos aparentemente normales que habitan en las grandes alturas de los Andes.

MATERIAL Y METODOS EMPLEADOS.—La determinación del "espectro proteico" por las técnicas de la electroforesis sobre el papel de filtro se realizó en cincuenta sueros de adultos aparentemente normales residentes en Lima, (*) de los cuales fueron: diez estudiantes de Medicina, 15 militares y el resto donadores familiares del Banco de Sangre del Hospital Arzobispo Loayza. La edad media fué de 25 años con variaciones extremas de 19 á 45 años, se excluyeron los sujetos que hubieran padecido de enfermedades trasmisibles por la sangre.

Igualmente se han estudiado las muestras de plasmas de 18 sujetos sanos residentes en Morococha (4,540 mts. sobre el nivel del mar).

Las muestras de sangre venosa fueron obtenidas por la mañana, de preferencia en ayunas. Después de coagulada la sangre se procedía a la centrifugación del suero, evitando las muestras con la más ligera hemólisis.

^(*) Lima está a 150 metros sobre el nivel del mar, pero para los efectos del presente trabajo se puede considerar como al nivel del mar.

Con el propósito de hacer un estudio comparativo entre la electroforesis sobre papel y un método de fraccionamiento químico se eligió la técnica descrita por WOLFSON, COHN, CALVARY e ICHIVA (85) para la determinación de las proteínas totales, albúmina y globulina alfa, beta y gamma en 30 sueros normales al nivel del mar y 13 plasmas de sujetos residentes en Morococha.

Esta técnica ha sido empleada por RIOS GARATE (65) y MO-RANTE (55) en sus trabajos de tesis en sueros normales.

TECNICA CUALITATIVA

Aparatos.— El aparato de electroforesis sobre el papel usado en este trabajo es el sistema cerrado o sin evaporación (fig. 1) (74) stmilar al descrito por KUNKEL y TISELIUS (41) y más recientemente por SLATER y KUNKEL (73). Consta de dos tanques o cubetas de láminas de plexiglass para el buffer y tiene las siguientes dimensiones externas: 16.5 de largo, 7.5 de ancho y 10.2 de altura.

Cada tanque tiene una valla o división que la divide en 2 partes: un recipiente pequeño de 2 cm. de ancho para el electrodo y otra sección de 4.5 cm. que está en contacto con las 2 láminas que encierra el papel de filtro. A ésta división se le ha cortado una parte en el borde superior y lateral para formar un puente electrolítico de resistencia bien baja, para que sea insignificante la pérdida potencial eléctrica aplicada.

El borde interno de los tanques fué cortado suficientemente para recibir los extremos de las láminas de plástico, esto le dá una importante ventaja a fin de que el nivel del buffer sea más alto que el nivel del papel, previniendo así el secamiento del papel y eliminando la concentración del buffer (74), obstáculo que menciona SLATER y KUNKEL en su trabajo (73). De esta manera cuando las láminas están en su lugar, los tanques son llenados por el buffer hasta que el nivel esté a 1.25 cm. sobre la valla y a 0.5 cm. sobre el nivel del papel de filtro.

Papel.— Se usó el papel de filtro Whatmann Nº 3 MM. cortado en láminas de 15 x 30 cm. los cuales aumentan algo el tamaño al ser humedecidos con la solución buffer. Las láminas de papel se colocan entre dos placas de plástico de 1.3 cm. de grosor y 15.6 cm. de ancho por 30 cm. de largo.

Electrodos.— Usamos electrodos de platino que constan de una lámina de platino de $0.5 \times 1 \text{ cm}$. unido a un alambre de platino que penetra en un tubo de vidrio sellado conteniendo mercurio.

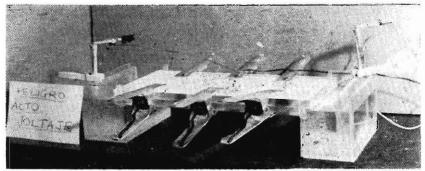


Fig. 1

Fuente de energía.— Hemos empleado una fuente electrónica construída especialmente para electroforesis por el Ing. Electricista F. Ibáñez (Lima), con regulador de voltaje y amperaje y con una potencia máxima de 1,500 voltios y 100 mA.

El aparato es alimentado con corriente alterna de 110 voltios y puede funcionar sin interrupción hasta 20 horas.

Pinzas.— A fin de obtener tensión es indispensable suministrar una presión uniforme sobre toda la superficie de las láminas de plástico. Se colocaron tres pares de pinzas, tres en cada lado buscando la mejor uniformidad de presión. Se han empleado las pinzas Hargrave Spring N° 2.

Reactivos.

Buffer de Barbital - Barbital Sódico.

```
Solución Stock.— pH = 8.6; F. I. = 0.10 - 0.12 Barbital (ácido dietil barbitúrico) 3.68 grs. Barbital sódico 20.60 " Agua destilada c. s. p. 1000 cc.
```

Agua destilada

Se comprueba luego el pH con el protenciómetro de Beckmam.

Invirtiendo los electrodos al terminar cada operación la misma solución buffer puede usarse 3 ó 4 veces.

Solución colorante.— Se ha usado el azul de bromofenol en la siquiente fórmula:

Sulfato de Zinc	5	grs.
Acido acético	5	,,
Azul de Bromofenol	0.01	.,
Agua destilada c. s. p.	100	CC.

Solución de Acido Acético al 2% en agua destilada.— Esta solución lavadora no puede usarse más que una vez. Tiene un pH de 2.6.

Solución de Acido Acético al 2% con Acetato de Sodio al 0.5% en agua destilada.— Al igual que la solución anterior, sólo se usa una vez, tiene un pH de 3.6.

Procedimiento.

- l.—Córtese una lámina de papel de filtro Whatmann 3 MM de 15 x 30 cm. y trácese una línea en la mitad del papel sobre la que se marcarán los puntos de aplicación de la muestra, con una separación de la muestra, con una separación de 1.5 á 2 cm. por lo menos y anótese en un extremo de la hoia los datos necesarios. (Para los análisis de rutina es preferible el suero al plasma debido a que la mancha de fibrinógeno hace la interpretación más dificultosa).
- 2.—Sumergir el papel en el buffer de barbital y colocar sobre una hoja de papel filtro Whatmann N° 2 y cubrir con otra para quitar el exceso de líquido.
- 3.—Se coloca el papel sobre la placa de plástico inferior de tal manera que la mitad del papel coincida con la parte media de la placa.
- 4.—Medir 0.005 ml. de la muestra a ser analizada con una micropipeta de 5 lambdas (S. G. A. Co.), y aplicar la muestra por duplicado sobre los puntos de la línea media del papel.

- 5.—Cubrir el papel con la otra placa de plástico cuidadosamente y sellar bien los bordes con grasa de Silicona (Silicone Lubricant; Dow Corning Co.).
- 6.—Luego se colocan las pinzas, tres a cada lado para presionar las placas una contra la otra.
- 7.—Se agrega el buffer en los dos recipientes nivelados hasta que esté a 0.5 cm. más arriba del nivel del papel de filtro en los dos tanques.
- 8.—Se colocan los electrodos en los extremos del puente electrolítico del recipiente pequeño de los tanques, éstos se conectan a la fuente electrónica y se aplica un potencial de 300 voltios con el botón regulador del voltaje marcado el miliamperímetro 5 ó 6mA.
- 9.—Dejar transcurrir el tiempo asignado a la experiencia (de 5 a 6 horas) e interrumpir la corriente.
- 10.—Extraer de los dos tanques parte de la solución buffer de manera que un nivel descienda por debajo del nivel del papel de filtro, retirar las pinzas y limpiar los bordes de las placas que tienen grasa de silicon y retirar con cuidado la placa que cubre el papel de filtro.
- ll.—Extraer la lámina de papel y tomándola por sus extremos colocarla en un caballete y secarla en una estufa a 110° C. por 10 a 15 minutos, así las proteínas se desnaturalizan y se fijan a la hoja de papel desecada.
- 12.—Colocar la hoja de papel en una cubeta plana que contiene la solución colorante de azul de bromofenol que debe cubrirla enteramente y mantenerla durante una hora o toda la noche, si se persigue una tinción más completa.
- 13.—Retirar el colorante, lavar el papel (en la cubeta) con la solución de ácido acético al 2%. Lavar 3 veces durante 10 minutos cada vez.
- 14.—Lavar una vez durante 10 minutos con la solución de ácido acético-acetato de sodio. Escúrrase el papel y colóquese en el caballete. Las imágenes proteicas aparecen en azul sobre el fondo blanco del papel.
- 15.—Secar a la estufa a 110°C. durante 5 ó 10 minutos, más tiempo daría ditusión del color azul.

Después de 5 horas se tiene una separación de 8 á 10 cm. entre la albúmina y la gamma-globulina.

En la fig. 2 se puede observar una lámina con una serie de electroctocromatogramas de sueros y plasmas normales y otra con sueros patológicos y normales, obtenida por esta técnica cualitativa.

