



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Estudio electroforético de enfermedades que cursan con disproteinemia

Luís Espinós Tayá



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència **Reconeixement- NoComercial – SenseObraDerivada 4.0. Espanya de Creative Commons.**

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia **Reconocimiento - NoComercial – SinObraDerivada 4.0. España de Creative Commons.**

This doctoral thesis is licensed under the **Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs 4.0. Spain License.**

RF. 755.817

ESTUDIO ELECTROFORETICO DE ENFERMEDADES

QUE CURSAN CON DISPROTEINEMIA

BIBLIOTECA DE LA UNIVERSITAT DE BARCELONA



0700388944

Luis Espinós Tayá

Esta Tesis para el Doctorado ha sido dirigida y alentada por el Prof. Máximo Soriano, a quien mucho debo científicamente, ya desde alumno y sin cuya ayuda y entusiasmo no hubiera sido posible dicho trabajo.

Las electroforesis e inmunolectroforesis han sido practicadas de enfermos de la Clínica B del Prof. Soriano en su laboratorio dirigido por el Dr. Permanyer y sus ayudantes, principalmente el Dr. Corominas y Bonastre.

Han sido practicadas también electroforesis en el servicio de Medicina General del Dr. Viera en el Hospital de San Pablo.

Además, de los enfermos del servicio de Geriatria del Dr. Pañella en el Hospital de Nuestra Señora de la Esperanza, en cuyo servicio he presentado la mayor parte de las comunicaciones sobre electroforesis que se citan en la bibliografía y que han sido el esquema de esta presentación.

Agradezco al Dr. Gras y al Dr. Viñas el haberme proporcionado el suero antihumano.

Agradezco su colaboración, además, a todos los que me han ayudado a confeccionar este trabajo.

I N D I C E

I. TECNICA DE LA ELECTROFORESIS

- Proteinograma en papel
- Lipoidograma
- Glúcidograma
- Electroforesis en acetato de celulosa gelatinizado
- Inmunoforesis
- Inmunolectroforesis en acetato de celulosa

II. PRINCIPALES AFECCIONES QUE CURSAN CON TRANSTORNOS DE LAS PROTEINAS.

Afecciones hepáticas:

- Hepatitis
- Cirrosis hepáticas
- Ictericias

Síndrome nefrótico

- Nefrosis lipoideas
- Amilosis
- Nefritis

- Enfermedades del tramo urinario de tipo inflamatorio

- Pionefrosis (disproteíemia pseudomiélotomosa)

Neumonía

Enfermedades de la piel

- Lupus eritematoso y periarteritis nodosa

Enfermedades endocrinas

- Diabetes
- Addison
- Hipertiroidismo
- Mixedema

Procesos infectivos e inflamatorios

- Infecciones agudas

Enfermedades nerviosas

- Esclerosis múltiple
- Leucoencefalitis esclerosante subaguda

Tifus

Paludismo

Kala-Azar

Enfermedades de la sangre

Leucemia (y sarcomatosis)

Hodking

Tuberculosis

Afecciones del aparato circulatorio

Infarto de miocardio

Endocarditis

Aortitis sífilítica evolutiva

Hipertensiones malignas

Pericarditis constrictiva

Insuficiencia cardíaca

Aterosclerosis

Reumatismo articular agudo

Neoplasia

Enfermedad de Waldeström

Mieloma

Agammaglobulinemia

Quiste hidatídico

I. TECNICA DE LA ELECTROFORESIS

II. PRINCIPALES AFECCIONES QUE
CURSAN CON TRANSTORNO DE
LAS PROTEINAS.

I. TECNICA DE LA ELECTROFORESIS

CONCEPTO

Como su etimología lo indica : "foresis" movimiento y "electro" electricidad, es el movimiento producido por un campo eléctrico sobre determinadas partículas, en nuestro caso, las proteínas.

Del sistema complicadísimo de Tiselius se ha pasado a la electroforesis de papel ideado por Durrum y colaboradores, llamado también microelectroforesis por la pequeña cantidad de suero que es necesario emplear para el análisis. Este sistema comparado con el anterior es de fácil manejo y asequible en todas las clínicas y hospitales, actualmente lo emplean casi todos los analistas.

Durante cerca de tres lustros se ha ido extendiendo extraordinariamente dentro de la práctica de la medicina, siendo un medio rápido para darnos cuenta del estado proteico del organismo humano.

Se coloca, por tanto, el suero a analizar 2 1/100 de cc. en el medio de una banda de papel (se emplea el papel Watman N.1, el papel Schleicher, el Munkel N.20) después de humedecida en solución de veronal, se suspende por sus extremos en dos probetas llenas de solución de veronal y en la que hay los dos electrodos, en una el electrodo positivo y en la otra el negativo, se hace pasar una corriente de un potencial de 100 a 300 voltios durante unas horas, de 5 a 12 horas, según el potencial, durante el paso de la corriente se debe tapar con un fanal para evitar la gran evaporación de la banda de papel que engendraría corrientes electrosmóticas que impedirían la marcha normal de las proteínas hacia el ánodo.

Luego se sacan de la cubeta y se secan a la estufa a 100 grados aproximadamente, luego se practica el revelado, que para las proteínas seña con colorantes específicos, los cuales son principalmente el azul de bromofenol, el verde brillante y el amido Wartz.

INSTRUMENTOS PARA ELECTROFORESIS



PROTEINOGRAMA EN PAPEL

Una vez reveladas las tiras se observa en las proteínas un espectro llamado proteínograma; está formado por una serie de franjas verticales de más o menos grosor e intensidad cromática.

De izquierda a derecha se observa primero las albúminas, que en un suero normal son las más anchas y las de coloración más intensa; luego siguen las alfa-1 globulinas; a continuación se marcan las alfa-2 globulinas; más a la derecha se forman las betaglobulinas, sobre las que en algunas ocasiones se ha podido observar un desdoblamiento; y más a la derecha se forman las gammaglobulinas. El fraccionamiento es debido al distinto tamaño de las globulinas; las de mayor tamaño encuentran más resistencia a desplazarse que las más pequeñas y las gammaglobulinas incluso se desplazan hacia el cátodo, no porque sean de signo contrario que las otras proteínas, sino porque hay una corriente electrosmótica que va del polo positivo al polo negativo, y es más intensa que la fuerza de atracción del polo positivo.

La electroforesis extiende su estudio no solo escuetamente a las proteínas, sino también a sustancias que por sí solas no se separarían por la corriente eléctrica, por no poseer carga, pero que al estar unidas a las proteínas se desplazan en alguna fracción de ellas y que se pueden determinar por algún sistema, como en este caso, la coloración; ocurre diferentemente que las proteínas, pues las fracciones importantes son otras, según el tipo de electroforesis que sea. Por ahora, además de la electroforesis de las proteínas, han tenido importancia la de los lípidos (lipoidogramas) y la de las glocuproteínas.

LIPOIDOGRAMA

Las lipoproteínas se pueden separar del suero sanguíneo haciéndolas precipitar mediante el etanol, cuya constante dieléctrica es tres veces menor que la del agua, disminuyendo con ello la solubilidad de las proteínas. Las proteínas que contienen lípidos son separadas en dos grupos principales.

Las lipoproteínas (separadas por el método anterior) se forman en el hígado y también se pueden estudiar mediante el procedimiento de la electroforesis, ésta tiene importancia debido a que los lípidos no circulan libremente, disueltos en la sangre, sino que son vehiculizados por las proteínas, formando una unión llamada cenapsas.

Las bandas de lipoproteínas se tiñen con un colorante específico de los lípidos, como el Sudán II, Sudán III, Sudán IV, pero el que se emplea corrientemente es el negro Sudán B.

La técnica de obtención del lipoidograma es parecida a la de las proteínas. La primera parte es casi idéntica, se utiliza la misma rectificadora de corriente, veronal sódico, probeta, etc. Se diferencia en la cantidad de suero problema, secado, coloración y fotometría.

Se coloca mayor cantidad de suero, aproximadamente cuatro veces más que en el proteinograma, o sea, 0,8 décimas de cc., y de este modo quedan más visualizadas las fracciones lipídicas que cuando ponemos la misma cantidad que en el proteinograma, si no las alfa-lipoproteínas apenas se visualizan y es más difícil valorarlas.

La operación del secado tiene mucho valor y para que queden bien patentes y no retrocedan las alfa-lipoproteínas, se coloca en posición vertical y a poca temperatura.

Además, se ha de tener cuidado en la manipulación de la tira de papel, ya que la pequeña cantidad de grasa depositada en la yema de los dedos puede impregnar la tira de papel durante la operación de colocación y retirada, quedando coloreada al teñirla.

La técnica de la coloración tiene sus dificultades. Después del revelado, el colorante se desecha, no introduciéndolo nunca otra vez al resto del colorante, porque lo destruiría todo. De esta manera se conserva el colorante restante mucho más tiempo.

Obtenido el lipoidogramase obtienen diversas fracciones. La primera es la de las alfa-lipoproteínas, llamada así porque comparativamente con el proteinograma se desplazan a nivel entre las alfa-globulinas y las albuminas. Son de molécula pequeña y de mayor carga negativa, por tanto son las que se desplazan más hacia el electrodo positivo; luego se encuentran las beta-lipoproteínas, llamadas así por desplazarse a nivel de las beta-globulinas.

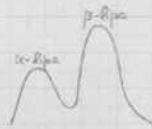
Si damos el valor de 100 a todas las lipoproteínas, a las alfa-lipoproteínas les corresponde el 20 al 25 % y a las beta-lipoproteínas el resto, por tanto son de coloración 4 o 5 veces más intensa. En la aterosclerosis se alteran estas fracciones aumentando relativamente y a veces cuantitativamente las beta-lipoproteínas con respecto a las alfa-lipoproteínas.

Los lipoidogramas para tener valor han de hacerse con la misma técnica siempre y así de este modo podrán relacionarse un lipoidograma con otros y sacar conclusiones.

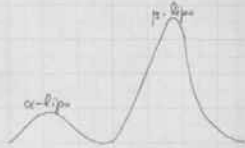
La fracción más lábil es la alfa-lipoproteínas la más desplazable, la de molécula más pequeña y la que primero se influye ante factores físicos tales como el calor, la evaporación, etc.

La utilidad del lipoidograma es importante en geriatría, pues en la arteriosclerosis, la rectificación hacia la normalidad del factor aterogénico elimina una de sus causas más importantes de la arteriosclerosis.

C.F.
beta/alfa=74/26=2,7



F.N.
beta/alfa=81/19=4,3



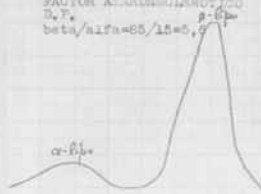
R.C.
beta/alfa=3,7
5-III-60



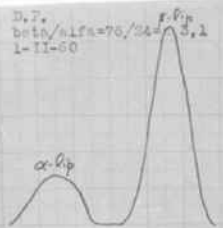
R.C.
beta/alfa=71/19=3,7
21-I-60



FACTOR ATHEROSCLEROTICO
D.T.
beta/alfa=65/15=4,3



D.T.
beta/alfa=70/24=2,9
1-II-60

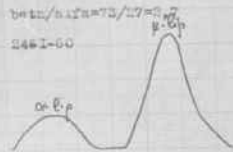


ARTERIO-SCLEROSIS
beta/alfa=72/27=2,7
15-XII-59



ARTERIO-SCLEROSIS

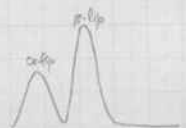
F.N.
beta/alfa=73/17=4,3
24-I-60



beta/alfa=72/12=6
20-VII-59



beta/alfa=61/39=1,6
21-VIII-59



C.F.
beta/alfa=62/40=1,6

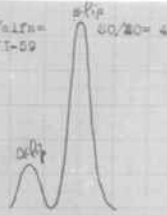


J.M. FACTOR ATROSCLEROTICO

beta/alfa = 09/11 = 0,8
16-VIII-59



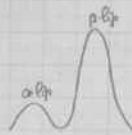
J.M. beta/alfa = 00/20 = 0
26-VII-59



ANG CONTRA NATURA POR HEMIFALIA RENAL INTERMITENTE. DIABETES. beta/alfa = 00/20 = 0
21-VII-59



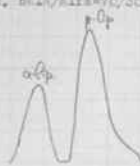
beta/alfa = 00/10 = 0



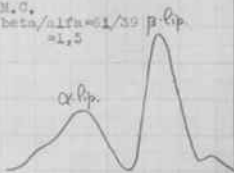
beta/alfa = 59/41 = 1,4



ATROSCLEROSIS CORONAL M.C. beta/alfa = 70/30 = 2,3



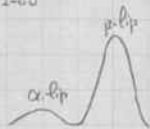
ATROSCLEROSIS CORONAL M.C. beta/alfa = 1/39 = 0,025
= 1,5



SINUSIS ROQUITUS beta/alfa = 06/34



FACTOR ATROSCLEROTICO beta/alfa = 04/16 = 0,25
M.C. 21-I-60



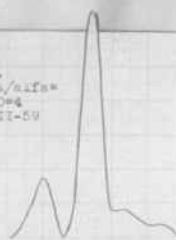
SINUSIS M.H. beta/alfa = 77/23 = 3,3



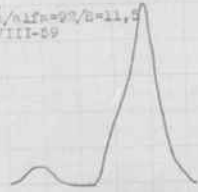
FACTOR ATROSCLEROTICO P.J. J.M. 21-I-60 beta/alfa = 09/11 = 0,8



H.F. beta/alfa = 20/20 = 1
26-VII-59



H.F.
beta/alfa=92/8=11,5
17-VIII-59



H.O.
beta/alfa=72/21=3,4
20-V-60



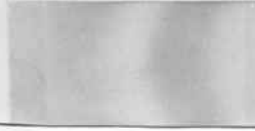
H.O.
beta/alfa=21/10=2,1
23-I-60



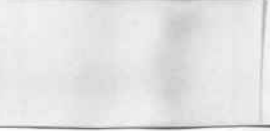
H.O.
beta/alfa=77/23=3,3
23-I-60



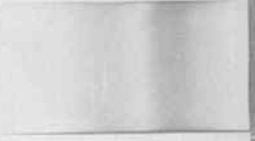
H.O.
bet /alfa=73/39=1,9
21-III-59



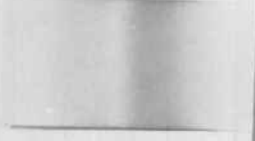
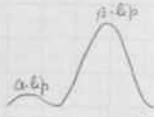
H.H.
beta/alfa=64/36=1,7



G.P.
beta/alfa=76/23=3,3
22-I-60



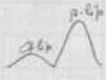
ANO CONTRA SANGRE
PLAZA DEL AL. INTERCOMUN.
DIABETES
F.F.
29-I-60



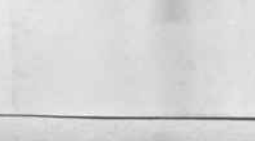
F.O.
beta/alfa=57/43=1,3



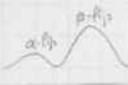
beta/alfa=75/23=3,3
9-VII-61



NEFROSIS LIPOTIC
beta/alfa=73/7=10,4



beta/alfa=70/22=3,2



GLUCIDOGRAMA

Desde 1897 se conocía la existencia en el suero de las glucoproteínas, descubiertas por Zanetti.

Los mucopolisacáridos son aquellos polisacáridos que contienen como uno de sus componentes la hexosamina.

La unión de mucopolisacáridos con una proteína se llama mucoides o mucoproteína, si su contenido en hexosamina es superior al 4%, y glicoproteínas si este contenido es inferior al 4%. Esta separación no es absoluta. Los primeros poseen las características de solubilidad atribuidas clásicamente a los mucoides y que quedan en solución después de precipitación por el alcohol. Muchas de las glucoproteínas se encuentran incluidas en los grupos de proteínas clásicamente conocidos como albúminas y globulinas.

Actualmente se denominan glucoproteínas a todas las proteínas del suero con contenido en hidratos de carbono; por tanto, son azúcares ligados a las proteínas.

El estudio de las glucoproteínas ha tenido gran importancia a resultas de los trabajos de M. Polonouski y M.F. Jayle (1939) que han demostrado el paralelismo entre el estado infeccioso y la presencia en la sangre de una glucoproteína bien definida, la haptoglobina.

Técnica de obtención del glucidograma

La técnica de obtención del glucidograma es muy parecida a la del proteinograma y lípidograma. Se utiliza la misma probeta, tipo horizontal de Hasmann y Höning, la misma solución tampón y la misma rectificadora.

Difiere de las anteriores en cuanto al tipo de colorante y sistema de coloración; las citadas técnicas del proteinograma y lípidograma utilizan simplemente un colorante específico, en cambio el glucidograma para teñirse necesita una preparación previa a la coloración.

Ha aparecido un nuevo método de estudio de las glucoproteínas (además del P.A.S.) mediante la difenilamina.

Al aplicar la reacción de la difenilamina de Dirsche al estudio de los extractos de amígdalas de buey, para investigar en los mismos la presencia de ácidos desoxirribonucleicos, llegaron a la conclusión de que el color obtenido con la misma dependía de unas sustancias con las características de un mucopolisacárido de un punto isoeléctrico extraordinariamente bajo. Aplicando esta reacción al suero comprobaron que los valores de mucopolisacáridos obtenidos durante la misma aumentan significativamente en las fases de actividad de algunos procesos (Reynaud).

Reacción de la difenilamina de Drische.- El soporte inerte queda incoloro y la reacción puede dar lugar a una interpretación cualitativa de las bandas coloreadas en rojo violeta.

Obtención.- Hay cuatro fases : la preparación de la banda, la oxidación periódica de las glucoproteínas, la coloración propiamente dicha, la interpretación.

Primero.- Preparación de la banda. Después de practicada la electroforesis, se fija por inmersión durante cinco minutos en alcohol etílico a 96°.

Segundo.- Oxidación periódica. Se sumerge la banda durante diez minutos en una solución acuosa de ac. periódico-al 0,5%, luego se lava dos veces en agua destilada, prolongarla al fin algunos minutos en acetona anhidra; después, retirada del baño se seca en pocos minutos.

Tercero.- Coloración propiamente dicha. Introducir la banda en una solución hirviente de difenilamina al 1% en ácido acético puro, mantenerlo allí durante cinco minutos.

La solución acética de difenilamina debe ser desechada cuando toma color marrón. El ácido acético es recuperable por destilación.

Sumergir la banda durante unos minutos en formol de comercio. Lavar rápidamente al aguacorriente y secar de pre-

ferencia a la oscuridad; muestra entonces unas zonas netamente coloreadas en rosa sobre fondo blanco.

Cuarto.- Fotocolorimetría.

Estructura del glucidograma

Está formado en los sujetos normales por bandas rojo púrpura, resaltando sobre el fondo blanco o rosa muy claro del resto del papel de filtro. El número de bandas es de cinco y se las denomina albúminas, alfa 1, alfa 2, beta y gamma glucoproteínas, según su posición en relación a las fracciones del proteinograma.

La fracción albúmina parece constituida por la emigración de mucopolisacáridos muy ácidos; contendría también los mucopolisacáridos neutros de la tiroestimulina hipofisaria.

La fracción alfa 1 existe siempre. Se presenta bajo la forma de una banda de cinco mm. de larga.

La alfa 2 es la más importante del glucidograma por la intensidad de su coloración. Contiene la haptoglobina.

La alfa 2 es una banda de 8 mm. de largo. En esta fracción emigrarán esencialmente unos mucopolisacáridos neutros, accesoriamente algunos mucopolisacáridos ácidos.

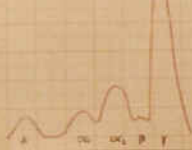
Es a veces difícil de delimitar la beta y la alfa 2; no se precisadonde termina la alfa 2 y donde comienza la beta: las dos bandas tienen la misma intensidad de color y son igual de largas.

En la fracción beta se encuentran sobre todo los glucidos unidos a los lípidos.

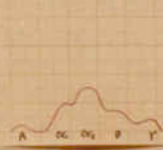
La fracción gamma, que se sitúa seguidamente de la fracción beta, es más larga y un poco menos teñida que las bandas alfa y beta; ella puede ocupar hasta quince mm. de longitud. Corresponde a unos radicales glucidos que toman parte de la molécula protídica de anticuerpos.

GLUCOCORAZAN

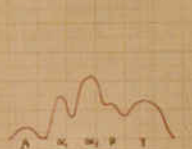
SALUDABLE



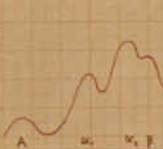
SINTOMÁTICA CRÓNICA



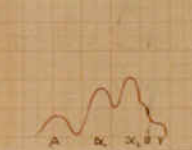
CIRROSIS HEPÁTICA



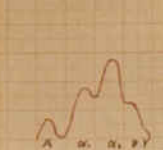
TIROIDEA



FOCO ALTERADO



FOCO ALTERADO



Con el fotocolorímetro se obtiene una curva; los accidentes que representan las fracciones están menos separados que en proteinograma.

Los accidentes alfa 2 y beta tienen más o menos la misma importancia, sensiblemente la misma altura y la misma longitud. El alfa 1 tiene la misma longitud que las dos precedentes, pero su altura es alrededor de la mitad.

El accidente gamma es un poco menos alto que los accidentes alfa 2 y beta.

A=20 a 30 mm.²" Alfa 1 = 20 a 30 mm.²" Alfa 2 = 40 a 80 mm.²"
Beta = 40 a 80 mm. 2" Gamma a 30 mm.2" Superficie total = 150

LA ELECTROFORESIS EN ACETATO DE CELULOSA GELATINIZADO

La electroforesis que se ha utilizado más hasta ahora ha sido la del papel de filtro y aunque es muy asequible, ha sido ya superada en técnica por la utilización de otro soporte, el de celulosa.

Además de la electroforesis en soporte de papel, que la forman el proteinograma, lipoidograma, glucidograma, esto mismo se puede obtener con otros soportes más modernos que tienen un resultado técnico superior, y estos soportes lo constituyen la celulosa, el almidón, el agar y, sobre todo, lo más reciente de la electroforesis ha sido la combinación de la electroforesis en soporte de agar y las reacciones de inmunidad del suero, lo que constituye todavía parte de la investigación y es la inmunoforesis.

Se puede decir que estamos en una época de transición de la electroforesis en papel a la electroforesis con soporte de acetato de celulosa gelatinizado.

El acetato de celulosa, a pesar de ser más costoso, tiene una serie de indudables ventajas, que son : 1° la rapidez con que se puede obtener un ferograma, pues así como en la de papel se tarda alrededor de ocho horas, se puede hacer una buena separación con dos horas con una rectificadora igual y con el mismo voltaje. 2° Con algo más de tiempo, se pueden obtener un mayor número de franjas, se obtiene un desdoblamiento de las alfa 2-globulinas y un desdoblamiento de las betaglobulinas y las prealbúminas (en ocasiones). 3° La estructuración de las bandas se realiza con más perfección, quedan más homogéneas y el desplazamiento es más uniforme. 4° La tinción de las proteínas es más rápida. 5° Las tiras quedan completamente transparentes, resaltando más las bandas y luego se leen con más facilidad en el densitómetro. 6° Se puede hacer directamente con la tira una diapositiva para proyectar.

Técnica en acetato de celulosa

El paso de la corriente es igual, los aparatos eléctricos

cos son iguales y la cubeta se puede adaptar a este procedimiento sin grandes cambios.

Se coloca suero problema en mucha menor cantidad, lo que cabe en el borde menor del porta, que son 3 milésimas de cc. y se coloca en la tira en la cara menos brillante, que es la que va en la parte superior de la electroforesis y es la que por tanto se deposita el suero.

Antes de utilizar la tira de acetato de celulosa gelatinizada se coloca durante diez minutos en solución tampón, que es la misma que se utiliza en las cubetas.

Se coloca la tira suspendida entre dos vasijas donde se contiene veronal, mojándose en él y en cada una de las vasijas hay un electrodo, positivo o ánodo el uno y cátodo el otro; se hace pasar la corriente del rectificador durante 2 o 3 horas, después de lo cual, sin secado previo, se introduce en el colorante de amidoschwartz o rojo Ponceau S. y luego se pasa al cabo de 3 minutos al baño de colorante hasta que el fondo de la tira está completamente decolorado. Su excesiva permanencia en él no llega a decolorar las franjas, como ocurre en las tiras de papel.

