

Proteinemia normal en Costa Rica

por

José Miguel Jiménez *

(Recibido para su publicación el 17 de marzo de 1954)

En el presente estudio se muestran los niveles proteicos normales obtenidos para la población de Costa Rica, mediante la aplicación de un nuevo método de determinación cuantitativa de las proteínas séricas, el método de WOLFSON y colaboradores (15).

La finalidad del trabajo no ha sido exclusivamente establecer normales para las proteínas séricas totales y sus dos principales fracciones, sero albúmina y sero globulinas, ya que además las fracciones globulínicas α , β y γ nunca se habían investigado en nuestro medio.

El estudio de 500 sangres normales, sin que signifique que sea realmente representativo de la totalidad de la población, es de gran utilidad ya que nos da datos que pueden servir de comparación con los resultados obtenidos al usar el mismo método en los casos clínicos.

MATERIAL Y METODOS

A.—La determinación cuantitativa de las proteínas se hizo siguiendo el método de WOLFSON ET AL. (15), con la modificación de que se usó éter puro en vez del reactivo de Span-éter, ya que no fué posible conseguir el Span 20.

B.—Para hacer las determinaciones se usó el fotolorímetro Klett Summerson con filtro verde según indicación de los investigadores HILARY ROSS & GEMAR (11), previamente calibrado con una solución conocida de proteínas, (la concentración proteica del suero usado en la calibración del fotolorímetro, fué determinada mediante el método de Kjeldahl, como recomienda GRADWOHL (7)).

* Laboratorio Bacteriológico del Hospital San Juan de Dios, División de Bioquímica.

C.—El material humano se obtuvo de dos fuentes diferentes. El Laboratorio Bacteriológico del Ministerio de Salubridad Pública suministró sangres de niños sanos. El Banco de Sangre del Hospital San Juan de Dios suministró las sangres de adultos. Los especímenes aunque fueron tomados por la mañana, no lo fueron necesariamente en ayunas, estos se conservaron en refrigerador y las determinaciones se hicieron pocas horas después de su obtención. En este estudio se descartaron los sueros de todos aquellos individuos con reacción de Kahn o V.D.R.L. positivos. Los individuos tomados como muestra en este estudio presentaban las siguientes características:

EDAD: Oscilaba entre 6 y 60 años.

SEXO: 113 mujeres adultas y 69 niñas; 287 hombres adultos y 31 niños.

RESIDENCIA: Los individuos escogidos eran representantes de toda la Nación, siendo un 54 por ciento residentes de la provincia de San José.

OCUPACIÓN: Grupo formado por personas de todas las condiciones sociales y económicas, así como también de todas las profesiones y oficios.

INFLUENCIA DE LA HEMOLISIS EN EL METODO USADO

Es importante saber hasta qué punto en un suero hemolizado pueda o no determinarse las proteínas cuantitativamente por el método de WOLFSON, sin que haya variación de los resultados. Por no indicar los autores del método (15) la influencia de la hemólisis en los resultados finales, hemos creído conveniente hacer un breve estudio sobre el asunto.

Se procedió de la siguiente manera: en 8 tubos se colocaron porciones de 2 cm³ de suero. Previamente se preparó una solución de glóbulos rojos humanos al 1 por mil en solución salina fisiológica. A los 7 primeros tubos se les adicionó una cantidad conocida de glóbulos rojos en orden creciente del 1 al 7, se centrifugó y descartó la solución salina sobrenadante y al sedimento de glóbulos se le adicionó 0,1 cm³ de agua destilada con la finalidad de producir diferentes grados de hemólisis; el tubo 8 se dejó como testigo. Después de transcurridos algunos minutos y una vez completada la hemólisis en cada tubo, se determinaron las proteínas totales, sero albúmina, sero globulinas totales y sus fracciones α , β y γ . Los resultados obtenidos se han resumido en el cuadro I.

Analizando los datos del cuadro I observamos:

- 1) Que el suero N^o 1 adicionado de una cantidad muy pequeña de glóbulos rojos (aproximadamente 0,0005 m1), no presentó variación en las determinaciones de las proteínas totales así como en sus fracciones con respecto al suero testigo N^o 8.
- 2) Que en los sueros: 2, 3, 4, 5, 6 y 7 se observa un aumento progresivo de:
 - a) las proteínas totales; b) las globulinas totales; c) las α globulinas y una variación irregular de la β globulina. No se encontró una explicación para esta variación irregular de la β globulina.