La separación está afectada levemente por la temperatura y por las pequeñas variaciones de la corriente eléctrica. Por esta razón es muy útil incluir en cada grupo de muestras problemas, un suero ictérico, pues el movimiento de la albúmina teñida de amarillo por la bilirrubina, sirve como guía durante la separación, pudiéndose seguir vidualmente durante la experiencia. También puede utilizarse un suero normal al que se le ha añadido unos cristales de azul de bromofenol, para señalar la albúmina y que sirve como indicador de la separación, permitiéndosele migrar 7.5 cm. del punto de aplicación.

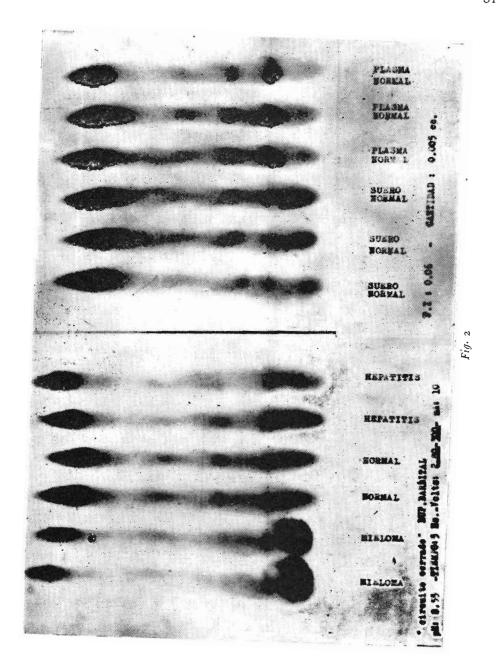
Uno de los problemas principales de ésta técnica, es conseguir una presión uniforme entre las placas de plástico, pues una irregular distribución de la presión dá por resultado una variación en la cantidad del buffer impregnado al papel y como consecuencia, ejemplares irregulares y borrosos.

TECNICA CUANTITATIVA

Aparatos usados.— Se ha empleado para esta técnica, la célula de electroforesis tipo Durrum como se ilustra en la fig. 3 y consiste en una caja de Lucite cuyas dimensiones externas son de 14 x 35.5 cm. y 7 cm. de altura con una división central, dividiéndola en dos compartimentos. Cada uno de estos compartimentos está dividido en 2 secciones: una pequeña para electrodos, que se comunica con la otra sección por una construcción laberíntica a fin de que las reacciones o disturbios de los electrodos, no alcancen las tiras de papel que se encuentran en la sección de mayor tamaño. Cerrando la parte superior de la caja va colocada una tapa de forma triangular de plástico transparente.

Los electrodos son hojas de platino en contacto con la solución buffer en las secciones anódica y catódica.

Los dos compartimentos están conectados por un tubo de plástico el cual permite el equilibrio inicial del nivel del líquido a fin de prevenir corriente electrolítica debido "al sifonamiento" que puede ser pronunciado cuando el nivel del buffer difiere apreciablemente en los dos



compartimentos. Durante la operación este tubo está cerrado por medio de una pinza.

Las tiras de papel de filtro se disponen, en forma de "V" invertida, sobre el caballete al que se coloca dentro de la célula. Este caballete tiene capacidad para 9 tiras de 3 cm. de ancho.

Papel.— Se usó el papel de Whatman 3 MM. Se puede emplear en 2 formas: en tiras o en cortina. Para la técnica cuantitativa se cortaron tiras de 3 x 30 cm.

Reactivos.— Se empleó la misma solución buffer, solución colorante y soluciones lavadoras que para la técnica cualitativa.

Procedimiento.—

- 1.— Se corta el papel de filtro en tiras de 3 x 30 cm. y se traza suavemente con lápiz una línea en la mitad de la tira.
- 2.— En un extremo de la tira se anotan los datos relativos a la muestra y a la fecha, luego se sumerge en la solución buffer y se coloca entre dos hojas de papel de filtro para secarla parcialmente.
- 3.—Se colocan las tiras sobre una lámina limpia de vidrio o de plástico para colocar el suero o plasma en la línea media del papel.
- 4.— Para conseguir una aplicación lineal uniforme hemos empleado un método similar al indicado por VAN OS (77) por medio de un porta objeto cuyo ancho es menor que el de las tiras; 0.01 ml. de muestra es distribuída uniformemente en el borde del portaobjeto de un grosor de 1 mm., el que se aplica suavemente sobre el papel.
- 5.— Luego las tiras se colocan en el caballete y se introduce en la célula que contiene el buffer a un nivel conveniente y se coloca la tapa de plástico y se presiona con una pinza el tubo de plástico que une los compartimentos electródicos.
- 6.— Se conectan los electrodos con la fuente electrónica, se establece la corriente y con el regulador de voltaje se aplica un potencial de 290 a 300 voltios, marcando el miliamperímetro 9 ó 10~mA, para las 9 tiras de papel.
- 7.— El tiempo necesario para conseguir una buena separación con este voltaje y papel es de $5\frac{1}{2}$ a 6 horas. Durante la experiencia la intensidad de la corriente aumenta de 2 a 3mA, debido tal vez al incre-

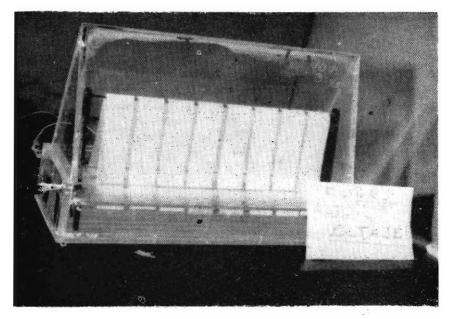


Fig. 3

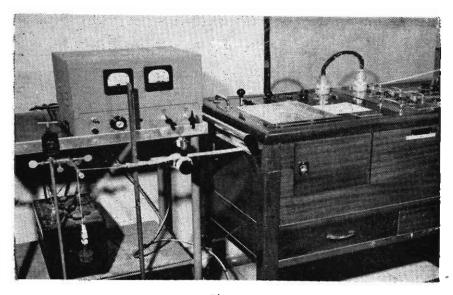


Fig. 4

mento de la conductibilidad del papel y a la atmósfera saturada de huemdad.

- 8.— Cumplido el tiempo asignado se interrumpe la corriente y se lleva el caballete con las tiras a la estufa a 110° C, por 30 minutos, durante el cual la tira se seca y las proteínas se desnaturalizan y se fijan a la tira de papel.
- 9.— Sumergir las tiras en la solución colorante (azul de bromofenol), la que debe cubrirla completamente, y permaneciendo en ella durante toda la noche (16 horas aproximadamente).
- 10.— Lavar las tiras con la solución de ácido acético al 2%, 3 veces durante 10 minutos cada vez.
- 11.— Lavar una vez con la solución de ácido acético-acetato de sodio durante 10 minutos. Retirar las tiras, escurrir y colocarlas en el caballete.
 - 12.— Secar en la estufa a 110°C, durante 10 minutos.
- 13.— Para el registro automático del electrocromatograma se hacen transparentes las tiras sumergiéndolas en vaselina líquida, colgándolas por un extremo durante 2 horas, para que escurra el exceso de vaselina y antes de leer se secan entre 2 papeles de filtro para extraer cualquier exceso residual de aceite mineral.

APARATO LECTOR.— El aparato usado para la lectura cuantitativa, de los electrocromatogramas es el descrito por MILNOR y asoc. (53) usado para el registro continuo de la curva de dilución del azul de Evans. El equipo consta de una unidad del densitómetro acoplado con un galvanómetro de registro continuo (Sanborn Poly-Viso Recorder Modelo 64-1300 con un amplificador modelo 64-100). El densitómetro consta de dos unidades: la unidad fototubo y el sistema amplificador. La unidad fototubo consta de un "fototubo multiplies" (RCA-931-A), una fuente luminosa (6 a 8 voltios) alimentada por una batería, interpuesta entre ambas un filtro de vidrio, (Rubicon 620) que tiene su margen de absorción de 580 mu/ hasta los 660 mu/., cubriendo la región de máxima absorción del azul de bromofenol. Sobre el filtro se ha colocado una lámina que tiene una ranura de 25 x l mm. y sobre esta última una senda por donde se deslizan los electrocromatogramas. Un equipo similar es el descrito por COOPER y MANDEL en 1954 (11) para la lectura de las tiras. La tira de papel previamente revelada se interpone entre la ranura del fototubo y la fuente luminosa, pasando dicha tira a velocidad uniforme (Fig. N^{o} 4).

Procedimiento.—

l.— Al electrocromatograma se le aplican 8 clips pequeños, uno en cada extremo, por el extremo izquierdo el clip se une a un cordón que corre por una polea y que termina en un peso apropiado, por el extremo derecho la tira está enganchada al papel gráfico que sale del Poly-Viso Recorder. La tracción que se ejerce simultáneamente sobre el papel cromatograma y papel gráfico, hace que los dos se deslicen de derecha a izquierda a la velocidad que el papel gráfico sale del registrador, cuando su motor está funcionando y graduada su velocidad a l mm. por seg. De esta manera el electrocromatograma se desliza por la senda colocada sobre la superficie de la lámina con su ranura (de l mm. de ancho x 2.5 cm. de largo) y debajo del foco de luz.