Para obtener la transparencia se colocan a la estufa, sobre un vidrio, y no se separan de él hasta que no esté completamente frío.

Con el colorante de Amidoschwartz se obtienen unas franjas de color azul y con el rojo Ponceau S. se obtienen de un color rojo.

LA INMUNOFORESIS

La inmunoforesis pone en combinación la electroforesis en gelatina con las reacciones de la inmunidad. Primero se realiza la electroforesis de un determinado suero en un soporte de gelatina y luego se practica una reacción entre las proteínas, que van difundiendo radialmente y un suero preparado antihumano.

El mérito corresponde a Grabar y Williams en 1953, por haber resuelto el problema, habiendo utilizado el mismo soporte de gelatina de gelosa para realizar las dos fases de los análisis: la electroforesis y la fase de inmunidad.

Scheidegger trasladó la técnica, en micrométodo, sobre láminas de vidrio para transformar el análisis inmunolectroforético en método de rutina.

La técnica de la inmunoforesis en su principio es simple. La mezcla antigénica de proteínas a analizar es colocada en un reservorio circular practicado en una cara de la gelatina tamponada que reposa sobre un cristal. Se conexiona con un puente con las cubas donde se encuentran los electrodos. Bajo el efecto de un campo eléctrico, las diferentes proteínas del suero se separan. La corriente de electroósmosis es muy intensa en medio de gelosa, lleva las partes más lentas hacia el cátodo, así al fin del fraccionamiento, el reservorio de salida ocupa practicamente el medio del trazado electroforético.

La fase immunoquímica consiste en cruzar en el gel un largo depósito paralelo al trazado proteico (este depósito no ha sido hecho antes de terminar la emigración electroforética para no influir en la homogeneidad del campo eléctrico) y a cargar este depósito de un inmunosuero rico en precipitinas antihumanas.

Durante 24 horas o más, las proteínas van difundiendo al seno de la gelosa radialmente hacia los antígenos separados por electroforesis y paralelamente al depósito de los anticuerpos.

El encuentro de reactivos homólogos produce precipitados específicos que toman la forma de líneas arqueadas visibles gracias a la transparencia de la gelatina de gelsa. Cada una de estas líneas de precipitación, corresponde a una proteína diferente y representa el lugar geométrico de todos los puntos donde esta proteína y su anticuerpo se han encontrado en proporciones óptimas.

En estas condiciones los diferentes constituyentes - proteínicos pueden ser puestos en evidencia, ya que forman arcos independientes por efecto de la especificidad de la reacción de precipitación.

Así el número de arcos independientes observados indica el número de constituyentes presentes a lo mínimo en la mezcla, pues es difícil de afirmar que el inmunosuero utilizado encierra unos anticuerpos correspondientes a la totalidad de los antígenos realmente presentes.

Esta restricción es el principal inconveniente de los métodos inmunoquímicos.

Las alturas de las curvas de precipitación varían según la especie del animal utilizado. Con el antisuero de conejo se obtiene más curva.

Variedades de antisueros constituyen los reactivos necesarios a la revelación inmunológica : unos inmunosueros antisueros humanos normal (anti-SHN); unos inmunosueros dirigidos contra una proteína particular (seroalbúmina, siderofilina, gamma-globulinas); unos inmunosueros antisueros humanos normal específicamente absorbidos, revelando todas las líneas de precipitación, salvo las de aquel antígeno que previamente está en el antisuero en cantidades suficientes.

La técnica inmunolectroforética perfectamente codificada permite distinguir actualmente en el suero normal, al menos, 25 constituyentes distintos, y un número alrededor de 30 en ciertos sueros patológicos. Gracias a la introducción de la coloración específica y a ciertos artificios inmunológicos, una quincena de líneas de precipitación pueden actualmente ser relacionadas con certidumbre a unas proteínas cono

cidas.

- | | |
|--------|--|
| | 1. La albúmina |
| alfa 1 | (2. El orosomucoide (o seromucoide ácido)
(3. La alfa 1 glicoproteína (alfa 1 A de
(Burtin)
(4. La alfa 1 lipoproteína |
| alfa 2 | (5. La haptoglobulina
(6. La ceruloplasmina
(7. La alfa 2 macroglobulina de Schultze
(8. Las beta lipoproteínas |
| beta 1 | (9. Las siderofilinas (transferrina)
(10. La beta 1 A globulina
(11. Otra globulina beta 1 |
| beta 2 | 12. La beta 2 A globulina de Heremans
13. La beta 2 B |
| gamma | (14. La beta 2 M (o gamma 1 M) en sueros
(macroglobulinémicos
(15. Línea de globulinas gamma |

Del ánodo alcátodo se pueden separar en el suero normal los principales constituyentes proteicos siguientes:

La seroalbúmina, que es la más fuerte línea de precipitación específica, la primera en aparecer, constituye un punto de referencia. Ella se extiende largamente hacia el grupo de las alfa globulinas mezclándose en parte.

Las alfa 1-globulinas comprenden esencialmente las glicoproteínas alfa 1, que es el constituyente principal del grupo alfa 1 de las electroforesis clásicas, y el alfa 1-lipoproteínas, o lipoproteínas rápidas, que tienen prácticamente la misma movilidad media que las albúminas. Ella corresponde a las glicoproteínas densas.

Se puede encuadrar a este grupo la orosomucoide o seromucoide alfa 1 glicoproteína ácida de movilidad variable, que según las condiciones técnicas puede preceder a la albúmina, seguirle o coincidir con ella.

Las alfa 2-globulinas forman un grupo complejo difícil de separar, en el cual las líneas de precipitación se entrecruzan. Se puede contar hasta diez, utilizando los mejores inmunosueros.

Entre las principales alfa 2-globulinas, tres presentan trazos de precipitación casi paralelos, los unos a los otros, generalmente reconocible su posición por relación al depósito de anticuerpos.

La haptoglobulina, una glucoproteína, forma un arco bastante fino pero bien dibujado, generalmente la más próxima del depósito de anticuerpos. Existe bajo diferentes variedades de la misma especificidad antigénica, pero de movilidad ligeramente diferente. Forma con la hemoglobina unos complejos lentos dotados de propiedades peroxidásicas.

La ceruloplasmina es una euproteína que la actividad de polyphenol-oxidasa permite la identificación. Está disminuida en la enfermedad de Wilson.

El alfa 2 macroglobulina glicoproteína de peso molecular elevado, forma un trazado de precipitación bastante difuso.

En el grupo alfa 2 se pueden aun citar las lipoproteínas lentas llamadas beta lipoproteínas, que corresponden a las lipoproteínas ligeras y cuya movilidad variable parece función de su riqueza en grupos ácidos.

Entre tres beta 1 globulinas, relativamente importantes, la más continua es la siderofilina o transferrina, que transporta el hierro sérico y constituye una fracción importante de las proteínas totales (3 al 5 %). Ella forma un arco curvilíneo extendido, próximo del depósito del antisuero, cuya intensidad no se aprecia cuantitativamente, pues este arco tiende a redisolverse en el exceso de antígeno casi siempre presente.

El grupo de las beta 2 globulinas electroforéticamente definidas encierra unas fracciones diferentes que interfieren con las de las gamma globulinas rápidas, y varias de ellas se encuentran bajo formas impuras en las preparaciones de gamma globulinas. Así su estudio tiene que ser realizado a partir de inmunosueros absorbidos de gamma globulinas.

La beta 2A globulina, la más antiguamente conocida y la más importante de las beta 2 globulinas, ha estado descubierta gracias a la inmunoelectroforesis, por Heremans en el

suero normal. Su línea de precipitación, casi rectilínea, en parte fusionada por la de las gamma globulinas, es a menudo - solo visible en la zona de la beta 2. Esta proteína está actualmente clasificada en el grupo de las inmunoglobulinas que constituye el soporte de la casi totalidad de anticuerpos adquiridos circulantes del organismo.

La beta 2M-globulina, gracias a la inmunoelectroforesis, ha sido identificada a la gamma 1-globulina de peso molecular elevado, aislada por ultracentrifugación del suero normal. Ella forma un débil trazado de precipitación; su extremidad anónica parte del reservorio del antígeno y se extiende por toda la zona B. Esta proteína es con el alfa 2 globulina la principal globulina pesada del suero, pues su peso molecular es próximo al de un millón y su constante de sedimentación de 19-20 S.

Los compuestos sulfhidrilos (cisteína, mercaptoethanol) escinden esta macromolécula en unidades más pequeñas de peso molecular 160.000, comparable a aquella de las gamma globulinas que parecen conservar las propiedades inmunoquímicas del polímero.

Las gamma globulinas son todas las moléculas de peso molecular vecino de 160.000, pobres en glúcidos y cuyo papel biológico es ser el soporte de la mayor parte de anticuerpos.

Al principio, el término de gamma globulina ha sido atribuído por Tiselius a las proteínas de mas pequeña movilidad, formando un tipo netamente separado de los constituyentes más rápidos.

Mientras tanto, el trazado inmunoelectroforético, lejos de revelar una semblanza homogénea, muestra, al contrario, una muy larga línea de precipitación, que atraviesa no solamente la zona de las gamma globulinas, sino también la zona beta, para alcanzar la de las alfa 2-globulinas. Las proteínas que forman esta línea, muy heterogéneas en cuanto a movilidad electroforética, parecen poseer una estructura antigénica análoga.

La interpretación de un diagrama inmunoelectroforético posee problemas difíciles, no solamente para reconocer las

líneas de precipitación, sino también para identificar los antígenos correspondientes y conocer su significación biológica. Los métodos de las coloraciones específicas aportan felizmente su apoyo. El negro Sudán revela la naturaleza lípidoproteica - del antígeno y el empleo de un inmunosuero específico confirma la identificación de las proteínas rápidas.

La zona localizada entre las beta proteínas y las gamma globulinas en la electroforesis convencional, se llama gamma 1 en América y beta 2 en Europa.

Las gamma globulinas, a pesar de su multiplicidad, poseen caracteres antigénicos comunes que pese a la gran diferencia de movilidad de los diversos constituyentes, permiten a un suero inmune revelar, bajo la forma de una línea continua, las múltiples gamma globulinas. La inmunolectroforesis permite separar claramente las gamma globulinas y las líneas de precipitación de las beta 2-globulinas. Una, la beta 2A-globulinas es una constituyente de estructura y de peso molecular próximos a los de las gamma globulinas. En inmunolectroforesis, la estructura antigénica de este constituyente lo diferencia de las gamma globulinas, pero posee una autonomía bioquímica, como lo atestigua su mayor riqueza en glúcidos, así como sus - reacciones de precipitación; de esta manera, ha podido ser - aislado, como ya se ha citado, por Heremans. Se les atribuye, como a las gamma globulinas, ciertas funciones de anticuerpo. La globulina beta 2B bien individualizada de la precedente mediante inmunolectroforesis, tiene una estructura no conocida. Solo se sabe que forma parte del constituyente globulínico ligero. Por el contrario, la globulina beta 2M (o gamma 1M) corresponde a la fracción inmunológicamente activa del constituyente pesado del suero; solo existen indicios en el suero normal. Los estudios que se refieren a ella consisten especialmente en preparaciones procedentes de sueros macroglobulinémicos.

Algunas gamma globulinas tienen peso doble de las demás, de peso molecular 160.000, quizá debido a un fenómeno de dimerización que es reversible.

La globulina mielomatosa que tiene un contenido elevado de glúcidos, es una anomalía de su estructura molecular.

Heremans agrupa bajo el nombre de inmunoglobulinas a las tres globulinas: gamma, beta 2A y beta 2M (o gamma M de Kunkel).

En la inmunoforesis se emplean sueros diferentemente absorbidos, además de otros procedimientos. Actualmente las gamma-globulinas y beta 2-globulinas son bastante bien conocidas. Por el contrario, las beta 1 no lo son más que aproximadamente, y las alfa 1 y las alfa 2 globulinas, a decir verdad, incompletamente.

Para permitir identificar entre los numerosos arcos de precipitación un trazado inmunolectroforético, aquel que corresponde a una proteína determinada, varios métodos han sido utilizados.

La simple comparación de las movilidades permite la identificación de un antígeno (X).

El método de la coloración específica aporta felizmente su apoyo. El negro Sudán revela la naturaleza glicoproteica del antígeno.

En el caso de una paraproteína es necesario recurrir a unos métodos inmunológicos.

Los métodos directos combinan las ventajas de la inmunolectroforesis con aquellos de la doble difusión en medio gelificado de Ouchterlony. Si dos compuestos son idénticos - desde el punto de vista antigénico, sus líneas de precipitación fusionan en una sola línea inflexible; si ellas se cruzan sin influenciarse las dos substancias, son antigénicamente diferentes.

La intervención de un antígeno aislado y puro en el análisis inmunolectroforético, puede operar en diversas formas.

La electroforesis del suero humano normal se puede colocar entre dos depósitos; en el superior será llenado con el antígeno desconocido X, en este caso por ejemplo las gamma globulinas, y el otro depósito con un antisuero polivalente.



La difusión del antígeno X produce una larga línea de precipitación que atraviesa toda la preparación y viene a empalmar al arco de la precipitación formado por el antígeno X de la mezcla, es decir, en éste a las gamma globulinas.

El método de los goteros interrumpidos es aplicable cuando no se dispone de antígeno X al estado de pureza. El arco X viene a fusionarse, gracias a la interrupción del depósito central, con la línea de precipitación de la beta 2 A globulina fisiológica y no de una paraproteína.

Los métodos indirectos consisten en hacer emigrar una mezcla antigénica entre dos depósitos en que el uno se llena con un antisuero polivalente y el otro con un antisuero capaz de revelar todos los constituyentes de la mezcla, salvo el antígeno X estudiado.

Así la saturación por el antígeno X de un inmunosuero antihumano ha hecho desaparecer el arco correspondiente a este antígeno X del trazado del suero humano normal, es decir, el arco de las gamma globulinas.

Dos métodos combinados pueden ponerse en marcha : La saturación específica es realizada con un gran exceso de antígeno X, lo que tiene por doble efecto producir la desaparición del arco correspondiente al antígeno X (absorción) y la aparición de la línea de precipitación continua debida a la presencia de exceso de antígeno en el gotero conteniendo el inmunosuero absorbido. Esta línea viene a empalmar al arco correspondiente del suero humano normal como en el método directo.

Inyectando al animal el antígeno X, se obtiene un inmunosuero anti-X capaz, en principio, de revelar únicamente el arco correspondiente al antígeno inyectado.

En la práctica, los antígenos de que se dispone no son jamás rigurosamente puros y el inmunosuero obtenido revela igualmente unas impurezas, especialmente si los antígenos son poco importantes.

En ciertas afecciones, presentando la inmunoelectroforesis unas anomalías no específicas, las imágenes obtenidas pueden, no obstante, completar utilmente las dadas por la electroforesis simple (como testimonio, dos ejemplos siguientes escogidos respectivamente en el dominio de las enfermedades inflamatorias agudas y en aquel de las afecciones hepáticas crónicas : El caso de poliartritis crónica evolutiva - que presenta a la electroforesis sobre papel una elevación - de las alfa 2-globulinas a 15 % muestra para estudio inmunoelectroforético una gran densidad de las líneas de precipitación en la zona alfa, con aumento característico de la haptoglobina).

Hay dos dominios de la patología donde el análisis inmunoelectroforético aporta una característica de especificidad : las paraproteínas y los síndromes de carencia de anticuerpos.

El estudio de las paraproteínas ha servido para el desmembramiento del tipo de las gammaglobulinas de Tiselius y el descubrimiento en el suero normal de las globulinas beta 2A y beta 2M. Estas son, a menudo, agrupadas bajo la denominación de inmunoglobulinas o componentes del sistema gamma, por su estructura inmunológica en parte idéntica, de sus caracteres de anticuerpos y de sus modificaciones a menudo paralelas.

A cada una de ellas corresponde una afección, donde este componente es producido en cantidad considerable y con unas anomalías cualitativas de su constitución química y antigénica, definiendo una paraproteína : a las globulinas gamma y beta 2A corresponde a los mielomas, a la beta 2M-globulina corresponde la enfermedad de Waldenström.

Si el análisis inmunoelectroforético ha renovado el estudio de las paraproteínas en aquella de los síndromes de carencia de anticuerpos, ella se muestra insustituible, puesto que ella sola hace posible la revelación.

Ella ha sido la primera en demostrar que en las agammaglobulinemias clásicas, que son casi siempre unas grandes hipogammaglobulinemias, la reducción o la ausencia de gama-globulinas se acompaña de una disminución, al menos también importante, de las otras globulinas del sistema gamma : la beta 2A

y la beta 2M globulina.

Luego, gracias a los trabajos de Scheidegger, en otros estados de carencia de anticuerpos, ha sido descubierto, asociando un déficit aislado en beta 2A y beta 2M-globulinas, una tasa normal de gamma globulinas.

En fin, las adquisiciones de la inmunolectroforesis entrañan una revisión importante de los conceptos sobre la superposición de los estados infecciosos por déficit inmunitario y de los estados hipo o agammaglobulinémicos. Se conoce en efecto algunos ejemplos donde la reducción considerable de las globulinas del sistema gamma no parece disminuir la resistencia a las infecciones, y a la inversa, casos donde los síndromes de insuficiencia inmunitaria coinciden con unas tasas normales o subnormales de gamma globulinas.

Las posibilidades ofrecidas por un método que no tiene aun diez años de edad, aparecen considerables. Su desarrollo está ligado a la rapidez del progreso que debe mejorar el conocimiento de ciertas proteínas del suero y a la extensión de las investigaciones inmunolectroforéticas en patología.

La identificación de nuevos antígenos y el descubrimiento definitivo de su origen, la caracterización directa de ciertas acciones enzimáticas u hormonales sobre los diagramas parecen los primeros objetivos a esperar para llegar a la interpretación de los exámenes inmunolectroforéticos de más vastos medios.

Pocas afecciones han sido hasta aquí exploradas por esta vía para poder aportar en patología unos resultados decisivos, pero la aplicación de nuevas técnicas de investigación, como el marcaje de las globulinas con iodo radiactivo, lo mismo que la extensión de enseñanzas, como la presencia de proteínas del tipo Bence-Jones en unos sueros normales, deben ayudar a mejor conocer ciertas enfermedades para permitir mejor combatir las.

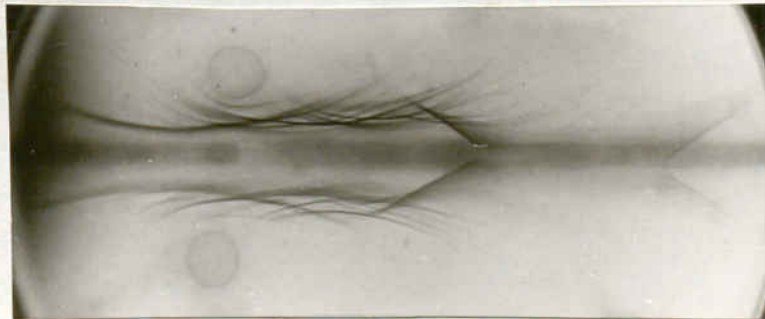
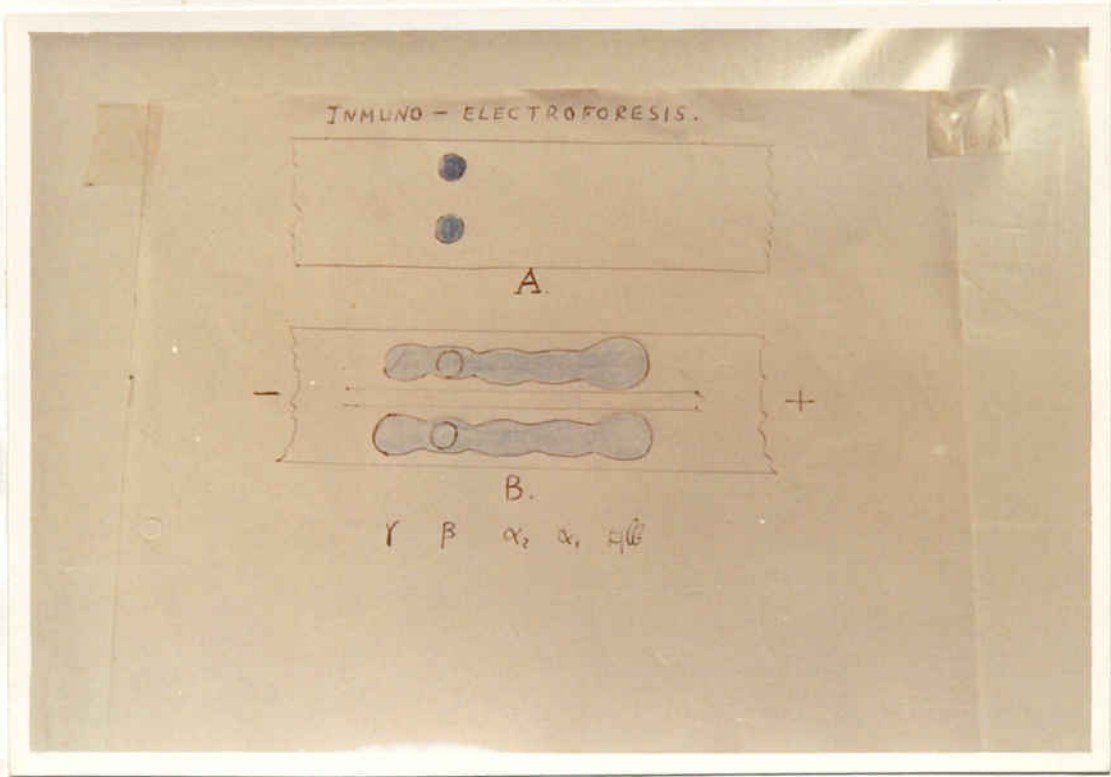
LA INMUNOELECTROFORESIS EN ACETATO DE CELULOSA

La técnica de la inmunolectroforesis en acetato de celulosa gelatinizada es parecida a la del bloque de agar-agar, pero en tamaño reducido, de tal manera que las precipitaciones del antígeno con el anticuerpo del inmunosuero antihumano, en este caso de conejo, no se ven a simple vista y es necesario colorearlo con amidoschwartz, previo lavado y secado con papel de filtro para eliminar las proteínas que no se han precipitado pero que si no se eliminan dificultan ver los arcos de precipitación.

Se puede utilizar el tamaño de una tira de acetato de celulosa gelatinizada de 4 cm. de ancho por 17 cm. de largo. Sin hacer un pozo se puede colocar un suero a analizar directamente y poco a poco queda absorbido, depositándolo en la mitad de la tira y en número de dos para poder comparar con un suero patrón. En medio de la colocación de la muestra a analizar y el suero testigo, una vez realizada la electroforesis, se coloca el suero antihumano, sin hacer un surco, y seguidamente se coloca en una cámara húmeda. Pasadas 24 horas, se empiezan a formar unas curvas de precipitación.

En esta inmunolectroforesis en acetato de celulosa se realiza : 1° La electroforesis; 2° en este mismo medio se lleva a cabo la difusión; y 3° las reacciones de caracterización, que en este caso es la coloración con el amidoschwartz. El acetato de celulosa al comienzo del análisis tal como se expende es opaco, pero mediante una reacción en la que interviene la acetona alcohol, el acético, el metanol disuelto en agua destilada, se logra la transparencia total de la tira, pudiéndose observar las curvas incluso por proyección.

La colocación de las muestras como ya se ha dicho, se realiza en el centro de la tira y en forma de gota, llevándola al lugar fijado por medio de la pipeta, depositando de una a tres 1/1000 de cc. y el suero antihumano se coloca por el borde de un vidrio rectangular en dirección longitudinal paralela a la dirección de la propagación de la electroforesis y en medio de los ferogramas y a distancias equidistantes, en cantidad de 12 a 24 1/1000 de cc.



Las reacciones de precipitación son muy específicas, se obtienen gran cantidad de curvas.

