

# REVISTA CLÍNICA ESPAÑOLA

Director: C. JIMENEZ DIAZ. Secretarios: J. DE PAZ y F. VIVANCO

Redacción y Administración: Antonio Maura, 13. Madrid. Teléfono 22 18 29

Editorial Científico-Médica.

TOMO XXVI

31 DE JULIO DE 1947

NUM. 2

## REVISIONES DE CONJUNTO

### ELECTROFORESIS DE LAS PROTEINAS HUMANAS

J. PERIANES CARRO

Clínica Médica Universitaria de Madrid.  
Profesor C. JIMÉNEZ DÍAZ.

Laboratorio Químico-Farmacéutico de Sandoz, en Basilea.  
Profesor A. STÖLL.

SUMARIO: 1. Introducción.—2. El método.—3. Las proteínas del plasma normal: A) Las proteínas como elementos de transporte: porfirinas y lípidos. B) La asociación albúmina-heparina. C) Hipertensinógeno.—4. Anticuerpos.—5. Las proteínas de los plasmas patológicos: A) Nefrosis. B) Cirrosis. C) Mieloma múltiple. D) Otras enfermedades.—6. Las proteínas de otros líquidos orgánicos: A) Líquido cefalorraquídeo. B) Derrames. C) Líquido sinovial.—7. Hormonas.—8. Fermentos.—9. Otras proteínas.

#### 1. INTRODUCCIÓN.

Aunque la química de las proteínas ha experimentado en los últimos años un considerable avance, nos quedan todavía por conocer una serie de problemas de capital importancia relacionados con la exacta composición de estos materiales. Hasta tal punto llega nuestro desconocimiento sobre la constitución de la molécula, que hoy por hoy nos es imposible establecer divisiones entre muchos grupos de proteínas, teniendo sólo en cuenta los aminoácidos que la constituyen, ya que si bien es cierto que muchas veces tenemos noticias exactas sobre las diferentes clases de los mismos que entran a constituirlos, desconocemos, en cambio, su disposición y las veces que se repiten para formar dicha molécula.

Por este motivo es lógico que los investiga-

dores hayan buscado otra serie de métodos para poder establecer diferenciaciones entre las diversas moléculas proteicas. La mayoría de tales métodos se basan en las curiosas propiedades físicas que éstas presentan, y en el razonamiento de que a pequeñas variaciones en el orden de estas propiedades deben de corresponder también variaciones en su constitución química.

Para tales fines se han empleado principalmente tres métodos: la precipitación por las soluciones salinas, la ultracentrifugación y, más recientemente, la electroforesis.

El primero de ellos tiene su fundamento en que, siendo las proteínas coloides hidrófilos, es decir, con tendencia a combinarse con las moléculas de agua, la solidez de esta unión debe de ser diferente, según la constitución química de cada una de ellas. Si a una solución de proteínas añadimos soluciones salinas de variable concentración, las proteínas irán precipitándose con arreglo a su diferente grado de hidrofilia y en íntima relación con la concentración de la sal empleada, la cual actúa privando a dichas proteínas de su agua de hidratación. Aunque estos métodos han sido muy empleados, está universalmente reconocido que las fracciones por ellos obtenidas no llenan el criterio necesario para establecer entre las mismas individualidades químicas perfectas. Refiriéndonos concretamente al caso de las proteínas plasmáticas consignadas por estas técnicas, nos damos cuenta que son tan variables y numerosas las obtenidas, que es imposible concebir a estas fracciones como preexistentes en el plasma. Estas razones llevaron a BLOCK<sup>1</sup> a considerar que con respecto a las proteínas del plasma no debemos hablar de diferentes fracciones en sentido químico, sino simplemente de estados variables de agregación de una misma proteína, a la que él denominó "oresina". De igual manera SORESEN<sup>2</sup>

concibe a las proteínas plasmáticas como formando parte de un sistema compuesto por agrupamientos disociables y reversibles, sospechando que muchas de las fracciones obtenidas por los métodos de precipitación representan tan sólo un artificio de la técnica.

Un paso más en el conocimiento de estos problemas se obtuvo mediante los trabajos de SVEDBERG y SJÖGREN<sup>2</sup>, los cuales, sometiendo soluciones de proteínas a la acción de un intenso campo centrífugo, lograron la separación de sus componentes con arreglo a la velocidad de sedimentación y en virtud de ésta, llegar a conocer el peso molecular de las proteínas obtenidas. Aunque este método ha venido a informarnos sobre una serie de hechos de gran importancia, la exactitud de sus conclusiones tampoco puede servir como criterio diferencial, ya que se sabe que cuando una albúmina con peso molecular elevado es sometida a la acción de una débil solución de urea, se descompone en una serie de fragmentos de menor peso molecular, de tal forma, que las proteínas que con este método presentan grandes pesos moleculares, es muy verosímil que puedan ser tan sólo la agrupación de partículas micelares más pequeñas.

El último y tercer método, conocido con el nombre de electroforético, se funda para establecer la diferenciación entre las moléculas de proteínas en la diferente velocidad de emigración que las mismas presentan en relación con la intensidad de su carga eléctrica cuando son sometidas al influjo de un campo eléctrico.

Si en un recipiente de vidrio lleno de agua existen ciertas partículas, tales como burbujas de aire, gotitas de aceite, hilos de vidrio, polvo de óxido férrico, etc., y a su través hacemos pasar una corriente eléctrica, podremos ver con facilidad dos series de hechos: 1.<sup>a</sup> Que mientras las partículas de óxido férrico se dirigen hacia el polo negativo, las restantes marchan hacia el positivo; y 2.<sup>a</sup> Que la velocidad de emigración es diferente de unas a otras.

Si ahora añadimos una solución de gelatina ligeramente alcalina, las partículas antes consideradas, y en virtud de un fenómeno de tensión superficial, serán envueltas por dicha sustancia, de tal manera, que podremos ver cómo el óxido de hierro, cambiando de dirección, se dirige al igual que las otras partículas hacia el polo positivo, y que, al contrario de lo que antes ocurría, en esta nueva situación todas presentan igual velocidad.

En suma, pues, estos fenómenos vienen a demostrarnos que las sustancias antes consideradas en suspensión, están poseídas de una carga eléctrica de signo contrario al del polo hacia el cual se dirigen, y que la naturaleza de esa carga única y exclusivamente depende de la que se encuentre en su superficie. Como por otro lado cuando las partículas están incluidas en la gelatina presentan todas la misma velocidad, es indiscutible que ésta depende únicamente de la intensidad de la carga y que es invariable, den-

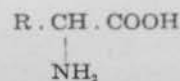
tro de ciertos límites, cualquiera que sea el tamaño y la forma de la partícula.

Si continuando el experimento añadimos una pequeña cantidad de ácido, podremos ir viendo cómo las partículas disminuyen de velocidad a medida que la cantidad de ácido es mayor; llega un momento en el que se paran, y más tarde, si continuamos agregando ácido, las veremos ponerse de nuevo en marcha hacia el polo negativo.

En resumen, pues, lo que nosotros hemos conseguido al añadir el ácido ha sido cambiar la carga eléctrica de la proteína de negativa a positiva, habiendo pasado por una zona de determinada acidez, en la que indiscutiblemente la proteína carecía de carga eléctrica, ya que no presentaba ningún desplazamiento, es decir, estábamos en su punto isoeléctrico.

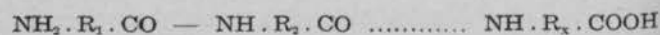
Estos fenómenos que hemos descrito constituyen el fundamento del método que describimos, ya que los mismos hechos que hemos señalado para la gelatina pueden ser ampliados para el resto de las proteínas.

La curiosa conducta eléctrica de todas las proteínas viene dada por la especial constitución de los aminoácidos que entran a formar su molécula. Como es bien sabido, podemos representar esquemáticamente un aminoácido como respondiendo a la fórmula general:



La existencia en la molécula de estos cuerpos de un grupo ácido (carboxílico) y otro básico (amínico) les confiere características especiales, ya que de esta manera pueden actuar como bases o ácidos, según la reacción del medio en que se encuentren situados.

Teniendo en cuenta que las proteínas no son más que asociaciones de grupos—en general muy numerosos—de aminoácidos, es indiscutible que tienen que participar también de la propiedad antes indicada. La asociación de los diferentes ácidos aminados para dar lugar a la constitución de la molécula proteica se realiza mediante la llamada unión peptídica entre los grupos amínicos de unos y carboxílicos de otros, de tal manera, que una molécula de proteína cuando en su constitución no entran más que ácidos monoaminomonocarboxílicos, puede ser representada mediante la fórmula:



es decir, que debe existir un grupo amínico en uno de sus extremos y un grupo carboxílico en el otro, de tal manera, que en virtud de lo que antes decíamos, es indiscutible que cuando esta proteína se encuentre en un medio alcalino será el grupo carboxílico el que estará eléctricamente cargado, y cuando la situemos en un medio ácido, será el radical amínico el responsable de la carga eléctrica.

Ahora bien, el ejemplo que antes hemos pues-



to constituye tan sólo una reducción a la máxima sencillez de lo que es una molécula proteica, ya que, teniendo en cuenta que muchos aminoácidos poseen más de un grupo amínico o carboxílico, en virtud de la existencia de una serie de cadenas laterales es fácil de comprender que las posibilidades de asociación para constituir la molécula de la proteína han de ser múltiples, y en su consecuencia, el número de radicales activamente cargados será variable con el número y ordenación de los aminoácidos en el interior de dicha molécula.

Teniendo en cuenta todo lo que hemos dicho, es indiscutible que si nosotros, en virtud de los fenómenos electroforéticos podemos determinar la velocidad de emigración de una proteína hacia uno de los polos—la cual al fin y al cabo, como hemos visto, sólo depende de la intensidad de la carga eléctrica de la misma—, tendremos en la mano un método para poder decir que si dos proteínas estudiadas bajo las mismas condiciones experimentales, no presentan igual velocidad de emigración, su fórmula química no puede ser tampoco la misma, ya que en definitiva esa diferencia de velocidad observada viene a decirnos que el número de radicales (amínicos o carboxílicos) activamente cargados en su molécula (y en su consecuencia los aminoácidos que la forman) tienen que ser diferentes.

## 2. EL MÉTODO.

Aunque han sido muchos los métodos descritos para poder observar la emigración de las proteínas sometidas a la acción de un campo eléctrico, aquí sólo hemos de describir la técnica seguida con el aparato de TISELIUS, por ser el que más aceptación ha alcanzado.

En 1930, y posteriormente en 1937, TISELIUS<sup>3-4</sup> hizo la descripción de un aparato, fundado en los conceptos físicos que antes hemos expuesto, para con él llegar a establecer diferencias entre las proteínas que forman una solución.

Este aparato consta esencialmente de dos partes: por un lado, la llamada célula electroforética, y por otro, el sistema óptico destinado a poner de manifiesto los desplazamientos que en el interior de aquélla sufren las proteínas.

La célula está formada esencialmente por un tubo de vidrio en U, el cual, en virtud de un sistema de dos placas de cristal, puede ser dividido en un compartimiento superior y otro inferior. En este último se coloca la solución proteica deseada, después de haber sido dializada contra determinado puffer. Seguidamente, y valiéndose de los cristales horizontales perforados para permitir la comunicación de los dos compartimientos, se establece la separación de ambos mediante el deslizamiento de la parte superior sobre la inferior. Este momento se aprovecha para colocar en aquélla una solución puffer, de exacta composición a la que utiliza-

mos para la diálisis, e inmediatamente se lleva la célula a un termostato con objeto de hacer la observación a temperatura constante. Se establece una corriente eléctrica por medio de dos electrodos colocados en el puffer, y seguidamente se vuelve a establecer la comunicación entre los dos compartimientos de la célula, de tal manera, que ambas soluciones entran en contacto.