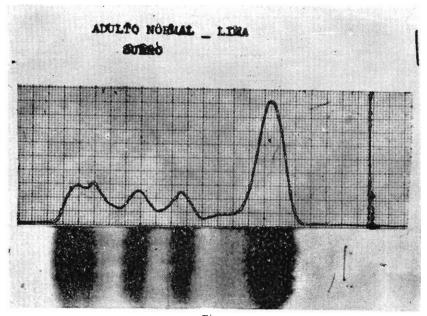


Fig. 5

2.— Obienida la curva de densidad, en el papel gráfico o sea el electroferograma, es necesario proceder al cálculo del porcentaje de cada una de las fracciones proteicas. Se ha emplado el método del planímetro, para ello hay que levantar sobre la línea bases perpendiculares que alcancen los mínimos de la curva de densidad del electroferograma, y así quedarán delimitadas tantas áreas como fracciones. Luego se recorre con la aguia del planímetro cada área y se lee el valor que corresponde a cada una (58).

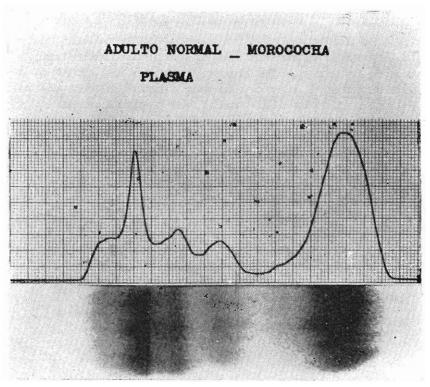


Fig. 6

3.— Eslos valores obtenidos por planimetría se relacionan a porcentaje y se tienen las concentraciones relativas de las fracciones proteicas. Los valores absolutos, se calculan determinando las proteínas totales; este valor se ha obtenido por el método químico de WOLFSON y asoc. empleado para el fraccionamiento químico.

Otro método para determinar las fracciones proteicas es pesando las áreas que corresponden a cada fracción, o también contando los cuadritos que existen dentro del área de cada una de las fracciones.

FRACCIONAMIENTO QUIMICO

El método empleado por nosotros es el de WOLFSON, COHN, CALVARY e ICHIVA (85), para la determinación de la proteína total, albúmina, globulina total, alfa-globulina, beta-globulina y gamma-globulina en l. c.c. de suero; este método ha sido empleado también por MORANTE (55) y RIOS GARATE (65) en el estudio de la proteinemia normal.

El método de WOLFSON y col. ha probado ser una técnica rápida, sólo se requiere pequeña cantidad de suero y el empleo de un colorímetro fotoeléctrico y su standarización con el método de micro-Kjeldahl. El colorímetro que hemos empleado es el fotocolorímetro eléctrico de EVELYN (Rubicon, Co.) y hemos seguido la técnica de KEYS (36) para el micro-Kjeldahl.

RESULTADOS

Se han analizado por el método de electroforesis sobre papel de filtro 50 sueros de adultos aparentemente normales y residentes en Lima (estudiantes de medicina, militares y donadores familiares).

Los electrocromatogramas obtenidos fueron leídos por un densinómetro de registro directo, consiguiéndose los electroferogramas en los cuales se ha calculado por planimetría el área de las fracciones proteicas, las cifras planimétricas fueron luego relacionadas al porcentaje, obteniéndose los valores relativos de las fracciones (Cuadro III).

CUADRO III

VALORES OBTENIDOS POR ELECTROFORESIS SOBRE PAPEL EXPRE-SADOS EN PORCENTAJE EN 50 SUEROS DE ADULTOS APARENTEMENTE SANOS AL NIVEL DEL MAR (LIMA)

Caso	Albúmina	Alfa - 1 Glob.	Alfa - 2	Beta	Gamma
		Glob.	Glob.	Glob.	Glob.
1	62.16	3.60	6.30	11.72	16.21
2	64.22	4.57	4.57	12.90	13.74
3	70.32	3.12	6.25	7.81	12.50
4	55.96	4.53	5.22	15.63	18.66
5	52.42	5.71	6.27	14.30	20.90

Caso	Albůmina	Alfa - 1 Glob.	Alfa - 2 Glob.	Beta Glob.	Gamma Glob.
		Glob.		G108.	Glob.
6	50.65	5.84	6.86	15.82	20.83
7	55.5 1	3.62	9.10	13.65	18.12
8	63.60	3.91	€.86	11.91	13.72
9	55.62	5.56	7.32	13.28	18.22
10	68.00	3.00	10.00	9.00	10.00
11	62.00	4.52	6.82	9.08	12.58
12	62.10	5.10	7.14	10.40	15.26
13	62.80	5.72	8.00	11.38	12.10
14	63.50	4.17	5.22	10.41	16.70
15	66.64	3.10	4.65	10.11	15.50
16	65.50	3.45	8.05	11.50	11.50
17	69.65	3.38	6.74	9.00	11.23
18	72.50	2.50	5.00	7.50	12.50
19	65.49	4.43	6.19	13.27	10.62
20	66.64	3.84	5.15	10.26	14.11
21	70.60	3.28	4.92	6.55	14.65
22	51.60	4.55	11.30	15.15	17.40
23	64.36	4.95	5.94	9.90	14.85
24	67.73	4.17	5.20	10.40	12.50
25	55.51	4.63	7.41	14.78	17.62
26	61.96	4.36	5.44	12.04	16.20
27	60.36	3.60	3.60	13.52	18.92
28	55.44	4.52	9.64	15.00	
29	56.43	4.80	7.54	12.33	15.40
30	60.00	5.00	5.00	13.33	19.00
31	54.56	3.95	5.93		16.67
32	69.12	3.60	4.37	15.81	19.75
33	69.35	3.96	4.95	9.53	13.38
34	53.00	5.00	10.20	7.92	13.82
35	65.00	4.00		14.30	18.50
36	52.80	5.43	6.00	12.00	13.00
37	53.50		8.53	15.50	17.74
38	52.80	3.42	10.32	12.91	19.85
39		2.51	12.51	15.28	16.90
39 40	52.00	5.65	9.45	16.30	15.60
	60.00	6.00	7.00	12.00	15.00
41	60.42	4.38	7.78	10.96	16.46
42	67.44	3.36	9.00	10.10	10.10
43	66.67	3.13	4.17	9.37	16.67
44	67.37	3.16	5.26	13.68	10.53
; 4 5	57.85	4.96	6.61	13.22	17.36
46	64.33	2.86	5.92	11.40	15.69
47	64.08	3.88	4.86	12.62	14.56
48	54.15	3.48	10.40	13.90	18.07
49	74.30	2.75	2.75	9.34	10.86
50	54.89	4.81	8.65	14.42	19.23

Los valores absolutos fueron obtenidos del valor de proteínas totales, determinando foto-calorimétricamente por el método del Biuret según la técnica de WOLFSON y colaboradores (Cuadro IV).

C U A D R O IV

VALORES OBTENIDOS POR ELECTROFORESIS EN PAPEL EN 50 SUEROS

DE ADULTOS APARENTEMENTE SANOS AL NIVEL DEL MAR (*)

Caso	Proteinas	Albúmina	Glob.	Alfa-1	Alfa-2	Beta	Gamma	Rel.
	Totales		Totales	Glob.	Glob.	Glob.	Glob.	A/G
1	6.35	3.95	2.40	0.23	0.40	0.74	1.03	1.64
2	6.24	4.00	2.24	0.29	0.29	0.80	0.86	1.18
3	7.02	4.93	2.09	0.22	0.44	0.56	0.87	2.35
4	7.25	4.05	3.20	0.32	0.39	1.13	1.36	1.26
5	6.35	3.34	3.01	0.36	0.42	0.90	1.33	1.10
6	6.70	3.46	3.24	0.39	0.46	1.00	1.39	1.06
7	6.85	3.81	3.04	0.25	0.62	0.93	1.24	1.25
8	6.62	4.14	2.48	0.25	0.45	0.83	0.95	1.66
9	6.75	3.77	2.98	0.37	0.49	0.89	1.23	1.26
10	6.81	4.64	2.17	0.20	0.68	0.61	0.68	2.13
11	6.25	4.19	2.06	0.28	0.42	0.58	0.78	2.03
12	6.95	4.33	2.61	0.35	0.49	0.72	1.05	1.65
13	7.26	4.56	2.64	0.42	0.52	0.83	0.87	1.72
14	6.63	4.20	2.43	0.27	0.34	0.72	1.10	1.72
15	6.55	4.36	2.19	0.20	0.30	0.67	1.02	1.99
16	6.62	4.35	2.27	0.22	0.53	0.76	0.76	1.91
17	6.76	4.74	2.12	0.22	0.46	0.68	0.76	2.23
18	7.26	5.27	1.99	0.18	0.36	0.54	0.91	2.64
19	6.86	4.49	2.37	0.30	0.43	0.91	0.73	1.89
20	6.84	4.56	2.28	0.26	0.35	0.71	0.96	2.00
21	6.75	4.70	1.95	0.22	0.33	0.43	0.97	2.41
22	6.80	3.51	3.29	0.31	0.77	1.03	1.18	1.06
23	6.90	4.45	2.45	0.34	0.41	0.68	1.02	1.81
24	6.25	4.24	2.01	2.26	0.32	0.65	0.78	2.10
25	6.73	3.75	2.98	0.31	0.49	0.99	1.19	1.25
26	6.30	3.80	2.50	0.27	0.34	0.76	1.13	1.52
27	7.05	4.27	2.78	0.25	0.25	0.95	1.33	1.53
28	6.55	3.63	2.92	0.29	0.63	0.98	1.02	1.24
29	7.06	4.00	3.06	0.34	0.53	0.86	1.33	1.30
0	6.86	4.12	2.74	0.34	0.34	0.92	1.14	1.50
1	6.80	3.72	3.08	0.27	0.40	1.07	1.34	1.21
2	7.43	5.14	2.28	0.26	0.37	0.70	0.96	1.25
3	6.38	4.41	1.97	0.25	0.30	0.50	0.83	2.24
4	6.10	3.20	2.90	0.30	0.60	0.86	1.14	1.14
5	7.05	4.58	2.47	0.28	0.42	0.84	0.93	1.85
6	6.24	3.34	2.90	0.33	0.53	0.95	1.09	1.15
7	6.80	3.62	3.02	0.23	0.70	0.81	1.34	1.11