Las curvas de precipitación se obtienen cuando los anticuerpos y el antígeno se encuentran en proporciones adecuadas, pues según la concentración pueden redisolverse los precipitados que constituyen los arcos, desapareciendo completamente. Para buscar la concentración óptima para producirse los precipitados, se efectúa variando la cantidad tanto de anticuerpos como de antígenos en diversas experiencias, modificando también la distancia entre el depósito del suero de enfermo con el lugar de depósito del inmunosuero.

Por el exceso de alguno de los dos reactivos se pueden separar las curvas por el centro o por el extremo (las curvas paralelas son de antígenos diferentes) (la primera curva en aparecer es la de las alfa 2 globulinas, luego la de las beta globulinas y gamma globulinas; la albúmina se aprecia su presencia ya al precipitarse la primera curva).

Dificultades de la inmunolectroforesis

Una vez practicada la electroforesis del acetato de celulosa y de haber colocado el suero antihumano, se espera 24 o 48 horas para que se realicen las precipitaciones específicas, colocando las tiras en una cámara húmeda; a medida que pasan las horas y se van revelando tiras como control, se observa que retroceden las proteínas y se vuelven a juntar hasta incluso más de la mitad de la distancia máxima que había alcanzado el proteinograma después de haber pasado la corriente. El motivo de este fenómeno es seguramente el mantener los extremos de la tira sumergidos en la vasija y al secarse algo la tira, a pesar de la cámara húmeda, provoca corrientes líquidas hacia la tira por los dos extremos, tendiendo a juntarse las proteínas. Por tanto, este fenómeno técnico se subsanará evitando el contacto con el elemento líquido de los extremos de la tira; de esta manera, se corta la corriente líquida hacia la tira y las proteínas continúan desplazadas tal como las dejó el desplazamiento electroforético.

La desecación producida es poca para alterar la tira, muy sensible a la deshidratación, por la cual se resquebraja

por pérdida de la resistencia. Las tiras en la cámara húmeda se conservan bien durante los dos días de la inmunoforesis. Además de la cantidad de suero que se coloca en la tira, tiene importancia la distancia en que se coloca el suero del centro y del borde lateral.

La colocación del suero de conejo puede ser de las siguientes maneras : 1° Se coloca la cantidad de suero necesaria en el borde de un porta y se deposita en el lugar ya citado, entre las dos electroforesis simultáneas en una misma tira y, por tanto, en sentido longitudinal, y teniendo en cuenta que en el acetato de celulosa, una vez practicada la electroforesis, el lugar del depósito del suero, el cual queda marcado en la tira, se encuentra entre las gamma globulinas y las beta globulinas; en la mayoría de los casos el depósito del suero antihumano, de conejo o del animal que se haya inmunizado, se colocará bastante más hacia el polo positivo, o sea, más hacia las proteínas.

El cambio de polarización de los electrodos al finalizar una electroforesis y volverla a poner en marcha durante un tiempo aproximadamente igual se obtiene el retorno de las proteínas a sus puestos de origen, aproximadamente como una película de cine marcha atrás, y además, con algo más de tiempo, se prosigue con un desplazamiento electroforético en sentido contrario.

Cantidad de líquido de suero necesario para la electroforesis

Una de las dificultades de la electroforesis es la cantidad absoluta de las proteínas del líquido orgánico que se analiza. Para la electroforesis del suero sanguíneo en acetato de celulosa, dentro de ciertos límites, es suficiente la cantidad de 3 1/100 de cc. aproximadamente, o sea que para un suero sanguíneo que posee 70 g.% de proteínas, le corresponde dicha cantidad ya citada, y para una orina de 4 g.% le corresponde una cantidad de 20 1/1000 de cc. Se puede hacer una escala, o mejor dicho, una tabla que nos indique la cantidad de muestra a colocar, según la cantidad de proteínas que tenga la muestra :

80	gramos	3	1/1000	de cc.
75	"	4	"	"
70	"	5	"	"
65	"	6	"	"
60	"	7	"	"
55	"	8	"	"
50	"	9	"	"
45	"	11	"	"
40	"	12	"	"
35	"	13	"	"
30	"	14	"	"
25	"	15	"	"
20	"	16	"	"
15	"	17	"	"
10	"	18	"	"
5	"	20	"	"
0,9	"	30	"	"
0,75	"	50	"	"

II. PRINCIPALES AFECCIONES QUE
CURSAN CON TRANSTORNOS DE
LAS PROTEINAS.

Utilidad de la electroforesis

La aplicación práctica de la electroforesis en la clínica lleva dos finalidades : una, la diagnóstica (con su secuela pronóstica, y la otra, controladora para vigilar la marcha de un proceso patológico.

Alteraciones del cromatograma de aplicación general

1) El hecho de encontrar en el electroforegrama una alteración algo acusada obliga a extender las investigaciones en busca de la causa, igual que ocurre con una velocidad de sedimentación muy alta, aislada.

2) En todos los estados patológicos de alguna intensidad aumentan las manchas de las globulinas a expensas de las albúminas, que disminuyen (cociente albúmina/globulina inferior al normal), pero casi nunca ocurre lo contrario.

3) Las hipoproteinemias máximas se observan en los edemas de hambre y en los síndromes nefróticos y las mayores hiperproteinemias en las endocarditis lentas abacteriémicas y en los plasmocitomas.

4) Las manchas de las globulinas alfa y beta, que son los vehículos de la mayor parte de lípidos plasmáticos (75%) aumentan en todas las afecciones que éstos lo hacen.

5) Las diferentes fracciones llevan a determinar la existencia de un padecimiento y también clasificarlo como agudo o en estado crónico; juega un gran papel en esta determinación la consideración de las alfa 2 globulinas y las gamma globulinas, que forman la tercera banda de las proteínas y la última en electroforesis de papel. En los procesos agudos, en los que hay actividad nosológica intensa, como ocurre en las neoplasias, inflamaciones importantes de pocos días y de curso rápido, en las necrosis de los infartos, como el de miocardio, en las enfermedades renales aparece una alfa 2 globulinas aumentadas; en los procesos crónicos, la que resulta afec

tada es la gamma globulinas, como en las infecciones de curso lento, en las cirrosis y en las paraproteinemias.

En los primeros años de la vida hay una mayor cantidad de albúmina en la circulación, que va disminuyendo ligeramente hasta ir llegando a los valores de la edad adulta - durante la cual se mantiene constante y que en los últimos años de la vida disminuye la albúmina y aumentan las globulinas.

En la electroforesis no podemos dejar de citar una serie de enfermedades en las que casi puede hacer el diagnóstico y que son : la cirrosis hepática, que además hace una sinquía entre las gamma globulinas que están muy aumentadas y las beta globulinas; el kala-azar, que también tiene unas gamma globulinas muy aumentadas; las nefrosis, que incluso se puede hacer electroforesis en la orina por la cantidad de albúmina que se elimina y globulinas. Otro gran grupo muy importante lo constituyen las paraproteínas : la enfermedad de Waldeström y el Kahler.

AFECCIONES HEPATICAS.(Fig. 1 al 18)

(Hartmann, Burtin, Grabar y Faubert). En las hepatitis de origen inflamatorio varias proteínas varían de manera simultánea, pero no forzosamente paralela. Se nota en efecto - el aumento de las gamma globulinas. El aumento de las dos - principales beta 2 globulinas (beta 2A y beta 2M) (Scheidegger y Zahnd) hay aumento de las beta 2B globulinas y descenso de la beta 1A globulina.

Estas modificaciones no existen en las ictericias por afección de las vías biliares extrahepáticas, salvo secundariamente.

Estas anomalías no tienen especificidad etiológica y aparecen sea cual sea la causa del proceso inflamatorio. Ellas no señalarían exclusivamente una afección hepática, pues se las encuentra en otras afecciones inflamatorias : Mononucleosis infecciosas, poliartritis crónica evolutiva, esclerosis en placas, etc. Así ellas son la marca de una afección del sistema retículo endotelial, sea cual sea la localización y la causa; no obstante, ellas son raramente marcadas en las hepatitis, a excepción de las colagenosis.

Estas anomalías son particularmente importantes en los casos descritos por Cattán y cols., pero sin tener caracteres particulares que permitan una diferenciación con las cirrosis de otros orígenes.

En un cierto número de casos el diagrama inmunoeléctroforético está más profundamente modificado. Se puede observar, en efecto, una baja de todas las beta 1 globulinas, salvo las siderofilina, una disminución a menudo importante de todas - las alfa 2 globulinas, con la sola excepción de la alfa 2-macro globulina. Las alfa 1 globulinas están poco perturbadas. La seroalbúmina parece disminuída. En total, el número de trazos de precipitación es bastante menor que aquel del suero humano normal en las mismas condiciones, en particular en la zona beta 1 y alfa 2, en contraste con el aumento considerable a menudo de las gamma y beta 2 globulinas. Este aspecto se ve, sobre todo en los casos severos, en las ictericias de evolución mortal, sobre todo aquellas de origen viral, (el inmunosuero

282 es el suero absorbido de albúmina y gamma globulinas) pues los procesos terminales de las cirrosis pueden perturbar bastante menos el diagrama inmunolectroforético.

Cirrosis hepática

A principios de siglo se comprobó que esta enfermedad se presentaba dando una hipoproteinemia, se observó que lo que más disminuía era la albúmina y que persistían las globulinas en sus valores normales o, con mayor frecuencia, claramente aumentados.

A partir de estas primeras observaciones el hecho ha sido comprobado tanto por las técnicas clásicas como por electroforesis y en ésta se ha observado un aumento de las gamma globulinas, algunas veces con ligero aumento de las beta globulinas. Este aumento de las gamma globulinas se considera importante en aquellos casos en que ha de hacerse un diagnóstico diferencial. A veces se forma una sinequia entre las beta y las gamma globulinas.

Hay hiperproteinemia en las cirrosis esplenomegálicas.

En el cliché de cirrosis etílica se nota una disminución neta de los arcos de precipitación al nivel de las alfa 2 globulinas, oponiéndose una elevación importante de las gamma globulinas, pero sobre todo de las beta 2A y beta 2M globulinas, particularmente visible con el inmunosuero 306. Este aumento de las globulinas de movilidad beta 2 puede explicar, en la cirrosis, la marcha en escalera del proteinograma sobre papel.

Haptoglobinas en las hepatopatías.- Los datos más amplios aportados a este respecto son los publicados por Nyman, Owen y cols. y von Falk.

Según estos autores, en la cirrosis de Laenec los valores de Hp son siempre muy bajos, mientras que son normales o subnormales en las cirrosis biliares y esplenomegálicas. Nyman ha observado que en los cirróticos los traumas e infecciones pueden provocar elevaciones de las Hp relativamente mayores que en los sujetos normales.

En las ictericias por retención los valores son normales o elevados si existe inflamación de las vías biliares. - Son, sobre todo, altos en la ictericia obstructiva, debida a neoplasias extrahepáticas. Si se asocia una neoplasia intrahepática, los valores son muy dispares.

En las hepatitis víricas se registra un descenso de las haptoglobinas en el periodo inicial de la infección. Según Nyman los valores más bajos se alcanzan entre las sexta y octava semanas. La misma autora ha comprobado también valores bajos de haptoglobina en las hepatitis tóxica y lipoi-dea, y aun más bajos en la hemocromatosis. En la mononucleosis infecciosa encuentra valores similares a los dos de la hepatitis vírica.

La autora escandinava, si bien admite que son múltiples los factores que hacen descender el nivel de las haptoglobinas séricas en la insuficiencia hepática, concede especial importancia a la perturbación del catabolismo de la hemoglobina y de los estrógenos. Owen y cols., lo mismo que Grenspan y Jayle creen que el descenso de las Hp está más bien relacionado con la destrucción hepatocelular.

SINDROME NEFROTICO (Figs.19 a 30)Nefrosis.

Después de una serie de trabajos, se sabe que en la nefrosis existe una acentuada hipoproteïnemia, con gran descenso de las albúminas y ligero o nulo de las globulinas, o incluso con aumento de éstas; con la electroforesis se ha podido demostrar que se presenta aumento de las globulinas alfa2 y beta, y disminución de las gamma globulinas. También se ha comprobado en la nefrosis la existencia de globulinas de un peso molecular muy superior al normal. Probablemente este elevado peso molecular es debido a la formación de complejos entre lípidos y proteínas.

El análisis inmunoeléctroforético, particularmente utilizado por Cleve y cols. y Hartmann, ha venido a precisar los puntos siguientes :

La disminución de las gamma globulinas es amenudo tan importante que se parece a la que se observa en las agammaglobulinemias primitivas : en los casos extremos solo los inmunoseros de conejo antigammaglobulinas pueden detectar una pequeña línea de precipitación de las gammaglobulinas; los inmunoseros de caballo no eran reactivos bastante sensibles en este caso. Se asocia una disminución importante de las beta2A globulinas.

Las beta 1 globulinas están disminuídas en su conjunto, netamente la siderofilina. Entre las alfa2 globulina^s, varias están aumentadas, en particular la haptoglobulina, y sobre todo, la alfa2-macroglobulina.

Todas estas anomalías retroceden en las remisiones, para eventualmente reaparecer en las agravaciones de la enfermedad.

La coloración de los lípidos ha permitido, en ciertos casos, poner en evidencia, dos lipoproteínas lentas netamente más distintas que en el suero normal. Esta constatación está verdaderamente ligada al aumento marcado y posiblemente desigual de estas lipoproteínas.

Amilosis

Las anomalías de las proteínas en las amiloidosis son semejantes a las de las nefrosis (a la excepción de las lipoproteínas, que son poco o nada perturbadas). Son de importancia muy variable según los enfermos. En una serie pequeña - de casos parece que la modificación más frecuente era el aumento de las alfa 2 macroglobulinas. No se ha observado una hipogammaglobulina tan importante como en las nefrosis.

Electroforesis de la orina.- La proteinuria, constituida exclusivamente o casi por albúmina, electroforéticamente representaría un índice de permeabilidad glomerular, sin insuficiencia renal de mejor pronóstico que la proteinuria en la que se encuentra la globulina gamma.

El comportamiento del proteinograma urinario en las nefrosis es inverso al que se presenta en el plasmocitoma, que se caracteriza, en general, porque se encuentra en el proteinograma urinario aumentada la misma fracción que está aumentada en el plasma.

En síntesis, el proteinograma urinario en la nefrosis dibuja la imagen inversa del proteinograma plasmático, ya que se encuentran aumentadas en el mismo las fracciones que se encuentran disminuidas considerablemente en el plasma, y viceversa.

Este comportamiento del proteinograma urinario y del suero es de un gran valor clínico fisiopatológico.

En el primer aspecto, porque es un dato fundamental para integrar el diagnóstico, y en el fisiopatológico porque constituye la base en que se orienta la sintomatología del proceso.

Como ya se ha dicho, se ha discutido desde hace muchos años si la orina normal está exenta de proteínas o no lo está. Se ha visto actualmente la existencia de proteinuria normal cuya demostración ha sido visible gracias a las técnicas de concentración de grandes cantidades de orina, eliminación total de dos días y el ulterior examen electroforético (Rigas y Heller).

El promedio normal de eliminación encontrado a las 24 horas sería de 39 mmg. 14 mg. de albúmina y 25 mg. de globulina. En la orina normal se encuentran todos los componentes del proteinograma plasmático, si bien con predominio de las alfa 1 y alfa 2 globulinas. Predominan, pues, las mucoproteínas y glicoproteínas, lo que puede hacer pensar que en el proteinograma de la orina normal predominan proteínas procedentes de la secreción mucosa de las vías urinarias, pero las fracciones albúminas y globulina gamma que se observan en el proteinograma normal urinario, deben proceder con gran seguridad del plasma.

Nefritis

Según Lasch el proteinograma urinario de las nefritis podría aportar elementos para el juicio pronóstico, ya que el 77% de pacientes de nefritis que curaron eliminaban pocas globulinas (Caspani). El proteinograma urinario de las nefritis agudas está compuesto de las mismas fracciones que se encuentran en el suero, o sea, la albúmina y las globulinas alfa, beta y gamma. El proteinograma urinario está caracterizado por una proporción muy elevada de albúmina que llega, en algunos casos, a constituir el 80 % de todas las proteínas urinarias; el cociente albúminas/globulinas alcanza, por consiguiente, valores muy elevados, que oscilan de 3,32 a un máximo de 5,17.

Enfermedades urinarias

En las uretritis, cistitis, pielitis y nefritis pura, el cromatograma, como en toda inflamación, presenta más o menos acusadas las alteraciones propias de las infecciones, aumento de la gamma a expensas de la albúmina.

Las haptoglobinas en las enfermedades renales.- La tasa de haptoglobina se eleva en las enfermedades renales con diversos motivos, entre ellos, disproteinemia (nefrosis), inflamación (nefritis) y necrosis tisular (insuficiencia renal).

Como ya señalaron Jayle, Lagrue y Boussier, las haptoglo-

globinas están intensamente elevadas en las nefrosis lipoidea así como en la mayoría de los casos de síndrome nefrótico. En él, es muy alta la globulina alfa₂, tanto por aumento de su componente haptoglobínico como de la glicoproteína de Schultze.

En las glomerulonefritis y pielonefritis también están elevadas las haptoglobulinas. Esta elevación es de tal intensidad y constancia que Kluthe y Meyer insisten en la importancia de su estudio, por constituir, según ellos, un test adecuado para juzgar la evolución de la nefropatía.

Disproteïnemia pseudomiélatosa en el curso de pïonefrosis

(Laroche, Nenna, Seligmann, Richet, Caquet y Bygnon)

Las infecciones crónicas del parénquima renal se acompañan a menudo de anomalías de las proteínas séricas, sobre todo, con un aumento de las gammaglobulinas.

En las dos observaciones que siguen las perturbaciones de la electroforesis y de la inmunoforesis han sido bastante particulares, por hacer recordar en estos enfermos la existencia de un mieloma.

1a. observación : Se instaura un estado febril, alrededor de 39°, con unos dolores pelvianos y lumbares acompañados de piuria y hematuria, los tratamientos antibióticos son ineficaces, se constata una hipertensión de 20/11 y una astenia importante con afección del estado general. El hemograma revela una anemia moderada con leucocitosis, el examen de orina detecta una albuminuria y piuria. La V.S.G. es acelerada 106 a la primera hora. La electroforesis en papel detecta, entre otras cosas, un aumento de las globulinas, una muy fuerte elevación de las beta₂ globulinas que constituyen un pico de base estrecha, pseudomiélatoso. La electroforesis de las proteínas urinarias muestra la presencia de fracciones diversas, sin preponderancia anormal de beta ni de gamma-globulina y sin pico estrecho.

La urografía pone en evidencia un voluminoso cálculo coraliforme del riñón derecho y la radiografías del esqueleto

detectan un aumento difuso de la transparencia ósea, con unas zonas en el cráneo donde esta transparencia es más marcada, sin que pueda hablarse de verdaderas lagunas óseas. La enfermedad es entonces considerada como un mieloma.

La electroforesis en papel manifiesta un aumento de las alfa 1 globulinas y una proteína patológica que emigra entre las beta globulinas y las gamma globulinas. Reacción de S₁a negativa.

La electroforesis en gelosa confirma las anomalías ya señaladas : existe en la región de las beta 2 globulinas, una importante fracción anormal, muy homogénea y representa el 20 % de las proteínas totales. Se nota, ent otra, una disminución moderada de la albúmina, un aumento de las alfa2 globulinas, un aumento de las gammaglobulinas. El análisis inmuno-electroforético efectuado a la ayuda de diferentes antisueros polivalentes o específicos, muestra que el pico proteico anormal es debido a la presencia de una beta2A globulina, muy aumentada, pues la línea de precipitación tiene una forma anormalmente incurvada. Las gamma globulinas están moderadamente aumentadas; no se detecta gamma globulinas inmunoquímicamente anormales. La tasa de la beta2-macroglobulina es normal. Una urografía muestra la exclusión total del riñón derecho. Posteriormente nefrectomía y mejoría, persistiendo aunque en cantidad menos abundante, la paraproteína tipo beta 2A.

2a. observación : La historia de este enfermo comporta tres etapas sucesivas en un primer tiempo, los dolores óseos, la astenia, la aceleración de la V.S.G., la presencia de lagunas óseas conducen a sospechar con un mieloma. La electroforesis y la inmunolectroforesis de muestran la presencia de una paraproteína de tipo gamma con persistencia de una tasa normal de las beta 2A globulinas. Existe en la orina una proteinuria de Benca-Jones. En un segundo tiempo la exéresis del riñón con pionefrosis lleva la regresión de los signos clínicos y el enlentecimiento de la V.S.G. La electroforesis y la inmunolectroforesis muestran la persistencia de la paraproteína de tipo gamma, pero ella es bastante menos abundante que anteriormente.

I. Modificaciones de las proteínas séricas en el curso de infecciones crónicas del parénquima renal.- Feinstein señala en cuatro casos de pielonefritis no obstructiva, una elevación de las globulinas. Wuhrmann nota que las infecciones renales pueden acompañarse de una hipergamma globulinemia. Jencks hace notar, entre 187 casos de infecciones agudas y crónicas, 11 observaciones de pielitis crónicas en las cuales observa una elevación significativa de las alfa 2 y gamma globulinas. En un trabajo sobre 38 casos de litiasis cálcica, Legrain señala que 12 observaciones de litiasis infectadas comporta una hiperproteïnemia ligada a la elevación de las globulinas; por el contrario, Quinn y Kass. en su importante estudio consagrado a las pielonefritis y Olmer en su trabajo sobre las disproteïnemias no mencionan hechos comparables.

En su conjunto, las anomalías descritas no parecen haber sido encontradas más que en enfermos portadores de litiasis renal infectada. Una supuración profunda, relacionada a las cavidades excretoras y al parénquima renal parece, pues, condición necesaria para que aparezca el desequilibrio proteico. Se ha estudiado las proteínas séricas en 16 casos de infecciones urinarias, complicando las litiasis renales. En todos estos casos la aceleración de la V.S.G. iba a la par con una elevación de las proteínas, ligadas a un aumento de las globulinas. La electroforesis en papel muestra una elevación de las beta y gamma globulinas, pero en algunos de estos sueros, se ha encontrado la presencia de una paraproteína. La inmunolectroforesis ha mostrado un aumento paralelo de las gamma globulinas, de las beta 2A globulinas, y de las beta 2 macroglobulinas, sin anomalía inmunoquímica.

Este tipo de diagrama es comparable a aquel que se observa en el curso de la enfermedad de Osler y de numerosos procesos infecciosos o parasitarios. Las litiasis urinarias infectadas pueden, pues, ser el origen de un aumento de las inmunoglobulinas normales como toda otra infección a largo curso. Las anomalías globulínicas que traen los autores del estudio de estos dos casos, son de otro cuadro, que ellos han descubierto en dos de sus enfermos unas paraproteínas.

II. Las paraproteínas tipo gamma o beta 2A, fuera de la enfermedad de Kahler.- Algunos autores han detectado unas

paraproteínas aparentemente análogas a una globulina mielomatososa en el suero de sujetos en los cuales el contexto clínico no permite hacer el diagnóstico de enfermedad de Kahler. Las proteínas son a veces descubiertas en el curso de hemopatías malignas (leucemia o sarcoma) que no se le puede relacionar, después de los datos citológicos, a la mielomatosis; se ha señalado también la coexistencia de una paraproteinemia y de un cáncer epitelial, sin que se tenga el conocimiento de metastasis medulares. En otros casos, en fin, - unas globulinas, teniendo aparentemente los caracteres físicos, químicos e inmunológicos de las globulinas mielomatosas, igualmente son detectadas en los enfermos para los cuales los clínicos no poseen ningún argumento que permita llevar el diagnóstico de mieloma o de afección maligna. Uno de los autores ha detectado unas globulinas de este tipo en el suero de enfermos afectados de enfermedades muy diversas: se trata de afecciones en el curso de las cuales se observa habitualmente un aumento de diversas inmunoglobulinas normales (lupus eritematoso, periarteritis nodosa, cirrosis hepática, enfermedad de Osler); o por el contrario, afecciones que no comportan ordinariamente modificaciones globulínicas (enfermedad de Paget, anemia saturnina, afecciones dermatológicas crónicas, esplenomegalia meloide, cardiopatías crónicas). En fin, en algunos sujetos la paraproteinemia ha sido detectada en ocasión de un examen sistemático de las proteínas séricas, recomendado por el descubrimiento de una V.S.G. acelerada de modo importante. Estos resultados coinciden con los de varios autores: en el conjunto de los casos se trata más a menudo de paraproteínas de tipo gamma, que de paraproteínas de tipo beta 2A.