La corriente eléctrica establecida hace emigrar a las proteínas y situarse en las ramas del tubo U con arreglo a su velocidad de emigración, de tal manera, que pasado cierto tiempo se dispondrán en diferentes capas. Conseguido esto, sólo resta conocer la disposición de las mismas y la concentración de la molécula en ellas contenida. Para ello, y teniendo en cuenta que los estratos formados constituyen para un rayo luminoso un medio de refracción diferente,

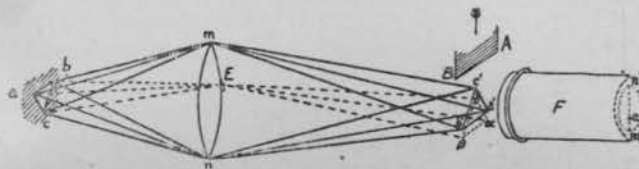


Fig. 1.—Esquema del efecto FOUCAULT-TOEPLER. (Tomado de ABRAMSON, MOYER y GORIN: "Electrophoresis of Proteins and the Chemistry of Cell Surfaces". Nueva York, 1942.)

bastará disponer de un sistema óptico adecuado para que la desviación luminosa pueda ser observada.

En realidad, todos los métodos empleados para conocer la emigración de una proteína en un campo eléctrico se fundan en el principio óptico de FOUCAULT, adoptado por TOEPLER para observar pequeñas variaciones en el índice de refracción de dos medios diferentes. Siguiendo el esquema de la figura 1, podremos darnos cuenta del fundamento de este principio. El triángulo  $a, b, c$ , representa una abertura de esta forma hecha sobre una superficie iluminada. La lente  $mn$  proyecta una imagen real de dicho triángulo en  $a', b', c'$  y  $F$  representa un objetivo enfocado en la superficie de dicha lente, de tal manera, que en él la imagen de la misma se presenta invertida:  $m'n'$ . Finalmente el diafragma  $AB$ , con su borde paralelo a  $a', b'$ , puede ser movido en la dirección de la flecha. Si ahora deslizamos este diafragma lentamente hasta la línea  $a'b'$ , podremos ir viendo cómo a cada nueva posición del mismo el objetivo pierde luminosidad de manera homogénea y uniforme. Así, por ejemplo, cuando el diafragma cubra el punto  $c'$ , el objetivo debería perder luminosidad en el punto  $m'$ , ya que el rayo  $mc'$  ha sido suprimido. Sin embargo, si reparamos en la figura, veremos que cómo también para esta posición del diafragma el rayo  $nc'$  queda interceptado, el punto  $n'$  debe asimismo disminuir en luminosidad, y de igual forma podríamos razonar para una serie de puntos responsables de la iluminación del objetivo. En resumen, a cada nuevo descenso del diafragma  $AB$  la superficie del objetivo va perdiendo claridad de

manera uniforme, hasta que llegado el momento en el que la línea  $a'b'$  sea alcanzada la superficie del mismo debe mostrarse completamente oscura, ya que todos los rayos han sido suprimidos. Esta última posición del diafragma se conoce con el nombre de "posición sensible".

El fenómeno descrito se altera cuando parte de los rayos son desviados del camino normal señalado. Supongamos un pequeño prisma,  $E$ , situado en la lente, el cual produce una desviación de los rayos hacia abajo y da lugar a la aparición de un nuevo triángulo en  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ . Si entonces nosotros colocamos el diafragma en su posición sensible, aún pueden pasar parte de los rayos desviados por  $E$ , y como el

momento, ya que además la mayoría de los diagramas que acompañamos están obtenidos con dicha técnica.

La figura 2 representa esquemáticamente la marcha de los rayos. La luz (de izquierda a derecha), después de pasar por una hendidura horizontal, hecha en una lámina no representada en la figura, atraviesa primero la célula  $Z$ , en la cual se encuentra la solución de proteínas sometida a la acción de una corriente eléctrica, y en la que se han representado en forma de pequeñas líneas curvas, hipotéticas capas de proteínas. Más tarde los rayos luminosos vienen a reproducir en la placa  $SP$ , y por efecto de la lente  $SK$ , la imagen de la hendidura que prime-

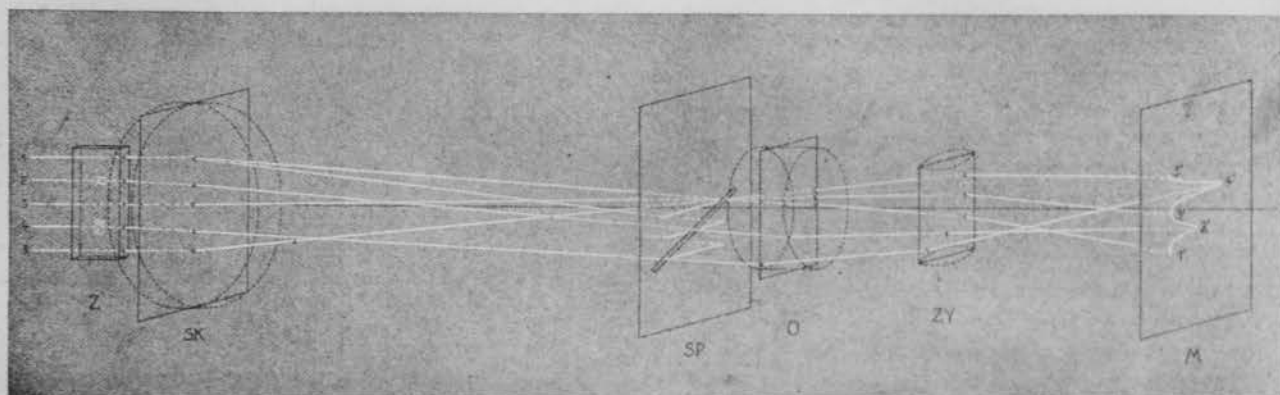


Fig. 2.—Esquema de la marcha de los rayos para obtener diagramas según el método de PHILPOT-SVENSSON. (Tomado de E. WIEDEMANN.)

objetivo se encuentra enfocado en la lente, el punto  $e$ , correspondiente en su superficie a la imagen del prisma donde los rayos son desviados, aparecerá como iluminado sobre fondo oscuro. Por el contrario, si el prisma es colocado con su base hacia  $m$ , de tal manera que los rayos sean desviados hacia arriba, entonces no será posible interceptar parte de sus rayos sin que el diafragma interrumpa ninguno de la imagen  $a'b'c'$ . En esta nueva situación es fácil comprender que el punto  $e$  del objetivo se mostrará oscuro sobre el fondo iluminado de la superficie del objetivo.

Valiéndose de este principio es como TISELIUS<sup>4-5</sup> pudo hacer sus primeras descripciones sobre las proteínas del plasma, y sus diagramas entonces no consistían más que en una serie de bandas sucesivamente claras y oscuras que representaban los diferentes índices de refracción suministrados por las capas de proteínas.

Posteriormente han aparecido dos técnicas más en lo que se refiere al dispositivo óptico: por un lado, la de LONGSWORTH<sup>6-7</sup>, que proporciona los diagramas en forma de una superficie curva, negra, sobre fondo claro, y la técnica de PHILPOT-SVENSSON<sup>8-9-10</sup>, que proporciona los diagramas en forma de una línea curva, blanca, sobre fondo negro.

Por ser este último método el empleado por WIEDEMANN, bajo cuya dirección trabajamos, daremos una somera descripción de su funda-

ramente han atravesado. Como la placa  $SP$  está provista de una abertura diagonal, sólo parte de estos rayos podrán atravesarla para venir a cruzar el objetivo  $O$ , la lente cilíndrica  $ZY$  y proyectarse en el cristal esmerilado  $M$ , donde pueden ser fotografiados. Lo más difícil de comprender de este esquema es la acción de la lente cilíndrica  $ZY$ . Para darse cuenta de su efecto es necesario saber que su eje es vertical y tener siempre en cuenta la marcha de los rayos que la atraviesan, tanto en sentido vertical como horizontal. Si consideramos los rayos que cruzan dicha lente en un solo plano horizontal, la resultante de los mismos es la reunión de todos ellos en un punto, pero como en realidad la lente es atravesada por numerosos planos horizontales de rayos, fácilmente comprenderemos que en definitiva su efecto será la formación de una línea luminosa y vertical en el vidrio  $M$ .

Si en el esquema seguimos la marcha de los rayos 1, 3, 5, que cruzan la célula electroforética a diferente altura, pero atravesando medios de igual índice de refracción, veremos que, viniendo a proyectarse sobre la superficie  $SP$  y atravesando algunos su hendidura, cruzan el objetivo  $O$  y la lente cilíndrica  $ZY$  para terminar sobre el vidrio  $M$  y dar lugar a 1', 2', 3', es decir, a puntos que están situados en la misma línea vertical, y como en realidad esto es tan sólo una representación esquemática del número infinito de rayos que tenemos, fácilmente se



comprende que en las condiciones experimentales verdaderas la marcha de tales rayos da lugar a una línea luminosa vertical, que constituye la línea basal, que puede ser vista en los diagramas que acompañamos.

Si ahora tenemos en consideración el rayo 2, que atraviesa en la célula una capa de proteínas y, por lo tanto, con distinto índice de refracción, podemos darnos fácilmente cuenta de que no siguiendo hasta la superficie *SP* el mismo camino que los anteriores, y en virtud de la orientación oblicua de su hendidura, el lugar de incidencia en la lente cilíndrica *ZY* es también diferente y, por lo tanto, su proyección en *M* se apartará de la línea basal en una distancia tal, que está siempre en relación con el grado de desviación que ha sufrido en la célula. Como las capas de proteínas formadas no tienen en toda su altura la misma concentración, de aquí que la serie de rayos que las atraviesan den lugar a una línea curva que corresponde a la representación de sucesivos y ligeros cambios de concentración de la proteína que se encuentra dispuesta en aquella capa.

La marcha del método, prescindiendo de detalles que sólo interesan al técnico, es como sigue: colocada, según antes hemos indicado, la célula electroforética en el termóstato, y establecida la corriente eléctrica, es preciso esperar un tiempo determinado para lograr la separación de las diferentes proteínas.

Este tiempo es muy variable, pero en general, cuando se trabaja con proteínas del plasma y empleando una corriente en la célula de 7 miliamperios y 98 voltios, al cabo de 7.000 a 9.000 segundos la separación de las fracciones da lugar a una imagen perfecta y fácil de interpretar.

Obtenido el diagrama, se hace una fotografía del mismo, y sólo queda por determinar la velocidad de emigración de las diferentes fracciones y la concentración de las mismas.

Mediante aparatos con un sistema óptico muy perfecto podemos llegar a conocer la cantidad absoluta de proteínas contenidas en la solución; sin embargo, la mayoría de las veces se prefiere hacer una determinación química de la proteína total y hallar en el diagrama los valores de las diferentes fracciones, ya que es preciso tener en cuenta que el área limitada por cada onda es proporcional a la concentración de la proteína que representa. Para conseguir esto bastará, mediante un planímetro, determinar la superficie limitada, y fácilmente obtendremos la concentración de cada una de las fracciones.