Caso		Albúmina	Glob.	Alfa-1	Alfa-2	Beta	Gamma	Rel.
	Totales		Totales	Glob.	Glob.	Glob.	Glob.	A/G
38	4.44	3.42	2.90	0.16	0.80	0.98	1.08	1.50
39	5.92	3.16	2.76	0.33	0.54	0.97	0.92	1.14
40	7.26	4.36	2.90	0.43	0.50	0.88	1.09	1.50
41	6.24	3.78	2.47	0.27	0.48	0.69	1.03	1.53
42	6.00	4.05	1.95	0.21	0.54	0.60	0.60	2.03
43	6.75	4.50	2.25	0.20	0.28	0.63	1.14	2.00
44	6.80	4.60	2.20	0.21	0.36	0.92	0.71	2.04
45	6.44	3.72	2.72	0.32	0.42	0.85	1.13	1.36
46	6.25	4.05	2.20	0.17	0.36	0.70	0.97	1.84
47	6.95	4.42	2.53	0.26	0.33	88.0	1.06	1.73
48	6.80	3.70	3.10	0.23	0.70	0.94	1.23	1.19
49	6.35	4.73	1.62	0.16	0.16	0.60	0.70	2.91
50	6.64	3.52	3.12	0.32	0.57	0.96	1.27	1.13

^(*) Valores expresados en grs. por ciento.

Los resultados obtenidos en esta serie de sueros figuran en los cuadros V y VI estudiados estadísticamente (35).

CUADRO V

ANALISIS ESTADISTICO DE LAS DISTINTAS FRACCIONES PROTEICAS DEL SUERO OBTENIDO POR ELECTROFORESIS AL PAPEL DE FILTRO EN 50 ADULTOS APARENTEMENTE NORMALES AL NIVEL DEL MAR

	Media ± E.S.	Desv. St. 🛨 E.S.	Coef.	Valores
			Var. (%)	Extremos
Proteinas totales	6.70 ± 0.05	0.36 ± 0.03	5.4	5.92 — 7.43
Albúmina	4.06 ± 0.06	0.39 ± 0.04	9.6	3.16 - 5.27
Glob. totales	2.56 ± 0.06	0.42 ± 0.04	16.4	1.62 - 3.29
Alfa-1 globulina	$0.28^{\circ} \pm 0.007$	0.05 ± 0.005	17.8	0.16 - 0.43
Alfa-2 globulina	0.46 ± 0.02	0.16 ± 0.01	34.8	0.16 - 0.80
Beta-globulina	0.81 ± 0.03	0.22 ± 0.02	27.0	0.43 1.13
Gamma-globulina	1.02 ± 0.03	0.20 ± 0.02	19.5	0.60 - 1.36
Relación A/G	1.68 ± 0.07	0.28 ± 0.05	16.7	1.06 — 2.9
				-

CUADRO VI

VALORES PORCENTUALES DE LAS FRACCIONES PROTEICAS DEL SUERO OBTENIDAS POR ELECTROFORESIS AL PAPEL EN 50 ADULTOS APARENTEMENTE SANOS AL NIVEL DEL MAR

	Albúmina	Alfa-1 Glob.	Alfa-2 Glob.	Beta Glob.	Gamma Glob.
Media	. 61.46	4.16	6.85	12.05	15.43
Mínima	. 50.65	2.50	2.75	6.55	10.00
Máxima	74.30	6.00	12.51	16.30	20.90

Con el fin de realizar un estudio comparativo con el método de fraccionamiento químico de WOLFSON y col. se ha analizado químicamente 30 sueros de los sujetos normales al nivel del mar (Cuadro VII). Estos resultados estudiados estadísticamente por este método figuran en el cuadro VIII.

CUADRO VII

VALORES OBTENIDOS POR FRACCIONAMIENTO QUIMICO EN 30 SUEROS DE ADULTOS APARENTEMENTE NORMALES AL NIVEL DEL MAR (*)

Caso	Prot. total	Albúmina	Glob. total	Alfa Glob.	Beta Glob.	Gamma Glob.	Rel. A/G
1	6.35	4.40	1.95	0.40	0.59	0.96	2.22
2	6.24	4.25	1.99	0.45	0.72	0.82	2.12
3	7.02	4.70	2.32	0.68	0.70	0.94	2.00
4	7.25	4.45	2.80	0.51	1.05	1.24	1.59
5	6.35	3.68	2.67	0.65	1.02	1.00	1.41
6	6.60	3.70	3.00	0.52	1.23	1.25	1.23
7	6.85	4.25	2.60	0.40	1.05	1.15	1.63
8	6.62	4.30	2.32	0.46	0.84	1.02	1.85
9	6.75	4.20	2.55	0.40	1.25	0.90	1.65
10	6.81	4.56	2.25	0.65	0.71	0.89	2.01
11	6.25	4.30	1.95	0.35	0.72	0.88	2.20
12	6.95	4.47	2.48	0.35	1.10	1.03	1.80
13	7.26	4.66	2.60	0.50	0.95	1.15	1.74
14	6.33	3.98	2.65	0.44	1.09	1.12	1.49
15	6.55	4.40	2.15	0.50	0.73	0.83	2.02
16	6.62	4.55	2.07	0.48	0.80	0.79	2.11
17	6.76	4.80	1.96	0.45	0.58	0.93	2.45
18	6.26	5.04	2.22	0,34	88.0	1.00	2.26
19	6.86	4.58	2.28	0.45	0.95	0.88	2.00
20	6.84	4.58	2.26	0.42	0:88	0.96	2.02
21	6.65	4.10	2.55	0.55	0.84	1.16	1.61
22	6.80	4.20	2.60	0.85	0.80	0.95	1.62
23	6.90	4.50	2.40	0.35	1.05	1.00	1.87
24	6.25	4.33	1.92	0.41	0.65	0.86	2.25
2 5	6.73	3.80	2.93	0.80	1.09	1.04	1.30
26	6.30	3.87	2.43	0.46	1.03	0.94	1.56
27	7.05	3.98	3.07	0.86	1.01	1.20	1.29
28	6.55	4.02	2.53	0.54	1.06	0.93	1.58
29	7.06	4.02	3.04	0.85	1.04	1.15	1.32
30	6.86	4.10	2.76	0.62	0.97	1.17	1.49

^(*) Valores expresados en gramos por ciento.

CUADRO VIII

ANALISIS ESTADISTICO DE LAS FRACCIONES PROTEICAS DEL SUERO OBTENIDO POR FRACCIONAMIENTO QUIMICO EN 30 ADULTOS APARENTEMENTE NORMALES AL NIVEL DEL MAR

	Media ± E.S.	Desv. St. ± E.S.	Coef.	Valores
			Var. (%)	Extremos
Proteinas totales	6.73 ± 0.06	0.33 ± 0.04	5.0	6.24 — 7.43
Albúminas	4.32 ± 0.09	0.48 ± 0.06	11.4	3.68 - 5.04
Globulinas totales	2.44 ± 0.06	0.35 ± 0.04	14.3	1.92 - 3.07
Alfa-globulina	0.52 ± 0.03	0.14 ± 0.01	27.0	0.34 - 0.86
Beta-globulina	0.91 ± 0.04	0.22 ± 0.03	24.2	0.58 - 1.25
Gamma-globulina	1.00 ± 0.04	0.19 ± 0.02	19.1	0.79 - 1.25
Relación A/G	1.79 ± 0.05	0.25 ± 0.03	14.0	1.32 - 2.45

Igualmente se han analizado por electroforesis sobre papel 18 plasmas de adultos aparentemente normales residentes en Morococha. Los resultados figuran en los cuadros IX, X, XI, y XII.

