Rev. Méd. Hosp. Nal. Niños 3(2): 113-120, 1968

Análisis de Proteínas Séricas en Niños Sanos Recién Nacidos

Dr. German F. Sáenz* y Dra. Flor Solano**

INTRODUCCION

La intención de este trabajo es la de investigar los valores medios normales de proteínas totales y fraccionadas, en niños sanos recién nacidos ,y a la vez hacer un análisis comparativo de diferentes métodos.

MATERIAL Y METODOS

Hicimos uso del método mejorado del biuret que permite determinar la proteinemia total y separar las fracciones globulínicas y albúmina. Asimismo, determinamos la concentración de cada una de las fracciones de las proteínas séricas usando soluciones de fosfato monobásico de potasio, que permiten separar cinco componentes: albúmina, globulina alfa$_1$, globulina alfa$_2$, globulina beta y globulina gama. Finalmente, a modo de comparación con un número semejante de casos procedimos a hacer fraccionamiento electroforético, con miras a determinar no sólo la bondad del método de las sales de fosfato, sino también las variaciones que entre uno y otro se podrían observar.

Haciendo una revisión sobre métodos, debemos mencionar que hace ya casi 100 años que las proteínas séricas fueron separadas en dos grandes grupos por medio del uso del sulfato de amonio al 50% de saturación. A la porción que precipitaba se le denominó globulina y a la porción remanente en el fluído supernadante se le designó albúmina. Muchos años después, se desarrollaron otros métodos de laboratorio más específicos para esos mismos fines, mediante el uso de agentes precipitantes como sulfato de sodio al 22% y al 26%, y del sulfito de sodio al 26,9%.

WOLFSON *et. al.* (11), por ejemplo, utilizaron el sulfato de sodio 23,0% para precipitar solamente las beta y gama globulinas juntas. El método completo de los autores citados ha sido utilizado en nuestro medio por JIMÉNEZ (3) para

* Departamento de Análisis Clínicos, Facultad de Microbiología Universidad de Costa Rica.

** Laboratorio Clínico, Hospital San Juan de Dios, San José, Costa Rica.

la determinación de la proteinemia en la población general.

Posteriormente, para el fraccionamiento sérico (1) se introdujeron las sales de fosfato que presentan varias ventajas aún con respecto a la electroforesis. El procedimiento es rápido, exacto y reproducible y ofrece la gran ventaja del excelente control del pH por el uso de amortiguadores.

MARTINEK (6) considera que el método de las sales de fosfato es tan útil y exacto como el de la electroforesis, y aun preferible para el trabajo de rutina, por ser más rápido y de bajo costo.

El procedimiento que hemos seguido para determinar las proteínas séricas, mediante reacciones turbidimétricas, fraccionándolas con soluciones de fosfato monobásico de potasio, se fundamenta en el método propuesto por AULL & MAC CORD (1), quienes partieron de los estudios preliminares realizados por BUTLER *et. al* y RAPOPORT *et. al.*, citados en AULL y MAC CORD (1). Un juego de reactivos es ahora obtenible en el comercio (8). MARTINEK y BERRY (6) utilizaron la técnica de las sales de fosfato para la determinación del fibrinógeno plasmático, y EEG-OLOFSSON cit. en MARTINEK (5), propusieron la aplicación de este método para la valoración de gama-globulina en líquido cefalorraquídeo.

MARTINEK (5) demostró que los resultados obtenidos por los métodos de las sales de fosfato y de la electroforesis son equivalentes; sin embargo si se comparan ambos métodos sobre la base de precisión, costo y rapidez, el método turbidimétrico es incuestionablemente superior.

La acumulación rápida de literatura pediátrica sobre condiciones tanto normales como patológicas, requiere día a día de un mejor servicio de laboratorio, pues los notables progresos que se observan en el campo de la bioquímica analítica están exigiendo una mayor eficiencia y exactitud de parte del Laboratorio Clínico. Creemos que con este trabajo estamos contribuyendo al mejor conocimiento de un procedimiento alternativo de la electroforesis para la determinación rápida de proteínas totales y fraccionadas que indudablemente ofrecerá la oportunidad de obtener diagnósticos más precisos.