La observación de algunos diagramas obtenidos con la técnica de PHILPOT-SVENSSON permite comprobar que muchas de las curvas no llegan a la línea basal debido a que las capas de proteínas en la célula, en el tiempo empleado, no se han separado perfectamente, de tal manera, que el final de una de ellas entra en contacto o se superpone en un pequeño espacio con la siguiente. Indiscutiblemente si prolongá-

ramos el tiempo de experiencia la separación se lograría, pero teniendo en cuenta que si nosotros completamos la curva, es decir, hacemos su extrapolación, el resultado es el mismo, no es necesario recurrir a una pérdida de tiempo innecesaria.

La velocidad de emigración de las fracciones se consigue con facilidad, ya que conocemos el camino que han recorrido y el tiempo en ello empleado. Ahora bien, como su velocidad es variable con arreglo a una serie de factores, tales como la conductibilidad del puffer, el pH y fuerza iónica del mismo, la intensidad de la corriente empleada, etc., se ha preferido hablar, mejor que de velocidad de una proteína, de movilidad de la misma, es decir, de la velocidad obtenida en función de los factores antes indicados, para de esta forma poder coordinar los resultados obtenidos por los diferentes investigadores.

\* \* \*

Las posibilidades de estudio de este método han sido resumidas por LONGSWORTH de la siguiente forma:

1.º Es aplicable al estudio de un gran número de sustancias en solución con peso molecular alto.

2.º Puede ser usado en el estudio de las mezclas de estas sustancias, de tal manera, que nos permite conocer: a) El número de sus componentes eléctricamente separables. b) El grado de su homogeneidad eléctrica. c) La concentración; y d) La movilidad de los mismos.

3.º Permite la separación en estado puro de cada uno de los constituyentes de dicha mezcla.

4.º La movilidad de una determinada partícula puede ser estudiada a cualquier pH.

5.º Como el método puede ser empleado para sustancias en diverso grado de concentración, puede utilizarse para conocer las reacciones entre el solvente y las partículas o entre éstas y otros cuerpos añadidos a la solución.

En la presente revisión no nos vamos a ocupar más que de la electroforesis de las proteínas humanas, ya que la descripción de los hallazgos en otros animales, de la importancia del método para el estudio de los virus, las proteínas y vegetales, etc., nos llevaría fuera de nuestro propósito. Tan sólo en algunos casos citaremos brevemente lo encontrado en algunos animales, con objeto de aclarar los conceptos en lo que se refiere a las proteínas humanas.

### 3. LAS PROTEÍNAS DEL PLASMA NORMAL.

En el año 1905 HARDY<sup>13</sup> pudo comprobar diferencias en la emigración de las proteínas del plasma cuando éstas eran estudiadas bajo la acción de un campo eléctrico. Este hecho, aunque conocido por físicos y biólogos, no fué aplicado para establecer diferenciaciones entre las diversas proteínas hasta los estudios de BENNHOLD<sup>14</sup>, el cual, sirviéndose de un método especial, indicó que las albúminas del suero juegan un gran

papel como portadoras de otras sustancias en la sangre. De igual manera, en 1930 TISELIUS<sup>16</sup> pudo comprobar que mientras en la ultracentrífuga la globulina se comportaba como monodispersa, en la electroforesis aparecía como una mezcla de proteínas. Perfeccionamientos de la técnica electroforética llevaron a este mismo autor,<sup>14-16-17</sup> en 1937, a describir en el suero del caballo la existencia de cuatro componentes proteicos: una albúmina y tres globulinas, a las que dió el nombre de globulinas  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ . Estas mismas fracciones fueron halladas por STENHAGEN<sup>18</sup> en el suero del hombre, y por DEUTSCH, GOODLOE, JAMESON, ALVAREZ TOSTADO y MOORE<sup>19-20-21-51</sup> en el suero de algunos animales, si bien en éstos se encuentran algunas diferencias en sus diagramas electroforéticos en relación con lo descrito en el hombre. Así, por ejemplo, los citados JAMESON y ALVAREZ TOSTADO han señalado la dificultad de obtener la representación de la globulina  $\alpha$  en la rata, sin duda alguna porque esta fracción en el suero de tales animales se encuentra en muy pequeña concentración. En el perro, los trabajos de ZELDIS y ALLING<sup>22</sup> han demostrado que la albúmina emigra con una velocidad superior a la del hombre y que la globulina  $\alpha$  se encuentra dividida en varias fracciones, que se alteran con facilidad cuando se practica la extracción etérea de los lípidos de estos sueros.

Posteriormente a estas primeras descripciones, STENHAGEN<sup>18</sup> pudo demostrar, trabajando con plasma humano, que el fibrinógeno puede ser también representado en los diagramas, encontrándose su onda situada entre las globulinas  $\beta$  y  $\gamma$ . Que tal onda corresponde al fibrinógeno se demuestra por el hecho de que el plasma de un mismo sujeto después de haber sido coagulado no da lugar a la aparición de este accidente. Los estudios de WIEDEMANN<sup>24</sup> han venido a demostrar que la presencia del fibrinógeno no altera la proporción en que las demás fracciones entran a formar parte de la mezcla de proteínas plasmáticas, y han contribuido, por tanto, a considerar a su onda representativa en los diagramas electroforéticos como una individualidad propia.

Desde estas primeras descripciones hasta la actualidad, una serie de perfeccionamientos en la metódica y un mejor conocimiento de los fenómenos eléctricos de las proteínas nos han demostrado que aún pueden distinguirse en el plasma una serie de subfracciones de las proteínas que antes hemos señalado.

Con respecto a la albúmina, se sabía ya desde que ADAIR y TAYLOR<sup>25</sup> lograron cristalizarla del suero del caballo, que con toda seguridad no se trataba de un cuerpo simple, ya que, por ejemplo, MEEKIN<sup>26</sup>, trabajando con esta albúmina pudo observar que cuando era concentrada en presencia de ácido sulfúrico a pH 0,0 y a temperatura de 25°, sólo se lograba la recristalización de parte de ella, mientras que una determinada cantidad persistía en solución. Sin

embargo, ni la ultracentrífuga<sup>27</sup> ni la electroforesis, hasta los trabajos de LUETSCHER<sup>28</sup>, habían logrado demostrar que la albúmina del plasma no fuera un cuerpo simple. Este último autor, pensando que su división desde el punto de vista de su solubilidad sólo se lograba cuando se operaba a pH 4,0, hizo la determinación electroforética de la albúmina cristalizada del caballo, valiéndose de una solución a este mismo pH, logrando demostrar de esta forma que también en la electroforesis su emigración se hace en dos componentes de diferente velocidad ( $A_1$  —  $A_2$ ), de los cuales el más rápido representa el 60 por 100 del total. Reproduciendo estas mismas experiencias con albúmina humana, ha llegado a iguales conclusiones, lográndose en este último caso una mejor separación de ambos componentes, debido a que su diferencia en la velocidad de emigración es mayor que en el caso de la albúmina del caballo.

La realidad de estos dos componentes de la albúmina ha podido ser comprobada por una serie de hechos, entre los que tenemos como más interesantes los siguientes. Las fracciones obtenidas por el método de MEEKIN han podido ser estudiadas por separado en el aparato electroforético por MOYER y MOYER<sup>29</sup>, y comprobarse que la movilidad y proporción de ambas es la misma que para las fracciones señaladas por LUETSCHER. Por otro lado, en un reciente trabajo de HOCH y MORRIS<sup>30</sup> se señala que la separación electroforética de estas dos fracciones se logra también sin tener que recurrir a cambios del pH, en el que generalmente se hacen las determinaciones, y de esta forma, con un pH 8,0, pero a condición de prolongar el tiempo de experiencia, puede verse emigrar a la albúmina en dos componentes de diferente velocidad. A las seis horas se aprecia ya una irregularidad en la curva y a las doce la separación de las fracciones es completa.

Si bien esto es lo obtenido con sueros normales, en los sueros patológicos, tales como en los de los neumónicos, WIEDEMANN<sup>24</sup> ha podido comprobar en varios casos la emigración de la albúmina en dos fracciones diferentes, sin tener que recurrir tampoco ni a disminuciones en el valor del pH ni a prolongaciones del tiempo de experiencia, aunque bien es verdad que tal separación se logra más claramente cuando el pH de la solución es ácido.

No cabe duda, pues, que en virtud de estos hechos hay que considerar a la albúmina humana como formada por dos fracciones diferentes, las cuales, si bien es verdad que no pueden separarse electroforéticamente más que a condición de aumentar el tiempo de la experiencia, es simplemente debido a que la movilidad de ambas es poco diferente. Como además esta separación se consigue mejor a un pH ácido, en realidad esto viene a decirnos que en tales condiciones la movilidad de ambos componentes es muy diferente. De igual manera debemos razonar para el fenómeno observado en la neumonía y quizá tam-



bién en otras enfermedades, ya que sin duda alguna tales estados patológicos, alterando la carga eléctrica de ambas albúminas, facilita su separación al variarse por este motivo la movilidad de las mismas. La importancia del estudio de estas fracciones no sólo se reduce a su identificación, sino que en ciertos estados patológicos, como en la nefrosis lipoidea y en la cirrosis, experimentan curiosas alteraciones de gran interés, que más adelante indicaremos.

De las diferentes fracciones globulínicas se han descrito también una serie de subfracciones, y así la globulina  $\alpha$  está compuesta de  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$ , la globulina  $\beta$ , de  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  y  $\beta_3$ , y de la globulina  $\gamma$  se separan la  $\gamma_1$  y la  $\gamma_2$ . En total, teniendo en cuenta el fibrinógeno, la electroforesis permite hacer la separación de las proteínas del plasma en 10 componentes.

Tales fracciones no se han logrado poner aún de manifiesto en una sola electroforesis, y su conocimiento nos ha sido primeramente proporcionado por su hallazgo en ciertos sueros patológicos.

El que muchas veces estas subfracciones no puedan ser representadas en los diagramas electroforéticos no quiere decir que no existan en el plasma, sino que su ausencia en aquéllos se debe a la pequeña concentración en que se encuentran, o bien a que la movilidad de las mismas en el pH a que las estudiamos difieren poco de las restantes, de tal forma, que sólo prolongando el tiempo de electroforesis pueden ser separadas claramente. Muchas veces, por la simple observación de un diagrama, estos diferentes componentes parecen no existir en él, y, sin embargo, una cuidadosa extrapolación de la curva nos permite ponerlos de manifiesto. El hecho de que su demostración se logre mejor en los casos patológicos es la consecuencia de que

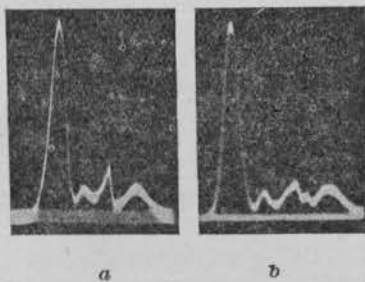


Fig. 3.—(Tomada de WIEDEMANN.)

en ellos muchos suelen estar aumentados, y además con frecuencia presentan cambios en la movilidad, que contribuyen también a una mejor separación.

Como ejemplo de todo esto que venimos diciendo, mostramos algunos diagramas obtenidos por WIEDEMANN con la técnica de PHILPOT-SVENSSON. La figura 3 *a* corresponde a un suero normal. De izquierda a derecha las ondas corresponden a la albúmina y globulinas  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ . En la misma figura, *b*, puede verse cómo las globulinas representadas son cuatro, debido a que se trata de un diagrama obtenido con plasma.