La interpretación de estos resultados es difícil. En un cierto número de estos casos podría tratarse de enfermedades de Kahler auténticas, pues los signos biológicos preceden a la aparición de los signos clínicos, radiológicos y hematológicos. La constatación de macroglobulinemia familiar ha llevado a uno de los autores a evocar el eventual papel de una anomalía genética en la formación de ciertas paraproteínas aisladas.

Coexistencia de una piónefrosis y una paraproteína aislada.

La neta coincidencia entre la obliteración del riñón afecto de piónefrosis y la importante disminución de las tasas de la paraproteinemia, permite evocar con una gran probabilidad una relación de causalidad entre la infección crónica - del parénquima renal y el desorden globulínico. Esto es una hipótesis con bastante fundamento.

Neumonía

La mancha de globulina alfa 2 se encuentra elevada.

ENFERMEDADES DE LA PIELLupus eritematoso y periarteritis nodosa

Reynaud encuentra en los lupus eritematosos agudos, diseminado como en los reumatismos inflamatorios, un aumento de las glucoproteínas totales (alrededor de 500 a 600 mm². en la curva), con aumento de las fracciones alfa 2 y beta y accesoriamente, de la fracción alfa 1.

En el lupus eritematoso y periarteritis nodosa las haptoglobinas se elevan a la vez que la V.S.G., salvo en aquellas circunstancias en que se asocie un factor hemolítico, como con frecuencia ocurre en el lupus eritematoso.

En las dermatopatías crónicas hay tendencia a la hipoproteinemia, sobre todo en el pénfigo vulgar y en las eritrodermias, con aumento de las globulinas alfa y gamma, a expensas de la albúmina.

ENFERMEDADES ENDOCRINAS Y METABOLICAS (Fig.34)

En la retinitis diabética y en el mixedema, aumento de la globulina beta.

Addison

Disminución de la albúmina y aumento de las fracciones globulínicas, en general.

En endocrinología hay aumento considerable de las glucoproteínas cuando hay sobrecarga de tiroestimulina hipofisaria (hipertiroidismo con componente hipofisario, exoftalmomaligno).

Mixedema

En el mixedema hay aumento de las glucoproteínas.

Diabetes

Von Falk ha estudiado 49 casos de esta enfermedad, haciendo una estimación cualitativa de nivel de haptoglobina, basado en la intensidad de las bandas teñidas al verificar la determinación de tipos con la electroforesis con almidón. Encontró 7 casos patológicos, 5 con bandas muy débiles y 2 con ellas muy intensas.

Berstrand y cols. han estudiado 114 casos de diabetes juvenil, haciendo las siguientes observaciones : Los pacientes sin alteraciones vasculares dan valores comparables a los de los sujetos normales que utilizaron como control; un segundo grupo de pacientes con trastornos vasculares (retinopatías, vasculopatías periféricas o renales) mostraron valores constantemente elevados. Un tercer grupo en que la V.S.G. era alta, cursaba también con valores elevados de haptoglobina. Ante estos hallazgos, los autores concluyen que la deter

minación cuantitativa de la haptoglobina puede ser un dato valioso para descubrir el grado de malignidad de la diabetes mellitus.

Septicemias

Septicemias diversas, flemones abcesos, infecciones quirúrgicas. La globulina gamma elevada, según la norma de las infecciones, se marchita y normaliza cuando se halla el antibiótico de elección.

PROCESOS INFECTIVOS E INFLAMATORIOS (Fig.35 a 40)Infecciones agudas

Las infecciones agudas locales y generales van seguidas en las próximas 24 horas, de un aumento paralelo de las haptoglobulinas, fibrinógeno y orosomucoide (Jayle y cols.). Si no hay complicaciones, los valores se normalizan aproximadamente en un mes e incluso, en la fiebre tifoidea y en las meningitis meningocócicas, pueden descender a cifras subnormales. Estos datos concuerdan con las observaciones hechas por Nymann en pacientes de neumonia.

No existe una correlación estricta entre la importancia de la infección y la tasa de estas proteínas, si bien, los valores más altos se encuentran en abscesos y supuraciones pútridas. Tampoco existe correlación con el agente patógeno, bacteriano o vírico, aunque Nyman ha observado valores normales en muchos casos de rinitis y meningitis víricas.

Infecciones crónicas

En ellas es casi constante el aumento de haptoglobinas asociado al de gamma globulinas, orosomucoides y fibrinógeno. El aumento de las haptoglobinas suele ser moderado.

ENFERMEDADES NERVIOSAS (Fig.41)Enfermedad de Wilson

Las anomalías de céruloplasmina.- Gracias a los métodos de Uriel y mas particularmente a aquél basado en las propiedades oxidásicas de esta proteína, la céruloplasmina ha podido ser estudiada en algunos casos de diversas enfermedades. En la enfermedad de Wilson (degeneración hepatolenticular), en la que no se encuentra más que una mancha de céruloplasmina muy pequeña o aparentemente ausente : lo que va con la disminución del cobre sanguíneo bien conocida en esta enfermedad.

Esclerosis múltiple

Como señala Andreoli, tambien están aumentadas las - haptoglobinas en las esclerosis múltiples y es de gran interés que esta elevación solo tiene lugar durante las fases evolutivas de la enfermedad.

Leucoencefalitis esclerosante subaguda

El examen electroforético del suero y del l.c.r.- En enfermos afectados de LESS, permite poner en evidencia unas anomalías del suero relativamente poco marcadas (aumento de las gamma globulinas, acentuación de las alfa glucoproteínas) y de muy importantes anomalías del l.c.r. (considerable aumento de las gamma globulinas).

Infecciones tifoideas

Se encuentra bien una mancha intensa de la globulina gamma, o bien un aumento de la beta, correspondiendo, al parecer, a los antígenos V y O.

Paludismo

La gamma casi siempre muy elevada, se normaliza bajo la acción de la quinina.

Kala-Azar

La mancha de la gamma es enorme, monstruosa, mientras que la de la albúmina palidece, se marchita, adquiriendo el electroferograma un aspecto especialísimo, patanonomónico. En cuanto el tratamiento estibiado comienza, el cromatograma cambia por completo hacia la normalidad.

(043)ds
ESP

ENFERMEDADES DE LA SANGRE (Fig.42)Leucemia

La gamma muy aumentada.

Las modificaciones proteínicas es necesario valorarlas en relación con los demás datos clínicos.

Wunderly afirma que incluso en el mieloma, en el cual es de esperar una importante disproteïnemia, una quinta parte de los pacientes apenas presentan modificación alguna de la composición anormal de las proteínas.

Enfermedad de Hodkin.

Constituye un caso especial, pues en ella la determinación del valor haptoglobina sérico es especialmente adecuado para seguir el curso y orientar el pronóstico. Jayle y cols. basados en su estudio de 39 casos, han llegado a las siguientes conclusiones :

El nivel de haptoglobina es normal o solo ligeramente elevado en ausencia de manifestaciones clínicas.

La elevación de la tasa de haptoglobina es un índice muy cierto de la aparición próxima de un brote.

El descenso de la haptoglobina en el curso del tratamiento permite apreciar la eficacia del mismo.

Si el nivel permanece constantemente elevado apesar del tratamiento correcto, es de temer la proximidad de un desenlace fatal.

Electroforesis en la tuberculosis (Figs.43 a 47)

Dos grupos : los enfermos con actividad y enfermos estabilizados.

a) La globulina alfa en los evolutivos se encuentra elevada en un 84 % de los casos. El alfa₂ glucoproteínas acusa su elevación en el 90% de los casos. Asociando proteínograma y glúcidograma, las alfa 2 globulinas están aumentadas en el 98% de los casos. La combinación de los dos métodos permite acercarse al máximo a la realidad clínica.

b) La globulina alfa 2 en los estabilizados. La alfa₂ proteína es normal en un 76% de los casos.

La alfa₂ glucoproteínas es normal en 66,6%. Asociando los dos métodos, la alfa 2 globulina es normal en el 88,8 % de los casos. Es más sensible que la V.S.G.

La fracción albumínica y el grado de afección del estado general.- El proteínograma ha dado una albúmina normal en el 76% de los tuberculosos en buen estado general; el 50% aproximadamente del estado medio, acusa una disminución del 80% en enfermos de mal estado general y en el 100% de los tuberculosos caquéticos.

Globulina gamma y el estado anatómico de las lesiones. El aumento de la gamma globulina evoca una variación hacia el grado de cronicidad y, por tanto, de fibrosis.

Globalmente, se ha encontrado aumentada esta fracción en un 86% de los casos. El porcentaje de hipergammaglobulinemia se eleva con el tiempo. Asombra encontrar aumento en los exudativos. Se piensa en una asociación productiva al estado histológico y sin traducción radiológica.

El interés del síndrome electroforético de la tuberculosis pulmonar para la práctica. Diagnóstico:

Por las modificaciones de la globulina alfa 2, permite diferenciar la tuberculosis pulmonar de las afecciones respiratorias no supuradas y de diversas afecciones percusiones pulmonares, como ciertas cardiopatías.



Por el contrario, en las afecciones pulmonares crónicas no tuberculosas, sobre todo cuando son el resultado de un proceso inflamatorio crónico, los diagramas son idénticos a aquellos obtenidos en los tuberculosos.

Pronóstico y tratamiento.- No permite prever a largo plazo la evolución de una tuberculosis pulmonar, la electroforesis reviste el carácter de una reacción actual.

Electroforesis y curación.- El porcentaje de la normalización del alfa 2 es sensiblemente el mismo que aquellos observados en las tuberculosis solamente estabilizadas. Por tanto, la normalización del alfa 2 no será una interpretación definitiva en la apreciación de la cura propiamente dicha, ya que es la misma que en las tuberculosis estabilizadas.

En la tuberculosis el grado de afección del estado general, es aproximadamente reflejado por un descenso de la tasa de la albúmina del proteinograma. Sobre el plan de control terapéutico la electroforesis reviste un cierto interés para seguir la evolución de la enfermedad en los tuberculosos sometidos a la antibioterapia, quimioterapia o a la hormonoterapia antiinflamatoria y para apreciar la eficacia de ciertas intervenciones quirúrgicas.

Meningitis tuberculosa

En la forma meningomiliar la gamma está particularmente elevada, disminuyendo al mismo tiempo la albúmina, la alfa y la beta, cuando la terminación se anuncia fatal.

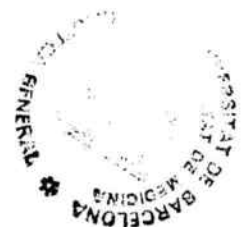
Por el contrario, cuando se marcha hacia la curación el proteinograma mejora rápidamente o permanece normal en toda la evolución.

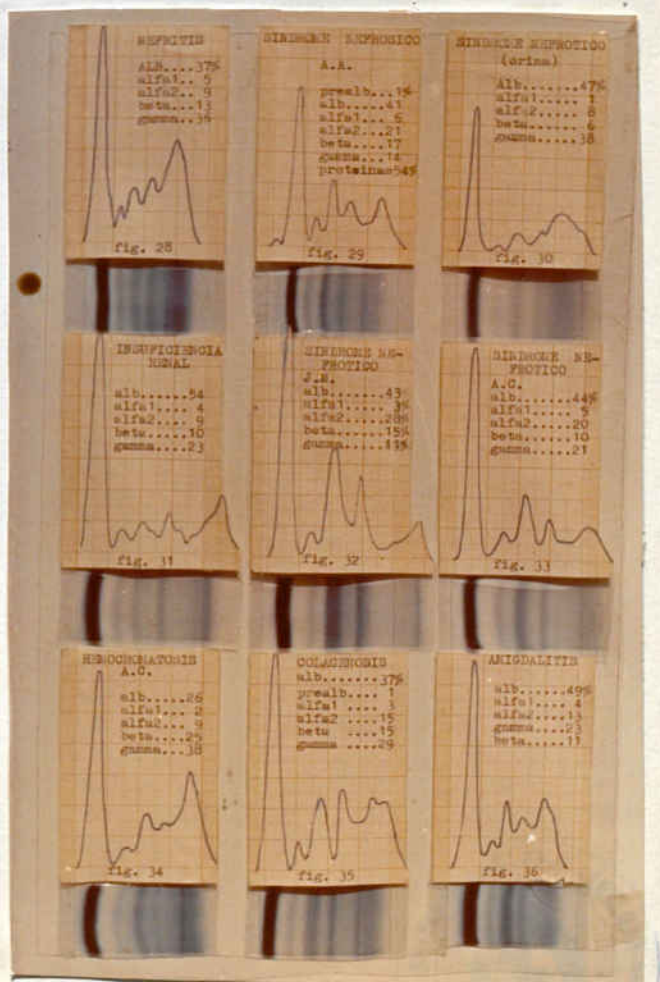
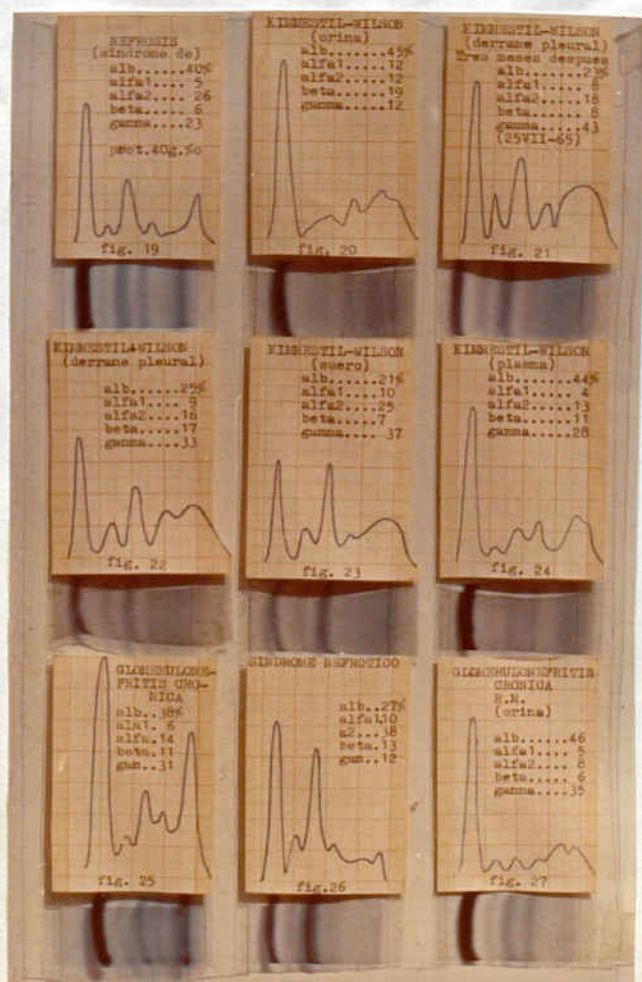
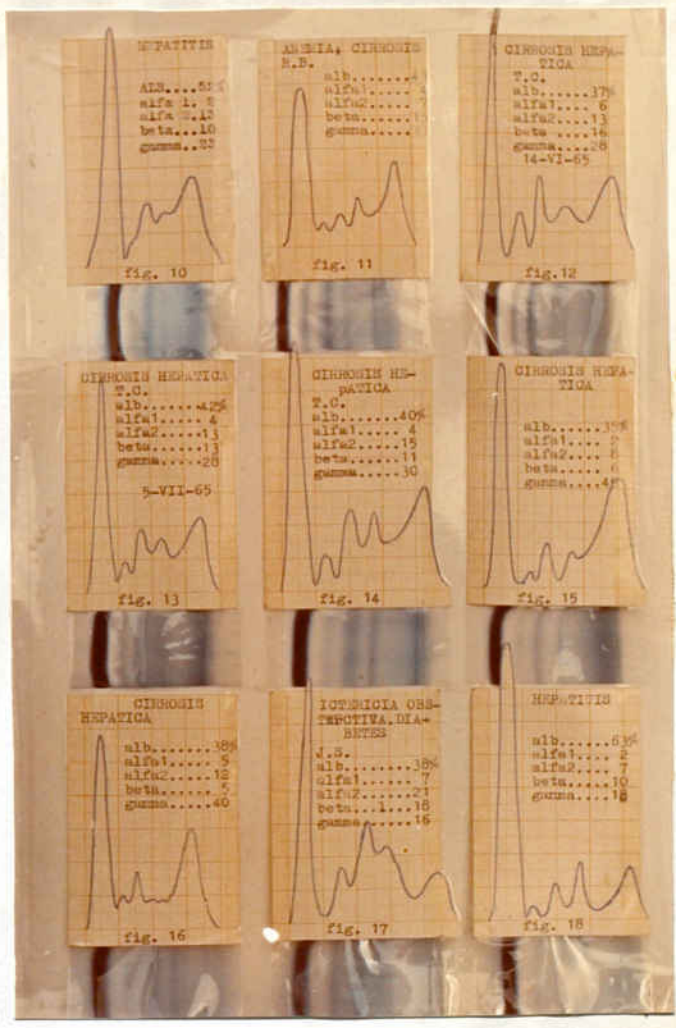
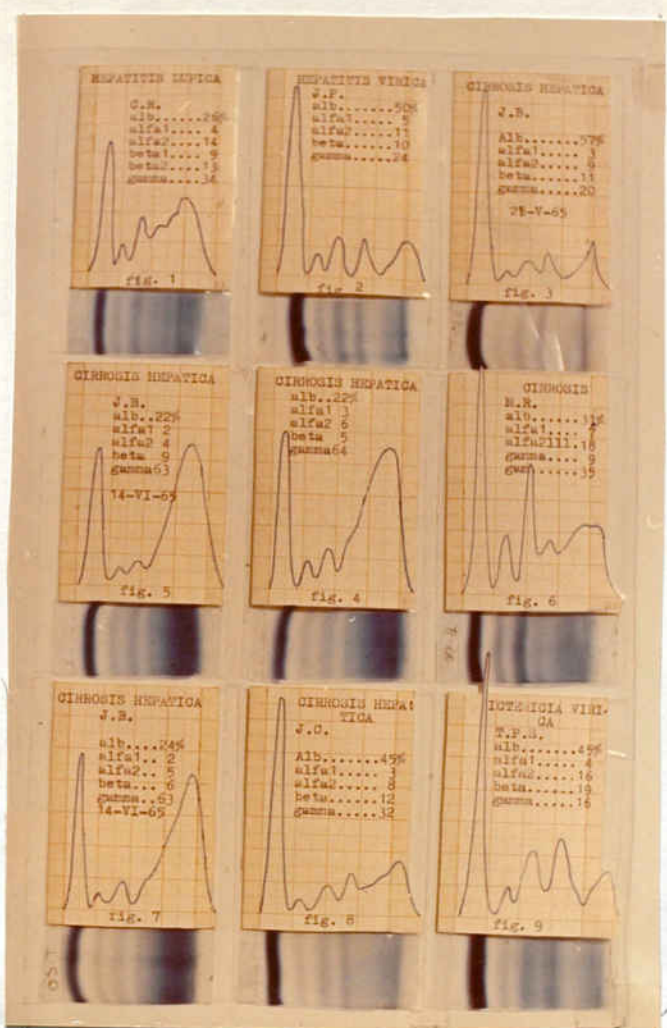
Tuberculosis pulmonar

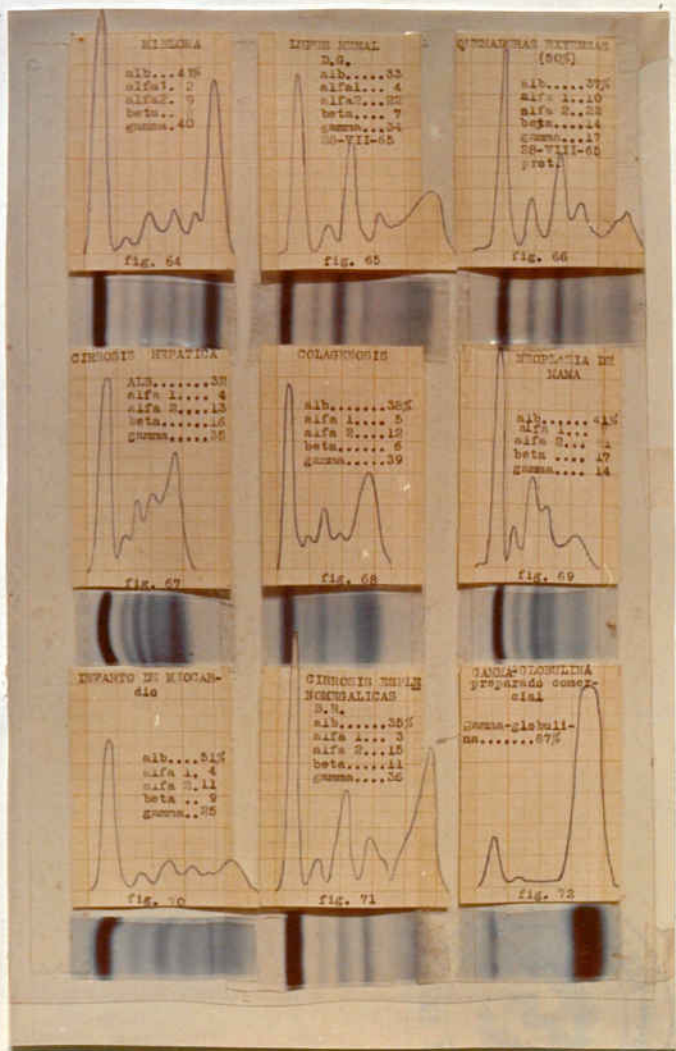
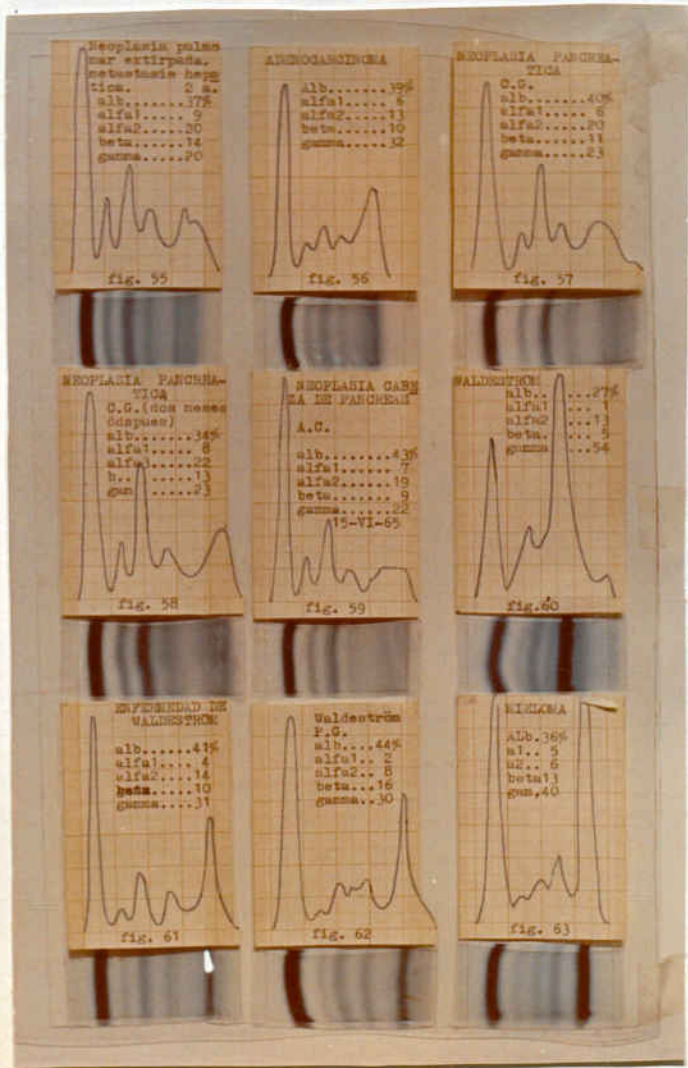
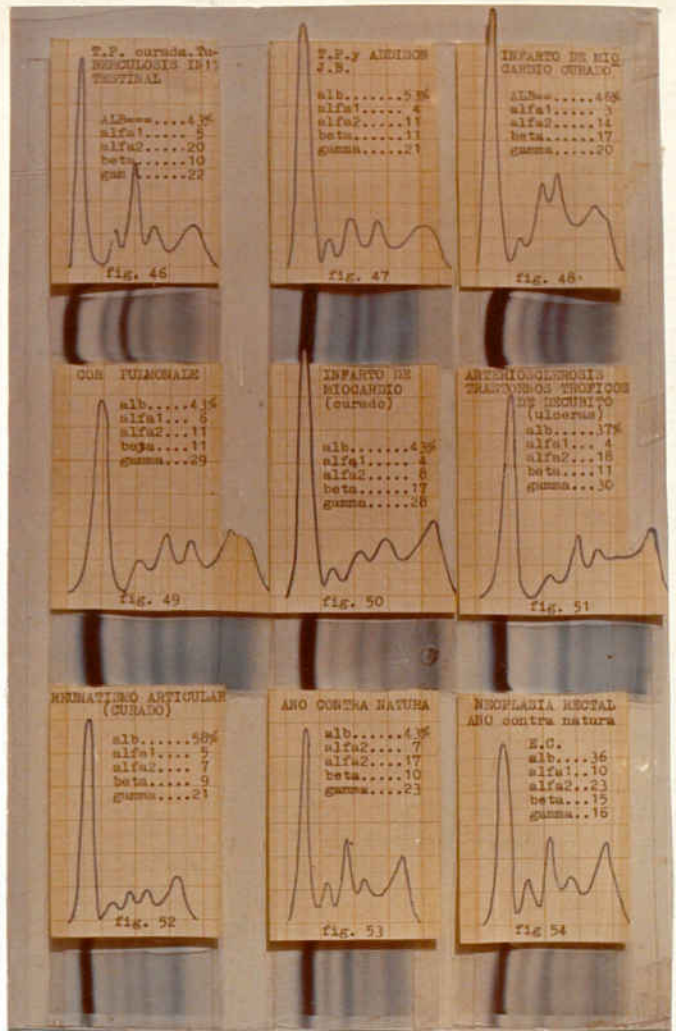
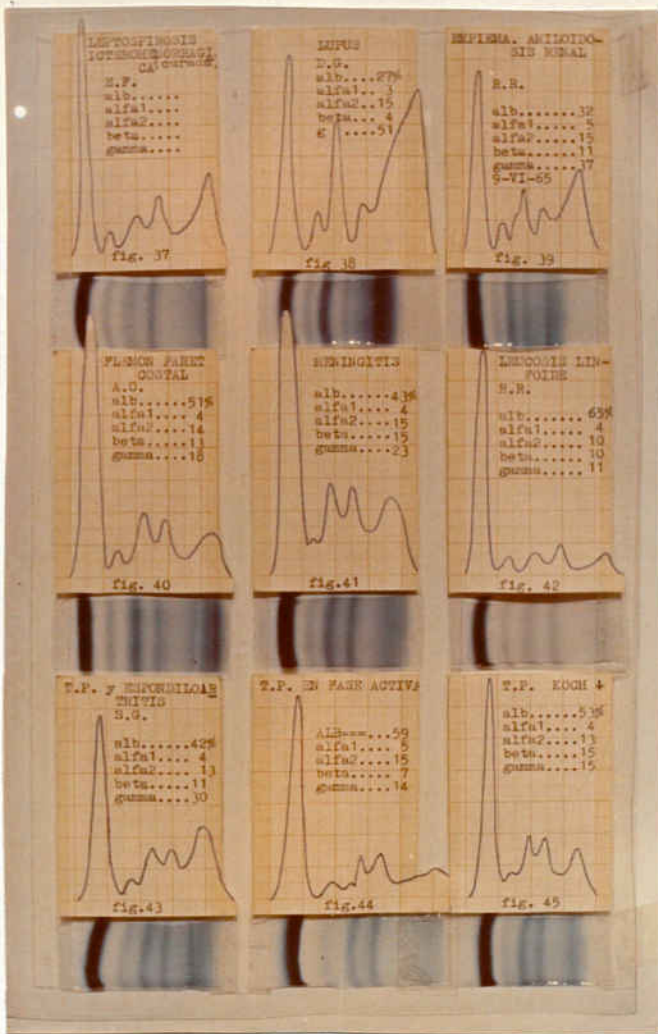
Con los trabajos de Brissaud, Jayle y cols, Reynaud y cols, Hever, etc., se ha llegado a la conclusión de que la haptoglobina es uno de los mejores indicios para juzgar de