CUADRO I

Influencia de la hemólisis en la determinación de las fracciones proteicas del suero humano

Tubo N°	VALORES EN GRAMOS POR CIENTO						Relación A/G
	PT	A1	GT	α	β	γ	
1	6,35	3,30	3,05	0,65	0,94	1,46	1,08
2	6,45	3,30	3,15	0,95	0,74	1,46	1,04
3	6,55	3,30	3,25	1,10	0,69	1,46	1,00
4	6,64	3,30	3,34	1,18	0,70	1,46	0,98
5	6,70	3,30	3,40	1,25	0,69	1,46	0,97
6	6,78	3,30	3,48	1,32	0,70	1,46	0,94
7	6,92	3,30	3,62	1,50	0,66	1,46	0,91
8	6,35	3,30	3,05	0,65	0,94	1,46	1,08

PT: Proteínas totales

A1: Sero albúmina

GT: Sero globulinas totales

α : Alfa globulina

β : Beta globulina

γ : Gama globulina

3) Asimismo se observa que en ninguno de los sueros se presentó variación de las cantidades totales de la sero albúmina, ni de la γ globulina. La relación A/G disminuye en su valor hasta invertirse.

De tales observaciones se deduce que siendo la hemoglobina una proteína, reaccionará con el reactivo de Biuret dando resultados más elevados para las proteínas totales.

Es importante hacer notar que en los tubos en que se hacía la determinación de la α globulina con sulfato de sodio al 23,0 por ciento, el centrifugado claro mostraba una coloración rojo pálida debida a la hemoglobina que no fué removida.

ESTUDIO COMPARATIVO DEL METODO USADO

En la rutina de nuestros laboratorios clínicos en Costa Rica se usan generalmente métodos químicos para la determinación cuantitativa de las proteínas séricas. Estos métodos han traído por consecuencia, en el mundo científico, una serie de discusiones en cuanto a su exactitud. Para algunos investigadores, con dichos métodos no se obtienen datos reales ya que con los agentes precipitantes de las proteínas no se puede asegurar una específica y total precipitación de una determinada fracción. La razón que se expone es la de que si con un agente químico se precipita una determinada fracción proteica y que si luego de separada ésta

se le hace un análisis electroforético, se observa en el diagrama respectivo que la fracción no se encontraba pura, sino que al precipitar arrastró pequeñas cantidades de otras fracciones (3), lo que alterará los resultados finales.

Este error ha sido corregido en el método de WOLFSON (15), o al menos se ha reducido al mínimo. Los autores han hecho comparación de los resultados obtenidos en una determinación cuantitativa de proteínas séricas por el método químico y con el análisis electroforético respectivo del mismo suero, obteniendo resultados semejantes. Para una explicación más clara del asunto veamos el cuadro II, tomado del trabajo de WOLFSON y colaboradores (15).

CUADRO II

Datos comparativos en la determinación de proteínas por fraccionamiento químico y electroforesis

(Según WOLFSON y colaboradores (15))

Verificado por	Nº dosificaciones	Fraccionamiento	VALORES EN GRAMOS POR CIENTO					Relación A/G
			A1	GT	α	β	γ	
Conh <i>et al.</i>	4	Químico	2,40	3,58	1,15	0,94	1,49	0,67
		Electr.	2,48	3,53	1,13	0,92	1,48	0,70
Conh <i>et al.</i>	10	Químico	2,41	5,24	—	—	—	0,46
		Electr.	2,42	5,14	—	—	—	0,47

Analizando los resultados obtenidos por los autores se deduce que las diferencias entre el fraccionamiento químico y electroforético están reducidas a pequeñas variaciones del segundo decimal, por lo tanto se puede considerar que dicho método químico es bastante exacto y sus resultados comparables con los obtenidos por el método electroforético, aceptado universalmente como el más exacto.

En el transcurso de nuestras investigaciones se hizo una comparación del método de WOLFSON (15), con los métodos de determinación cuantitativa de las proteínas séricas de Greenberg modificado por KOLMER (9) y el de PHYLLIPS VAN SLYKE (7). Los resultados obtenidos se han resumido en el cuadro N° III.