El fibrinógeno se sitúa entre las fracciones  $\beta$  y  $\gamma$ . Si reparamos con atención en este diagrama, podremos darnos cuenta que en la parte ascendente de la onda correspondiente a la globulina  $\beta$  existe un pequeño accidente, el cual, mediante la extrapolación, se resuelve en una curva completa, que representa la movilidad de la fracción  $\beta_1$ .

La figura 4 corresponde a un caso de quiste

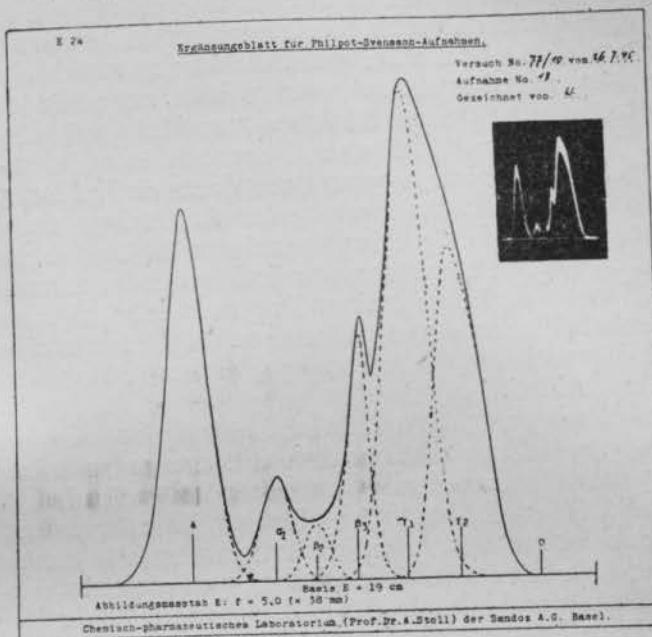


Fig. 4.—(Tomada de WIEDEMANN.)

hidatídico del hígado, en el que existe un considerable aumento de la globulina  $\gamma$ , y en el que además, mediante la extrapolación, se logran separar dos globulinas  $\beta$  y dos  $\gamma$ : la  $\gamma_1$  y la  $\gamma_2$ .

En los sujetos normales las cifras medias de proteínas totales encontradas por WIEDEMANN es de 7,26 gr. por 100, de las cuales 5,16 gr. corresponden a la albúmina y 2,10 gr. a las globulinas. Dentro de éstas la repartición se hace de la siguiente forma: globulina  $\alpha$ , 0,17; globulina  $\beta$ , 0,79, y globulina  $\gamma$ , 1,14 gr. por 100. El fibrinógeno suele alcanzar una cifra alrededor de 0,33 gr. por 100. Cuando lo que se calcula es el valor relativo de estas fracciones, las cifras que se obtienen son las siguientes: 70 por 100 de albúmina, 5 por 100 de globulina  $\alpha$ , 10 por 100 de globulina  $\beta$  y 15 por 100 de globulina  $\gamma$ .

La movilidad de las diferentes proteínas interesa tan sólo al técnico, con objeto de hacer su reconocimiento. No obstante, en la tabla I damos los valores de esta movilidad en dos casos normales estudiados a pH 7,9 y fuerza iónica de 0,1.

TABLA I

	Movilidad $\times 10^5$					
	Albúm.	$\alpha$	$\beta_1$	$\beta_2$	$\beta_3$	$\gamma$
Normal 1..	7,24	5,3	4,58	3,87	3,2	2,60
Normal 2..	7,95	5,78	—	4,64	3,9	1,80

Las fracciones que hemos descrito juegan, según lo que más adelante diremos, un gran papel en ciertos aspectos de la fisiología, que indudablemente pueden ser mejor estudiados desde el momento que se tiene una técnica adecuada para hacer su separación y conocer las interacciones que tienen lugar entre muchas sustancias y dichas proteínas. Así, por ejemplo, el conocimiento de la asociación con las porfirinas se tiene en virtud de los cambios de movilidad que estas sustancias originan en la partícula proteica a la cual se unen. Unión que, por lo demás, aún hoy no puede ser bien conocida en todos sus detalles. El fraccionamiento del plasma ha permitido llegar al conocimiento del papel de las mismas como portadores de lípidos, y se ha llegado incluso a poder determinar exactamente cuál de estas fracciones es la que interviene en el proceso enzimático de la formación de la hipertensina. Por otro lado, nos ha suministrado datos valiosos en lo referente a la naturaleza del anticuerpo y al mecanismo de la inmunidad.

Desde un punto de vista patológico, si bien es verdad que aún se carece de una extensa experiencia, empezamos a conocer más a fondo las alteraciones de algunos plasmas, de tal manera, que los esquemas antiguos expresando la cantidad de albúmina, de globulina y su cociente pueden ser más detallados y decir que la inversión de estas fracciones no es lo mismo en una cirrosis, en un mieloma o en una nefrosis.

Por último, permitiendo obtener proteínas en estado de gran pureza, se ha facilitado enormemente el estudio de los extractos de ciertas glándulas endocrinas para separar de ellos la sustancia verdaderamente activa y con ello intentar reconocer su composición química, ya que, al menos desde un punto de vista eléctrico, carece de impurezas que dificulten su exacta filiación.

Estos y algunos otros aspectos los iremos describiendo a continuación con algún detalle.

#### A) LAS PROTEÍNAS COMO ELEMENTOS DE TRANSPORTE.

**PORFIRINAS.** — Las observaciones de SMETANA<sup>31</sup> y BOYD<sup>32</sup> ya les hicieron suponer que probablemente las porfirinas estaban combinadas a una de las fracciones proteicas del plasma. Sin embargo, hasta los trabajos de GILDEMEISTER<sup>33</sup>, valiéndose de la electroforesis, esta suposición no había podido ser perfectamente comprobada. Según este último autor, la capacidad de transporte es bastante limitada, ya que cuando se añaden cantidades excesivas de porfirinas a la albúmina puede verse aparecer una segunda onda emigrando con una velocidad superior a la de esta proteína, y que, según STENHAGEN y RIDEAL<sup>23</sup>, estaría formada únicamente por el exceso de porfirina añadida. Por otro lado, parece ser que la protoporfirina se une más fácilmente a la albúmina que la hematóporfirina.

Cuando se añade este último cuerpo, el mismo GILDEMEISTER<sup>33</sup> ha podido observar que una gran cantidad de ella se asocia a los hematíes, aunque en ningún caso se ha logrado demostrar su unión con proteínas diferentes de la albúmina, como las globulinas o el fibrinógeno. Ha sido posible también demostrar mediante la observación de un plasma procedente de un enfermo con porfirinuria aguda que, mientras la coproporfirina se encuentra unida íntimamente a la albúmina, con respecto a la uroporfirina no se puede comprobar una asociación semejante con ninguna de las fracciones proteicas, y se supone, por lo tanto, que esta porfirina se encuentra en la sangre en estado libre.

De igual manera, los estudios ya antiguos de BENNHOLD<sup>14</sup> le hicieron sospechar la asociación de la bilirrubina con la albúmina plasmática. Posteriormente COOLIDGE<sup>35-36</sup> pudo comprobar estos hechos valiéndose de la sangre de enfermos ictericos estudiada en la electroforesis. Esta unión con la albúmina del suero parece tener una cierta especificidad, ya que, por lo menos PEDERSEN y WALDESTRÖM<sup>37</sup>, han demostrado que tal asociación no se consigue cuando se añade bilirrubina humana a una solución de albúmina de huevo. Según han podido confirmar STENHAGEN y RIDEAL<sup>23</sup> valiéndose de un espectrómetro asociado al aparato de TISELIUS, la bilirrubina se une rápidamente a la albúmina cuando la solución tiene un pH de 7,0, mientras que actuando con soluciones a pH 8,2, la asociación de la bilirrubina con la albúmina es incompleta, y parte de ella emigra como un componente diferente a mayor velocidad.

**LÍPIDOS.**—Estudiando en 1931 LUNDLUN, TAFF y NEGENT<sup>38</sup> la conducta eléctrica de los quilomicrones de la sangre, pudieron ya sentar la hipótesis de que su emigración, con toda seguridad, se haría en compañía de las proteínas plasmáticas. Posteriormente los estudios electroforéticos de TISELIUS<sup>39</sup>, de LONGSWORTH y MC-INNES<sup>40</sup> han mostrado que estas gotas de grasa presentan una velocidad semejante a la de la fracción  $\beta$  del plasma, y estudiando el contenido en lípidos de las diferentes fracciones electroforéticas, BLIX, TISELIUS y SVENSSON<sup>41</sup> han podido demostrar que, tanto la colesteroína como los fosfolípidos, están presentes en todas las fracciones. La tabla II, que resume lo hallado por estos autores, demuestra cómo la cantidad de colesteroína, siendo máxima en las fracciones  $\alpha$  y  $\beta$ , se encuentra sólo en pequeñas cantidades en la globulina  $\gamma$ . Sin embargo, teniendo en cuenta que, tanto la globulina  $\alpha$  como la  $\beta$  representan un pequeño tanto por ciento en el total de las proteínas plasmáticas, es preciso reconocer que la gran mayoría de los lípidos son transportados por la albúmina y que tan sólo en casos patológicos, en los que el espectro se encuentra alterado, tales globulinas pueden representar un gran papel como portadoras de los lípidos sanguíneos.



TABLA II.—Contenido en lípidos de las diferentes fracciones electroforéticas de las proteínas del plasma normal. (Según BLIX, TISELIUS y SVENSSON.)

Albumina		Globulina $\alpha$		Globulina $\beta$		Globulina $\gamma$	
Colesterolina	Fosfolípidos	Colesterolina	Fosfolípidos	Colesterolina	Fosfolípidos	Fosfolípidos	Colesterolina
1,07	0,09	4,45	0,29	8,65	0,40	0,41	0,04

Los resultados que tras la extracción etérea se consiguen, permiten asegurar esta asociación, ya que ZELDIS y colaboradores<sup>22</sup> han podido ver cómo los diagramas electroforéticos de los perros se alteran después de tratar el suero con éter y qué curiosamente en estos animales son las fracciones  $\alpha$ , las que antes hemos dicho que en ellos se presentan en número de cuatro, las que más alteraciones sufren, pudiendo observarse muchas veces su transformación en una sola onda, hablando este hecho en favor de que, contrariamente a lo que ocurre en el hombre, sea esta fracción la que tenga un mayor contenido en lípidos.

Indiscutiblemente, la facilidad con que se logra separar la asociación lípidos-proteínas, hace pensar que su unión no puede ser más que de carácter físico, y que probablemente tal unión se hace en virtud de un fenómeno de tensión superficial, quedando el grupo lipofóbico de la proteína situado en la superficie de la gota de grasa. Como se sabe que tal grupo es el que contiene los radicales amínicos y carboxílicos responsables de la carga eléctrica de la proteína, se comprende con facilidad que BLIX<sup>42</sup> haya podido comprobar que la movilidad de las fracciones es la misma antes que después de extraer la grasa por el tratamiento del plasma con éter.

La importancia de este hecho no sólo es de carácter fisiológico, sino que también desde un punto de vista de la Patología podremos darnos cuenta de su importancia al tratar de las alteraciones proteicas de algunas enfermedades.