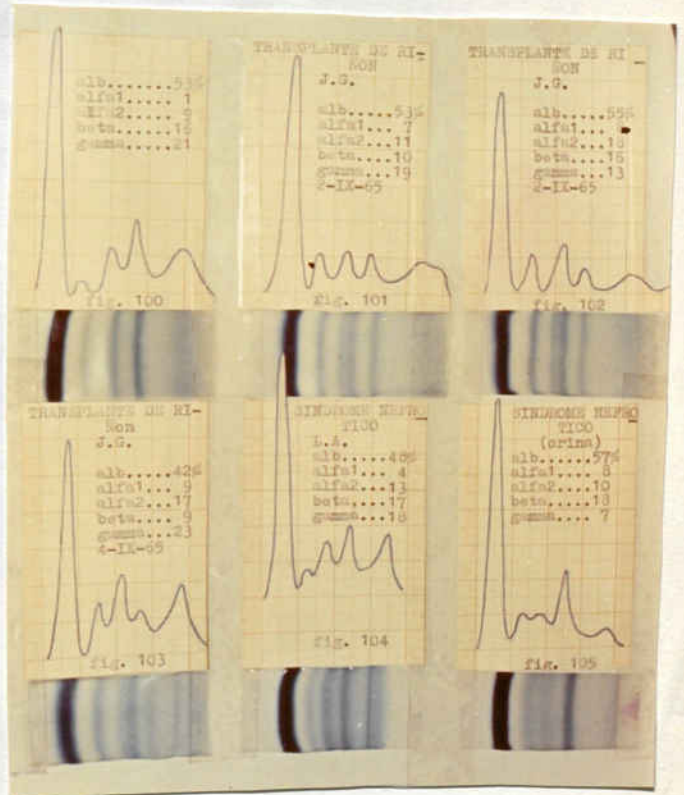
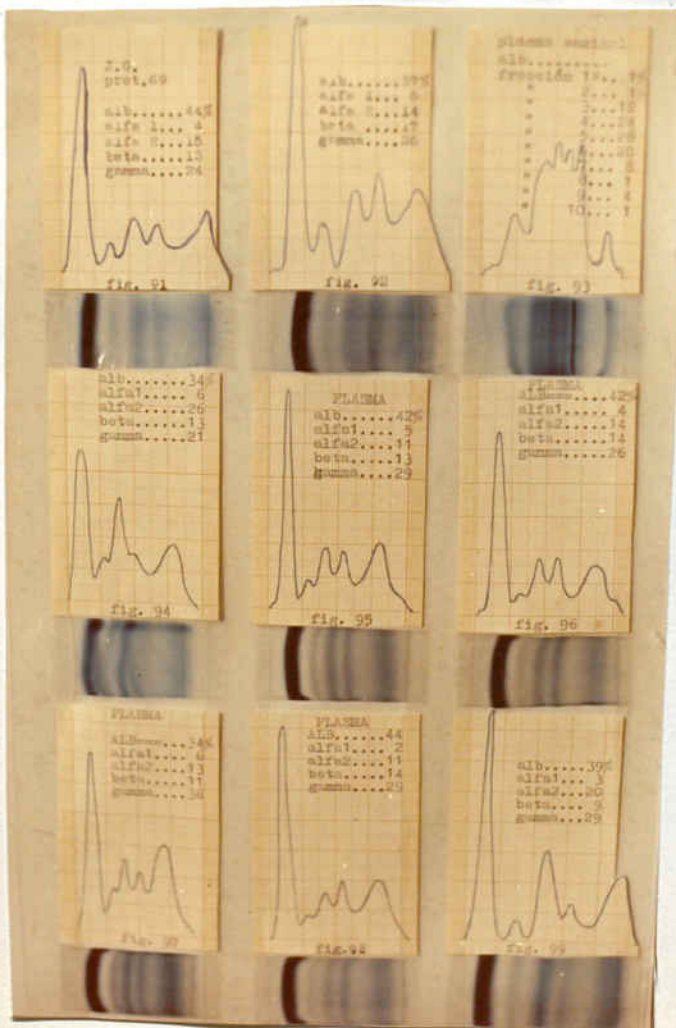
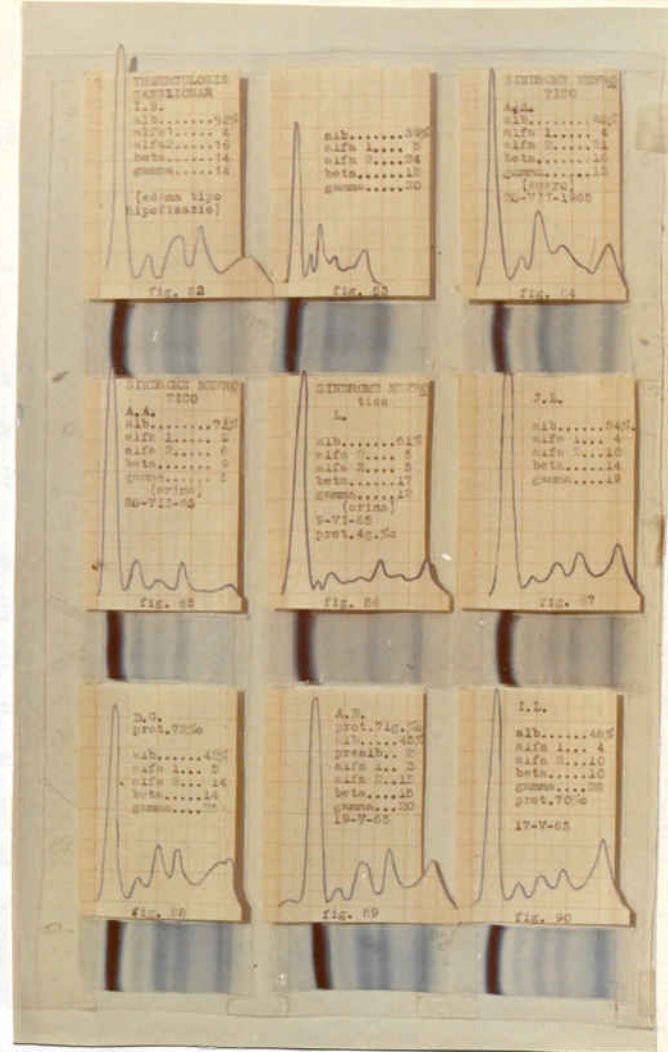
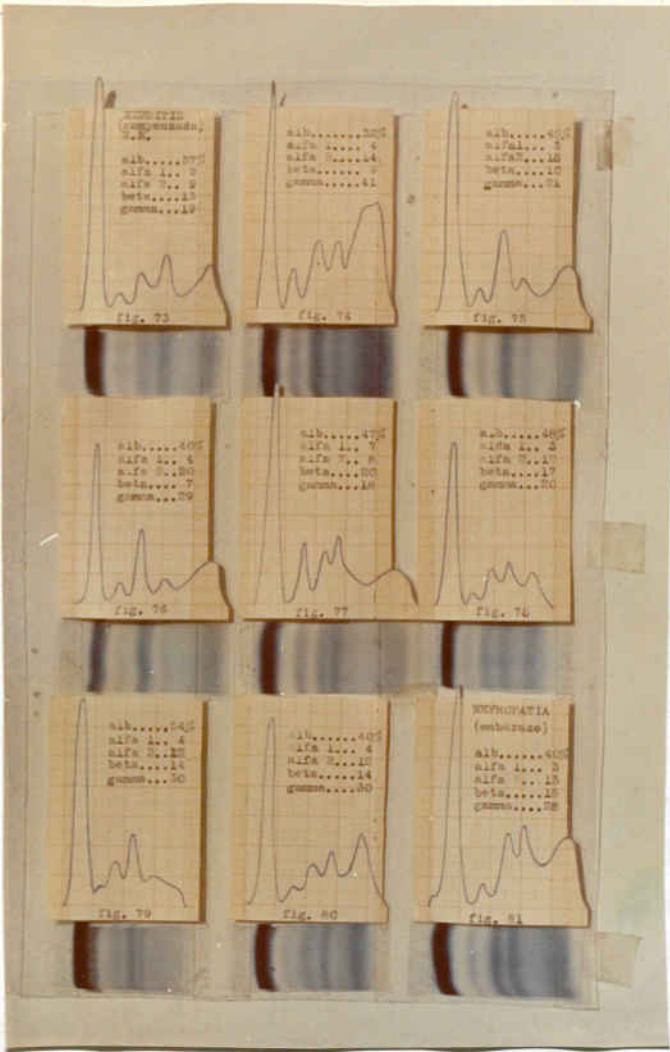
la evolución de esta enfermedad. El nivel guarda relación con la extensión y carácter evolutivo de las lesiones. Kourilski y cols. han demostrado la superioridad de las haptoglobinas sobre la v.s.g. para determinar el grado evolutivo de la tuberculosis pulmonar.

Jayle, así como Renaud, tras numerosas comprobaciones han concluido que el descenso del nivel de haptoglobina a 100 mg.º es quizá el mejor índice de curación, aunque pueden persistir aun imágenes radiológicas. Renaud y Lemoin y cols. han verificado haptoglobulinogramas y comprobado su interés para el pronóstico.









APARATO CIRCULATORIO (Figs. 48 a 50)Infarto de miocardio

Desde la aparición de un infarto hasta su curación existe una evolución sumamente particular del síndrome protídico, y análoga de un caso a otro.

La beta 2 es la zona donde se desplaza el fibrinógeno. La electroforesis en medio libre líquido puede utilizar plasma en el que está íntegro el fibrinógeno; en cambio, la electroforesis en papel utiliza suero casi desprovisto de él, el cual queda englobado en el coágulo. La razón de ello es que el fibrinógeno tiene la molécula muy grande y queda depositada en la región donde colocamos el plasma problema y no pudiendo progresar impide el desplazamiento normal de las otras proteínas. Este aumento de la beta globulinas afecta en algún caso el 27 % de los protidos totales en lugar del 15%, que es lo normal. Rápidamente aparecen luego unas modificaciones en las globulinas alfa. En los días siguientes, ascensión de la alfa 2 llegando al 29%, lo normal es 7%.

En el curso de esta evolución la relación serina/globulinas desciende hasta 0,6 (en algún caso se normaliza en seguida).

Lowrence considera el aumento de las globulinas alfa como el paso de producto de proteólisis de la célula al plasma. Las gamma globulinas apenas se modifican; más tarde, cuando disminuyen las alfa y beta, entonces aumentan.

La hiperglobulenemia alfa 2 en el proteinograma aparece en franco retardo, con respecto a las alteraciones del glúcidograma.

Diagnóstico diferencial del infarto.- Globulinas alfa 2.- Estas globulinas aumentan además del infarto, como indicador de necrosis tisular, en los procesos inflamatorios agudos, como acontece con el reumatismo poliarticular agudo, neumonía lobar y en las neoplasias.

Con respecto al reumatismo poliarticular agudo, cursando con fiebre, el aumento del alfa 2 sería revelador de fiebre reumática, mientras el aumento de gamma globulinas sería sospechoso de endocarditis lenta. Es más, si como señala R. Baguena, en el curso de ésta surge un aumento del alfa 2, ella hablará en favor de un brote reumático.

Jayle, en colaboración con Fargues y Coumel ha estudiado el nivel de haptoglobina junto con el de alfa globulinas y lipoproteínas en casos de infarto de miocardio. Durante la crisis, ha encontrado constantemente valores altos, de 200-300 mg.; por tanto, la determinación es interesante para el diagnóstico. Sin embargo, Fargues ha encontrado valores normales en algún caso de la misma enfermedad, como si a este respecto hubiera diferentes formas de infarto.

Jayle aporta una idea deducida del estudio simultáneo de haptoglobinas y lipoproteínas. Según él, una elevación reiterada de los valores de haptoglobinas y lipoproteínas, que no sea explicable por la clínica, debe hacer pensar en la posibilidad de una ateromatosis evolutiva.

Endocarditis

En la endocarditis maligna se puede seguir paso a paso el tratamiento con penicilina, y de la penicilina asociada con la estreptomycin. Cuando la globulina gamma disminuye progresivamente de tamaño, es que el antibiótico y las dosis empleadas son el mejor tratamiento que se podía hacer, y se ha de tener por regla no interrumpir el tratamiento de antibióticos hasta que la globulina gamma sea normal. Un examen electroforético practicado todos los meses o cada dos meses, controla fácilmente la marcha de los acontecimientos.

El rasgo fundamental es la existencia de un síndrome diferente para las endocarditis con un hemocultivo positivo y las que lo tienen negativo. En las primeras hay un aumento moderado de globulinas gamma; en el caso de los hemocultivos negativos, el aumento es mucho mayor y muchas veces la curva electroforética es muy particular "en orejas de animal"; las globulinas alfa y beta permanecen iguales.

En la evolución merecen anotarse ciertos puntos : En primer lugar, el mal pronóstico de las formas con muy alta proporción de globulinas gamma; en segundo lugar, la baja progresiva de las globulinas gamma cuando la afección evoluciona hacia la curación. Pero esta baja se hace lentamente y solo empieza a afirmarse al cabo de algunas semanas, constituyendo entonces el mejor augurio para el porvenir del enfermo. Hay raras excepciones a estas reglas generales.

El aumento de globulina gamma en la endocarditis con hemocultivo negativo la aproxima a otras afecciones, como la enfermedad de Libmann-Sachs, la pericarditis nodosa, etc.

Aortitis sífilíticas evolutivas

Aunque no podamos hacer el diagnóstico etiológico de esta infección de localización aórtica, por lo que se ha dicho sobre la gamma globulinas en las infecciones, éstas que darán aumentadas y nos servirán en gran manera para precisar el tratamiento, pues mientras sea ineficaz, la globulina gamma quedará aumentada.

Hipertensiones malignas

En casos de hipertensión esencial, se aprecia un aumento elevado de la globulina beta, como se puede ver en los accidentes vasculares de la diabetes, y más particularmente en la retinopatía diabética. Se sabe que el hipertensinógeno, que es el substrato que forma la retina para determinar la hipertensión arterial, se encuentra en la región globulínica alfa 2.

Cuando se trata de una nefritis hipertensiva maligna es el aumento de la gamma que viene a determinar la existencia de una nefritis. Se explica porque la globulina gamma transporta la mayoría de los anticuerpos y como éstos aumentan en las enfermedades inflamatorias y alérgicas, la nefritis acusa dicho aumento.

Pericarditis constrictivas

Ante la presencia de un enfermo con hígado grande duro, simulando una cirrosis, en un sujeto joven, sin antecedentes alcohólicos pero con antecedentes tuberculosos, sobre todo si se acompaña de una afección peritoneal y pleural, permite suponer a grandes rasgos una pericarditis constrictiva. El examen radiográfico, los trazados electrocardiográficos con bajo voltaje de los complejos ventriculares, son otra confirmación a este diagnóstico. La electroforesis lleva también su pequeño aporte en la ayuda diagnóstica, ya que en ellos se encuentran aumentadas en sangre las gamma globulinas y, por tanto, también están aumentados en el líquido pleural y ascítico.

El proteinograma de estos líquidos, tiene que solventar dificultades técnicas, ya que para que salga de una manera clara debe haber una cantidad de proteínas determinada, para solucionarlo de una manera práctica, se coloca líquido en una cantidad proporcional a la de la sangre, o sea, 4 o 5 veces mayor.

Insuficiencia cardíaca

En el curso de una insuficiencia cardíaca congestiva, es decir, de la asistolia con edemas, hígado grande, hidrotórax, ascitis de etiología valvular, miocárdico o arterial, se encuentra generalmente una globulina gamma muy elevada, como en las cirrosis graves, con la pequeña diferencia de que en estas últimas las proteínas están francamente disminuidas y las albúminas mucho más bajas que en aquéllas, en las cuales las cifras de las proteínas puede ser normal, pero con las albúminas disminuidas, pero no tanto como en la cirrosis.

El proteinograma adquiere gran importancia diagnóstica en la actividad de los procesos reumáticos que han ocasionado complicación cardíaca y la subsiguiente insuficiencia, ya que en estos casos disminuye el fibrinógeno en la sangre, normalizándose la V.S.G. haciéndonos creer que nos encontramos ante una desaparición de la actividad reumática suprimien

do el tratamiento específico; el tamaño de la alfa 2 globulinas nos servirá para seguir la evolución reumática en estos casos.

La electroforesis en el pronóstico de las Cardiopatías.- La electroforesis es parcialmente importante para establecer el pronóstico de una cardiopatía.

Es así de este modo que en las endocarditis malignas una globulina gamma que queda siempre elevada, a pesar del tratamiento o que aumenta en los exámenes sucesivos, debe hacer llevar a un pronóstico severo. Cuando en un reumatismo cardíaco evolutivo, la globulina alta continúa elevada, a pesar del tratamiento acompañada a menudo de un aumento moderado de la globulina gamma, se debe reservar el pronóstico.

Cuando un enfermo afecto de secuelas electrocardiográficas de infarto de miocardio, presenta algunos signos de insuficiencia cardíaca, es el aumento de globulina gamma que traduce lo más a menudo la aparición de esta insuficiencia cardíaca con hígado grande y edemas.

Electroforesis no hemática.- Si el estudio de las proteínas de la sangre ocupaba un gran capítulo en la electroforesis, mucha mayor importancia por su extensión la tienen el estudio de las proteínas (electroforéticamente) fuera del suero hemático.

En algunos lugares y líquidos de nuestro organismo, la composición de las proteínas puede considerarse como la continuación de las de la sangre y su electroforesis es muy parecida y progresivamente vamos viendo lugares de nuestro organismo cuya composición se va distanciando de ella.

Hoy día la electroforesis se ha ido extendiendo en todos los medios en donde se encuentran las proteínas y como una de las propiedades de ellas es su gran difusión (en el organismo) las podemos estudiar en muchos lugares y condiciones.

Proteínas de los líquidos: a) Pueden ser líquidos que normalmente existen y que poseen proteínas, como el hu-

mor vítreo, humor acuoso, líquido céfaloraquídeo; b) Líquidos en que normalmente no hay proteínas prácticamente y que patológicamente aparecen, como la orina en las nefropatías; precisando más se ha visto que, contrariamente a lo que se decía, la orina del individuo sano posee proteínas, aunque en pequeñísimas cantidades (que para ser medidas electroforéticamente hay que concentrar las orinas de 48 horas y reducir las a 2 décimas de centímetro cúbico, proceso como se puede suponer extraordinariamente dificultoso; c) líquidos ricos en proteínas, que normalmente no existen en el organismo y que aparecen en determinadas enfermedades (cardíacas, tuberculosas, neoplasias, etc.) líquido pleural, pericardítico, ascítico, edemas.

La arteriosclerosis (Fig.51 y lipoidogramas)

En geriatría, es casi imprescindible la electroforesis de los lípidos para comprobar el equilibrio de las alfa lipoproteínas y beta lipoproteínas importantes en la arteriosclerosis.

De la arteriosclerosis podemos desglosar un gran grupo, la aterosclerosis, que consiste en una lesión degenerativa que se inicia por la formación de depósitos de lípidos en la endoarteria, afectando la nutrición de la pared del vaso, se la considera como el comienzo de la arteriosclerosis (por algunos autores), además de la parte interna de la íntima también puede depositarse los lípidos en la túnica media.

Alrededor de estas alteraciones, el tejido conectivo en algunas ocasiones reacciona produciendo fibrosis, puede depositarse en ellas sales de cal modificando las condiciones de la pared del vaso dándole cierta rigidez, puede ulcerarse el endotelio vaciándose el contenido de lípidos que forma el ateroma a la sangre, formándose una úlcera que puede motivar un aneurisma; el depósito de lípidos al ir aumentando estrecha la luz del vaso, comprometiendo el caudal fisiológico que determinará la necrosis por asfixia tisular, produciéndose por tanto trastornos orgánicos en el cerebro (esclerosis y reblandecimiento cerebral), riñón, corazón (esclerosis coronárica, arteritis crónica de los miembros inferiores, etc.)