RESULTADOS

En el Cuadro 1 se señalan los valores promedios, de desviación estándar y los valores margen de la proteinemia total y fraccionada que fueron obtenidos en sangre de cordón umbilical en 100 niños recién nacidos, usando el método del biuret (4).

El valor margen se refiere, tanto en estos casos como en los siguientes, a los porcentiles 2,5 y 7,5, los cuales incluyen el 95% (aproximadamente) de los casos. Estos porcentiles se calcularon por interpolación en las distribuciones de frecuencia.

CUADRO 1

PROTEINAS TOTALES Y FRACCIONADAS g%

(Método mejorado del biuret)

	Promedio	Desviacion estándar	Margen
Proteínas totales	5,46	0,55	4,60 - 6,88
Albúmina	3,29	0,36	2,76 - 4,09
Globulinas totales	2,14	0,32	1,59 - 3,04

En el Cuadro 2 se indican los valores de albúmina y globulinas séricas totales que se obtuvieron en esa misma población y de acuerdo al procedimiento turbidimétrico de las sales de fosfato (5).

CUADRO 2

ALBUMINA Y GLOBULINAS TOTALES g%
(Método sales de fosfato)

	Promedio	Desviación estándar	Margen
Albúmina	3,27	0,36	2,53 - 3,98
Globulinas totales	2,16	0,34	1,59 - 2,98

En el Cuadro 3 se encuentran los valores para albúmina y globulinas séricas totales, obtenidos al comparar el método de la electroforesis y el de las sales de fosfato, en 50 sueros, haciendo las determinaciones simultáneamente.

CUADRO 3

ALBUMINA Y GLOBULINAS SERICAS g%
(Métodos de las sales de fosfato y de la electroforesis)

	Sales de fosfato	Electroforesis
Albúmina	3,27 ± 0,43	3,23 ± 0,48
Globulinas totales	2,23 ± 0,38	2,30 ± 0,32

En el Cuadro 4 se señalan los valores obtenidos para globulinas alfa$_1$, alfa$_2$, beta y gama, comparando los métodos de la electroforesis y de las sales de fosfato, en 50 sueros, estudiados simultáneamente.

CUADRO 4

FRACCIONES GLOBULINICAS g%

(Método de las sales de fosfato y de la electroforesis)

Fracción globulínica	Sales de fosfato	Electroforesis
Alfa$_1$	0,28 ± 0,06	0,27 ± 0,06
Alfa$_2$	0,39 ± 0,07	0,46 ± 0,11
Beta	0,67 ± 0,17	0,68 ± 0,13
Gama	0,93 ± 0,29	0,99 ± 0,22

DISCUSION

De acuerdo con las cifras obtenidas para proteínas totales y fraccionadas con base en procedimiento del biuret (4), de 5,46± 0,55 g%; de 3,29± 0,36 g% y de 2,14± 0,32 g%, para proteinemia total, albúmina y globulinas totales, respectivamente, nuestros valores en sangre de cordón umbilical resultan semejantes a los reportados por CABAL (2). OBERMAN *et al.* (9) encuentran valores medios para proteínas totales de 6,16 g% (5,3 - 7,0 g%), albúmina de 3,09 g% (2,06 - 3,95 g%) y para globulinas totales 3,08 g% (1,91 - 4,28 g%).

El procedimiento utilizado por ellos fue el de la electroforesis, en 26 casos estudiados, destacando especialmente los niveles altos de globulinas totales, en relación con los valores obtenidos por nosotros.

Relacionando los niveles de la proteinemia del recién nacido con los de la madre con parto a término, esos mismos autores (9) encontraron que las proteínas totales son un poco más bajas en el recién nacido, que casi no hay diferencia en los niveles de albúmina, y que las cifras de globulinas se presentan moderadamente más bajas en el niño.

Comparando las cifras de proteínas obtenidas en nuestro medio en la población general (6 a 60 años) por JIMÉNEZ (3), con los valores encontrados en recién nacidos, se puede llegar a la conclusión de que la proteinemia total y fraccionada del recién nacido es ostensiblemente más baja, según se destaca en el Cuadro 5.