#### B) LA ASOCIACIÓN ALBÚMINA-HEPARINA.

Desde los trabajos de QUICK<sup>43-44</sup> viene considerándose que la heparina es incapaz de ejercer su efecto antitrombótico por sí sola, y que para que éste tenga lugar se precisa su asociación con un producto todavía no conocido, pero que, al parecer, estaría en íntima relación con la albúmina del plasma, o, como quieren algunos, sería la propia albúmina la que asociándose a la heparina, ejercería las funciones de complemento de la misma.

Los estudios de CHARGAFF, ZIFF y MOORE<sup>45</sup> observando las alteraciones electroforéticas que se presentan en una solución de albúmina pura cuando se añade heparina, han podido demostrar que la curva de la albúmina es más ancha de lo normal, y que al mismo tiempo en los dia-

gramas aparece una nueva onda, emigrando con gran velocidad, y a la cual los autores antes citados denominan componente C.

Como el mismo CHARGAFF, en colaboración con OLSON<sup>45</sup> ha comprobado que la acción de la heparina puede ser inhibida tanto "in vitro" como "in vivo" mediante la adición de salmina (una protamina aislada de los espermatozoides del salmón), se ha estudiado el efecto de ésta sobre una combinación de albúmina-heparina, previa la demostración electroforética de que las alteraciones antes señaladas habían aparecido. Al añadir la salmina se forma un precipitado por su reacción con la heparina, y si entonces se centrifuga el producto y se estudia la albúmina de nuevo, puede verse que tanto las alteraciones que presentaba cuando estaba en contacto con la heparina como el componente C han desaparecido por completo.

Este hecho hace pensar a los autores antes citados que el componente C representa un producto de la asociación heparina-albúmina, el cual, en virtud de los datos que se obtienen tras la adición de salmina, demuestra ser muy inestable y de carácter reversible.

Un elegante experimento de los mismos (CHARGAFF, ZIFF y MOORE<sup>46</sup>) ha venido a demostrar que con toda seguridad el componente C observado en el plasma tras la adición de heparina representa el inhibidor de la coagulación, ya que si valiéndose de una célula electroforética de separación se dividen en tres partes los componentes de un plasma adicionado de heparina, y cada una de ellas se añade a un sistema artificialmente formado por trombina-fibrinógeno-heparina, puede verse cómo tan sólo aquellas fracciones que tienen una velocidad de emigración muy rápida, y por lo tanto, con las que camina el componente C, son las que poseen capacidad para inhibir la coagulación de este sistema.

#### C) HIPERTENSINÓGENO.

Los trabajos de KOHLSTAEDT, HELMAR y PAGE<sup>108-109</sup> pudieron demostrar que la renina requiere la presencia de proteínas plasmáticas para poder actuar como agente presor. En los primeros momentos para lograr artificialmente esta activación se empleó suero, pero más tarde pudo comprobarse que una pseudoglobulina obtenida por precipitación actuaba más energicamente que cuando se utilizaba el suero completo.

La fracción contenida en dichas pseudoglobulinas recibió el nombre de activador de la renina o hipertensinógeno, y pudo demostrarse que el mecanismo de formación de la hipertensina era sin duda alguna de carácter enzimático. Más recientemente PLENTL, PAGE y DAVIS<sup>110-111</sup>, aparte de comprobar la naturaleza enzimática de la reacción, han podido determinar que el hipertensinógeno está contenido en la fracción  $\alpha_2$  del plasma. Procediendo a la separación de las di-

ferentes fracciones por medio de la electroforesis y puestas cada una de ellas en contacto con renina, comprueban que sólo aquellas que contienen dicha globulina son las que tienen capacidad para transformar esta sustancia en hipertensina, y que además probablemente la hipertensinasa estaría íntimamente asociada con la fracción albumínica del plasma, ya que cuando a la globulina  $\alpha_2$  puesta en contacto con renina se la añade albúmina, el efecto hipertensor del producto resultante de la incubación no se lograba. Para confirmar este hecho las diferentes fracciones del plasma fueron incubadas con una cantidad conocida de hipertensina, y de esta manera se pudo comprobar que sólo la albúmina tenía capacidad para destruir su efecto hipertensivo.

#### 4. ANTICUERPOS.

Los primeros estudios de TISELIUS<sup>17</sup> y de TISELIUS y KABAT<sup>66</sup> trabajando con el suero antineumocócico de diferentes animales, les llevó al conocimiento de la existencia en los mismos de un considerable aumento de las fracciones globulínicas que emigran más lentamente. Desde entonces el pensamiento general de todos los investigadores ha venido considerando a la globulina  $\gamma$  como la portadora en el plasma de los anticuerpos específicos, y una serie de trabajos posteriores confirman tan considerablemente esta opinión, que son ya muchos los autores que no dudan en admitir dicha asociación.

Han contribuido principalmente a desarrollar estos conocimientos los estudios electroforéticos la escuela de VAN DER SCHERER<sup>67-68-69-70-71-72</sup>, la cual ha podido confirmar que en el suero antineumocócico del caballo se presenta constantemente un considerable aumento de la globulina  $\gamma$ , que llega en muchas ocasiones a ser el doble de la cantidad correspondiente a la albúmina, la cual, no obstante esta gran transformación del espectro proteico en la región de las globulinas, permanece dentro de cifras completamente normales.

Si bien esto era lo conseguido cuando se estudiaban sueros de carácter antibacteriano, cuando se trabajaba con sueros antitóxicos<sup>69</sup> se obtenía en los diagramas la aparición de un nuevo componente, que emigraba muy cerca de la fracción  $\gamma$ , aunque era perfectamente diferenciable de ella. Pero en realidad, a la luz de los nuevos conocimientos no puede considerarse que este nuevo componente represente una fracción no existente en el suero normal, sino que, como DEUTSCH, ALBERTY y GOSTING<sup>74</sup> han señalado, representa a la subfracción  $\gamma_1$ , que sabemos existe en los sueros normales, aunque en tan pequeña cantidad que su demostración, la mayoría de las veces, es imposible. Los citados autores, haciendo un estudio electroforético de la globulina  $\gamma$  aislada de los sueros antibacterianos y antitóxicos, demuestran la facilidad con que se excinde en sus dos fracciones ( $\gamma_1$  y  $\gamma_2$ ), y

como la  $\gamma_1$  tiene una movilidad igual a la del componente que VAN DER SCHERER ha descrito en los sueros antitóxicos.

La importancia de los hechos referidos, aun siendo considerable, ha venido a ser reforzada por una nueva serie de experiencias que confirman la idea general de la asociación del anticuerpo con la globulina  $\gamma$ .

Así, por ejemplo, los citados TISELIUS y KABAT<sup>66</sup> han demostrado que si en un suero antibacteriano o antitóxico en el que previamente se ha demostrado la existencia de un aumento de la globulina  $\gamma$ , se produce la precipitación del anticuerpo por el antígeno específico, la ulterior investigación electroforética demuestra la reducción de la onda de esta globulina hasta cifras muy cercanas a las que presentan los sueros normales. Por otro lado, DEUTSCH y colab.<sup>74</sup>, determinando el título de anticuerpos en las diferentes fracciones proteicas obtenidas por medio de la electroforesis, han señalado que la globulina  $\gamma$  tenía un título muy superior al de las demás fracciones.

Los datos que se obtienen en el plasma de los animales recién nacidos constituyen también un buen argumento para las ideas que venimos exponiendo, ya que, como MOORE<sup>81</sup>, JAMESON y ALVAREZ TOSTADO<sup>20-34</sup> han podido demostrar, en el momento del nacimiento tanto el gato como la ternera carecen de la fracción  $\gamma$ , la cual aparece tan pronto como el animal ingiere el calostro que, como es bien sabido, contiene una gran cantidad de anticuerpos. En la tabla VI recogemos los datos suministrados por los dos últimos autores en el suero de la ternera, pudiendo verse cómo en el momento del nacimiento el suero carece de dicha fracción, mientras que la  $\alpha$  se encuentra muy elevada, y cómo pasadas algunas horas la primera globulina aparece y aumenta rápidamente, mientras que la segunda experimenta un simultáneo descenso.

TABLA VI.—Distribución de las fracciones electroforéticas del plasma de ternera, según los datos de JAMESON y ALVAREZ TOSTADO.

Edad	Glob. $\gamma$	Glob. $\beta$	Glob. $\alpha$	Albúmina.
Recién nacid.	—	5,9	36,8	57,3
18 horas.....	6,0	9,2	35,3	49,5
36 horas.....	41,6	7,2	21,8	28,8
3 días.....	49,2	5,7	17,5	27,3
5 días.....	48,7	6,0	10,5	34,9
2 años.....	43,7	6,2	9,9	40,2

Si bien estos son los datos que proporciona el estudio de la inmunidad artificial, parece ser que en el caso de la inmunidad natural es también la globulina  $\gamma$  la portadora del anticuerpo, ya que ENDERS<sup>79</sup>, estudiándola aislada, ha encontrado en ella hasta 16 anticuerpos diferentes, y hoy conocemos ya los buenos efectos de la in-



yección de esta globulina para prevenir y mejorar la evolución de algunas enfermedades infecciosas, como el sarampión<sup>80</sup> y la hepatitis epidémica<sup>55</sup>.

Desde otro punto de vista, los estudios de SCHOENHEIMER, HEIDELBERG y colab.<sup>75-76-77</sup> han venido a demostrar que el anticuerpo es una globulina y probablemente transformada, que participa de las reacciones metabólicas características del resto de las fracciones proteicas del plasma, ya que, como estos autores han podido señalar, las ratas alimentadas con aminoácidos portadores de nitrógeno pesado y al mismo tiempo inmunizadas activamente, son capaces de incorporar el N<sub>15</sub> al anticuerpo específicamente formado en una cantidad igual al del resto de las fracciones electroforéticas. Sin embargo, cuando el experimento se repite con ratas a las que se les inyecta pasivamente un anticuerpo, la determinación del nitrógeno marcado en el mismo demuestra un contenido muy pequeño o nulo en comparación con la cantidad incorporada por las otras globulinas del plasma.

Si aceptamos que el anticuerpo es una globulina modificada, hemos de concebir que el fenómeno de la inmunidad es también un problema de nutrición, y es posible que en este aspecto puedan conseguirse mayores progresos relacionados con el tratamiento de muchas enfermedades infecciosas. Por lo pronto, parece indudable que la frecuencia de complicaciones infecciosas demostradas por JIMÉNEZ DÍAZ y colaboradores<sup>57</sup> en los desnutridos, habría que ponerla en relación con esta serie de hechos que hemos expuesto, y, por otro lado, es indudable que la complicación neumónica de los nefróticos tendría también aquí en parte su explicación, ya que, como más adelante veremos, en tales enfermos es frecuente encontrar una disminución de la globulina  $\gamma$  del plasma.

## 5. LAS PROTEÍNAS DE LOS PLASMAS PATOLÓGICOS.

A) NEFROSIS.—Los trabajos de LONGSWORTH, SHEDLOVSKY y MCINNIS<sup>54-55</sup>, y más tarde los de LUETSCHER<sup>53</sup>, WIEDEMANN<sup>24</sup>, WUHRMANN y WUNDERLY<sup>51</sup> han venido a señalar que, aparte de las ya conocidas alteraciones de las proteínas plasmáticas que se presentan en esta enfermedad<sup>56</sup>, existe también una especial distribución de las fracciones electroforéticas, de tal manera, que lo más característico de estos estados es la presencia de diagramas con un aumento de las fracciones globulínicas  $\alpha$  y  $\beta$ , coincidiendo con una disminución de la cifra de albúmina y de la globulina  $\gamma$ .