Ateroma.- Las placas ateromatosas contienen una gran cantidad de colessterina, el 70% del ateroma (en forma de palmitato de colessterina, otros ésteres y en forma libre) junto con cantidades apreciables de derivados de la colessterina (dehidrocolessterina, colessterona, un derivado carboxilo, sales de calcio, que se añaden secundariamente, así como algunos fosfolípidos).

El colessterol de las placas del ateroma proviene de la sangre, que lo transporta desde el intestino, en donde es absorbido, tanto el que proviene del exterior por la dieta, como el sintetizado por el organismo en el hígado, ya que éste es eliminado por la bilis.

Del intestino a la sangre parten diariamente 20 gr.

Una parte de la coles-terina vascular procede de los alimentos, como se ha demostrado con la administración de isótopos de coles-terina marcados con Cl_{14} .

La proporción de mezcla de los lípidos del suero en la aterosclerosis está modificada en el sentido de que el cociente coles-terina/fosfolípidos está desplazado a favor de la coles-terina. Normalmente es inferior a 1.

Los fosfolípidos hidrófilos son en gran parte responsables de la fina dispersión de los lípidos séricos y repetidas veces se ha opinado que una causa del desarrollo de las arteriosclerosis era una deficiencia relativa de fosfolípidos.

Clasificación de la aterosclerosis bajo el punto de vista de su patogenia.- a) La aterosclerosis producida por la involución senil. b) La aterosclerosis ocasionada por alteraciones del suero.

La primera está ocasionada por lo mismo que detiene el crecimiento de los tejidos, produciendo una discoloida-lidad del plasma celular, alteraciones en la circulación linfática, favoreciendo todo ello el depósito de la coles-terina, con las características diferenciales de que lo hace, sobre todo, en la túnica media más frecuentemente que en la íntima.

En la aterosclerosis no seniles el depósito de los lípidos se hace más frecuentemente en la íntima que en la capa media y además, el mecanismo del depósito de lípidos es el trastorno de los lípidos del suero comprendiendo tres grupos : a) la aterosclerosis que se forma por la alteración cualitativa de los lípidos de la sangre no cuantitativa.

b) La aterosclerosis consecutiva a una hipercoles-terinemia en sangre. c) Las aterosclerosis experimentales que se obtienen con una ingesta muy abundante en grasas y que solo se alcanza en los animales de laboratorio, pues si se quiere administrar las cantidades de grasas y coles-terina necesarias para el desarrollo de la aterosclerosis coleste-

rónicas en conejos, un hombre tendría que ingerir diariamente 10 litros de leche, 10 huevos, 2 kg. de queso, 100 gr. de manteca, 5 kg. de carne.

Con esta clasificación nos podemos explicar todos los casos de arteriosclerosis, tanto los de aquellos lugares en que ingieren gran cantidades de grasas, como en aquellos casos que se manifiesta en sitios que el consumo de grasas no es elevado. También nos explica (esta clasificación) que los nefróticos, diabéticos, mixedematosos, en que cursan con una lipemia aumentada, sea la aterosclerosis una complicación casi obligada.

Ultracentrífuga.- Con este método y con el de la electroforesis, fué posible el estudio de los enfermos con aterosclerosis cuyo suero no había alteración cuantitativa de los lipoides, sino cualitativa.

Se descubrió que los lipoides no circulan disueltos por la sangre, sino que forman una unión con las proteínas llamadas cenapsas y constituyen las lipoproteínas.

Por la pequeñez de las moléculas de lipoproteínas es preciso emplear grandes campos de gravitación. Estos se obtienen con centrífugas de gran número de revoluciones, de 67.000 rotaciones por minuto. Las partículas más densas emigran en el sentido de la fuerza centrífuga, en tanto que las menos densas emigran en el sentido de la fuerza centrípeta. Como unidad se utiliza la Sf., que se define como la velocidad de emigración de 10^{-13} cm/seg. por campo. En las lipoproteínas del suero, se encuentran constantes de flotación que oscilan entre 3 y 400 unidades.

Las de 10 a 20 U. Sf. según Gofman, son las directamente responsables de la aterosclerosis.

Las Sf. 3-8 se presentan prácticamente en todo suero y no se relacionan con la arteriosclerosis.

Según Gofman la causa de la arteriosclerosis reside en no desintegrarse las partículas alimenticias de gran tamaño en otras de menor tamaño molecular.

Lipoidograma.- La colocación de 0,6 décimas de cc. o sea, cuatro veces superior a la de las proteínas, se utiliza sobre todo para investigar el factor aterogénico de la arteriosclerosis, que viene representado por el cociente beta-lipoproteínas/alfa-lipoproteínas, cuyo aumento origina a la larga este proceso; el factor aterogénico se puede modificar. Antonini y Fiva, por la acción de la heparina, se corrige aumentando el denominador, o sea, las alfa-lipoproteínas y disminuyendo en ocasiones el numerador, o sea, las beta-lipoportefnas.

Clinicamente se ha encontrado enfermos que se benefician de este tratamiento con heparina, a dosis de 25 mg. a días alternos, las lesiones arterioscleróticas hasta ahora sin irreversibles, lo que se ha comprobado es un enlentecimiento de la marcha de la enfermedad y, por tanto, mejora de los síntomas de que ella dependen; son, sobre todo, evidentes, en las estenocardias de causa aterosclerótica, en ellas la detención de la afección produce un mejoramiento subjetivo, aminorando el dolor y las crisis, parece como si esta detención de la evolución diera tiempo a mejorar la irrigación.

Reumatismo articular agudo (Fig.52)

Lüchtes en los Estados Unidos ha practicado investigaciones relativas a la electroforesis en enfermos afectos de reumatismo articular agudo. Este autor ha observado un aumento de las globulinas alfa y gamma globulina.

En los casos graves, hiperpiréticos y muy artrálgicos el aumento de estas globulinas es importante, dando a la curva electroforética un aspecto sumamente particular, y análogo de un caso a otro.

Cuando la afección retrocede, la proporción de globulinas alfa y gamma baja progresivamente.

La aplicación del glucidograma para el diagnóstico del reumatismo es debido, en gran parte, al profesor Roberto Reynaud y a su escuela de Argelia.

Este método es colocado entre los mejores, porque sirve para el diagnóstico y para establecer la conducta de tratamiento de la enfermedad de Bouillaud.

Se pensó en este método de coloración utilizando las técnicas histoquímicas de coloración.

Meyer clasifica las glucoproteínas en : Mucopolisacáridos neutros, comprendiendo la haptoglobulina, la proteína C y varias estimulinas hipofisarias.

Mucopolisacáridos ácidos, entre los cuales se encuentra el ácido hialurónico, la heparina, el ácido condroitin sulfúrico y la anihialuronidasa, no específica.

El aumento de la alfa 2 globulina en la enfermedad de Bouillaud es producido por las glucoproteínas.

Hay variaciones fisiológicas de las glucoproteínas séricas del adulto y del viejo, como también las hay en las proteínas y en los lípidos.

Los valores medios de las glucoproteínas son más estables en los hombres que en las mujeres, donde se notan dos máximos, el primero entre 40 y 50 años y el segundo después de los 70, y un mínimo entre 60 y 70. Los desvíos que hay

en el hombre y la mujer de sus cantidades en muchoproteínas muestran unas diferencias más grandes en la mujer, sobre todo a partir de los 40 años, y hay aumento en los dos sexos con la edad.

En la mujer de 40 a 50 años el aumento de las cantidades de glucoproteínas observadas es debido al aumento de las fracciones, excepto la gamma globulina; el mínimo entre los 60 y 70 años es debido a la disminución de las fracciones alfa 2 y gamma; el máximo entre los 70 y 85 es debido al aumento de las alfa 2 globulinas.

Fracciones glucoproteicas.- Las fracciones alfa 2 y beta en el hombre varían en sentido inverso, de donde dos tipos de glúcidogramas, el uno más frecuente en el joven, con predominio de alfa 2; el otro más frecuente después de los 40 años, predominan las beta globulinas.

Vanzatti y sus colaboradores han notado un aumento de los polisacáridos totales y de las fracciones globulínicas en los sujetos viejos.

La escuela de Argelia ha realizado un trabajo sobre un lote de enfermos, sacando las siguientes conclusiones.

Se ha escogido la enfermedad de Bouillaud y se ha comparado el electrocardiograma, la v.s.g. y el glúcidograma.

Con el e.c.g. se observa alargamiento del espacio PQ, la v.s.g. es acelerada, y se ha visto por estadística que la prueba más fiel es el glúcidograma.

En algunos enfermos en que el tratamiento antireumático había normalizado el e.c.g. y la v.s.g. y que el glúcidograma no se había normalizado, era mayor el número de recaídos que los enfermos en que se habían normalizado todas las pruebas, incluso el glúcidograma.

Por tanto, el glúcidograma detecta la actividad del proceso reumático, incluso cuando las demás pruebas clásicas, como el e.c.g. y la velocidad de sedimentación no lo acusan.

En los sujetos de reumatismo articular agudo, antes del tratamiento, revela unas perturbaciones uniformes de las glucoproteínas séricas, aumento importante de las fracciones alfa 1 y alfa 2, entrañando un aumento de la superficie total del glúcidograma.

En la enfermedad de Bouillaud se encuentra frecuentemente el alargamiento de PQ. Su interés diagnóstico es cierto. No obstante, es infiel si se le juzga por la cantidad de e.c.g. normales; en el reumatismo articular agudo el alargamiento PQ va a la par con la afección cardíaca la mayor parte de las veces y alguna parece normal, habiendo una lesión valvular.

La v.s.g. se ha considerado como la prueba más importante en el r.p.a., su interés reside en la evolución de la enfermedad. Hay otras pruebas también importantes, como la cantidad de fibrinógeno y de la haptoglobulina sanguínea, la presencia de antiestreptolisinas O, la prueba de la antihialuronidasa no específica, la proteína C reactiva, prueba del latex.

En resumen, el glúcidograma según los resultados de las experiencias de Reynaud parece ser un gran medio de diagnóstico para afirmar o despistar un r.p.a., superior a los otros exámenes clásicos.

Immunolectroforesis en el reumatismo.- Los estudios de las proteínas en el suero y las secreciones articulares de enfermos reumáticos tienen por motivo precisar la actividad y duración de los procesos inflamatorios, de distinguir los elementos que faciliten la diferenciación de las diversas formas de reumatismo y esclarecer su patogenia.

Bajo el punto de vista clínico y patogénico es posible distinguir el reumatismo articular agudo de la poliartritis crónica evolutiva. El reumatismo articular agudo aparece secundariamente después de las infecciones debidas al estreptococo y sobre todo en los tres primeros años de la vida. Esta enfermedad ataca generalmente el corazón y coincide en la formación en el organismo de anticuerpos contra los antígenos estreptocócicos. La poliartritis crónica evolutiva afecta, en la mayoría de las veces, a las mujeres

en el momento de la menopausia, al nivel de las pequeñas articulaciones. No se puede encontrar relación con las afecciones estreptocócicas y la enfermedad da raramente complicaciones cardíacas. Ella entraña cambios en las proteínas séricas que están relacionadas con la formación de anticuerpos. En una posición intermedia se encuentra la espondiloartritis anquilopoyética.

La electroforesis, los análisis químicos y otros tipos de análisis, han llegado en los últimos años a los siguientes resultados : En los estados agudos de todas las formas de reumatismo inflamatorio existe un aumento de las alfa globulinas, al cual se puede responsabilizar la elevación a menudo descrita de la tasa de azúcares y de la hexosamina, ligadas a las proteínas. Son sobre todo las alfa 2 globulinas que están aumentadas, como lo muestra la electroforesis; pero unas alfa 1 glucoproteínas, como la mucoproteína de Winzler, puede también estar interesadas. A medida que la inflamación pasa a crónica, se puede observar un aumento de las gamma globulinas, mientras que las alfa globulinas decrecen. Se ha de hacer notar que no hay paralelismo entre el aumento de títulos de antiestreptolisinas en el reumatismo articular agudo o los títulos de hemoaglutinación en la poliartritis crónica evolutiva y las tasas de las gamma globulinas.

El análisis inmunoelectroforético ha permitido precisar estas modificaciones proteicas.

Se obtienen los mejores resultados cuando se sirve en la revelación inmunológica de antisueros de conejo anti suero de reumáticos, gracias a poseer muy elevado anticuerpo contra aquellos mismos constituyentes proteicos que se encuentran elevados en los sueros de reumáticos.

Unos aumentos de ciertas globulinas han podido ser puestos en evidencia en estos casos de poliartritis crónica evolutiva, donde la electroforesis de papel mostraba una tasa global de esta fracción cerca de la normalidad. Así se ha podido encontrar en cinco casos sobre ocho estudiados, en una serie presentaban un aumento de 2 alfa 1 globulinas. En otro grupo se ha podido notar, utilizando un inmunosuero de

conejo antisuero humano normal, en cinco casos sobre nueve, una cantidad crecida de dos alfa 1 globulinas que tienen una migración lenta (Cleve). Entre las alfa 2 globulina, se ha encontrado en general (seis casos sobre los ocho estudidos con el inmunosuero antisuero de reumático) un aumento de una fracción: es posible que ella corresponda a la haptoglobulina (Cleve y Hartmann).

Siempre en estas condiciones las modificaciones aparecen en el dominio de las beta 2 globulinas (Cleve, Hartmann) dos de entre ellas a difusión rápida se encuentran aumentadas; éstas son la beta 2A y la beta 2B globulinas. Otra con difusión lenta ha podido ser identificada con la beta 2M globulina (Francq) gracias a un inmunosuero preparado con la fracción macroglobulínica de un suero de enfermo de Waldenström.

La proteína C reactiva (p.c.r.).- Esta proteína, como se sabe, aparece en los sueros de numerosas enfermedades inflamatorias y es determinada por su propiedad de precipitar con el polisacárido C del neumococo. Su tasa francamente elevada en las enfermedades reumáticas, ha permitido varios estudios con la finalidad de determinar su movilidad electroforética.

Scheidegger, luego Burtin, haciendo desplazar en gelosa unos sueros de niños afectos de reumatismo articular agudo, luego empleando como revelador inmunoquímico un inmunosuero de conejo anti-p.c.r., han observado que se trata de una beta 1 globulina. Unas constataciones análogas han sido hechas con unos sueros de poliartritis crónica evolutiva. Es de notar que la electroforesis de zona da resultados diferentes si se utiliza soportes diferentes. La p.c.r. sería una gamma globulina rápida, Wood, Mac Carthy y Slater que se sirven del almidón como soporte; Bustamante y cols. separan las proteínas por electroforesis sobre papel y proceden a una revelación directa por un suero anti-c.r.p., llegan a una conclusión vecina, pero la electroforesis libre, entre las manos de los mismos Wood, Mac Carthy y Slater, ha demostrado que la p.c.r. era una beta globulina. Resulta que en el caso de la p.c.r. es la gelosa el mejor medio para la electroforesis de zona.

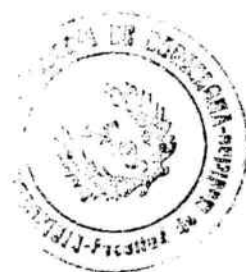
En su tesis Keremans ha constatado que ciertos inmunosueros de caballo antisuero normal revelan la proteína C en ciertos sueros patológicos bajo forma de un trazado - de precipitación alargado, situado en la zona de las movi- lidades de las gamma-globulinas rápidas.

Factor reumático.- Se designan bajo este nombre - un constituyente unido a la gamma globulina que aparece en los sueros de la poliartritis crónica evolutiva y posee la doble propiedad de aglutinar los hematíes sensibilizados- humanos o animales, o el latex, y de precipitar con la - fracción de Cohn humana calentada. Este constituyente es- tudiado por medio de la ultracentrifugación y de la elec- troforesis de zona sobre almidón, se ha revelado tener una movilidad gamma rápida y una constante de sedimentación de 19. Dos métodos han sido empleados por Franq, Eyquem y Podliachouk para estudiar el factor reumático por inmuno- electroforesis. Al principio han absorbido sus immunoanti- sueros o antisuero antipoliartritis crónica evolutiva por unos glóbulos rojos sensibilizados puestos en contacto con el suero de la poliartritis crónica evolutiva, luego cuida- dosamente lavados. Ellos tienen así desaparecidos los anti- cuerpos contra la beta 2M globulinas, contra una alfa 2 globulinas y en una cierta medida los anticuerpos contra las gamma globulinas. Si los glóbulos rojos han estado en contacto a título de control, con un suero humano normal, no absorben más que los anticuerpos contra la alfa 2 euglo- bulina.

En otra experiencia, Franq y colaboradores han se- parado el factor reumático disociando con la urea el comple- jo formado por unos glóbulos rojos formolados sensibiliza- dos, o con unas gamma globulinas asociadas por calentamien- to. El estudio electroforético de este factor reumático así separado (y activo en las pruebas de aglutinación de los hematíes sensibilizados y del latex) ha demostrado la presencia de beta 2M globulinas, de una alfa 2 euglobulina y de un poco de gamma globulinas. Como control, la separa- ción de los glóbulos rojos sensibilizados tratados por un suero normal contiene las mismas proteínas, salvo las beta 2M globulinas. Es, pues, cierto que el factor reumático tie

ne unas relaciones estrechas con la beta 2M globulinas. Se hará notar, no obstante, que no parece haber relación entre las tasas séricas de la beta 2M globulinas y el título de hemoaglutinación obtenido por el método de Waaler-Rose. Por el contrario, el factor reumático aislado parece tener una actividad hemoaglutinante paralela a su posesión en beta 2M globulinas.

Las antiestreptolisinas.- Scheiffart ha intentado identificar por medio del análisis inmunolectroforético las fracciones que participan en la reacción de la antiestreptolisina. Para la revelación una vez separado por electroforesis, en lugar del antisuero, él ha hecho difundir la antiestreptolisina en la gelatina. Así ha obtenido unas líneas de precipitación en las zonas de las alfa 2, beta 1 globulinas, fracciones que están a menudo aumentadas en estos sueros del reumatismo. Estos precipitados formados por la acción de la estreptolisina podrían ser debidos a una reacción específica antígeno anticuerpo. Es, de todas maneras, interesante constatar en este caso, una correlación entre las reacciones debidas a las antiestreptolisinas y el aumento de ciertos constituyentes séricos.



Neoplasia (Fig. 53 a 59)

No se ha encontrado hasta ahora una modificación de la proteinemia que sea típica de la neoplasia. Solo en el plasmocitoma se ha confirmado una hiperproteinemia, con hiper-gammaglobulinemia muy intensa.

Con la electroforesis se ha podido comprobar que las neoplasias presentan como características un descenso de la albúmina, con tendencia al aumento de las globulinas, principalmente de la fracción alfa.

Gras ha comprobado una tendencia al aumento de todas las fracciones globulínicas : alfa, beta y gamma.

Al parecer, no puede atribuirse a la neoplasia en sí la modificación de las proteinemias, sino que ésta sería más bien debida a las complicaciones inflamatorias o metabólicas que comporta en el sentido de una hiponutrición general o de una perturbación en el metabolismo proteico.

En cuanto a las glucoproteínas, el cancer produce un aumento de 500 mm^2 en la curva electroforética, con aumento de alfa 2 y beta.

Las neoplasias que afectan a hueso, metastasis óseas, etc., producen un aumento de 1.000 m^2 .

Los estudios llevados a cabo por Brissaud y Jayle, Juret y cols. Malecot, Nyman y otros autores, han permitido sentar las siguientes conclusiones :

En los casos muy localizados los valores de Haptoglobina, en general, son normales o poco elevados.

En las metástasis dependen de la localización y extensión de las mismas encontrándose valores elevados cuando aquéllas radican en huesos o pulmón y valores bajos en las metástasis hepáticas, en relación con la posible insuficiencia hepática.

La tasa de Haptoglobina se eleva en caso de complicaciones exudativas o inflamatorias, así como con el tratamiento con andrógenos.

Enfermedad de Waldeström (Fig. 60 a 62)

El suero de individuos normales contiene poca cantidad de macroglobulinas, o sea, proteínas de constante de sedimentación elevada.

Los primeros análisis antigénicos de suero de macroglobulinas fueron ejecutados en 1952-53 por Habich y Hässing que inmunizaron conejos con el suero de pacientes que sufrían de macroglobulinemia. Los inmunosueros así obtenidos, después de saturados con un suero normal, no precipitaban más que el suero de pacientes afectados de macroglobulinemia de Waldeström. Los sueros de individuos normales, así como el adenoma y linfadenosis crónica, no son precipitados por el inmunosuero de conejo saturado. Al lado de anticuerpos considerados como específicos de la enfermedad, se puede poner en evidencia en cuatro sueros de conejo, después de la absorción con el suero de macroglobulinas heterólogas, una fracción de anticuerpo específica del individuo. El inmunosuero así absorbido no reacciona más que con el suero que ha servido para inmunizar el conejo. Estas experiencias les trajeron la conclusión de que existía en ciertos pacientes una fracción propia de la enfermedad y, en ciertos casos, una fracción específica del individuo mismo. Estas experiencias fueron confirmadas en 1955 por Kanzow, Scholtan y Müting, que tuvieron ocasión de examinar 20 casos de macroglobulinemia de Waldeström. Mostraron en esta enfermedad que la macroglobulina posee verdaderamente características particulares. El suero de pacientes que presentan una macroglobulinemia sintomática (cirrosis y nefrosis) no eran precipitados por el inmunosuero de conejo saturado por el suero normal o, a lo menos, no lo era a diluciones más pequeñas. En 1955, Weber y Hässing mostraron que la especificidad individual de un suero de macroglobulinas era ligada a la fracción pesada del suero.

La inmunolectroforesis de Grabar y Williams en el cual el método de difusión en medio gelificado es combinado con una separación electroforética de mezclas de antígenos, permite hacer nuevos progresos en el análisis antigénico de las macroglobulinas. Al principio, Scheidegger en-

contró en el suero de individuos normales la presencia de una beta-globulina idéntica, del punto de vista de su especificidad antigénica a una proteína de constante de sedimentación 21 S aislada a partir de un suero patológico por precipitación al frío. Esta globulina fué llamada al principio beta 2C, la letra C era puesta por Crio. Cuando fué demostrado posteriormente que la crioprecipitación no era un carácter obligatoriamente ligado a la presencia de macroglobulina, la designación beta 2M fué adoptada. Esta fracción beta 2M es idéntica, como lo ha demostrado Hartmann, al beta 2 sedimentado rápidamente en el suero normal. Luego Burtin y cols. demostraron que el suero de pacientes que sufrían de macroglobulinemia de Waldeström se caracterizaban en la inmunolectroforesis por un fuerte aumento de esta fracción beta 2M. La línea correspondiente al beta 2M demuestra frecuentemente una doble curvatura que dejaría suponer que en tales sueros se encuentra en presencia de una proteína presentando dos movibilidades electroforéticas, pero teniendo una especificidad antigénica común. Por otra parte estos mismos autores han demostrado en un cierto número de casos, anomalías en las gamma globulinas. Ellos emiten la hipótesis de que las especificidades individuales de los sueros de macroglobulinas se pueden eventualmente relacionar a una anomalía estructural de las gamma globulinas. La estructura antigénica de las beta 2M en la enfermedad de Waldeström sería normal según estos autores. Correspondería enteramente a aquella de la beta 2M del suero normal. La precipitación cruzada descrita por Habish y Hässing no respondería, según Burtin y otros, en una especificidad particular de la macroglobulinemia patológica. Ello sería más bien el signo de un aumento cuantitativo de la fracción beta 2M normal.

Resultados obtenidos por medio de inmunosueros de conejos inmunizados por suero de pacientes que padecen de macroglobulinemia.- Estos inmunosueros, antes de todo tratamiento, muestran también bien en el suero normal como en el suero del paciente, cuatro o cinco líneas de precipitación. Después de la absorción con el suero normal no muestran más que una sola línea con el suero de macroglobulinemia.

