Actualidad

LA ELECTROFORESIS * **Sus fundamentos.**

Dr. RAMON MONTERO SCHMIDT

Hospital "Luis Calvo Mackenna".

Este método, cada día más empleado en el estudio de casi todas las enfermedades en que el suero y plasma sanguíneos juegan algún papel (y sabemos que es muy difícil que haya alguna que no altere o cambie en alguna forma la constelación albuminoidea de estos líquidos), consiste fundamentalmente en valorar la cantidad y calidad de las diversas fracciones proteicas que los forman. La determinación de éstas, separadas dentro de un campo eléctrico por la influencia ejercida por los electrodos clásicos, áodo (+) y cátodo (—), permite al investigador, por comparación de sus valores normales con los encontrados en la enfermedad, conocer y precisar mejor numerosos cuadros patológicos.

No sólo las albúminas del suero y plasma sanguíneos son susceptibles de un estudio electroforético sino que también las de tejidos orgánicos, músculos, cuerpo vítreo y cristalino así como las de toxinas, venenos albuminoideos y exudados diversos, las de la leche y las aparecidas en la orina y en el L.C.R.

Comportamiento electroforético de las fracciones proteicas del plasma o suero

Sabemos que las partículas de prótidos, que por influjo de un campo eléctrico adquieren carga positiva, migran en dirección al polo negativo y viceversa, pues la ley física es muy clara: "con las mismas cargas se repelen, con distintas se atraen".

La sero-albúmina, de bajo peso molecular, es fuertemente electro-negativa y migra, al iniciarse el proceso electroforético, al polo positivo. Las globulinas, de peso molecular más alto, se separan a velocidades diferentes; una minoría se dirige también en dirección del polo positivo pero menos rápidamente que la sero-albúmina, pues su carga negativa es también menor; las otras globulinas van al cátodo por poseer cargas electro-positivas. A este respecto es muy ilustrativo el gráfico N° 1.

La electroforesis, en suma, efectúa la separación de todos los componentes albuminoideos alineándose, si así puede decirse, según sus cargas negativas o positivas y su peso molecular, en un orden bien estricto. Las albúminas se situarán muy cerca del polo positivo y a continuación las globulinas, por sus cargas eléctricas negativas débiles o positivas in crescendo, formando varios grupos denominados fracciones globulínicas alfa, beta, gamma, etc. Además, aparecen o pueden aparecer, otras gradientes proteicas como la llamada Fi (π o del fibrinógeno) delta, etc. o las fracciones V y T del L.C.R.

Hay numerosos métodos de técnica macro y micro electroforéticos y todos tienen sus defensores (Tiselius, Labhard, Staub y Lotmar, Philpot-Cook-Swensson, Toepler, Longworth, etc.) pero en el momento actual el método más perfecto parece ser el del Prof. H. J. Antweiler, de Bonn, Alemania. Este procedimiento, llamado "interesferométrico compensatorio de luz blanca", es rápido, (algunos minutos) y exacto pero desgraciadamente, por exigir un aparato óptico relativamente cos-

* Del griego Phoros = llevar, transportar.

Gráfico N° 1.

Fundamento de la electroforesis en papel (según Antweiler) 1) Suero o mezcla albuminosa a examinar. 2) Componentes con carga eléctrica positiva. 3) Componentes con carga negativa. La flecha señala la electroosmosis catódica de la mezcla a examinar, que se produce antes de iniciarse la electroforesis misma.

tosos y delicados, no está al alcance de cualquiera clínica. Por ello el método de electroforesis en papel es el más empleado en la práctica diaria; es económico y de técnica fácil y aunque no nos informa sobre el fibrinógeno, o sea, no separa la fracción Fi del plasma sanguíneo, es el que nos permite seguir con la mayor facilidad la evolución que las proteínas del suero experimentan durante el curso de nefropatías, hepatopatías, distrofias, desnutriciones, carcinomatosis, procesos reumáticos y tbc, etc. Personalmente hemos tenido oportunidad de trabajar tanto con el método de Antweiler como con el de electroforesis en papel (respecto a este último nosotros usamos el Elphor H, o método de Grassmann, Hannig, Knedel). Por quedar fuera de la índole de este artículo no nos referiremos aquí a detalles técnicos.

Valores normales de proteínas totales en los diversos periodos de la vida

Efectuada la electroforesis de un plasma o suero normal, ésta separa primeramente una gran banda, que luego de coloreada por técnicas ad-hoc, es perfectamente calculable por planimetría (como todas las demás), mediante el método llamado de las curvas de Gauss en papel milimetrado, o directamente según procedimientos recientes y que corresponde a la seroalbúmina. A continuación, vienen dos bandas para las Alfa 1 y Alfa 2 globulinas, luego una para las Beta (sean Beta 1, Be-

ta 2 o Beta 3), después y siempre en dirección al cátodo, la fracción Fi y, por último, la de la gama globulina (que posee también dos fracciones gama 1 y gama 2). La expresión en un diagrama de todo esto se encuentra en los gráficos N° 2 y 3.