Estos hechos pueden verse bien en los diagramas de la figura 5, procedentes de la experien-

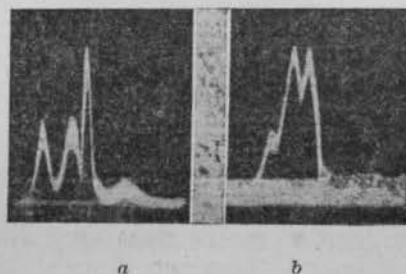


Fig. 5.—(Tomada de WIEDEMANN.)

cia de WIEDEMANN. El primero de ellos (a) (véase tabla III, núm. 9), muestra una disminución muy considerable de la albúmina y un enorme aumento de las globulinas  $\alpha$  y  $\beta$ , asociado a una cifra normal de la fracción  $\gamma$ . En el siguiente diagrama (b), la disminución de la albúmina y aumento de las fracciones  $\alpha$  y  $\beta$ , es aún más marcado, pudiéndose al mismo tiempo observar una disminución de la globulina  $\gamma$ .

Aunque LUETSCHER señala que la disminución de la fracción  $\gamma$  es un fenómeno constante, los

TABLA III.—Valores relativos de proteínas en el plasma de enfermos con nefrosis lipóidea

Número	Albúm.	$\alpha$	$\beta_1$	$\beta_2$	$\beta_3$	$\beta$ total	Fibrinógeno	$\gamma$	Observaciones
Normal...	65,1	5,9	1,8	4,6	4,7	11,1	3,2	14,7	WIEDEMANN.
1.....	57,0	8,98	4,4	6,8	2,3	13,4	—	20,6	WIEDEMANN.
2.....	47,1	10,1	—	—	—	16,9	—	25,9	WIEDEMANN.
3.....	38,6	15,1	3,8	8,7	12,5	23,0	8,3	13,1	WIEDEMANN.
4.....	37,9	26,0	—	14,5	3,0	17,1	—	19,0	WIEDEMANN.
5.....	34,9	22,9	2,1	16,0	3,8	21,9	—	20,3	WIEDEMANN.
6.....	27,5	15,2	15,5	18,5	—	34,0	—	4,8	LUETSCHER.
7.....	27,0	26,9	—	26,0	5,3	33,3	—	14,0	WIEDEMANN.
8.....	18,6	27,1	6,3	30,6	—	39,6	15,2	5,2	LUETSCHER.
9.....	17,8	39,6	11,1	12,8	11,9	35,8	—	6,9	WIEDEMANN.
10.....	17,3	31,8	—	—	—	32,9	15,8	12,2	LUETSCHER.
11.....	16,1	53,5	15,1	7,8	1,7	34,6	—	5,8	WIEDEMANN.
12.....	14,6	41,9	—	38,1	2,3	40,4	—	3,1	WIEDEMANN.
13.....	12,7	42,4	13,6	6,7	6,8	25,1	—	17,8	LUETSCHER.
14.....	10,0	39,7	—	—	—	29,2	13,5	12,2	LUETSCHER.
15.....	8,7	29,7	—	—	—	41,5	13,0	5,8	LUETSCHER.

trabajos de WIEDEMANN no permiten sentar esta conclusión como categórica, si bien es cierto que este hecho se observa mucho más fácilmente cuando la reducción de la albúmina es muy intensa.

En la tabla III hemos ordenado con arreglo a la cantidad de albúmina 15 casos de nefrosis lipoidea procedentes de los trabajos de LUETSCHER y WIEDEMANN, en la que puede verse la existencia de un cierto paralelismo entre la disminución de la albúmina y el aumento de las fracciones  $\alpha$  y  $\beta$ , al mismo tiempo que del fibrinógeno, mientras que la conducta de la globulina  $\gamma$  es más variable. Dentro de la fracción  $\beta$  el aumento suele corresponder a la subfracción  $\beta_2$ .

Aunque sabemos que en todos los nefróticos acompañando a la hipoproteinemia se presenta en el suero un aumento de los lípidos y de la colesteroína con sus esteres (JIMÉNEZ DÍAZ y CASTRO DE MENDOZA<sup>56</sup>) y, por otro, tenemos conocimiento de la asociación lípidos-proteínas en virtud de los estudios de BLIX TISELIUS y SVENSON<sup>41</sup>, nos queda aún por conocer la composición en lípidos de las fracciones proteicas de estos enfermos, que, sin duda alguna, debe de ser diferente a la que se encuentra en los normales, ya que sus diagramas se modifican profundamente cuando se estudian después de haber extraído las grasas mediante el éter, siendo precisamente la fracción  $\beta$  la que más alteraciones presenta, es decir, la globulina, que en el suero normal contiene una mayor proporción de lípidos.

Aparte de las alteraciones citadas, se han podido demostrar también perturbaciones en la distribución de las fracciones ( $A_1$  y  $A_2$ ) estudiadas por LUETSCHER<sup>28</sup> en el suero normal a pH 4,0, pudiendo demostrar este mismo autor<sup>48</sup> en el suero de los nefróticos una inversión de la relación entre ambas fracciones. Mientras que en los sueros normales la fracción  $A_1$  representa el 60 por 100 del total de la albúmina, en los nefróticos pueden verse reducciones de este tanto por ciento a cifras muy bajas, en que la fracción  $A_2$  sólo experimenta disminuciones muy pequeñas o permanece a niveles completamente normales. Este hecho, relacionado con lo que se encuentra en la orina de estos mismos enfermos, tiene una gran importancia, como vamos a ver dentro de un momento.

Las proteínas urinarias han sido estudiadas electroforéticamente por LONGSWORTH y MC-INNES<sup>40</sup>, por LUETSCHER<sup>48</sup> y por HESSELVIK<sup>58</sup>, no habiéndose podido encontrar diferencias en la movilidad de las diferentes fracciones en comparación con la que mostraron en el plasma del propio enfermo.

Sin embargo, la proporción de los componentes es diferente en uno y otro medio, de tal manera, que cuando la cantidad de albúmina en el plasma es alrededor de 2 gr. por 100, en la orina el 90 por 100 de las proteínas está formado por albúmina, mientras que cuando la

cantidad de ésta disminuye en la sangre y su cantidad llega a un gramo, puede verse cómo en la orina la cantidad proporcional de globulinas aumenta, de tal manera, que puede decirse que a medida que la albúmina plasmática disminuye, la relación A/G en la orina se hace cada vez más semejante a la relación que ambos componentes presentan en el plasma normal.

También en la orina, y de igual forma que en el plasma, ha podido LUETSCHER<sup>48</sup> separar la albúmina en sus dos fracciones y curiosamente demostrar que en la albúmina que se encuentra en la orina de los nefróticos, la relación de ambas fracciones es la misma que la encontrada en el plasma del mismo enfermo. Este hecho hace pensar a LUETSCHER que la inversión de estos dos componentes en el plasma no puede ser debida a un aumento en la eliminación de la fracción  $A_1$ , ya que si esto ocurriera la relación de sus fracciones en la orina tendría que ser inversa a la encontrada en el plasma, como tal ocurre en el caso de la relación A/G entre ambos líquidos.

En virtud de estos hechos, hay que admitir con este autor que la disminución de la fracción  $A_1$  no puede ser debida a un aumento de su eliminación urinaria, sino más bien a un déficit en su formación, lo que vendría avalado por el hecho de que en los cirróticos se demuestra una inversión semejante en el plasma. La causa de esta deficiente formación de la fracción  $A_1$  podría deberse a una anormal producción frente a la excesiva pérdida de albúmina, o si se admite, que la nefrosis es una enfermedad primitivamente metabólica a una alteración en la formación de la albúmina.

El estudio de los derrames de estos enfermos presenta muchas dificultades a causa del aspecto lechoso con que muchas veces aparecen y por la pequeña cantidad de proteínas que presentan, ya que electroforéticamente la mayoría de las veces las cifras oscilan entre 0,1 a 0,7 gr. por 100.

En otros enfermos renales, tales como los nefríticos con componente nefrótico, no se ha podido demostrar alteraciones en la distribución de las fracciones.

Los casos de nefrosis amiloidea hasta el presente estudiados son muy pocos, y por este motivo es imposible sacar conclusión alguna, si bien los datos de WIEDEMANN, WUHRMANN y WUNDERLY<sup>24-51</sup> señalan no sólo un aumento de las fracciones  $\alpha$  y  $\beta$ , como ocurre en la nefrosis lipoidea, sino que también la globulina  $\gamma$  suele estar elevada, tanto en la sangre como en la orina.

B) CIRROSIS HEPÁTICA.—Al igual que en la nefrosis, las alteraciones de las proteínas del plasma eran bien conocidas por los métodos de determinación química, y así, por ejemplo, JIMÉNEZ DÍAZ, CASTRO MENDOZA y colab.<sup>47</sup>, haciendo un estudio comparado de la cifra de proteínas plasmáticas en relación con el estado del enfermo, han podido demostrar que, a medida



que el estado de descompensación avanza se produce una disminución cada vez más marcada de la albúmina y un creciente aumento de las globulinas y del fibrinógeno.

Los estudios electroforéticos de WIEDEMANN<sup>24-49-50</sup>, LUETSCHER<sup>48</sup>, WUHRMANN y WUNDERLY<sup>54</sup> han podido llegar a conclusiones semejantes y demostrar que el aumento de las globulinas se hace principalmente a expensas de la fracción  $\gamma$ . En el sentir de LUETSCHER, hasta que la ascitis no se instala, las alteraciones en la distribución de las fracciones son insignificantes, observándose en ocasiones discretos aumentos de las globulinas  $\beta$  y  $\gamma$ , mientras que, llegado el momento de la aparición de la ascitis, esta última globulina sufre un considerable aumento.

En la figura 6 puede verse el diagrama de un suero procedente de un cirrótico tipo LAENEC, en el que la fracción  $\gamma$  está muy aumentada.

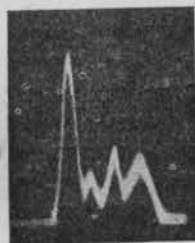


Fig. 6.—(Tomada de WIEDEMANN.)

En la tabla IV se expresan los valores relativos de las fracciones electroforéticas del plasma de cuatro cirróticos, y puede verse cómo a una mayor disminución de la albúmina corresponde un marcado aumento de la globulina  $\gamma$  y del fibrinógeno.

TABLA IV.—Valores relativos de las fracciones proteicas del plasma en la cirrosis hepática.

Número	Albúm.	$\alpha$	$\beta_1$	$\beta_2$	$\beta_3$	$\beta$ total	Fibrinógeno	$\gamma$	Observaciones
Normal...	65,1	5,9	1,8	4,6	4,7	11,1	3,2	14,7	WIEDEMANN.
1.....	46,2	7,8	—	4,6	12,6	17,2	—	28,7	WIEDEMANN.
2.....	47,6	4,4	—	—	—	12,4	—	35,8	WIEDEMANN.
3.....	47,0	8,2	—	—	—	18,3	7,7	18,8	LUETSCHER.
4.....	39,3	5,8	—	—	—	14,2	8,8	31,9	LUETSCHER.

Al igual que en la nefrosis, las dos fracciones de la albúmina obtenidas por LUETSCHER a pH 4,0, se muestran aquí también con cociente invertido, de tal manera, que para grandes disminuciones de la subfracción  $A_1$  sólo se demuestran pequeños cambios en la  $A_2$ .