CUADRO IX

VALORES OBTENIDOS POR ELECTROFORESIS SOBRE PAPEL EN 18 PLASMAS DE SUJETOS EN MOROCOCHA (Expresados en porcentaje)

Caso	Albúmina	Alfa-1 Glob.	Alfa-2 Glob.	Beta Glob.	Fibrinógeno	Gamma Glob
1	56.57	3.87	6.20	11.64	6.20	15.51
2	52.54	3.33	8.32	12.50	6.66	16.65
3	55.80	2.88	7.70	11.52	5.75	16.35
4	59.30	4.24	5.94	12.14	5.06	13.32
5	55.98	3.67	6.42	11.00	4.58	18.35
6	51.00	4.45	8.92	12.72	5.74	17.17
7	51.60	3.82	9.55	13.36	6.37	15.30
8	51.90	3.71	8.13	13.30	3.71	19.25
9	52.40	4.82	8.28	9.65	5.52	19.33
10	53.28	5.32	5.32	13.35	6.03	16.70
11	64.61	3.92	4.90	7.85	3.92	14.70
12	52.30	3.22	3.22	12.20	8.06	21.00
13	51.50	3.13	5.47	12.50	5.47	21.93
14	51.00	3.95	7.83	11.75	5.83	19.64
15	49.00	4.54	6.83	10.90	6.83	21.90
16	53.60	3.57	5.00	12.11	5.72	20.00
17	52.30	4.20	7.04	11.76	6.46	18.24
18	57.00	3.74	6.54	9.35	5.62	17.75

C U A D R O X

VALORES OBTENIDOS CON ELECTROFORESOS SOBRE PAPEL EN 18

PLASMAS DE SUJETOS DE MOROCOCHA (*)

Caso	Prot.	Albú-	Glob.	Alfa-1	Alfa-2	Beta	Flbrinó-	Gamma	Rel.
	total	mina	total	Glob.	Glob.	Glob.	geno	Glob.	A/G
1	6.42	3.65	2.37	0.24	0.39	0.75	0.39	1.00	1.53
2	6.25	3.30	2.24	0.20	0.52	0.78	0.41	1.04	1.47
3	7.15	4.00	2.34	0.20	0.55	0.82	0.41	1.14	1.71
4	6.63	3.95	2.36	0.28	0.39	0.80	0.32	0.89	1.67
5	6.83	3.83	2.69	0.25	0.43	0.75	0.31	1.26	1.42
6	7.06	3.64	2.72	0.31	0.63	0.87	0.41	1.21	1.33
7	6.84	3.52	2.87	0.26	0.65	0.92	0.43	1.04	1.23
8	6.52	3.38	2.91	0.24	0.53	0.88	0.24	1.26	1.16
9	6.38	3.35	2.68	0.30	0.53	0.62	0.35	1.23	1.25
10	6.70	3.57	2.78	0.35	0.35	0.96	0.34	1.12	1.31
11	7.30	4.71	2.31	0.28	0.36	0.59	0.28	1.08	2.01
12	6.62	3.45	2.37	0.22	0.22	0.81	0.53	1.39	1.45
13	6.43	3.32	2.81	0.20	0.35	0.80	0.35	1.41	1.18
14	6.84	3.51	2.94	0.27	0.53	0.80	0.39	1.34	1.20
15	7.05	3.46	3.11	0.32	0.48	0.77	0.48	1.54	1.12
16	7.18	3.85	2.91	0.25	0.36	0.80	0.48	1.44	1.32
17	7.04	3.69	2.89	0.29	0.50	0.82	0.46	1.28	1.28
18	6.85	3.92	2.55	0.25	0.45	0.64	0.38	1.21	1.53

^(*) Valores expresados en gramos por ciento.

CUADRO XI

ANALISIS ESTADISTICO DE LAS FRACCIONES PROTEICAS DEL PLASMA OBTENIDO POR ELECTROFORESIS AL PAPEL EN 18 ADULTOS APARENTEMENTE SANOS DE MOROCOCHA

	Media ± E.S	Desv. St. + E.S.	Coef.	Valores
			Var. (%)	Extremos
Proteinas totales	6.78 ± 0.08	0.32 ± 0.05	4.8	6.25 — 7.30
Albúmina	3.67 ± 0.08	0.34 ± 0.05	9.3	3.30 - 4.71
Globulinas totales	2.65 ± 0.08	0.34 ± 0.06	12.7	2.24 - 3.11
Alfa-1 globulina	0.26 ± 0.009	0.04 ± 0.007	15.4	0.20 - 0.35
Alfa-2 globulina	0.45 ± 0.03	0.12 ± 0.02	26.6	0.22 - 0.65
Beta-globulina	0.79 ± 0.03	0.13 ± 0.02	16.5	0.59 - 0.96
Fibrinógeno	0.38 ± 0.02	0.10 ± 0.01	26.4	0.24 - 0.53
Gamma-globulina	1.22 ± 0.06	0.26 ± 0.04	11.8	0.89 - 1.54
Relación A/G.	1.40 ± 0.05	0.21 ± 0.04	15.0	1.12 - 2.01

C U A D R O XII

VALOR PORCENTUAL DE LAS FRACCIONES PROTEICAS DEL PLASMA
OBTENIDA POR ELECTROFORESIS AL PAPEL EN 18 ADULTOS
APARENTEMENTE SANOS DE MOROCOCHA

	Albúmina	Alfa-1 Glob.	Alfa-2 Glob.	Beta Glob.	Fibrinógeno	Gamma Glob.
Promedio	53.98	3.91	6.75	11.64	5.75	17.76
Máxima	49.00	2.88	3.22	7.85	3.71	13.32
Minima	64.61	5.32	9.55	13.36	8.06	21.93

Se ha realizado el fraccionamiento químico en 13 sueros de sujetos de Morococha, obteniendo los resultados siguientes: Cuadros XIII y XIV.

C U A D R O XIII

VALORES OBTENIDOS POR FRACCIONAMIENTO QUIMICO EN 13 PLASMAS

DE SUJETOS EN MOROCOCHA (*)

Caso	Prot. total	Albúmina	Glob. total	Alfa Glob.	Beta Glob.	Gamma Glob.	Rel. A/G
1	5.42	3.88	2.54	0.40	1.02	1.12	1.53
2	6.25	3.58	2.67	0.58	0.99	1.10	1.34
3	7.15	4.25	2.90	0.56	1.14	1.20	1.46
4	6.63	4.02	2.61	0.67	0.86	1.08	1.54
5	6.83	3.85	2.98	0.43	1.19	1.36	1.32
6	7.06	3.92	3.14	0.50	1.31	1.33	1.25
7	6.84	3.80	3.04	0.82	1.04	1.18	1,25
8	6.52	3.78	2.74	0.51	1.08	1.15	1.38
9	6.38	3.65	2.73	0.37	1.16	1.20	1.33
10	6.70	3.85	2.85	0.43	1.27	1.15	1.35
11	7.30	4.82	2.48	0.55	0.95	0.98	1.94
12	6.62	3.68	2.94	0.38	1.13	1.43	1.25
13	6.43	3.62	2.81	0.50	0.95	1.36	1.28

^(*) Valores expresados en gramos por ciento.

C U A D R O XIV

ANALISIS ESTADISTICO DE LAS FRACCIONES PROTEICAS DEL PLASMA
OBTENIDOS POR FRACCIONAMIENTO QUIMICO EN 13 ADULTOS
APARENTEMENTE NORMALES DE MOROCOCHA

	Media ± E.S.	Desv. St. ± E.S.	Coef. Var. (%)	Valores Extremos
Proteina total	6.70 ± 0.10	0.35 ± 0.07	5.2	6.25 — 7.30
Albúmina		0.32 ± 0.06	8.4	3.58 - 4.82
Globulina total	2.78 ± 0.11	0.41 ± 0.08	14.8	2.48 - 3.14
Alfa - globulina	0.52 ± 0.04	0.12 ± 0.02	22.1	0.37 - 0.82
Beta - globulina	1.08 ± 0.05	0.18 ± 0.04	16.6	0.86 - 1.31
Gamma - globulina	1.21 ± 0.05	0.16 ± 0.03	9.0	0.98 - 1.43
Relación A/G	1.40 ± 0.04	0.13 ± 0.02	9.3	1.25 - 1.94

DISCUSION

Los promedios y variaciones de las diversas fracciones proteicas observadas en nuestra serie de 50 sueros normales al nivel del mar son comparables a los obtenidos por otros autores empleando la electroforesis al papel, teniendo en cuenta las diferencias de técnica de coloración, desnaturalización, etc.; además de las condiciones de raza, clima y alimentación. En el cuadro XV, señalamos algunos de los valores en concentración absoluta y relativa encontradas por diferentes autores con el método de electroforesis al papel.