CUADRO 5

	Proteínas totales (g%) $\overline{X}$	Albúmina (g%) $\overline{X}$	Globulinas totales (g%) $\overline{X}$
POBLACION GENERAL	7,0 (6,02 - 7,98)	3,89 (2,93 - 4,85)	3,11 (2,33 - 3,89)
RECIEN NACIDOS	5,46 (4,60 - 6,88)	3,29 (2,76 - 4,09)	2,14 (1,59 - 3,04)

Al comparar los datos obtenidos para albúmina y globulinas totales por los procedimientos del biuret y de las sales de fosfato, se llega a la conclusión de que existe un franco paralelismo de los resultados, tanto en el valor medio, como en los valores margen.

En la comparación de las cifras de albúmina y globulinas totales, como resultado de la aplicación del método de la electroforesis y el de las sales de fosfato (Cuadro 3), tenemos que se obtuvieron valores muy semejantes, hecho que confirma la bondad del método turbidimétrico.

Como ya se mencionó, la intención de este trabajo fue no sólo conocer la proteinemia normal total y fraccionada en recién nacidos, sino también aplicar un procedimiento sustitutivo de la electroforesis para la separación de las fracciones globulínicas.

Los resultados obtenidos al comparar ambos procedimientos, como puede verse en el Cuadro 4, fueron muy satisfactorios; las cifras encontradas por los dos métodos, para cada fracción, son muy similares.

Se ha demostrado que, con cuidadoso control el procedimiento turbidimétrico de las sales de fosfato da resultados fidedignos. Si se compara esta técnica con la de la electroforesis, se demuestra la exacta correlación de los hallazgos, la reproductividad de los resultados, así como la sencillez y la rapidez de la misma. Si se considera, además de la experiencia que requiere el analista, el gran número de variables que se hallan involucradas en la técnica de la electroforesis en papel, tales como cambios de pH, tipos de solventes, potencial eléctrico, humedad, tinción, temperatura, regulación del tiempo, etc., factores todos ellos que pueden afectar la correcta separación de las fracciones proteicas y por ende los resultados, llegamos a la conclusión de que el método turbidimétrico es superior en esos aspectos. No cabe duda alguna de que, al igual que lo señalado por MARTINEK (6), los resultados por ambos procedimientos son muy similares; sin embargo, cuando se comparan con base en precisión, costo y rapidez, el método de las sales de fosfato es definitivamente superior.

En la literatura revisada encontramos que OBERMAN *et. al.* (9), hallaron para las fracciones globulínicas, determinadas por electroforesis, valores ligeramente diferentes a los nuestros, según se puede ver en el Cuadro 6.

CUADRO 6

METODO	$Alfa_1$ (g%) $\overline{X}$	$Alfa_2$ (g%) $\overline{X}$	Beta (g%) $\overline{X}$	Gama (g%) $\overline{X}$
ELECTROFORESIS (Oberman et al.)	0,47	0,83	1,42	1,21
ELECTROFORESIS (Presente trabajo)	0,27	0,46	0,68	0,99
SALES DE FOSFATO (Presente trabajo)	0,28	0,39	0,67	0,93

Los mismos autores señalan valores de gama globulina ligeramente más altos en la sangre de cordón umbilical de recién nacidos a término, en relación con las madres (1,27 g% y 1,21 g%, respectivamente). Con respecto a las otras fracciones, los autores encuentran valores más bajos en los recién nacidos, sobre todo de la fracción beta.

MOORE *et. al.* (7), llegan a la misma conclusión al aceptar que el patrón electroforético total del suero de los recién nacidos es un poco más bajo que en las madres, debido fundamentalmente a las bajas cantidades de alfa y beta globulinas en el suero de aquellos.

Nuestros resultados fueron similares a los obtenidos por CABAL (2) utilizando la técnica para gama globulina de DE LA HUERGA y POPPER, mediante la cual encuentran en sangre de cordón de recién nacidos, valores de 0,98± 0,20 g%.

ORLANDINI *et. al* (10), encuentran valores ligeramente más altos de gama globulina, en sangre de cordón umbilical de recién nacidos, comparados con los de las madres; esas diferencias no eran de valor estadístico.