Recientemente THORN y colaboradores<sup>52</sup> han estudiado el efecto de la inyección de albúmina pura sobre el espectro proteico de estos enfermos y han podido comprobar que después de administrar intravenosamente diez días segui-

dos 50 gr. de albúmina, en la electroforesis de tales plasmas se demuestra un incremento de la cifra de albúmina sin que las fracciones globulínicas sufran ninguna alteración.

El estudio electroforético del líquido ascítico ha sido también efectuado por LUETSCHER<sup>58</sup>, en-

Cirrhosis  
Plasma



Ascites



Fig. 7.—Diagrama obtenido con la técnica de LONGSWORTH. (Tomado de LUETSCHER, "J. Clin. Invest.", 20, 99, 1941.)

contrando que las cifras de proteínas totales oscilan entre 0,3 a 0,6 gr. por 100, y que la distribución de las fracciones refleja la que se encuentra en el plasma. No obstante, la cantidad de albúmina suele ser proporcionalmente más alta que la cifra encontrada en el plasma, sobre todo en los primeros momentos, ya que más tarde, cuando la cifra de albúmina disminuye mucho en el plasma, la reducción que se observa en el líquido ascítico es aún más intensa. En la figura 7 mostramos un diagrama tomado del trabajo de LUETSCHER, en el que puede verse cómo el espectro proteico del líquido ascítico es simplemente una reducción fotográfica del correspondiente al plasma. En este último la distribución de las fracciones pone de manifiesto un aumento muy marcado de la globulina  $\gamma$ , al tiempo que la fracción  $\beta$  está dividida en dos subfracciones.

Las observaciones citadas han podido ser

comprobadas en el trabajo de THORN<sup>52</sup>, ya que en el curso de la administración de albúmina puede verse que a medida que el plasma se enriquece en esta fracción simultáneamente aumenta también su valor en el líquido ascítico en mayores proporciones que lo hace en la sangre.

C) MIELOMA MÚLTIPLE.—En la extensa comunicación hecha por GUTMAN, MOORE, McLELLAN y KABAT<sup>59</sup> resumiendo las cifras de proteínas y sus fracciones determinadas por el méto-

do de precipitación de HOWE en 58 enfermos de mieloma múltiple, se señala que lo más corrientemente encontrado es una hiperalbuminemia con cifras bajas de albúmina y aumento de las globulinas y del fibrinógeno. Sin embargo, en algunos casos no se pudieron demostrar ni alteraciones de la cifra total de proteínas ni de sus fracciones.

Los primeros análisis electroforéticos del plasma de estos enfermos han sido llevados a cabo por LONGSWORTH, SHEDLOVSKY y MCINNES<sup>54</sup>, los cuales, estudiando 3 casos, encuentran en dos un marcado aumento de la globulina  $\beta$  y del fibrinógeno, mientras que en el tercer caso el diagrama electroforético se mostró completamente normal.

Posteriormente, KEKWICK<sup>60</sup> ha estudiado 5 casos más, en los que 4 presentaban una gran elevación de la fracción  $\gamma$  asociada a una cifra normal de  $\alpha$  y  $\beta$ , con fuerte disminución de la albúmina. El quinto caso, al igual que los señalados por LONGSWORTH, tenía aumentada la globulina  $\beta$ .

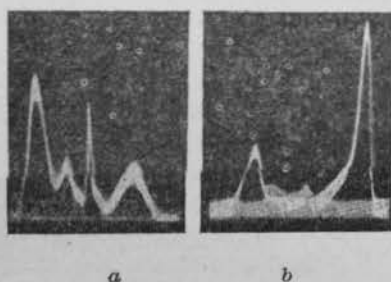


Fig. 8.—(Según WIEDEMANN.)

En la figura 8 pueden verse dos diagramas electroforéticos obtenidos por WIEDEMANN con la técnica de PHILPOT-SVENSSON en dos casos de mieloma múltiple. El señalado con *a* muestra una elevación de la fracción  $\beta$ , mientras que en *b* el aumento corresponde a la globulina  $\gamma$ , al mismo tiempo que presenta una intensa disminución de la albúmina.

La tabla V resume algunos de los datos encontrados por WIEDEMANN en 7 casos de mieloma. En tanto que los comprendidos del número 1 al 5 presentan una elevación de la globu-

lina  $\beta$  y el 6 de la fracción  $\gamma$ , en el señalado con el número 7 la distribución de los componentes es completamente normal.

Podemos, por tanto, resumir lo hallado por la electroforesis en los casos de mieloma, diciendo que con arreglo a la distribución de las fracciones se puede establecer una división de los mismos en tres tipos: un primer grupo con aumento de la globulina  $\beta$  o betamieloma, un segundo con elevación de la fracción  $\gamma$  o gammamieloma y, por último, un tercer tipo en el que se incluyen los casos que no presentan alteraciones del espectro.

En un trabajo de WUHRMANN y WUNDERLY<sup>61</sup> se señala que mientras los primeros o betamielomas (que son los más frecuentes) producen un alargamiento de la banda de WELTMANN, los segundos o gammamielomas la acortan.

El mieloma ofrece al clínico además la particularidad de que en muchas ocasiones aparece en la orina una proteína especial, que ofrece la característica de coagularse por el calor a los 60° y redisolverse el precipitado cuando la temperatura se eleva por encima de los 90°. Dicha proteína, conocida con el nombre de proteína de BENICE-JONES, según las ideas de MAGNUS-LEVY<sup>62</sup>, es formada por la médula ósea y eliminada por el riñón, si bien su demostración en la sangre sería mucho más difícil de hacer que en la orina.

Sin embargo, PACKALEN<sup>63</sup> ha señalado un caso de mieloma con proteinuria de BENICE-JONES, en el que lo mismo en la orina que en la sangre abandonadas durante un cierto tiempo en la nevera se pudo observar la cristalización espontánea de una proteína que presentaba en ambos líquidos las mismas características de solubilidad y de peso molecular bajo. Los trabajos de SVEDBERG y PEDERSEN<sup>64</sup> con la ultracentrífuga han podido poner también de manifiesto en la sangre de estos enfermos la existencia de una proteína que, como la de BENICE-JONES, tenía un peso molecular muy bajo, alrededor de 35.000.

Con los métodos de precipitación salina también se ha podido demostrar<sup>65</sup> que las pseudoglobulinas de tales plasmas se apartan de las propiedades típicas descritas para estas fracciones, haciendo pensar este dato que tales mo-

TABLA V.—Cantidad relativa de las fracciones proteicas del plasma en el mieloma múltiple.

	Albúm.	$\alpha$	$\beta_1$	$\beta_2$	$\beta_3$	$\beta$ total	$\gamma_1$	$\gamma_2$	$\gamma$ total
Normal .....	65,1	5,9	1,8	4,6	4,7	11,1	—	—	14,7
1 .....	28,2	3,9	—	13,6	47,9	61,5	—	—	6,4
2 .....	30,3	6,6	—	—	—	56,0	—	—	7,1
3 .....	24,1	4,3	—	45,7	19,1	64,8	—	—	6,7
4 .....	30,1	4,7	—	—	—	57,4	—	—	7,9
5 .....	24,8	5,0	—	—	—	62,0	—	—	8,2
6 .....	24,5	7,6	—	—	—	6,1	10,5	51,3	61,8
7 .....	67,7	9,6	—	3,6	7,9	11,5	—	—	11,2



dificaciones se deberían a la presencia de la proteína de BENCE-JONES en estos plasmas; suposición que se vió reforzada cuando pudo demostrarse por GUNN y MAHLE<sup>65</sup> que los cristales depositados en el riñón de un enfermo con mieloma estaban formados casi exclusivamente por globulinas.

El intento de comprobar electroforéticamente la presencia de esta proteína en la sangre ha sido llevado a cabo por GUTMAN y colab.<sup>66</sup>; pero sus resultados son tan dudosos y la técnica tan llena de objeciones, que no permiten llegar a conclusiones firmes en lo que respecta a su demostración en el plasma, ya que en la orina parece indudable que esta proteína puede ser representada en los diagramas electroforéticos como se concluye tras la observación de la figura 9, procedente del trabajo de estos autores y obtenida con la técnica de LONGSWORTH.

Los resultados obtenidos por KEKWICK<sup>60</sup> para demostrar la presencia de la proteína de BENCE-JONES en el plasma, aunque no han logrado representarla en los diagramas, parecen, sin embargo, hablar en favor de su existencia, ya que determinando la movilidad de las fracciones que se presentaban aumentadas, después de haber sido separadas del plasma, dicho autor puede demostrar que su velocidad de emigración es bastante diferente a la correspondiente fracción de los plasmas normales, y supone que tal cambio en la movilidad se debe única y exclusivamente a la presencia de la proteína anormal de BENCE-JONES asociada a dicha fracción.



Fig. 9.

D) OTRAS ENFERMEDADES. — En las enfermedades infecciosas la distribución de las fracciones es diferente, según se trate de casos agudos, con ruidosa sintomatología febril o casos con marcha lenta y con signos de pequeña actividad. En los primeros se encuentra constantemente un aumento de la globulina  $\alpha$ , mientras que en los segundos es la fracción  $\gamma$  la que sufre una considerable elevación. Los trabajos de LONGSWORTH y colab.<sup>64</sup> le han permitido encontrar siempre en enfermos con neumonía, amigdalitis, tuberculosis en fase febril, etc., el primer tipo de alteración, que regresa en el momento que la temperatura desciende a lo normal, en tanto que en enfermedades infecciosas de marcha más lenta, como el linfogranuloma venéreo, kala-azar, tuberculosis con pequeña actividad, sífilis, etc., la distribución de las fracciones se hace con arreglo al segundo tipo señalado, según han podido mostrar las investigaciones de WIEDEMANN<sup>24</sup> y GUTMANN<sup>69</sup>.

A estos datos hemos de añadir la presencia de la albúmina emigrando en forma de dos ondas diferentes, según ha encontrado WIEDEMANN

para algunos casos de neumonía, y cuyo comentario amplio ya hemos realizado. En esta misma enfermedad, los estudios citados de BLIX, TISELIUS y SVENSSON<sup>41</sup> han podido demostrar en el análisis por separado de las fracciones electroforéticas que el contenido en lípidos en algunas de ellas es menor que el encontrado en los sueros normales, pero que especialmente esta disminución es muy marcada en la globulina  $\alpha$ .

En los enfermos cardíacos con asistolia congestiva valiéndose de la electroforesis, LUETSCHER<sup>53</sup> ha podido comprobar lo ya indicado por PAYNE y PETERS<sup>83</sup> con los métodos de determinación química en cuanto se refiere a la frecuencia de la disminución de la albúmina plasmática y añadir que las globulinas  $\beta$  y  $\gamma$  se presentan constantemente aumentadas.

En la ictericia obstructiva se ha demostrado un aumento de la fracción  $\beta$  que, como desaparece en el momento que los lípidos son extraídos por medio del éter, viene a confirmar el papel de esta globulina en el transporte de estos materiales, ya que, como es bien sabido, los lípidos están aumentados en estos casos.

En la enfermedad de ADDISON se ha señalado por McCULLAGH<sup>84</sup> un aumento de las globulinas  $\beta$  y  $\gamma$ , que regresa cuando el estado metabólico del enfermo mejora, motivo por el cual el citado autor no duda en poner esta alteración del espectro en relación con el trastorno metabólico de tales enfermos.