Se observa que por los tres métodos, la determinación de las proteínas totales fué semejante. El valor obtenido por el método de Wolfson para la sero albúmina, difiere del obtenido por el método de Greenberg, en un excedente aproximadamente semejante al valor de la α globulina. Esto es debido a que en el método de Greenberg la sero albúmina es separada de las globulinas totales mediante la precipitación de estas últimas con sulfato de sodio al 22,2 por ciento;

y, una concentración aproximada de sulfato de sodio, de 23,0 por ciento, es usada en el método Wolfson para precipitar solamente la β y γ globulinas juntas, es decir quedan en solución la sero albúmina más la α globulina. Es por esta razón que se obtiene un valor mayor para la sero albúmina por el método de Greenberg modificado por Kolmer, y por consecuencia el valor de las globulinas totales será menor. Se observa también una marcada diferencia entre la relación A/G por el método de WOLFSON (15) y la misma por el método de GREENBERG modificado (9).

CUADRO III

Datos comparativos en la determinación cuantitativa de proteínas por tres diferentes métodos químicos

Suero Nº	WOLFSON				GREENBERG				Phyllips Van Slyke
	P.T.	A1.	G.T.	A/G	P.T.	A1.	G.T.	A/G	P. T.
1	7,00	2,91	4,09	0,71	7,00	4,57	2,43	1,81	7,00
2	6,35	1,88	4,47	0,42	6,30	2,90	3,40	0,85	6,30
3	5,70	3,45	2,25	1,52	5,65	3,75	1,90	1,90	5,65
4	7,30	4,10	3,20	1,05	7,31	5,02	2,18	2,21	7,30
5	7,00	3,45	3,55	0,97	7,00	4,35	2,65	1,63	7,00

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el presente estudio se han resumido en el cuadro IV.

CUADRO IV

Proteinemia normal en Costa Rica

	Nº de casos	VALORES NORMALES ENCONTRADOS						Relación
		P. T.	A1.	G. T.	α	β	γ	A/G
x		7,00	3,89	3,11	1,03	0,86	1,22	1,25
s	500	0,49	0,48	0,39	0,23	0,25	0,18	0,26
%	100		55,56	44,44	14,17	12,28	17,44	—

\bar{x} : Media aritmética* (1) (4) (14)

%: Porcentaje relativo

P.T.: Proteínas totales

A1: Sero albúmina

G.T.: Sero globulinas totales

S: Desviación standard* (1) (4) (14)

α : Alfa globulina

β : Beta globulina

γ : Gama globulina

* Los valores de la medida aritmética y desviación standard están dados en gramos por ciento.

El análisis del cuadro IV muestra una proteinemia normal aceptable para nuestro medio y es comparable con las obtenidas por otros investigadores en otros países.

CASTELLANOS (2) en Guatemala en 1950 obtiene, al hacer el estudio de las proteínas normales por el método de Biuret en 76 personas, un valor de 57,90 por ciento para la sero albúmina y para las sero globulinas totales de 42,10 por ciento, con una relación A/G de 1,27.

ESCOBAR y MÉNDEZ en 1953 (6), al efectuar estudios microelectroforéticos de las proteínas séricas de 48 personas normales de la Ciudad de Guatemala, obtienen resultados para la sero albúmina de 55,70 por ciento y para las globulinas totales de 44,30 por ciento con un índice A/G de 1,27.

ROBINSON y colaboradores en 1949 (10) establecen el valor de 7,75 gramos por ciento de proteínas totales para sujetos normales de la Ciudad de México.

DEULOFEU y MARENZI en 1942 (5), consideran una proteinemia normal de: Proteínas totales 7,50 gramos por ciento; sero albúmina 5,60 gramos por ciento y sero globulinas totales 1,90 gramos por ciento. Estos últimos valores son bastante diferentes de los obtenidos por nosotros y de los obtenidos por otros investigadores para la sero albúmina y sero globulinas totales respectivamente.

Es importante hacer notar el hallazgo de valores altos de proteínas sanguíneas en personas que carecen de una alimentación bien balanceada, pues se ha observado que una ingestión baja de proteínas en la dieta no siempre va a determinar niveles bajos de proteínas séricas y por el contrario en algunos casos hay un aumento perceptible de estos valores sobre lo normal. ANDERSON y colaboradores en 1946 (12), encontraron en individuos relativamente desnutridos de la América Central y México un aumento de las proteínas séricas comprendido entre los valores de 7,39 y 7,61 gramos por ciento. KAGAN (8) considera que los valores mayores de 7,50 gramos por ciento son anormales.

STOUT y colaboradores (13) en 1952, no encuentran diferencias entre sueros de presuntos sifilíticos y sueros normales, en las distintas fracciones globulínicas.