Los resultados obtenidos nos permiten sacar algunas conclusiones: en primer lugar, que los valores de las proteínas totales y de las fracciones albúmina y globulina, son muy semejantes a lo descrito en la literatura consultada, que en realidad es escasa. Cabe señalar que algunos de los trabajos consultados no dan mucha luz acerca del procedimiento seguido, número de casos y tipo de sangre utilizada, y que en otros, la población estudiada ha sido tan pequeña que cualquier comparación que se tratara de hacer puede inducir a interpretaciones erróneas.

No se destacan, asimismo, diferencias significativas en cuanto se refiere a separación de albúmina y globulinas totales, al comparar el procedimiento mejorado del biuret y el de las sales de fosfato. El estudio comparativo entre el método de las sales de fosfato y el de la electroforesis, nos dio resultados perfectamente comparables, lo cual nos permite recomendar el método turbimétrico por todas las razones anteriormente apuntadas.

RESUMEN

Se hacen determinaciones séricas de proteínas totales y fraccionadas, en sangre de cordón umbilical de recién nacidos normales a término, utilizándose los procedimientos del biuret, de las sales de fosfato y de la electroforesis.

En 100 casos se obtienen, por el método del biuret, para proteínas totales un valor promedio de 5,46 ± 0,55 g%; para albúmina 3,29 ± 0,36 g% y para globulinas totales 2,14 ± 0,32 g%.

Con el método turbidimétrico y con base en 100 casos estudiados, los valores obtenidos fueron de 3,27 ± 0,36 g% para albúmina y de 2,16 ± 0,34 g% para globulinas totales.

No se encuentran diferencias en los valores obtenidos, al comparar las cifras de albúmina y de globulinas totales por los métodos de la electroforesis y de las sales de fosfato. Asimismo, en 50 sueros analizados por las técnicas de la electroforesis y de las sales de fosfato, no se aprecian diferencias significativas en los valores obtenidos para las diferentes fracciones de las globulinas.

Se recomienda el uso del método de las sales de fosfato, como método alternativo de la electroforesis, para el estudio y valoración de las proteínas séricas.

BIBLIOGRAFIA

1. AULL, J. C. & W. M. MACCORD
   1955. *A simple, rapid procedure for the estimation of albumin and alpha, beta* and gamma globulin in serum.
   Jour. Lab. Clin. Med. 46: 476.

2. CABAL, M.
   1961. Valores proteínicos en niños normales recién nacidos en Bogotá. Trabajo de tesis, Escuela de Bacteriología, Pontificia Universidad Católica Javeriana, Colombia.

3. JIMÉNEZ, J. M.
   1954. Proteinemia normal en Costa Rica.
   Rev. Biol. Trop. *2(1)*: 59-68.

4. Manual de Métodos Clínicos (Casa Dade Reagent, Miami, U.S.A.).
   1960.

5. MARTINEK, R. G.
   1966. Serum protein fractionation with phosphate salts and electrophoresis.
   Jour. Med. Tech. 236-240.

6. MARTINEK, R. G. & R. E. BERRY
   1965. Micromethod for the estimation of plasma fibrinogen.
   Clin. Chem. 11:10.

7. MOORE, D. H., R. M. DU PAN, & C. I., BUXTON
   An Electrophoretic study of maternal, fetal and infant sera.
   Jour. Abst. & Gyn. 57:312.

8. MORAN, J. J.
   1963. Hycel serum protein determination.
   Literatura técnica Hycel Inc., Houston, Texas, U.S.A.

9. OBERMAN, J. W., K. O. GREGORY, F. G. BUREKE, S. ROSS, & E. C. RICE.
1956. Electrophoretic analysis of serum proteins in infants and children. I. Normal values from birth to adolescence.
New Engl. Jour. Med. 255-16.

10. ORLANDINI, O., SASS-KORTSAK & J. H. EBBS
1952. Serum gamma globulin levels in infancy.
Am. Jour. Dis. Child. 84:632.

11. WOLFSON, W., C. COHN, E. CALVARY, & F. ICHIBA
1948. Studies in serum proteins: A rapid procedure for the estimation of total proteins, true albumin, total globulin, alpha and gamma globulin in 1,0 ml of serum.
Am. Jour. Clin. Path. 18:723.