Para el adulto y recién nacido estos valores son los siguientes: (en grs. por litro de suero). (Ver cuadro N° 1).

Se ve claramente que la gama globulina es 1/5 del total de las proteínas del recién nacido y solamente 1/9 de las del adulto. La tasa de gama globulina del recién nacido normal es superior a la correspondiente de la madre, naturalmente en un embarazo y parto normales. Ya a los dos meses de la vida del lactante comienza a caer la tasa de gama globulina y ello continúa hasta los 10 meses más o menos, a cuya fecha alcanza sólo a la mitad de la cifra normal del adulto; en adelante sube de nuevo hasta alcanzar, alrededor de los 4 años, la tasa media del individuo completamente desarrollado. Las alfa y beta globulinas son, al momento del nacimiento, más bajas que las del adulto pero suben rápidamente en los primeros 5 días haciéndose muchas veces francamente altas, tanto que las reacciones de Hanger y otras análogas pueden ser positivas por esta causa.

Sobre modificaciones debidas al colostro en el diagrama electroforético del lactante de pocos días no hay acuerdo aún entre los investigadores. Es interesante sí anotar que el icterus gravis de la eritroblastosis fetal muestra la disproteinemia más desfavorable conocida en el periodo del recién nacido: disminución enorme de la seroalbúmina y de la gama globulina.

El diagrama normal de la segunda infancia o periodo preescolar es más o menos el del adulto.

Origen y características electroforéticas más importantes de las albúminas del plasma y suero sanguíneo

Seroalbúmina. — Se forma en el hígado, como asimismo el fibrinógeno y la protrombina. Tiene una gran estabilidad electroforética, debido, como ya dijimos, a

CUADRO N° 1.

	Sero-albúminas	Alfa glob	Beta glob.	Gama glob.
Adulto	63,5 ± 2,8	12,3 ± 2 α ₁ 4,8 α ₂ 7,5	12,7 ± 2	11,6 ± 2,9
Recién nacido	64,7 ± 2,8	8,05 ± 2	6,3 ± 2	20,3 ± 3,5

Diagrama de gradientes proteicas del plasma sanguíneo según el procedimiento de Antweiler. A, Seroalbúmina. α_1 , α_2 , β , γ , δ , Fracciones globulínicas. ϵ , Fracción fi (del fibrinógeno).

Gráfico N° 2.

Diagrama de gradientes proteicas del plasma (o suero) sanguíneo, según el método de electroforesis en papel. (M. Knedel).

Gráfico N° 3.

su alta carga electronegativa, o sea, migra en masa hacia el polo positivo, al que es fuertemente atraída; sabemos también que su bajo peso molecular hace que la velocidad de migración sea mayor que la de las escasas otras fracciones proteicas de carga negativa. Tiene capacidad para unirse (combinarse) a colorantes diversos, a ácidos grasos de ambas cadenas (saturados o aromáticos), a sulfoderivados, a las vitaminas C, K. y P, a cardioglucósidos y a los antibióticos. Es la albúmina que mejor mantiene la viscosidad sanguínea, ahorrando trabajo al corazón. Se le describen tres fracciones seguras, de las cuales una, el seroglicóide, que contiene hasta 8% de H de C, es muy soluble y no cristalizante, a diferencia de las otras dos fracciones, que son insolubles y cristalizables.

Globulinas. — Se forman en buena parte en el hígado pero indiscutiblemente también en otros sistemas como en el reticuloendotelio del bazo, médula ósea y en los linfocitos. Es indudable, asimismo, que la mucosa intestinal da origen a globulinas. Las hiperglobulinemias siempre o casi siempre vienen acompañadas de hiposeroalbuminemia, lo que hace presumir con fundamento que las globulinas proceden de la seroalbúmina, la que sería a la postre la materia prima de las mismas y el organismo echa mano de ellas (de más alto valor molecular) para emplearlas en funciones determinadas.

La gama globulina (rica en triptófano) se halla también en los órganos linfáticos y muy abundante en las plasmacellen, en

el mieloma, endocarditis lenta abacteriana y en la poliartritis reumática. Existen, entonces, policentros de globulino-génesis intra y extra hepáticos; estos últimos se hallan en activo campo de investigación.

Las alfa y beta globulinas son ricas en lípidos, también en hidratos de carbono y vitaminas liposolubles. Si los lípidos son extraídos con acetona u otra sustancia de igual efecto, disminuyen las bandas electroforéticas correspondientes, especialmente la de la alfa globulina.

En las beta globulinas hay estrógenos y es la proteína sanguínea casi electiva del transporte del cobre. Casi 3/4 partes de la protrombina del plasma está en la beta fracción, el resto en las alfa y gama y asimismo 1/3 de las isohemoaglutininas, entre ellas el factor antirhesus. Los 2/3 restantes de estas isohemoaglutininas se hallan unidas a la gama globulina.