La posición de esta línea es variable de un suero de enfermo a otro, frecuentemente se encuentra en la región beta 2. En otros casos, ocupa una posición alfa 2 o beta 1 y en la misma gamma. Los análisis inmunolectroforéticos de suero de pacientes afectados de macroglobulinemia de - - Waldeström muestran los resultados siguientes: En esta afección las macroglobulinas beta 2 están aumentadas cuantitativamente y modificadas cualitativamente. Todas estas macroglobulinas llevan la determinante beta 2M presente en las macroglobulinas beta normales. Además, presentan el carácter de paraproteína que poseen un carácter antigénico específico particular en cada individuo. Al contrario, no es seguro que exista un determinante particular presente en el conjunto de los sueros patológicos, pero ausente en el suero normal. Estos resultados están en acuerdo con unas determinaciones químicas recientes de Putnam, mostrando una especificidad individual. Estas proteínas serían el producto de una síntesis aberrante, cuyo defecto sería variable de un enfermo a otro.

En caso de incertidumbre es necesario completar el estudio con un inmunosuero específicamente anti-beta 2M.

En la mayor parte de los casos, se produce una precipitación proteica masiva en el reservorio de partida, que puede impedir la formación de la imagen esperada, pero cuya observación misma es un elemento importante para el diagnóstico de la enfermedad.

Tratamiento con cisteína.- Se nota la aparición de un arco suplementario de naturaleza probable beta 2M. Esta presunción es confirmada por la utilización del inmunosuero 365 que no revela ni beta 2A ni gamma globulinas, individualiza la beta 2M globulina.

Un inmunosuero antigamma muestra que las gamma globulinas del suero patológico son sensiblemente normales.

La electroforesis debe ser practicada sistemáticamente en los casos de diagnóstico difícil, pues cada vez con la mejoría de la técnica, nos va siendo más útil en la clínica, ya que, por ejemplo, la enfermedad de Waldeström

da cuadros que dicha técnica nos ayuda mucho para el diagnóstico, como el caso descrito en la Presse Medicale que a continuación se extracta.

Macroglobulinemia de Waldeström de forma pleural. Aparición posterior del síndrome biológico (Cachin, Rouselet, Gullet-Rousset y Corcos).- Dice que la enfermedad de Waldeström ya no puede ser considerada más como una afección excepcional, tanto que las observaciones se han multiplicado en estos últimos años. Se debe hoy día evocar el diagnóstico delante de los cuadros más diversos.

En este caso que se cita, la macroglobulinemia ha revestido los trazos de una pleuresía serofibrinosa primitiva, en el curso de la cual se ha asistido a la eclosión del síndrome biológico, pudiéndose fijar aproximadamente el momento en que una macroglobulinemia franca ha hecho su aparición.

Quilotorax en el curso de la enfermedad de Waldeström (Perreaud, Joubaud y Dernin).- El quilotorax constituye una complicación excepcional de la enfermedad de Waldeström. A esta rareza se añade aquí dos elementos de interés : 1° Los estudios biológicos han encontrado una macroglobulinemia idéntica en el plasma y en líquido pleural; 2° la linfografía ha revelado la existencia de adenopatías profundas y bloqueo del canal torácico.

En este caso se apreciaba una v.s.g. 160 a la primera hora. La inmunolectroforesis se aprecia : importante aumento de la beta 2M, con neta disminución de la beta 2A y de las gamma globulinas.

Orina : Electroforesis en gelosa pico muy importante en la región de las beta globulinas. Estudio por el método de los inmunosueros antiproteicos : Presencia de proteínas de Bence-Jones de tipo II.

Se hace una punción del derrame pleural izquierdo, encontrándose líquido lactescente, que coagula espontáneamente en algunos minutos.

Mielograma : Proliferación de elementos de la serie linfocida, cuya morfología hace pensar en una enfermedad de Waldeström o un sarcoma.

Lipidograma de líquido pleural : Quilomicrones 85 %, alfa-lipoproteínas 5%, beta 10%.

La inmunolectroforesis del líquido pleural confirma la presencia de una macroglobulina, idéntica a la beta 2M detectada en el plasma.

Se admite que en la enfermedad de Waldeström es elaborada por la proliferación patológica de elementos linfocitulares; se encuentra esta lesión histológica especialmente en los ganglios, el bazo y la médula ósea. La presencia de una macroglobulina en el líquido pleural quiloso hace admitir el origen ganglionar. Ella sería secretada por las adenopatías, que tienen a la linfograffa el volumen y la irregularidad de los linfomas malignos : Esta es transportada por el quilo, que el bloqueo del canal torácico le impide verterse directamente a la sangre.



Mieloma (Figs. 63 y 64)

El mieloma tipo gamma es la paraproteína más frecuente.

El proteinograma sobre papel ya es revelador del mieloma, pero en ciertos casos el aspecto del diagrama es prácticamente normal y las gamma globulinas pueden también encontrarse disminuidas.

En este caso es la electroforesis la que confirma el diagnóstico de enfermedad de Kahler, mostrando un desdoblamiento anormal de las gamma globulinas y un arco suplementario con (el inmuosuero 99 igualmente revelado por) - los inmuosueros 010 y antigamma. Se nota como las anomalías inmunoquímicas son diferentes según los inmuosueros. Además, puede ser que en la electroforesis sobre papel la gamma globulinas esté disminuida, correspondiendo a una proteinuria de Bence-Jones abundante.

El mieloma a paraproteína beta 2A (conteniendo una proporción variable de determinantes gamma) es más rara. Rica en glúcidos, la paraproteína es de movilidad más rápida, sea beta, sea alfa 2.

Un caso en que el suero es crio-precipitable.- La electroforesis sobre papel se revela practicamente imposible a consecuencia de la viscosidad del suero y de la gelificación parcial a la temperatura de laboratorio.





El líquido que sobrenada despues de centrifugado a baja temperatura da una imagen prácticamente normal. Revelada la inmunolectroforesis correspondiente a las crioglobulinas, se nota la presencia de un arco de movilidad beta 2, a doble curvatura, particularmente limpio.

El suero total al revelarlo con antisuero 0,10 queda revelado en conjunto las globulinas inmunes.

Puede encontrarse en algún caso disminución de las gamma globulinas normales. La única anomalía que se puede encontrar, además discreta, concierne a la doble curvatura de la parte anódica.

... para poder con la mano ... de los ...
 ... de los ...

... las ... de los ...
 ... de los ...
 ... de los ...
 ... de los ...
 ... de los ...
 ... de los ...
 ... de los ...
 ... de los ...
 ... de los ...
 ... de los ...
 ... de los ...

CLÍNICA MÈDICA B. FACULTAT DE MÈDICA Professor Dr. M. SORIANO	CLÍNICA MÈDICA B. FACULTAT DE MÈDICA Professor Dr. M. SORIANO																				
<p>Mediana</p>  <table border="1"> <tr><td>Albucines</td><td>22%</td></tr> <tr><td>4 Globulines</td><td>22%</td></tr> <tr><td>4 Globulines</td><td>24%</td></tr> <tr><td>3 Globulines</td><td>12%</td></tr> <tr><td>2 Globulines</td><td>18%</td></tr> </table> <p>29 July 47</p>	Albucines	22%	4 Globulines	22%	4 Globulines	24%	3 Globulines	12%	2 Globulines	18%	<p>Mediana</p>  <table border="1"> <tr><td>Albucines</td><td>22%</td></tr> <tr><td>4 Globulines</td><td>22%</td></tr> <tr><td>4 Globulines</td><td>22%</td></tr> <tr><td>3 Globulines</td><td>20%</td></tr> <tr><td>2 Globulines</td><td>14%</td></tr> </table> <p>15 July 47</p>	Albucines	22%	4 Globulines	22%	4 Globulines	22%	3 Globulines	20%	2 Globulines	14%
Albucines	22%																				
4 Globulines	22%																				
4 Globulines	24%																				
3 Globulines	12%																				
2 Globulines	18%																				
Albucines	22%																				
4 Globulines	22%																				
4 Globulines	22%																				
3 Globulines	20%																				
2 Globulines	14%																				
<p>Mediana</p>  <table border="1"> <tr><td>Albucines</td><td>22%</td></tr> <tr><td>4 Globulines</td><td>22%</td></tr> <tr><td>4 Globulines</td><td>22%</td></tr> <tr><td>3 Globulines</td><td>20%</td></tr> <tr><td>2 Globulines</td><td>14%</td></tr> </table> <p>28 July 47</p>	Albucines	22%	4 Globulines	22%	4 Globulines	22%	3 Globulines	20%	2 Globulines	14%	<p>Mediana</p>  <table border="1"> <tr><td>Albucines</td><td>22%</td></tr> <tr><td>4 Globulines</td><td>22%</td></tr> <tr><td>4 Globulines</td><td>22%</td></tr> <tr><td>3 Globulines</td><td>20%</td></tr> <tr><td>2 Globulines</td><td>14%</td></tr> </table> <p>25 July 47</p>	Albucines	22%	4 Globulines	22%	4 Globulines	22%	3 Globulines	20%	2 Globulines	14%
Albucines	22%																				
4 Globulines	22%																				
4 Globulines	22%																				
3 Globulines	20%																				
2 Globulines	14%																				
Albucines	22%																				
4 Globulines	22%																				
4 Globulines	22%																				
3 Globulines	20%																				
2 Globulines	14%																				



Es de notar que la mayor parte de los mielomas crio globulínicos descritos son del tipo gamma.

Las modificaciones de las gamma globulinas son de diversos órdenes : 1º Existe un aumento a menudo considerable de una zona muy localizada de las gamma globulinas. Se traduce por espesamiento importante del trazo de precipitación en esta zona; el espesamiento se establece hacia el depósito de anticuerpos (en razón del exceso de antígeno). Esta anomalía es muy variable en esta situación. Comprende frecuentemente las gamma globulinas lentas, a veces también las gamma globulinas de movilidad media, o también aquellas que emigran en la zona electroforética de las beta globulinas. En semejante caso, cuando se emplea para revelación inmunoquímica un inmunosuero antisuero humano normal, la observación puede ser entorpecida por los trazos de precipitación de otras beta globulinas. Es suficiente, entonces, empezar otra vez la experiencia, utilizando el mismo inmunosuero previamente absorbido por las gamma globulinas : uno de los trazos de precipitación de movilidad beta falta, lo que permite identificar con certidumbre la proteína correspondiente como perteneciente al grupo inmunoquímico de las gamma globulinas. En otra, se nota a menudo la disminución o la casi desaparición de las gamma globulinas de movilidad diferente de aquellas que están aumentadas. La distribución electroforética de las gamma globulinas es estrechada.

En un cierto número de casos, se puede constatar la existencia de una pequeña línea de precipitación, fina y corta, situada en la concavidad de la zona espesa del trazado de precipitación de las gamma globulinas, con aproximadamente la misma movilidad, y más alejado del reservorio de los anticuerpos. Esta línea desaparece también cuando se emplea un inmunosuero absorbido por las gamma globulinas.

Se ha creído al principio que estas proteínas tan aumentadas son inmunoquímicamente normales. Scheidegger ha probado lo contrario, que lo puede faltar un determinado antígeno. En efecto, cuando se junta al suero patológico que presenta estas anomalías, una proteína de Bence-Jones, el trazado de precipitación suplementaria, debido a esta última poco o bien se recuerda a la línea de las gamma globuli-

nas aumentadas, o bien el crecimiento por juntarse al pequeño trazo suplementario situado detrás de la línea principal. La conclusión lógica lanzada por Scheidegger es que el determinante antigénico llevado por la proteína de Bence Jones existe en la masa principal de las gamma globulinas del suero patológico en el primer caso, y falta en el segundo. Estas gamma globulinas son entonces anormales, inmunológicamente incompletas, a excepción de aquellas que dan la pequeña línea de precipitación suplementaria. Así en esta eventualidad, hay coexistencia de dos tipos de gammaglobulinas: las unas, probablemente muchas, las más importantes, son privadas de un determinante antigénico; las otras, son completas y reaccionan solamente con los anticuerpos correspondientes al determinante antigénico ausente en las globulinas patológicas, de donde, al menos en parte, la fineza de su línea de precipitación.

2° Se constata un trazado de precipitación secundario situado más cerca del depósito del inmunosuero, que el de la línea de las gamma globulinas normales, recordando a esta última sin el crecimiento. Hecho importante, después de la saturación del inmunosuero con las gamma globulinas, estos dos trazos desaparecen; corresponden, por lo tanto, a dos proteínas, dando entre ellas una reacción de crecimiento; la línea suplementaria es debida a unas gamma globulinas anormales. La movilidad de esta última línea es variable, frecuentemente está situada en la zona beta o es intermedia de las beta y gamma globulinas. Está algunas veces entre las más lentas de las gamma globulinas. Se observa particularmente en el suero de los sujetos que tienen albúmina Bence-Jones en la orina en gran cantidad, y de una manera comparativa, las movilidades electroforéticas de las gamma globulinas séricas anormales y de la proteína de Bence-Jones son de ordinario las mismas en un mismo enfermo. Así se ha llegado a suponer la identidad de estas gamma globulinas séricas anormales y la proteína Bence-Jones correspondiente. La prueba ha sido hecha absorbiendo el inmunosuero por esta proteína de Bence-Jones y utilizando en seguida, para la revelación inmunológica del inmunosuero del mismo suero mielomatoso; Se ve entonces desaparecer la línea suplementaria de las gamma globulinas anormales y per

sistir sin modificación aquélla de las gamma globulinas normales. Se ha podido encontrar en el suero el mismo grupo de gamma globulinas anormales que en la orina : La saturación del inunosuero con una proteína de Bence-Jones no hace desaparecer la línea de precipitación de las gamma globulinas anormales dadas por un suero de mieloma, si la proteína de Bence-Jones empleada por la absorción no es del mismo grupo inunoquímico que aquella secretada por el enfermo - que se ha estudiado en el suero.

La línea de precipitación suplementaria queda paralela a la línea de las gamma globulinas, sin juntarse en algunos casos.

Esta línea de precipitación suplementaria puede tener dos o tres curvaturas de movilidad variable. En algunos casos, en fin, se observan dos o varias líneas de precipitación suplementaria, todas se juntan sin crecer, las líneas de las gamma globulinas normales. Son muchas las complejidades de las anomalías proteicas enciertos sueros de mieloma. Es preciso remarcar, aquí, que estas gamma globulinas anormales no pueden ser detectadas más que con sueros convenientemente escogidos, es decir, capaces de reaccionar con las proteínas de Bence-Jones. Resulta que según el o los inunosueros empleados, la frecuencia de las gamma globulinas anormales varía mucho.

3° En algunos casos se nota la existencia de dos líneas de precipitación en la zona de las gamma globulinas, la una lenta y la otra rápida; las dos se cruzan sin empalmar. Las dos desaparecen después de la saturación del inunosuero por las gamma globulinas. Es preciso admitir que las dos gamma globulinas así individualizadas son una y otra anormales, cada una de ellas tiene ciertas agrupaciones antigénicas normales de gamma globulinas, pero no las que posee la otra.

Las modificaciones de las beta 2A globulinas.- Estas modificaciones no pueden ser bien estudiadas más que empleando un inunosuero antisuero humano normal absorbido - por las gamma globulinas. Son de diverso tipo : Tanto falta

la línea de precipitación de la beta 2A globulina (algunas veces aparece muy pequeña y tardíamente, lo que traduce la gran disminución de esta proteína); tanto existe, al contrario, un trazo de precipitación más fuerte y denso que de ordinario y de forma anormal, netamente incurvada. Su movilidad puede también ser modificada y reproducirse de ella - unas gamma globulinas anormales.

Inmunolectroforesis de leucosis y de sarcomatosis. Los numerosos estudios consagrados a la electroforesis en papel en el curso de leucosis agudas y de leucosis mieloides crónicas, han mostrado que las modificaciones observadas son inconstantes y variables. Ocurre lo mismo con el análisis inmunolectroforético, pues los resultados son bastante engañosos. En las leucosis linfoides crónicas se observan, a menudo, unas perturbaciones importantes de las beta 2 y las gamma globulinas; se trata generalmente de un déficit. Es sobre este mismo grupo de constituyentes que tienen modificaciones bastante frecuentemente constatadas en el curso de linfosarcomatosis y de reticulosarcomas.

Leucosis aguda.- Este estudio ha sido llevado a cabo sobre 70 enfermos (Grabar). En un enfermo sobre cuatro el aspecto del diagrama es sensiblemente normal. En un caso sobre tres se observa un neto aumento de seromucoide ácido; esta constatación concuerda con los datos aportados por otras técnicas (Fine y Moschides).

Las alfa 1 globulinas son sensiblemente normales. Por el contrario, se nota frecuentemente bastante aumento de ciertas alfa 2 globulinas, tanto alfa 2 macroglobulinas como haptoglobulinas. La siderofilina siempre es normal. Se ha constatado una disminución de las beta 1A globulinas en dos leucosis agudas a monocitos. Como esta globulina es el soporte de ciertas fracciones de complemento, conviene notar aquí que los raros casos de leucosis agudas en el curso de los cuales se ha podido detectar unos anticuerpos antileucocitarios, conciernen sobre todo unas leucosis a monocitos (Kilman y Seligmann).

Las perturbaciones, por tanto, sobre las gamma globulinas y sobre las beta 2 globulinas son frecuentes, pero muy variables. A veces el aumento de las gamma globulinas es muy importante; ello sobre todo si se trata de leucosis agudas a monocitos. Mas a menudo (el 50% de los casos) se observa un aumento moderado de las gamma globulinas con, una vez sobre dos, un aumento paralelo de las beta 2A y beta 2M globulinas. En algunos casos se ha constatado un franco aumento de estas beta 2 globulinas, mientras que las gamma globulinas no eran más que moderadamente aumentadas. A la inversa, se observa a veces una franca disminución de las gamma globulinas y de las beta 2 globulinas, o una neta disminución de las beta 2A globulinas, sin otra modificación. Estas hipogamma y hipobeta 2 globulinemias han sido encontradas tanto en el adulto como en el niño; tanto en las formas mieloblásticas como en las formas hipoblásticas.

En una niña de tres años afecta de leucosis aguda linfoblástica han constatado una disminución considerable de las gamma globulinas y de las beta 2 globulinas. El aspecto del diagrama era el de una agammaglobulinemia. Como no se ha encontrado el hecho de infecciones iterativas en el pasado de esta niña, es probable que esta profunda hipogamma globulinemia fuese secundaria a la hemopatía.

En los sueros de leucosis aguda común, no se ha encontrado jamás gamma globulinas inmunoquímicamente anormales, análogas a aquéllas que se detectan en el mieloma. La sola anomalía cualitativa de las gamma globulinas que se ha observado (en el curso de una leucosis subaguda mielomonocitaria tipo de Naegeli) consiste en un desdoblamiento de la línea de precipitación con presencia hacia el cátodo de una línea suplementaria. El solo caso en el curso del cual se ha detectado unas gamma globulinas anormales del tipo mielomatoso es una leucosis a plasmocitos, sin modificaciones esqueléticas, con trazado normal de la electroforesis de papel, pero que existía una pequeña proteinuria de Bence-Jones. El diagrama inmunoeléctrofóretico mostraba, en otro caso, una considerable disminución de las beta 2A globulinas.

En los enfermos cuyo suero ha podido ser estudiado en remisiones completas, las anomalías iniciales habían desaparecido, pero no ha podido establecerse una correlación entre la naturaleza de las perturbaciones protídicas de una parte, y el modo evolutivo de la leucosis, su sensibilidad a las terapéuticas, por otra.

Unas experiencias realizadas con la ayuda de inmaⁿ sueros de conejo antisueros de leucemia, han buscado poner en evidencia en los sueros de leucosis constituyentes anor^males ausentes en el suero normal.

Para cada uno de estos inmunosueros se ha estudiado un diagrama inmunolectroforético, comparativamente con el suero humano normal de una parte, y con el suero patológico utilizado para la inmunización, por la otra. Las solas diferencias constatadas eran de orden cuantitativo. No se ha observado jamás una línea de precipitación presente en el suero leucémico y ausente en el suero normal. Cada uno de estos inmunosueros ha sido muy cuidadosamente preparado por una mezcla de sueros humanos normal. Dos antisueros sobre veinticuatro daban en estas condiciones una fuerte reacción de precipitación con el suero leucémico homólogo y con los numerosos otros sueros de leucosis aguda. El análisis inmunolectroforético ha demostrado que los anticuerpos en cada uno de estos dos inmunosueros reaccionaban con una beta 1 globulina del suero de leucémico. Pero ha podido ser demostrado que el antígeno sérico responsable de esta reacción era la proteína C reactiva.

Leucosis mieloide crónica.- En tres enfermos sobre cuatro, se constata un franco aumento de las gamma gbbulinas. A veces, esta hipergammaglobulinemia es considerable. El aumento de la beta 2A globulina ha sido siempre paralelo al de las gama globulinas.

En un enfermo sobre dos, se observa un franco aumento de la beta 1A globulina. El alfa 2 globulina está francamente aumentada.

No se ha podido establecer ninguna correlación entre las modificaciones del diagrama inmunolectroforético y la importancia de la esplenomegalia o la importancia de la hiperleucocitosis.

En el curso de las remisiones el diagrama electroforético vuelve a la normalidad.

El análisis inmunolectroforético de los sueros de leucemia mieloide ha sido efectuado a la ayuda de inmuno-sueros antileucocitarios previamente absorbidos por el plasma humano normal. La posesión del suero de antígenos leucocitarios está considerablemente aumentada en el curso de leucosis mieloide crónica. La inmunolectroforesis ha permitido así detectar en el suero de ciertos de estos enfermos cinco constituyentes leucocitarios diferentes cuya movilidad electroforética es la siguiente : 2 alfa-globulinas, 2 beta2-globulinas y 1 gamma-globulina.

Leucosis linfoide crónica.- Es en esta variedad de leucosis que los análisis inmunolectroforéticos de suero muestran las perturbaciones más importantes. Las anomalías más importantes están esencialmente sobre las gamma y las beta2-globulinas.

Así la inmunolectroforesis confirma la frecuencia de hipogammaglobulinemia en el curso de leucosis linfoide crónicas, noción ya aportada por la electroforesis en papel. Pero esta técnica permite dos constataciones suplementarias :

1° Paralelo a la hipogammaglobulinemia se observa, como en la mayoría de las agammaglobulinemias congénitas o adquiridas, una disminución de beta 2A y beta 2M globulinas. En algunos de los enfermos, el déficit en gamma y en beta2 globulinas no era tan profundo como en las agammaglobulinemias congénitas: la posesión del suero en gamma-globulinas era también superior a 0,8 gr/l.

2° En un número importante de casos , la inmunolectroforesis pone en evidencia un déficit profundo en beta 2A



y beta 2M globulinas, mientras que las tasas de las gamma-globulinas es sensiblemente normal o moderadamente disminuido.

En los enfermos que se han estudiado por Grabar ningún carácter clínico (importancia de la esplenomegalia y de las adenomegalias) hematológico (importancia de la leucocitosis, morfología de los linfocitos, existencia o no de una anemia hemolítica (importancia de la leucocitosis existencia o no de una anemia hemolítica) ni evolutiva (sensibilidad a la quimioterapia) no separa las formas con o sin déficit en gamma o beta 2 globulinas. Bien entendido, se observa una particular susceptibilidad a las infecciones a los enfermos que presentan estos déficit proteicos.

Linfosarcomas y reticulosarcomas.- En la mitad de los casos, el diagrama inmunolectroforético está poco modificado.

Fuera de un gran aumento frecuente de la haptoglobulina en los reticulosarcomas, es también aquí en el grupo de las gamma y de las beta2 globulinas que tienen las perturbaciones más claras. Cada uno de estos constituyentes puede haber sido aumentado, disminuido y todas las combinaciones son posibles.

La franca disminución de las gamma globulinas y de las dos beta 2 globulinas, tan frecuente en el curso de las leucosis linfoides crónicas, es excepcional aquí. Bastante a menudo, por el contrario, se observa un aumento simultáneo de estas tres globulinas.

Pero a veces es uno de estos constituyentes que está presente en gran exceso en el suero, los otros dos están a una tasa normal o disminuida.

En ocasiones se observa un aumento importante y aislado de las gamma globulinas; se trata a veces de gamma globulinas inmunoquímicamente anormales, pero esta eventualidad es bastante excepcional. En ocasiones se trata de un aumento considerable y aislado de las beta 2 globulinas; tal sería el caso de dos linfosarcomas difusos que se han estudiado (por Grabar).

A veces, en fin, es la beta 2-macroglobulina la que está presente en exceso.