C U A D R O XV

VALOR PROMEDIO DE LAS FRACCIONES DEL SUERO Y PLASMA NORMALES

OBTENIDOS POR ELECTROFORESIS EN PAPEL

	Nº de Observ.	Prot. total	Albú- mina.	Alfa-1 Glob.	Alfa-2 Glob.	Beta Glob.	Gamma Glob.
Conc. absoluta				_			7
(gr. por %) Oosterhuis, 1954	15	7.20	4.78	0.21	0.41	0.56	1.22
(58)	10	1.20	1.10	0.21	0.11	0.50	1.22
Satoskar, 1954	10	7.70	4.50	0.33	0.50	0.80	1.70
(68) Los nuestros, 1955	50	6.70	4.06	0.28	0.46	0.81	+ Fib.

	Nº de Observ.	Prot. total	Albú- mina.	Alfa-l Glob.	Alfa-2 Glob.	Beta Glob.	Gamma Glob.
Conc. Relativa							
(porcentaje)							
Koiw Wallenius y							
Gronwall, 1951 (38)	10		72.9	1.40	3.50	8.60	13.60
Gras, 1952 (22)	26		66.63	10	0.10	8.71	14.58
Moena, Pavesi,							
1953 (54)			60.0	5.30	7.00	14.40	13.30
Cooper, Mandel,							
1954 (11)	12		54.0	3.95	10.25	12.68	19.13
Los nuestros, 1955			61.46	4.16	6.85	12.05	15.43

Igualmente nuestros resultados concuerdan con algunos de los obtenidos por diferentes autores con el método de electroforesis clásica, como se puede apreciar en el cuadro XVI.

C U A D R O XVI

VALOR PROMEDIO DE LAS FRACCIONES DEL SUERO Y PLASMA
NORMALES OBTENIDOS CON LA ELECTROFORESIS CLASICA

	Nº de bserv.	Prot. total		Alfa-1 Glob.	Alfa-2 Glob.	Beta Glob.	Gamma Glob.	Fib
Conc. Absoluta								
(grs. por %)								
Luetscher, 1940(62)	*****	6.50	4.06	().46	0.86	0.86	0.37
Moura Goncalves	10	7.19	4.08	0.35	0.59	0.85	1.00	0.31
Reiner, Fenichel								
1950 (64)	60	7.22	4.10	0.50	0.60	0.90	1.00	
Los nuestros,								
1955 (*)	50	6.70	4.06	0.28	0.46	0.81	1.02	
Conc. Relativa (porcentaje)								
Portillo, 1953 (62)	******		60.0	4.5	6.5	10.5	15.2	
Dole, 1954 (15)			60.0	4.0	7.4	12.1	11.0	
Reiner, Fenichel								
1950 (64)	60		56.8	7.2	8.7	12.8	14.4	
Martin, 1949 (22)			58.60		12.4	13.1	11.7	
Los nuestros, 1955 (*)			61.46	4.16	6.85	12.05	15.43	

^(*) Electroforesis al papel.

Haciendo un estudio estadístico comparativo de los valores medios de los sueros de sujetos al nivel del mar, obtenidos por análisis electroforético y químico, llegamos a la conclusión que en su mayoría los valores comparables no son diferentes, porque la diferencia de los valores medios es menor a dos veces el error standard de las diferencias (35).

CUADRO XVII

COMPARACION ESTADISTICA DE LOS VALORES MEDIOS AL NIVEL DEL MAR OBTENIDOS POR ELECTROFORESIS SOBRE PAPEL Y FRACCIONAMIENTO QUIMICO

	Electroforesis sobre papel	Fraccionamiento Químico	Diferencia ±E S		
Proteínas totales	6.70 ± 0.05	6.73 ± 0.06	0.03 ± 0.07		
Albúmina	4.06 ± 0.06	4.32 ± 0.09	0.26 ± 0.11		
Globulinas totales	2.56 ± 0.06	2.44 ± 0.06	0.12 ± 0.09		
Alfa - globulina	0.74 ± 0.04	0.52 ± 0.03	0.22 ± 0.10		
Beta - globulina	0.81 ± 0.03	0.91 ± 0.04	0.10 ± 0.05		
Gamma - globulina	1.02 ± 0.03	1.00 ± 0.04	0.02 ± 0.05		
Relación A/G	1.68 ± 0.07	1.79 ± 0.05	0.11 ± 0.06		

Así mismo se ha realizado un análisis comparativo de los valores medios al nivel del mar y en la Altura obtenidos con la electroforesis sobre papel, observándose ciertas diferencias en las cifras de albúmina y gamma-globulina, no encontrándose diferencias apreciables en las cifras de las proteínas totales, alfa y beta globulina. Estos datos figuran en el cuadro XVIII.

CUADRO XVIII

COMPARACION ESTADISTICA DE LOS VALORES MEDIOS AL NIVEL DEL MAR Y EN ALTURAS (MOROCOCHA) OBTENIDO POR ELECTROFORESIS SOBRE PAPEL

	Nivel del Mar	Morococha	Diferencia ± E.S.
Proteínas totales	6.70 ± 0.05	6.78 ± 0.08	0.08 ± 0.09
Albúmina	4.06 ± 0.06	3.67 ± 0.08	0.39 ± 0.10
Globulinas totales	2.56 ± 0.06	2.65 ± 0.08	0.09 ± 0.10
Alfa - 1 globulina	0.28 ± 0.007	0.26 ± 0.009	0.02 ± 0.011
Alfa - 2 globulina	0.46 ± 0.02	0.45 ± 0.03	0.01 ± 0.013
Beta - globulina	0.81 ± 0.03	0.79 ± 0.03	0.02 ± 0.04
Gamma - globulina	1.02 ± 0.03	1.22 ± 0.06	0.20 ± 0.06
Relación A/G.	1.68 ± 0.07	1.40 ± 0.05	0.28 ± 0.08

Las diferencias encontradas en los valores medios de los plasmas de Altura ha sido comprobada por el método químico, con el cual dá valores concordantes, el estudio comparativo de los valores medios de los plasmas de Morococha entre el método electroforético y el fraccionamiento químico no indica diferencias desde el punto de vista estadístico en las cifras de las proteínas totales, albúmina, gamma-globulina y relación A/G., observándose una ligera diferencia en la fracción alfa y beta globulina. Estos datos se sumarizan en el cuadro XIX.

CUADRO XIX

COMPARACION ESTADISTICA DE LOS VALORES MEDIOS DE MOROCOCHA OBTENIDOS POR ELECTROFORESIS SOBRE PAPEL Y POR FRACCIONAMIENTO QUIMICO

	Electroforesis al papel	Fraccionamiento Químico	Diferencia ± E.S.
Proteínas totales	6.78 ± 0.08	6.70 ± 0.10	0.08 ± 0.13
Albúmina	3.67 ± 0.08	3.82 ± 0.09	0.15 ± 0.12
Globulinas totales	2.65 ± 0.08	2.78 ± 0.11	0.13 ± 0.13
Alfa - globulina	0.71 ± 0.04	$0.52 ~\pm~ 0.04$	0.19 ± 0.05
Beta - globulina	0.79 ± 0.03	1.08 ± 0.05	0.29 ± 0.06
Gamma - globulina	1.22 ± 0.06	1.21 ± 0.05	0.01 ± 0.08
Relación A/G.	1.40 ± 0.05	1.40 ± 0.04	0.00 ± 0.06

A continuación exponemos en el cuadro XX los resultados obtenidos por autores nacionales.

C U A D R O XX

COMPARACION DE LOS VALORES MEDIOS DE LAS PROTEINAS SERICAS
OBTENIDOS DE NUESTRO MEDIO

AUTORES	Año	Lugar	Método	Casos	Prot. total	Alb.	G L O E	Beta	N A S Gamma
Salas, A. (66)	1938	Lima	Quím.	25	8.38	4.97	(—	3.40 -	~)
Salas, A. (66)	1938	Huancayo	Quím.	100	8.87	4.87	(- 3.97 -	_)
Merino, C. (49)	1939	Lima	Quím.	20	6.55	4.30	(—	- 2.27 -	_)
Guzmán Barrón A. (29)	1943	Lima							
Guzmán Barrón A. (29)	1943	Huancayo	Refr.	102	7.98		*****		******
Guzmán Barrón A.		_	Quím.	50	6.60	*****	,,,,,	*****	******
(30; 31)	1949	Iquitos	Quím.	50	6.79	*****			141/41
Santiago E. (67)	1949	Lima	Quím.	30	6.67	4.50	(—	2.19 -	_)
Morante, M. (55)	1949	Lima	Quím.	50	7.21	4.34	0.93	1.01	0.93
Rios Gárate (65)	1952	Lima	Quím.	50	7.27	4.10	0.94	1.10	1.13
Los nuestros	1955	Lima	Elect.	50	6.70	4.06	0.74	0.81	1.02
Los nuestros	1955	Morococha	Al papel	18	6.78	3.67	0.71	0.79	1.22

^(*) P. T. determinada por el método de Wolfson y col. (85)

Una comparación de los métodos electroforético y químico, favorece al primero, debido al hecho que se obtiene un modelo o muestra bidimensional, o sea el electrocromatograma y el ferograma, el cual puede ser específico para algunas enfermedades (3;1;86).