Concepto de la mucoproteína. — Es conveniente citar aquí la llama mucoproteína, sobre la que los autores americanos vienen insistiendo muchísimo. Es una fracción de la alfa globulina, de la que constituye más o menos 1/5 o sea, aproximadamente un centésimo de las proteínas totales del plasma. Se encuentra muy disminuida en las afecciones por insuficiencia hepática, también en la nefrosis y en el mieloma; está aumentada, en cambio, en los procesos proliferativos y neoplásicos y en las ictericias obstructivas, siendo un buen medio de diagnóstico diferencial de estas últimas.

Gama globulina. — Muy estudiada y sobre ella la literatura es enorme tanto en relación con los fenómenos de inmunidad como con cuanto tenga que ver con

afecciones crónicas, enfermedades del colágeno, dermatosis, etc. En 1936 Tiselius establece su inhomogeneidad y en 1947 separa de ellas tres grupos principales (gama 1, gama 2, gama 3). Hasta doce sub-grupos, a lo menos, han sido aislados hasta ahora pero evidentemente que en varios de éstos debe tratarse de paraproteínas.

Electroforéticamente se conocen dos componentes gama (1 y 2), los que, sin embargo, desde el punto de vista inmunológico, se comportan en forma idénticas. Ambas fracciones (o las que fueren) contienen el 98% de las inmunoglobulinas del plasma o suero. Han sido, en efecto, identificados factores inmunitarios contra difteria, disentería, tifoidea, estreptococias, afecciones por perfringens y neumococos, contra herpes, paperas, hepatitis, sarampión, poliomielitis, etc. Especialmente rico en estos factores es el suero de convalecientes pero, cosa curiosa, muchas veces, sin que la cifra de gama globulina sea mayor que la normal, aunque, en general, hay paralelismo evidente entre fracciones gama globulina aumentadas de los convalecientes y tasas altas a la gama globulina. La aglutinina O de la tifoidea y la beta isohemoaglutinina se hallan electivamente en la gama 1 fracción. Los anticuerpos de la influenza y coqueluche en ambas gama fracciones. Merece ser también señalado (Moore y Harris) el hecho que la antihialuronidasa, elemento que frena y aún paraliza la acción de la hialuronidasa estreptocócica, substancia esta última, que como es sabido está fuertemente aumentada en los enfermos de reumatismo o en los que sufren una afección estreptocócica, acompaña a la gama fracción y es un verdadero neutralizador de la hialuronidasa presente en la sangre. Es decir, es un anticuerpo, a diferencia del otro factor antihialuronidásico, el llamado inhibidor y que se halla en la seroalbúmina, el cual frena o impide la producción de hialuronidasa pero nada puede contra la ya existente, a la que es incapaz de neutralizar.

Fracción Fi o del fibrinógeno. (π) El fibrinógeno, tal vez la más completa albúmina de la economía, pues contiene prácticamente todos los aminoácidos conocidos, se origina en el hígado; tiene el más alto peso molecular de todos los prótidos del plasma (tasa 250 a 400 miligra-

mos por 100 cc.). Su aumento acelera la velocidad de sedimentación. El aumenta al final del embarazo, después de las intervenciones quirúrgica, en las enfermedades infecciosas, en los derrames pleuríticos, en el reumatismo, en la tuberculosis y en el infarto del miocardio. En toda hiperinosis está acelerada la viscosidad sanguínea.

Electroforéticamente el fibrinógeno se desplaza dentro de la llamada fracción Fi (π) pero ella no revela exactamente la cuantía de la fibrinogenemia real. En efecto, ésta no podrá ser más alta que lo que la gradiente Fi señala pero sí puede ser más baja. Ya dijimos que la fracción Fi no aparece en la electroforesis en papel. Decididamente ningún método electroforético es un buen medio para saber la fibrinogenemia en un momento dado; sólo métodos analíticos identifican con exactitud las cifras verdaderas de fibrinógeno sanguíneo. Sin embargo, la electroforesis orienta significativamente sobre las tasas de este prótido.

Interesante es señalar algunas de las características de las proteínas del plasma ante los agentes físicos, por ejemplo, frío, calor, rayos X, etc. En el suero conservado a temperatura ambiente la alfa globulina disminuye a los 3 días, algo más tarde disminuye la beta y a la semana la alfa fracción puede llegar a desaparecer. En cambio, no se altera la gama fracción y aún, mientras aquéllas caen, puede ésta aumentar.

Hay autores, sin embargo, que han logrado hallar factores albuminoideos electroforéticamente separables en sueros conservados más de un año a la temperatura ordinaria.

El enfriamiento, en los primeros ocho días, no altera las proteínas, salvo que precipite las crioglobulinas, si éstas existen; pero el calentamiento sobre 37° comienza a producir cambios irreversibles que hacen imposible la electroforesis. Los rayos X sobre ochocientos r. disminuyen las gama globulinas y aumentan las alfa y beta; la seroalbúmina no se modifica substancialmente. Las ondas ultra sonoras y la luz ultra violeta no parecen producir efectos modificadores sobre ninguna de las proteínas del plasma.

En un próximo artículo nos referiremos a la importancia de la electroforesis en la práctica clínica.