Así en el curso de las sarcomatosis se observa bastante a menudo una producción excesiva y a veces aberrante de una u otra de las globulinas del grupo gamma, beta 2A, beta 2M. Al aumento de uno de estos constituyentes se asocia, a veces, un profundo déficit de uno de los otros dos. Esta eventual disociación es bastante particular en los sarcomas. No ha sido posible hasta el presente establecer una correlación entre el tipo de las disglobulinemias y el tipo de las células que son el asiento de la proliferación maligna. La aplicación de la técnica de los anticuerpos fluorescentes permitirá quizá superar esta laguna.

El plasma seminal.- La electroforesis en gelosa y la inmunoelectroforesis han permitido obtener unos resultados nuevos en la separación y la identificación de las proteínas del plasma seminal.

Las separaciones obtenidas a la ayuda de otros métodos electroforéticos encuentran grandes dificultades técnicas. Gray y Huggins, Ross, Moore y Sikorski habían podido ver 4 o 5 fracciones por la electroforesis libre en el aparato de Tiselius. Unos exámenes microelectroforéticos con el aparato de Antweiler han sido hechos por Schafer. El número de fracciones separables había sido 6 u 8 por la electroforesis sobre papel. La separación de las fracciones del plasma seminal en el papel era mala.

El análisis inmunoelectroforético ha permitido revelar unas identidades entre las proteínas del suero y las proteínas del plasma seminal. Con un antisuero humano total se debe obtener unas líneas de precipitación con las proteínas del plasma seminal, si estas proteínas poseen los mismos grupos serológicos activos que aquellos del suero. Un control del resultado es posible por una reacción de saturación del antisuero.

Las primeras experiencias hechas en electroinmunoforesis han sido realizadas por Pernot sobre el plasma semi-

nal de cobaya y por Hertmann, Licht, Keutel y Krug sobre el plasma seminal humano. Estos últimos autores han encontrado por electroforesis simple en gelosa, de siete a nueve fracciones, a veces, diez, netamente limitadas. Las fracciones A, P1, P2, P3, P4 y P5 son constantes. Las fracciones P6 y P7 no son bien distinguidas. El plasma seminal se modifica con el tiempo, como lo prueba también la electroforesis sobre el papel.

Al principio no se encuentra, en general, entre los constituyentes lentos más que la fracción P5. En seguida, ésta parece separarse sucesivamente en P6, P7 y ella misma en parte en la P8 y estas fracciones migran progresivamente hacia el cátodo. Y puede que una fermentación sea el origen de este fraccionamiento (Zorgniotti y Brender, Mann). Después de 24 horas se distingue a menudo la presencia de una fracción ro, que migra más rápidamente que las albúminas y que no había sido aun observada.

A la inmunolectroforesis se ha constatado que la fracción A, que tenía la misma velocidad de emigración que la albúmina del suero, daba una precipitación constante con el antisuero de caballo anti-suero humano. Este hecho confirma la presencia en el plasma seminal de una proteína idéntica a la de la albúmina del suero.

Hay una alfa 1 globulina en el plasma seminal que corresponde a una globulina alfa 1 del suero. Esta proteína no parece siempre estar presente. Da una precipitación solamente a la inmunolectroforesis.

La fracción del plasma seminal llamada P1, que tiene la misma movilidad que las globulinas alfa 2 del suero, forma de vez en cuando una o dos líneas de precipitación con el antisuero. Pero las experiencias con el antisuero saturado por el plasma seminal muestran que las cinco líneas de las alfa 2 séricas quedan intactas. Parece que los dos componentes de la fracción P1 del plasma seminal son una pequeña analogía serológica con las globulinas alfa 2, pero no se puede concluir con su identidad P1 contiene además glucoproteínas.

La fracción P2 del plasma seminal muestra bastante a menudo una proteína idéntica a una del suero que da una línea de precipitación muy limpia. Satura uno de los cuatro componentes de la fracción beta 1 del suero. Esta proteína deberá, por su forma y posición, ser idéntica a la siderofilina.

Los otros componentes del plasma seminal : P5, P6, P7 y P8 no dan más que raramente pequeñas líneas de precipitación en la región de las globulinas gamma. Estas fracciones no saturan los anticuerpos anti-gamma globulinas del antisuero. Parece, pues, que estas cuatro fracciones no sean idénticas a las globulinas gamma del suero. Estas fracciones son verdaderamente proteosas.

Las lipoproteínas no han podido ser encontradas en el plasma seminal.

La existencia de glucoproteínas en el plasma seminal ha sido revelado por Schneider y cols. y Sureda y cols.

Según Nocke, la concentración media del plasma seminal normal y patológico en proteínas es de 3,52 gr. % ml. lo que confirma los resultados de Huggins, Scott y Heinen, que daba la cifra 3,5 a 5,5, gr.; 18% de estas proteínas son coagulables por el calor.

Las agammaglobulinemias

La agammaglobulinemia es un síndrome que se manifiesta bajo el punto de vista clínico, por unas infecciones bacterianas repetidas; bajo el punto de vista bioquímico por una deficiencia marcada de las gammaglobulinas - del plasma; fisiológicamente por un déficit en la síntesis de las gammaglobulinas y, en fin, bajo el punto de vista patológico, por una ausencia de plasmocitos y un desorden del sistema linfoide de diferentes órganos. Existen tres formas mayores de estos desórdenes del metabolismo de las gamma globulinas, se diferencian por su etiología y por ciertos detalles en su modo de expresión.

1° La agamma-globulinemia congénita, cuyas características son aquellas de una enfermedad hereditaria ligada al sexo, no ha sido observado hasta el presente más que en los varones. Las manifestaciones clínicas del desorden, es decir, una infección severa, pueden manifestarse ya en los lactantes o en niños muy pequeños.

2° La agammaglobulinemia adquirida puede afectar a los dos sexos; se manifiesta clínicamente también en los niños pequeños más que en una edad avanzada; parece que hay dos variantes de la agamma-globulinemia adquirida: una independiente de todo otro desorden y la otra asociada a los tumores linfoides malignos.

3° La hipogammaglobulinemia fisiológica, observada en los niños jóvenes de ambos sexos, aparece generalmente entre el segundo y el quinto mes de la vida. Esta hipogammaglobulinemia resulta del retardo de la iniciación de la síntesis de las gamma-globulinas durante los primeros meses después del nacimiento.

La agammaglobulinemia (A.G.G.) del niño fue descrita por Bruton y luego por Janeway. En la literatura mundial hay recogidos hasta la actualidad 60 casos de A.G.G. en el adulto. Uno de los casos que se describen es de una gran riqueza semiológica, por la intensidad del desorden inmunológico: Corticopleuritis, adenopatías mediastínicas bilaterales, bronconeumonias agudas febriles, diarrea incoercible,

adenopatías periféricas axilares, inguinales, hepatoespleno megalia.

Ultimamente, signos de insuficiencia ventricular de recha, broncorrea purulenta, sinusitis maxilar bilateral.

Análisis : Hipoproteinemia, AGAMMAGLOBULINEMIA total.

La agammaglobulinemia puede ser secundaria a :

Hemopatías malignas : leucosis linfoide crónica, enfermedad de Kahler.

Colagenosis, poliartritis crónica evolutiva, lupus eritematoso diseminado, dermatomiositis, esclerodermia.

Disproteinemias primitivas y secundarias : síndromes nefróticos, estados de mala nutrición, sprue.

Terapéutica por irradiación o antimitóticas.

El síndrome inmunoprivo es profundo, bajo la dependencia de un déficit de las tres fracciones inmunoglobulínicas gamma, beta 2A y beta 2M.

La electroforesis y la inmunolectroforesis de las secreciones bronquiales indican en este paciente la presencia de gammaglobulinas en un nivel superior al del suero, algunos días después de la inyección de gammaglobulinas terapéuticas. Estas secreciones bronquiales tienen una pobreza de proteínas totales de 3,5 gr. a 4,5 gr.‰.

Paraproteinemia transitoria de tipo gamma.- Observación en un lactante afecto de síndrome de Aldrich.(Extractos de interés electroforético).

La electroforesis de la hemoglobina muestra 30% de hemoglobina fetal tasa normal por la edad del niño (dos meses).

La inmunolectroforesis de las proteínas séricas revela un aumento muy moderado de las beta 2A globulinas, de las beta 2M globulinas y de las gamma globulinas. Las otras fracciones proteicas son normales, no existe gamma globulinas inmunoquímicamente anormales (de la madre).

A los 5 meses de edad, síndrome de Aldrich.- Neto aumento de la haptoglobina. Neta disminución de la beta 2A globulina, normal por la edad del niño. Aumento moderado de la beta 2M-globulinas. Aumento muy moderado de las gamma globulinas normales. En otra inmunoforesis se comprueban en el suero unas gamma globulinas inmunológicamente anormales (incompletas) pues la movilidad electroforética es anormalmente homogénea : Paraproteína del tipo gamma-globulina.

Inmunolectroforesis de las orinas (orina concentrada 17 veces) : Trazos de alfa2 globulinas y de beta 1 globulinas, de gamma-globulinas. No hay paraproteínas anormales.

Quiste Hidatídico.

Precipitación específica del suero de enfermos portadores de quiste hidatídico por inmunolectroforesis.

Los autores han detectado varias veces por la técnica de la inmunolectroforesis la existencia de anticuerpos precipitantes en los sujetos afectos de quiste hidatídico. Los sueros de enfermos han dado constantemente una reacción positiva. En presencia de antígeno hidatídico, el autor ha observado un arco de precipitación más o menos intenso, siguiendo la evolución de la enfermedad. El autor relata en su trabajo el método empleado: el antígeno ha sido recogido algunas horas después de la intervención quirúrgica por punción estéril del quiste. El líquido conservado una noche a $+4^{\circ}\text{C}$, es centrifugado al día siguiente y el sobrenado a menos de 25°C . El suero del enfermo, después de la separación del coágulo, es centrifugado. La inmunolectroforesis en gelosa ha sido practicada en presencia de una solución tampón veronal sódico de pH 8,2. Una separación satisfactoria se obtiene en 40 minutos, bajo una diferencia de potencial de 40 vols. a las extremidades de 8 láminas (7,5 x 2,5) recubiertas de gelosa. La difusión del antígeno en atmósfera húmeda a la temperatura de laboratorio, efectuada después de la separación electroforética, permite revelar en 24 horas una línea de precipitación específica. Visto por transparencia, el trazo fino y blanco es coloreado al amidoschwarz, después secado y lavado de las láminas de gelosa.

La fracción ocupa la vertiente catódica de la lámina y se presenta como una nueva línea de precipitación, netamente individualizada. Este método ha permitido orientar el diagnóstico y seguir con fidelidad la evolución de la enfermedad en las personas operadas.



CONCLUSIONES

1a. Se ha hallado un método de inmunolectroforesis que facilita su obtención, pudiéndola convertir en método - rutinario en hospitales, clínicas y laboratorios de análisis. Este sistema facilita muchísimo su obtención, disminuyendo - las dificultades que hasta ahora había en las electroforesis y en las inmunolectroforesis, pues el motivo de que no se fueran practicando extensivamente hasta ahora era la dificultad del método, en el que utilizaban aparatos para preparar el gel y en la introducción del suero problema e inmunosuero, utilizando el sistema más asequible, que es el de Scheideger, el cual utiliza una capa de agar encima de un porta. En cambio, en este sistema se utilizan unas tiras ya preparadas de acetato de celulosa, que se encuentran actualmente en España, en las que ya va colocada la capa de agar-gel; de este modo se encuentran gelatinizadas y se conservan casi indefinidamente en un baño al 50% de metanol. Estas tiras son las que se utilizan para electroforesis en acetato de celulosa gelatinizado.

Las inmunolectroforesis obtenidas permiten distinguir todas las fracciones descritas hasta la actualidad.

Se pueden también obtener, además, precipitación de antígenos individuales utilizando inmunosueros específicos, como por ejemplo, inmunosuero antigamma globulina, suero anti macroglobulina, suero de la proteína C reactiva, suero anti albúmina, obtención de las curvas de antígenos puros con sueros totales, colocándolos comparativamente al lado de un suero normal, se puede detectar con más precisión la falta de un antígeno, pues, comparativamente con un suero normal se observa la falta de él.

Se puede fotografiar este micrométodo y de esta manera ser ampliado, para, a simple vista, observar pequeños detalles que pudieran verse con dificultad.

2a. La electroforesis en acetato de celulosa ha superado técnicamente a la electroforesis en papel, sobre todo, en cuanto al proteinograma, de tal manera, que paulatinamente deberá sustituirla por completo, ya que sus ventajas son enormes: Más fracciones, mejor delimitadas, más rápida, de más fácil medición en el densitómetro, no siendo necesario diafanizarla porque ya es transparente.

Además, los líquidos en los que no se podían separar bien las fracciones en el soporte de papel, como por ejemplo, el plasma seminal, con el acetato de celulosa gelatinizado se han podido separar diez fracciones.

Además, en la orina (nefropatías), el líquido pleural, se obtiene un fraccionamiento con bastante facilidad.

Las fracciones se obtienen con más claridad y perfección; cuanto más duración de la electroforesis, más se puede fraccionar el proteinograma, se separan con más constancia las alfa 2 globulinas y las beta globulinas en dos fracciones cada una.

Las enfermedades más importantes bajo el punto de vista electroforético han sido analizadas con este sistema.

La unión de las gamma y de las beta globulinas coincide bajo el punto de vista de la inmunoforesis con un aumento de las beta 2A y beta 2M globulinas, como ocurre con la cirrosis. Pasa todo lo contrario con el mieloma, en que en el proteinograma la paraproteína gamma está muy bien delimitada en la región anódica por eliminación de las citadas globulinas.

En las colagenosis detecta siempre un aumento de alfa2 y gamma, con clara intensidad. Las alteraciones beta gamma de las cirrosis son apreciables perfectamente. Se observa también el casi paralelismo proteico entre el derrame pleural y el suero hemático.

La mayoría de las afecciones cursan con una disproteinemia que se pueden dividir en tres grupos : en poca, en

franca y en tan gran disproteinemia, que el estudio electroforético las caracteriza.

Primer grupo : Casi todas las enfermedades y afecciones modifican de alguna manera las proteínas de la sangre. Modificaciones que la electroforesis de zona en ocasiones no lo aprecia, porque varía un componente de una de sus fracciones y, por tanto, puede ser que la franja prácticamente no se modifique porque es poca cantidad, y que por inmuno electroforesis se detecte este componente individualmente, como ocurre con las haptoglobinas o las beta 2A o beta 2M globulinas. Puede ser que no varíe el proteinograma y se encuentre variaciones en el lipoidograma o en el glúcidograma.

En el segundo grupo se incluyen las enfermedades clasificadas de una manera general en agudas y crónicas, correspondiendo en el proteinograma a un aumento de las alfa 2 globulinas las enfermedades agudas, y a una acentuación de las gamma globulinas las enfermedades crónicas, y un aumento de las dos fracciones en el caso de enfermedades crónicas que se han agudizado.

En el tercer grupo se incluyen las enfermedades que ocasionan grandes alteraciones electroforéticas, como las cirrosis, las nefrosis, las paraproteinemias (mieloma y la enfermedad de Waldenström) y el Kala-Azar.

A medida que la electroforesis vaya progresando y se vayan viendo más relación entre las enfermedades y variaciones, aunque pequeñas, de las proteínas, el estudio en clínica de la electroforesis tendrá más importancia. Se ha avanzado mucho en estos últimos años, sobre todo en electroforesis con diferentes soportes para obtener un mayor fraccionamiento de las proteínas, y poder detectar variaciones de alguna fracción que corresponda con alguna enfermedad.

3a. Los lipoidogramas en personas de edad avanzada o de las que se sospeche están afectas de aterosclerosis, aunque sean jóvenes, se ha abandonado casi sus sistemática, debido a que los resultados que se dan, acompañando un electroferograma en el que la lipoproteína no se observa porque no se hace con una técnica más selectiva; por esto recomendamos

además de la preticción, otra técnica, que es la que aquí citamos en el capítulo de la electroforesis de los lípidos y que consiste en colocar más suero en la tira de la electroforesis y obtener una separación que no sea excesiva, para que no palidezcan demasiado las alfa lipoproteínas, ni demasiado corta para que haya una solución de continuidad entre las alfa lipoproteínas y las beta lipoproteínas. Además, la fase de tinción es muy importante para obtener una buena coloración, desde el primer día en que se realiza la obtención del colorante de Negro sudán, hasta al cabo de unos meses, que dura el colorante.

4a. Las glucoproteínas son también muy importantes en clínica y la facilidad en su obtención allanaría considerablemente este obstáculo para su difusión. Con este sistema se obtiene un 30% de mejora en la técnica de obtención, haciéndolo también muy asequible por medio de la electroforesis no solo saber su aumento sino también detectar cualitativamente qué fracción está aumentada. Es una variación del método de Reynaud. Con la diferencia de intentar una coloración más intensa de una cara de la tira a expensas de la otra, por medio de la colocación del suero en un lado que coincida con el lado que se calienta más, colocándolo encima de la estufa y de esta manera, el papel al secarse solo por un lado, arrastra hacia él las proteínas antes de desnaturalizarse, haciéndolo a una temperatura elevada al máximo justo para no quemar el papel.

Hace doce años, cuando inicié los estudios de la electroforesis ya dirigidos hacia la tesis del doctorado, las perspectivas eran muy limitadas; pero desde entonces hasta ahora, gracias a los cambios de soporte para la electroforesis y la aparición de otros sistemas de caracterización, además de los colorantes, los fermentos, los isótopos radiactivos y, sobre todo por lo que aquí más se ha insistido, la inmunoforesis, la electroforesis ha tenido un gran auge y se puede decir que todo lo que se ha tratado es el comienzo de muchas e interminables técnicas, siendo un filón científico en medicina de una extraordinaria importancia.



C O N F E R E N C I A S

Valor del proteinograma, lipoidograma y glúcidograma en cardiología. Servicio del Dr. Viesa, Hospital Santa Cruz y San Pablo, 19 noviembre 1958.

Fundamentos bioquímicos del tratamiento de la arteriosclerosis. Cursillo de geriatría, dirigido por el Dr. Pañella, en el Hospital de Nuestra Señora de la Esperanza.

Variaciones proteicas en afecciones cardiorrespiratorias valoradas electroforéticamente. 20 de marzo de 1959.

Utilidad de la microelectroforesis en geriatría.

Las glucoproteínas.

Lipoidogramas en geriatría.

Las proteínas, lipoproteínas y glucoproteínas en las enfermedades hipertensivas.

Las electroforesis no hemáticas.



B I B L I O G R A F I A

- ESPINOS : Electroforesis.- Anales del Hospital de la Santa Cruz y San Pablo. Vol. 23, julio-agosto 1963, n°4.
- GRAS : Proteínas plasmáticas.
- WUNDERLY: Electroforesis en papel.
- A.LEVI-VALENSI Y AKOUN: La electroforesis en papel en la tuberculosis pulmonar.- Presse Medicale (Argelia) 1957 65 N° 18 2 de marzo.
- VICTOR PARQUET: Glúcidograma sobre el papel. Su interés en el diagnóstico y conducta del tratamiento en la enfermedad de Bouillaud.- Algerie Medicale, vol. 60-1956 N 4 abril.
- AYALA
W.MOORE J.: Glúcidograma electroforético, tinción por la difenilamina.- Clin.Invest.781-1951.
- ANTONINI F.M.: Piva G.Rec.Progr.Med. 14,243, 1953
- ANTONINI F.M.: Salvini L. Giog Gerontol 5-6 1, 1953
- BENHAMOU Y POLINOWKI: Electroforesis sobre papel, aplicaciones clínicas.- Ann.de Biol. clinique 1953,11,81.
- NIKOL: Macroglobulinemias.- La Presse Medicale 72 n°23 9 mai 1964, pag. 1365
- SCHREIBER: Síndrome de carencia lipoproteínica.- La Presse Medicale, 11 enero 1964, 72 n°2, pag. 125
- WALDESTROM: Enfermedad de Waldeström y alteraciones cromosómicas.- La Presse Medicale 18 enero 1964, 72, n°3, pag. 196.
- SABATER TOBELLA: Aplicación de la inmoelectroforesis en el laboratorio clínico.- Actas del Inst. Med.Farm. 1962, pags. 28-42.
- BISERTE: Recientes datos de cromatografía y electroforesis en la separación de aminoácidos y péptidos.- Produits et problemes Pharmaceutiques, 18-373-85. Agosto 1963.
- TORRES, ARGERI: Nueva coloración para para lípidograma.- Lab año XIX, tomo 37, mayo 1964, n°221.
- FINE, GROULADE, SAINT PAUL , TIZZANI: La electroforesis sobre papel.- Biol.med. 45: 591(1956).
- LAMY, FREZAL, POLONOWSKI, REY: La ausencia completa de beta-lipoproteínas.- La Presse Medicale 1961,69,1511.

- SCHEIDEGGER:** Un micrométodo de inmunolectroforesis.- Internat. archiv. 1955pag.103-110.
- URIEL Y GRABAR:** Estudio de las lipoproteínas séricas por la electroforesis en gelosa y los análisis inmunolectroforéticos.- Bull.Soc.Clin.Biol.1956 38, 1253.
- MORETI, BOUSSIER Y HAYLE:** Realizaciones técnicas y primeras aplicaciones de la electroforesis en gel de almidón.- Bull.Soc.Clin.Biol.1957,39,593.
- GRAHAM-GRUNBAUM:** Hemoglobinas.- American Journal of Pathology 1963, vol.39, pag. 567-578.
- GRABAR Y BURTIN:** Análisis inmunolectroforéticos.- Aplicación a los líquidos humanos biológicos. Masson Ed. Paris 1960.
- OSSERMAN, LAWLOR:** Características inmunolectroforéticas de las proteínas del suero en el plasma y orina en el mieloma y macroglobulinemias.- Ann New York Acad. S.C. 94: 93,1961.
- BATTISTINI:** Estudio con la electroforesis en gelatina de las hemoaglutininas en la inmunización materna fetal.- Minerva Pediátrica, 15: 1260-5, 10 noviembre de 1963.
- COSSERMALI:** Inmunolectroforesis. Interpretación de las líneas de precipitación, consideraciones sobre la región de las beta 1 globulinas. Revue Franc Etud. Clin.Biol.9, 1964, pags. 128 a 133.
- NOIR, BEATRIZ:** Análisis inmunolectroforéticos.- Semana Med. 1.1962, pags. 1206 a 1207.
- SCHEIDEGGER:** La Inmunolectroforesis.- Semaine des Hopit. 32,1956, n° 37, pags.2119 a 2126.
- PETER:** Anomalías de las proteínas plasmáticas en el cáncer. Clin.Med. de Norteamérica, mayo 1961.
- OSSERMAN, TAKATSUKI:** Proteínas plasmáticas y enfermedades de hígado.- Clínicas Médicas de Norteamérica, mayo 1963, pags. 696.
- ADAMS Y SMITH, RAMOS GIRONA, VALL BANERES:** Las fracciones globulínicas del plasma humano y su aplicación terapéutica. Archivos de Pediatría 2, 155,1950.
- CAZAL, CARLI Y FISCHER:** Algunos casos de proteinurias de Bence-Jones. Estudio comparativo de electroforesis libre y sobre papel de proteínas séricas y urinarias.- Soc.Med.et Biol.de Montpellier, 24 juin 1965.

La electroforesis del suero en la enfermedad de Hodgkin (35 casos, 138 análisis). Soc.Med. et Biol. de Montpellier. 24-6-55

LAYANI, ASCHKENASY y BENGUI: Macroglubulinemia con lesiones del esqueleto, displasia a la vez linfoide y plasmacitoide de la médula ósea.- Presse Medica 68 : 44 (1955).

REYNAUD: Lo que la cardiología puede esperar de la electroforesis. Semaine des Hopitaux , 31, n° 14, 2 marzo 1955, pag. 787.

VAN WYMEERCH, LOWENTAL, VAN SNADE Y KARCHER: Electroforesis del l.c.r. entres casos de leucoencefalitis esclerosante subaguda.- La presse medicale, n°65, año 1957.

BAGUENA CANDELA: Valor clínico de la electroforesis en papel.- An. del Inst. de Farm.Esp. vol.