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Un estudio cualitativo y cuantitativo de las proteínas séricas por el método de electroforesis sobre papel de filtro, se ha realizado empleando los sistemas sin y con evaporación.

Se ha determinado cuantitativamente las fracciones proteicas de 50 sueros de sujetos aparentemente normales residentes en Lima y de 18 plasmas de sujetos aparentemente normales residentes en Morococha (4.540 mts. sobre el nivel del mar).

En 30 sueros del primer grupo y en 13 plasmas del seguido se ha hecho un estudio comparativo entre el método químico y la electroforesis en papel de filtro.

Este último método demostró ser superior porque diferencia mejor y se obtiene un diagrama electroforético o electroferograma.

La serie estudiada representa la más numerosa que se ha dado en nuestro medio sobre este particular con el método mencionado.

De los resultados obtenidos con la electroforesis sobre papel llegamos a las siguientes conclusiones:

- 1.—Para los 50 sueros normales de adultos residentes en Lima se han encontrado los siguientes valores absolutos promedios: Prot. Totales: 6.70 grs. Albúmina: 4.06 grs. Glob. totales: 2.56 gr. Alfa-1 Glob: 0.28, Alfa-2 Glob, 0.46, Beta-Glob.: 0.81 grs. Gamma-Glob.: 1.02 grs. Relación A/G.: 1.68.
- 2.—En el grupo anterior se han encontrado los siguientes valores relativos promedios: Albúmina 61.46; Alfa-l Glob.: 4.16, Alfa-2 Glob.: 6.85, Beta-Glob.: 12.05; Gamma-Glob.: 15/43.
- 3.—Para los 18 plasmas normales de adultos residentes en Morococha se han hallado los siguientes valores absolutos promedios: Prot. Totales: 6.78 grs. Albúmina: 3.67 grs. Glob. Totales: 2.66 grs. Alfa-l Glob.: 0.26 grs. Alfa-2 Glob.: 0.45 grs. Beta-Glob.: 0.79, Fibrinógeno: 0.38 grs. Gamma-Glob.: 1.22 grs. Relación A/G.: 1.40.
- 4.—En el grupo anterior se han hallado los siguientes valores relativos: Albúmina: 53.98; Alfa-1 Glob.: 3.91; Afa-2 Glob.: 6.75; Beta-Glob.: 11.64; Fibrinógeno: 5.75. Gamma-Glob.: 17.76.
- 5.—Se ha encontrado en general aceptable concordancia entre los valores medios obtenidos por el método químico y la electroforesis sobre papel en los dos grupos estudiados.
- 6.—No se han hallado diferencias apreciables en la proteinemia entre los sujetos al nivel del mar y en la altura (Morococha).
- 7.—Los resultados obtenidos servirán en el estudio comparativo con los resultados en sueros patológicos.
- 8.—Es recomendable la electroforesis en papel por su simplicidad, costo y su adaptabilidad para pruebas de rutina. Las ventajas del registro automático que hemos empleado nos dá rapidez de operación, una aceptable desviación normal, buena reproductibilidad y exactitud.

BIBLIOGRAFIA

- ANSON, M. L., and EDSALL: Advances in Proteins Chemistry. Tomo IV; Academia Press Publ. New. York. 1948.
- BARAC, G., BAERTER, A., DEBOIT, M., PiCARD, A. et UME, G.: Applications Cliniques de la micro-electroforesis sur papier. Revue Med. de Liege 9: 454. 1954.

- 3.—BERNNHAMOU, E., y POLONOSKI, J.: Electroforesis sobre papel. Aplicaciones clínicas. Anales de Biol. Clin. Nº 1-2, 1953. Trad. Laboratorio 101; 421-442, 1954.
- 4.—BLOCK, R., DURRUM, E. L., and ZWEIZ, G.: Manual of Paper Chromatography and Paper Electrophoresis.— Academic Press Inc. Publ. New York, 1955.
- 5.—BUTLER, A. M., and MONTGOMERY, H.: The Solubility of the plasma proteins.— J. Biol. Chem. 99: 173, 1932.
- 6.—CAMPBELL, W. R., and HANNA, M. 1.— J. Biol. Chem. 119: 15, 1937.
- 7.—COHN, E. J.: Physical Chemistry of the proteins.— Phys. Rev. 5: 410-415, 1925 (citado por 22).
- COHN, E. J., ONCLEY, J. L., STRONG, L. E., HUGHES, W. L.: Chemical, Clinical and inmunological products of human plasma fractionation.— J. Clin. Invest. 23: 417, 1944.
- 9.—COHN, E. J.— A system for separation of the components of human blood. J. Am. Chem. Soc. 72: 465, 1950.
- 10.—CONSDEN, R., GORDON, A. H., A. H., and MARTIN, A. J. P.: Iono-phoresis in Silica jelly.— Biochem. J. 40: 33-41, 1946.
- 11.—COOPER, G. R., MANDEL, E.: Paper Electrophoresis with automatic scanning and recording.— J. Lab. and Clin. Med. 44: 636, 1954.
- CORCORAN, A. C.— Methods in Medical Research.— Vol. V.— The Year Book Publ. Chicago, 1952.
- CREMER, H. D., TISELIUS, A.: Elektrophorese von Ewiess in Filtrier papier.— Biochem Z., 320, 273-283, 1950.
- 14.—DIAZ RUBIO, SEGOVIA, M.: Microelectroforesis de las proteínas séricas, nuestro aparato y técnica.— Hispalis Med. 113: 1953.
- DOLE, V. P.: The Electrophoretic pattern of normal plasma.— J. Clin. Invest., 23: 708, 1944.
- 16.—DURRUM, E. L.: A Microelectrophoretic and microionoforetic tecnique. — J. Am. Chem. Soc. 72: 2943, 1950.
- DURRUM, E. L.: Two-dimensional electrophoresis and ionophoresis.—
 J. Colloid. Sci., 6: 274-90, 1951.
- 18.—DURRUM, E. L.: Paper Ionophoresis.— Science, 113: 66-68, 1951
- DURRUM, E. L., MILTON, SMITH: Lipid Detection in Paper Electrophoresis.— Science, 116: 428-30, 1952.
- 20.—GRAS, J.: Electroforesis en papel de las proteínas de sueros normales y patológicos.— Rev. Esp. Fisiol. 8: 59-69, 1952.
- 21.—GRAS, J.: La electroforesis en papel de las proteínas del suero.— Laboratorio, 12: 401-408, 1952.
- 22.—GRAS, J.: Metabolismo, Fisiopatología y Clínica General de las proteinas del Plasma.— Cap. del tomo V del Tratado de Patología y Clínica Médica.— Edit. Salvat, Barcelona, 1954.
- 23.—GRAS, J., SALAZAR, M.: A comparative study of the fractionation with NA2S2O3 and paper electrophoresis of the serum proteins.— Plasma.— 1: 2-18, 1954.
- 25.—GRASSMAN, W., HANNING,, K. KNEDEL, M.: Uber ein verfahren aus elektrophoretisch en bestimmung der Serum Proteine auf filtrier papier.— Deut. Med. Wochschr, 76: 333-6, 1951,