En cuanto al cuidado de no hacer determinaciones cuantitativas de las proteínas séricas en sueros hemolizados, siempre debe insistirse sobre el asunto pues se observó que una hemólisis, aunque no muy marcada, determina un aumento de las proteínas totales, globulinas totales, α globulina y una modificación de la relación A/G hasta llegar a invertirse. Esta anomalía no debe existir, ya que los resultados pueden ser interpretados erróneamente.

Un estudio comparativo de los valores hallados en Costa Rica, con los mismos hallados por otros investigadores en otros países de Centro América y México, puede hacerse viendo el cuadro V.

El cuadro V nos muestra que tanto los resultados obtenidos por Castellanos, mediante método químico, como los de Robinson y colaboradores en México, y los de Escobar y Méndez, con el método microelectroforético, para las proteínas séricas normales en Guatemala, son comparables con los resultados obtenidos en nuestro medio.

CUADRO V

Datos comparativos de distintos valores proteicos obtenidos en Centro América y México

AUTOR	METODO	Nº de casos	P. T.	A1.	G. T.	A/G
Castellanos* (2)	Biuret	76	100	57,90	42,10	1,27
Escobar y Méndez* .. (6)	Microelectro- foresis	48	100	55,70	44,30	1,27
Robinson et al.** (10)	—	7,75	—	—	—
Jiménez**	Wolfson	500	7,50	3,89	3,11	1,25

* * Valores dados en porcentaje relativo.

** Valores dados en gramos por ciento.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se estudió la distribución de los diversos componentes proteicos del suero humano en la población de Costa Rica, en 182 mujeres y 318 hombres de los cuales 69 eran niñas y 31 niños menores de 9 años de edad; se usó el método de WOLFSON y colaboradores (15) para hacer las determinaciones cuantitativas.

Los resultados obtenidos para todo el grupo fueron:

Proteínas totales	=	7,00 ± 0,49	gramos por ciento
Sero albúmina	=	3,89 ± 0,48	gramos por ciento
Sero globulinas totales	=	3,11 ± 0,39	gramos por ciento
α globulina	=	1,03 ± 0,23	gramos por ciento
β globulina	=	0,86 ± 0,25	gramos por ciento
γ globulina	=	1,22 ± 0,18	gramos por ciento
Relación A/G	=	1,25 ± 0,26	

En este estudio también se presentan los resultados obtenidos en la comparación del método usado, WOLFSON (15), con los métodos de Greenberg modificado por KOLMER (9) y PHYLLIPS VAN SLYKE (7). Además se observó la influencia de la hemólisis en el fraccionamiento de las proteínas séricas por el método de Wolfson.

SUMMARY

The distribution of the several protein components of human serum was studied in a total of 500 subjects, of which 182 were women and 318 were men; in turn, out of these figures, there were 31 males and 69 females whose age was less than 9 years old. This group was taken as a representative sample fragment of Costa Rican population and Wolfson's method was used in all quantitative determinations.

The following results were obtained for the entire group:

Total proteins	=	7,00 ± 0,49 gr %.
Serum albumin	=	3,89 ± 0,48 gr %.
Total serum globulins	=	3,11 ± 0,39 gr %.
α globulin.	=	1,03 ± 0,23 gr %.
β globulin	=	0,86 ± 0,25 gr %.
γ globulin	=	1,22 ± 0,18 gr %.
A/G ratio	=	1,25 ± 0,26

Also a comparison is made of the results obtained using Wolfson's procedure with those of Kolmer's modified Greenberg and Van Slyke's.

The influence of hemolysis in the fractionation of serum protein using Wolfson's method was also noticed.

RIASSUNTO E CONCLUSIONI

L'A. considera la distribuzione dei differenti componenti proteici del siero umano in Costa Rica. Fu analizzato il siero di 318 uomini, 182 donne e fra questi 31 bambini e 69 bambine minori di 9 anni. Per le determinazioni quantitative si è usato il metodo di WOLFSON *et al.* (15).

I risultati ottenuti sono:

Proteine totali	=	7,00 ± 0,49 gr.%
Siero albumina	=	3,89 ± 0,48 gr.%
Siero globuline totali	=	3,11 ± 0,39 gr.%
α globulina	=	1,03 ± 0,23 gr.%
β globulina	=	0,86 ± 0,25 gr.%
γ globulina	=	1,22 ± 0,18 gr.%
Relazione A/G	=	1,25 ± 0,26

Nel presente lavoro vengono anche presi in considerazione i risultati ottenuti da Wolfson, Kolmer e Phyllips Van Slyke ed inoltre si fa notare l'influenza dell'emolisi sul frazionamento delle proteine seriche fatto con il metodo di Wolfson.

RECONOCIMIENTO

Quiero expresar mi agradecimiento al Prof. Alfonso Trejos W., Jefe del Laboratorio Bacteriológico del Hospital San Juan de Dios. Al Lic. Arnoldo Castro J., Jefe del Laboratorio Bacteriológico del Ministerio de Salubridad Pública. Al Sr. Ricardo Jiménez J., Jefe del Departamento de Bioestadística de la Lucha Antituberculosa del Ministerio de Salubridad Pública. Al personal técnico administrativo del Banco de Sangre del Hospital San Juan de Dios, por la valiosa ayuda prestada en la realización de este estudio.

BIBLIOGRAFIA

1. BRADFORD HILL, A.
1950. *Estadística médica*. Traducción del inglés por José A. Coll., VIII + 258 pp., Editorial Santa Fe, Argentina.
2. CASTELLANOS, E.
1950. Estudio de las proteínas del suero y sus fracciones en grupos normales de la Ciudad de Guatemala. *La Escuela de Farmacia*, 12(156-159).
3. CORONA, L.
1948. *Química normal y patológica de la sangre*. 4ª ed., 1743 pp., Empresa Editora Zig-Zag, S.A., Santiago de Chile.
4. CROXTON, F.E. & D.J. COWDEN.
1948. *Estadística general aplicada*. Traducción del inglés por T. Ortíz y M. Bravo, 710 pp., Fondo de Cultura Económica, Buenos Aires.
5. DEULOFEU, V. & A.D. MARENZI.
1942. *Curso de química biológica*. 3ª ed., XI + 503 pp., El Ateneo, Buenos Aires.
6. ESCOBAR, CARLOTA, & J. MÉNDEZ.
1953. Estudios microelectroforéticos de las proteínas séricas en grupos normales de la Ciudad de Guatemala y en diversos casos patológicos. *Bol. Of. San. Pan.*, 35(1):17-25.
7. GRADWOHL, R. B. H.
1948. *Clinical laboratory methods and diagnosis*. 4ª ed., Volumen I, VIII + 1295 pp., The C.V. Mosby Company, St. Louis.
8. KAGAN, B. M.
1943. Studies on the clinical significance of serum proteins. II. The relationship between the albumin-globulin ratio, albumin, globulin and total protein. *Arch. Int. Med.*, 71:157-163. Cit. en (13).
9. KOLMER, W.Q & F. BOERNER.
1948. *Methods of clinical laboratory*. 4ª ed., XXXIII + 1083 pp., Editorial Interamericana S.A., México, D.F.

10. ROBINSON, W.D., G.C. PAYNE, & J. CALVO.
1944. A study of nutritional status of population group in Mexico City. *Jour Amer. Diet. Assoc.*, 20:289-297. Cit. en (12).
11. ROSS, SISTER HILARY & F. GEMAR.
1951. Studies on serum proteins in leprosy the alpha, beta and gamma globulin fractions. *Internat. Jour Leprosy* 19(4):445-452.
12. SCRIMSHAW, N.S., M. GUZMÁN, & J. MÉNDEZ.
1951. Interpretación de los valores proteicos del suero humano en la América Central y Panamá. *Bol. Of. San. Pan.*, 30(5):672-985.
13. STOUT, G.; J. MÉNDEZ, M. GUZMÁN & N.S. SCRIMSHAW.
1952. Reacciones serológicas para Sífilis presuntamente positivas falsas en la América Central. III. Relación con el contenido de proteína, albúmina y globulina en el suero. *Bol. Of. San. Pan.*, 33(2):110-115.
14. TRUCCO, S.E.
1950. *Análisis estadístico aplicado a los trabajos de investigaciones en Agricultura y Biología*. 2ª ed., XVI + 290 pp., 10 tablas. El Ateneo, Buenos Aires.
15. WOLFSON, W.Q.; COHN, C.; CALVARY, E. & F. ICHIBA.
1948. Studies in serum proteins; A rapid procedure for the estimation of total protein, true albumin, total globulin, alpha globulin, beta globulin and gamma globulin in 1,0 ml of serum. *Amer. Jour. Clin. Path.*, 18:723-730. (Technical Section).