- 26.—GREEN, A. A.: The preparation of acetatet and phosphate buffer solutions of known pH and ionic strength.— J. Am. Chem. Sec. 55: 2331, 1933.
- 27.—GRIFFITHS, L.: The Electrophoresis of serum and other body fluid in filter paper.— J. Lab. and Clin. Med. 41: 188, 1953.
- GRONWALL, A.: On paper electrophoresis in clinical laboratory. Scand. J. of Clin. & Lab. Invest. 4: 270-80, 1952.
- 29.—GUZMAN BARRON, A.: Estudios sobre nutrición en el Perú.— Segundo Congreso Peruano de Química.— Tomo II; 269, 1943.
- 30.—GUZMAN BARRON, A.: Proteínas Plasmáticas.— Cuarto Congreso Sudamericano de Química.— Santiago, 1948.
- 31.—GUZMAN BARRON, A., MEJIA J., SALOMON P.: Estudios de nutrición de la Selva.— Tercer Congreso Peruano de Química.— Tomo I: 296, 1949.
- 32.—FLYNN, F. V., and DE MAYO, P.— Microelectrophoresis of protein on filter paper.— Lancet, 261: 235-238, 1951.
- 33.—HARDY, W. B.: On the coagulation of protein by electricity.— J. Physiol., 33: 251, 1905 (citado por 22).
- 34.—HOWE, P. B.: The use of sodium sulphate as the globulin precipitant in the determination of proteins in blood.— J. Biol. Chem, 49: 93, 1921.
- 35.—HURTADO, A.— Métodos Estadísticos.— An. de la Fac. Med. Lima, 28: 125, 1945:
- 36.—KEYS, A.: "A rapid Micro-Kjeldahl method.— J. Biol. Chem. 132: 181, 1940.
- 37.—KIBRICK, A. C., and BLONSTEIN. M.— Fractionation of serum into albúmina and alfa, beta and gamma globulins by sodium sulfate. J. Biol. Chem. 176: 983, 1948.
- 38.—KÖIW, E., WALLENIUS, G. et GRONWALL, A.: Utilisations clinique de L'electrphorese sur papier filtre. Comparaison avec L'electrophorose a tube en U selon la methode de Tiselius.— Bull, Ste. Chim. Biol., 33: 1940, 1951.
- 39.—KÖIW, E., and GRONWALL: Staining of Protein-Bound Carbohydrates after electrophoresis of serum on filter paper.— Scand J. Clin. Lab. Invest., 4: 244-246, 1952.
- 40.—KÖNING, P.: Actas e trabalhos do Terceiro Congresso Sud Américano de Chimica, Río Janeiro e Sao Paulo, 2: 334, 1937.
- 41.—KUNKEL, C., and TISELIUS, A.: Electropohoresis of proteins on filter paper, J. Gen, Phy, 135: 89-118, 1951.
- 42.—LATNER, A. L.— A Semiautomatic recording densimeter for use after paper-strip electrophoresis.— J. Lab. and Clin. Med. 43: 157, 1954.
- LEWIS, LENA, A.: Electrophoresis in Physiology.— C. C. Thomas Publ. Illinois U. S. A., 1950.
- 44.—LONGWORTH, L. G.: A modification of the schlieren method for use in electrophoretic analysis.— J. Am. Chem. Soc. 61: 529, 1939.
- 45.—LONGWORTH, L. G., MAC-INNES, D. A.: Electrophoresis of proteins by the Tiselius Method.— Chem, Rev. 24: 271, 1939.
- 46.—MACHEBOEUF, M., REBEYROTTE, P., et Mlle., BRUNIERIE.— Applications aux serums pathologiques, aux urines et aux liquides d'

- ascite (nephose lipoidique, myelome multiple, cirrose de Lacnnec) de la methode de microelectrophorese sur papier.— Bull, Ste, Clin. Biol., 1. 33: 1953, 1951.
- 47.—MADDEN, S. C., and WHIPPLE, G.H.: Plasma Proteins: their source production and utilitation.— Physiol. Rev. 20: 194, 1940.
- 48.—MC DONALD, H. J., URBIN, M., and WILLIANSON, M.: Measurement of ion migration on paper in electric field.— Science, 112: 227, 1950.
- 49.-MERINO, C.: Tesis de Medicina.- Lima Perú, 1937.
- 50.-MICHAELIS, L.: Dietilbarbiturate buffer.- J. Biol. Chem. 87: 33, 1930.
- 51.—MILAN, C.: Plasma proteins levels in normal individuals. J. Lab. and Clin. Med. 33: 285, 1948.
- 52.—MILNE, J.: Serum protein fractionation, A comparison of sodium sulfate precipitation and electrophoresis.— J. Biol. Chem. 169: 595, 1947.
- 53.—MILNOR, S., TALBOT, W., KEEVER, R., MARYL, R.: A photoelectric eardensitometer for continously recording the arterial concentration of T-1824 in the dye dilution method. Circulation Research, 1: 117, 1953.
- 54.—MOENA, A., PAVESI, L.: Ensayos sobre electroforesis en papel.— Terceras Jornadas Chilenas de Química, Concepción, 1953.
- 55.-MORANTE, M.- Tesis de Medicina.- Lima, 1950.
- 56.—MOURA, J. GONCALVES: Electroforese de Proteínas.— Inst. de Biofisica.— Univ. de Brasil, 1951.
- 57.—ONCLEY, J. L., SCATCHARD, G., and BROWN, A.: Physical.— Chemical Characteristies of Certain of the proteins of normal human plasma.— J. Phys Chem, 51: 184, 1947.
- 58.—OOSTERHUIS, H. K.: Studies on Paper Electrophoresis.— J. Lab. and Clin. Med. 44: 280, 1954.
- 59.—PHILPOT.— Direct Photography of ultracentrifuge sedimentation curvas.— Nature, 141: 283, 1938.
- 60.—POLONOVSKI, M., BOULANGER, P., MACHEBOEUF, M. ROCHE, J.: Biochimie Medicale, Masson et Cie, Editeurs.— Paris, 1952.
- 61.—POPPER, H., DE LA HUERGA, J., MURRAY, F.: Correlation between electrophoretic and chemical partition of serum proteins.— Am. J. Clin. Pathol.— 20: 530, 1950.
- 62.—PORTILLO, R., ORTEGA, M., ORTEGA, R.: Electroforesis de sueros humanos, Anales Real Acad. Farm. 4: 327, 1953.
- 63.—RAPOPORT, M., RUBIN, M. J., and CHAFFEE, D.: Fractionation of the serum and plasma proteins by salt precipitation in infants and children.— J. Clin. Invest., 27: 471, 1942.
- 64.—REINER, M., FENICHEL, R., and STERN, K.: Electroforetics studies on the protein distribution in human serum.— Acta Hemat. 3: 202, 1950.
- 65.—RIOS GARATE, C.— Tesis de Medicina.— Lima, 1952.
- 66.—SALAS, A.: Tesis de Medicina.— Lima, 1939.
- 67.—SANTIAGO FLORES, E.: Tesis de Farmacia y Bioquímica.— Lima, 1949.
- 68.—SATOSKAR, R. S., LEWIS, R. A., GAITONDE, B. B.: Electroforetic

- Studies of the plasma proteins in virus Hepatitis.— J. Lab. and Clin. Med. 4: 349, 1954.
- 69.—SCHNEIDER, G., WALLENIUS, G.: Electrophoretic studies on cerebro espinal fluid proteins, Scand.— Lab. and Clin. Invest. 3: 145, 1951.
- 70.—SCHULSTER, G.: Note concernant les possibilités de l'electrophorese sur papier.— Coop. Pharm. Franc. 454: 3, 1954.
- 71.—SEGOVIA, F.: Nuestro aparato para microelectroforesis.— Laboratorio, 105: 205, 1954.
- 72.—SEGOVIA, F.: Fraccionamiento proteico por electroforesis.— Técnica personal.— Laboratorio, 106: 301, 1954.
- SLATTER, R., and KUNKEL, H.: Filter paper electrophoresis with special reference to urinary proteins.— J. Lab. and Clin. Med. 41, 619, 1953.
- SMITH, E. W., and CONLEY, C. L.: Filter paper electrophoresis of human hemoglobins.— Bull. of the John Hopkins Hosp. 93: 94-106, 1953.
- 75.—STERNS, K. G., and REINER, M.: Electrophoresis in Medicine.— Yale J. Biol. Med. 19: 67-99, 1946.
- 76.—VALLE LOPEZ, M.: Simplificación de las técnicas electroforéticas.— Lectura y valoración de las proteínas sobre papel de filtro.— Laboratorio, 101: 401, 1954.
- 77.—VAN OS, G. A.— A simple method of analysing paper strip on electrophoresis of paper filtre.— Biochimie. Biophys.— Acta 9: 11, 1952.
- 78.—TREVORROW, V., KASER, M., and col.: Plasma, albumin, globulin and fibrinogen in healtthy individuals from birth to adult blood J. Lab. and Clin. Med. 27: 4.
- 79.—TISELIUS, A.— Electrophoresis of serum globulin.— Biochem. J. 31: 313, 1937.
- 80.—TISELIUS, A.— A new apparatus for electrophoretic analysis of colloidal mixtura.— Trans, Faraday Soc. 33: 524, 1937.
- 81.—TURBA, F., and ENENKEL, A. J.: Elektrophorese von Protein in filtrier papier.— Naturalwiss. 37: 93, 1950.
- WIELAND, T., WIRTH, L.: Retentions Analyse von Papier elektropherogram Natürlicher Proteingemisch.— Angew. Chem. 62: 473, 1950.
- 83.—WIELANDT, T., FISCHER, F.: Uber Elektrophorese auf Filtrier papier.
 Naturwiss. 35: 29, 1948.
- 84.—WILLIANS, F. G., PICKELS, E. G., DURRUM, E. J.: Improved Hanging strip paper electrophoresis Technique.— Science, 121: 829, 1955.
- 85.—WOLFSON, W. COHN, F. CALVARY, E. ICHIVA, F.: Studies in serum proteins, A rapid procedure for the estimation of Total proteins, Albumin, Total Globulin, Alpha globulin, Beta Globulin, Gamma globulin in 1.0 ml. of serum.— Am. J. Clin. Path, 18: 723, 1948.
- 86.—WUHMANN, F., and WUNDERLY, C.— Las proteínas sanguíneas en el hombre.— Edit. Científico Médica.— Barcelona, 1949.
- 87.—WUNDERLY, C.: La Methode D'electrophorese sur papier et ses limitations.— Exp. Ann., de Bioch. Med. Serie XIV; 173-197, 1952.