De igual forma LEWIS y colab.<sup>85</sup> han señalado que en la diabetes, mientras el estado de compensación metabólica se mantiene en buen estado, las alteraciones que se presentan en el espectro proteico son muy pequeñas, pero que en el momento que aparece la acidosis se produce una disminución de la albúmina con aumento de la globulina  $\beta$ . Aunque todavía no se conocen detalles sobre la naturaleza del aumento de esta globulina, es indiscutible que, viendo lo que ocurre en otras enfermedades, como la nefrosis e ictericia obstructiva, no hay más remedio que relacionarlo con la elevación de los lípidos totales, colesteroína y sus fracciones, que en los diabéticos en mal estado de nutrición puede demostrarse (JIMÉNEZ DÍAZ y CASTRO MENDOZA<sup>112</sup>).

En la anemia aplásica la mayoría de las veces no se logra demostrar grandes alteraciones del espectro, a lo sumo puede encontrarse una disminución discreta de la albúmina con aumento ligero de las globulinas, principalmente de la  $\gamma$ , pero, sin embargo, en otros casos el espectro es completamente normal. Este hecho hace pensar a LONGSWORTH que el papel de la médula ósea como formadora de proteínas debe de ser puesto en duda, a menos que se piense que ambas funciones—proteinoformadora y hemopoyética—pueden estar alteradas independientemente.

Por último, debemos citar que en ciertos casos de traumatismos, LONGSWORTH<sup>84</sup>, DOLE y

colaboradores<sup>118</sup> han descrito un aumento de la globulina  $\alpha$  acompañada de disminución de la albúmina. Experimentalmente GJESSING y CHANUTIN<sup>114-115</sup>, produciendo en perros quemaduras y fracturas óseas, han podido comprobar también en días sucesivos un incremento de la fracción  $\alpha$  con disminución de la albúmina. Hasta ahora se desconocen las alteraciones del espectro que se presentan en el hombre después de las intervenciones quirúrgicas, siendo posible que su conocimiento contribuya a comprender muchas de las complicaciones postoperatorias y a un mejor tratamiento de las mismas.

## 6. LAS PROTEÍNAS DE OTROS LÍQUIDOS ORGÁNICOS.

A) LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO.—Poco se sabe respecto a las alteraciones de las proteínas que se encuentran en el líquido cefalorraquídeo; sin embargo, los trabajos de KABAT<sup>88</sup> han demostrado que contiene las mismas fracciones del suero. La mayor dificultad para obtener los diagramas reside en la pequeña concentración de las globulinas, por lo cual es siempre necesario trabajar con líquidos artificialmente concentrados. La proporción de las diferentes fracciones guarda una cierta relación con las halladas en el plasma, y las alteraciones de éste se reflejan bastante fielmente en la distribución de las proteínas de aquél. En los líquidos normales, ni la

globulina, ni el fibrinógeno pueden ser demostrados en la mayoría de los casos, y en general la relación A/G es más alta que la encontrada en el plasma de tal manera, que en casos patológicos en los que en el plasma hay una cifra alta de proteínas totales, en el líquido el correspondiente aumento se hace principalmente a expensas de la albúmina.

En la tabla VII hemos resumido los datos encontrados por KABAT en algunos líquidos, y al mismo tiempo puede verse comparativamente el espectro del plasma de tres de ellos. En los enfermos con linfogranuloma venéreo la relación A/G, aun siendo baja, tanto en la sangre como en el líquido cefalorraquídeo, obsérvese que lo es más marcada en este último, y que la elevación de la globulina es simultánea en ambos. Los dos casos de neurosífilis muestran un considerable aumento de la fracción en el líquido y en dos de ellos, cuando se aisló esta globulina de las restantes, pudo demostrarse que todo el oro se encontraba en esta fracción y que una nueva reacción hecha con el líquido restante fué completamente normal, por lo cual KABAT concluye que es el aumento de la globulina la que determina la anormalidad de la curva, si bien tal globulina en estos casos tendría algunas características especiales, ya que en otros líquidos patológicos con iguales cantidades de la misma no se pudieron obtener curvas anormales.

TABLA VII.—Distribución electroforética de las fracciones proteicas del líquido cefalorraquídeo. (Expresadas en valores relativos.)

	Albúm.	Glob. $\alpha$	Glob. $\beta$	Glob. $\gamma$	Fibring.	Curva de oro
1.—Liq. c. r. Adenom. cromfb. ....	58,4	—	23,4	18,2	—	1100000000
2.—Liq. c. r. Gran mal .....	62,4	6,7	13,4	17,4	—	1100000000
3.—Liq. c. r. Polineuritis .....	65,9	8,5	11,4	10,4	3,8	1100000000
4.—Suero Linfg. venéreo .....	39,6	8,4	17,7	34,3	—	—
Liq. c. r. Linfg. venéreo .....	56,3	—	12,0	31,8	—	1111222100
5.—Suero Linfg. venéreo .....	34,0	3,6	12,3	38,4	11,7	—
Liq. c. r. Linfg. venéreo .....	42,4	9,4	21,9	26,5	—	1100000000
6.—Suero Neurosífilis .....	60,7	12,3	16,1	11,0	—	—
Liq. c. r. Neurosífilis .....	49,6	5,0	7,2	38,2	—	4334421100
7.—Liq. c. r. Neurosífilis .....	45,8	—	—	56,2	—	5555544210

B) DERRAMES.—Aparte de los datos que ya hemos indicado sobre lo encontrado en algunos derrames y orina, los trabajos de HESSELVIK y LUETSCHER<sup>58-59</sup> han venido a completar nuestra información sobre los datos encontrados en los derrames de otras enfermedades. Los resultados de estos dos autores no están de acuerdo en cuanto al número de fracciones que ordinariamente el estudio de tales líquidos proporciona, ya que mientras el primero señala en su experiencia que sólo ha podido encontrar la globulina  $\alpha$  tres veces en un gran número de experiencias, el segundo la puede demostrar en

todos los casos. Esta discrepancia es en realidad de orden técnico, ya que, teniendo en cuenta que en estos líquidos tal globulina se encuentra en muy pequeña proporción, fácilmente puede comprenderse que sólo con una técnica muy cuidadosa pueda ser puesta de manifiesto.

Los enfermos con insuficiencia cardíaca congestiva muestran tanto en los derrames pericárdicos, pleurales, como en los ascíticos, una cantidad de proteínas totales que varía de 0,1 gr. a 3,7 gr. por 100. Proporcionalmente, la albúmina se encuentra en mayor cantidad que en el plasma, mientras que la globulina  $\beta$  está en menores



TABLA VIII.—Distribución de las fracciones proteicas en algunos derrames. (Según LUETSCHER.)

	Proteínas totales	Albumina	Glob. $\alpha$	Glob. $\beta$	Glob. $\gamma$	Fibrinógeno
Plasma normal .....	6,5	62,5	7,0	13,2	11,6	5,7
Insuficiencia cardíaca:						
Plasma .....	7,0	45,1	5,9	21,0	22,8	5,2
Líquido pericárdico .....	3,7	63,8	5,6	10,1	16,8	3,7
Plasma .....	5,7	48,7	4,6	27,1	15,1	4,5
Líquido pleural .....	2,2	57,5	5,1	14,7	17,6	5,1
Plasma .....	5,3	32,7	6,1	39,1	18,4	3,7
Líquido pleural .....	1,1	37,0	4,4	32,9	15,4	10,3
Neumonía:						
Plasma .....	5,6	40,6	10,3	26,8	13,6	8,7
Líquido pleural .....	4,0	50,5	14,5	19,1	13,8	2,1
Tuberculosis:						
Plasma .....	6,3	52,2	9,9	17,6	13,1	7,2
Líquido pleural .....	4,4	61,6	7,0	13,7	14,0	3,7
Plasma .....	5,7	36,1	9,5	10,9	32,1	11,4
Ascitis .....	2,4	37,5	7,7	8,5	39,3	7,0

proporciones (véase tabla VIII). La relación entre la cantidad de albúmina en el líquido y en el plasma difiere tanto más cuanto que el contenido de esta fracción en la sangre es más elevado.

En los derrames de la neumonía, tanto BLIX<sup>89</sup> como LUETSCHER, han encontrado un contenido alto de proteínas oscilando entre 3,3 gr. a 4,0 gr. La cantidad relativa de albúmina de estos líquidos se encuentra también aumentada en relación a la del plasma, mientras que la globulina  $\beta$  y el fibrinógeno están en menores proporciones.

Los derrames de los tuberculosos reflejan asimismo bastante bien las alteraciones del espectro del plasma, de tal manera, que cuando la desnutrición del enfermo es muy intensa y, por lo tanto, la cifra de proteínas totales en la sangre es baja, el análisis del líquido pleural o ascítico proporciona cifras semejantes a las que se encuentran en los trasudados, contrastando esto con su carácter marcadamente inflamatorio.

Los datos obtenidos en los derrames producidos por tumores son muy variables, ya que dependen del mecanismo de formación y del tipo de tumor. Cuando se trata de derrames hemorrágicos el espectro es muy semejante al del plasma. Si su origen es debido a la compresión de grandes vasos, entonces su composición semeja a lo hallado en los derrames cardíacos y, por último, en los derrames mucinosos el contenido en proteínas es superior al del plasma.

Los datos electroforéticos tampoco permiten a LUETSCHER establecer una marcada diferencia entre exudados y trasudados.

C) LÍQUIDO SINOVIAL.—Se consideran a las proteínas de este líquido como formadas por al-

búmina, globulina y mucina; las dos primeras derivadas de la sangre y la tercera sería un producto de secreción de las células de la membrana sinovial, cuya composición estaría en parte integrada por el ácido hialurónico. La electroforesis ha podido mostrar a HESSELVIK<sup>91</sup> que la albúmina es semejante a la del plasma y que las globulinas corresponden a la  $\beta$  y  $\gamma$  del mismo. En los diagramas se puede observar emigrando delante de la albúmina un componente de pequeña altura, el cual, estudiado por BLIX<sup>92</sup>, después de su separación ha mostrado ser ácido hialurónico puro, sin que se halla podido reconocer su unión a ninguna de las proteínas del líquido. El hecho de que dicho ácido emigre como un componente diferente hace pensar a BLIX que en el líquido sinovial se encontraría en estado libre, ya que de otra forma no se concibe su emigración como sustancia pura y además que el producto conocido con el nombre de mucina con toda seguridad se trata de un compuesto que se forma sólo tras las manipulaciones mediante el ácido acético considerado como necesario para la separación de la misma.

## 7. HORMONAS.

La electroforesis ha sido también empleada para conseguir algunas hormonas en estado de pureza, separándolas de otros materiales que, aunque en muchas ocasiones carecían de actividad hormonal, impedían hacer un estudio químico de la verdadera sustancia con efectos hormonales.

En este sentido ha venido a contribuir al estudio de dos hormonas de la hipófisis: la hormona del crecimiento y la hormona luteinizante.

Respecto a la primera, los trabajos de LI y EVANS<sup>93</sup> han demostrado que la sustancia aislada de la hipófisis y responsable del desarrollo de la rata hipofisectomizada emigra en la electroforesis como un cuerpo simple y que su inyección sobre este animal no da lugar a otros efectos hormonales, motivos ambos por los que hay que considerar a este producto como puro y cuya caracterización química en los momentos presentes está siendo investigada.

En relación con la hormona luteinizante, SHEDLOVSKY, ROTHEN y GREEP<sup>94-95</sup> han podido aislar de la hipófisis del cerdo un producto que, estudiado electroforéticamente, muestra una emigración bajo la forma de tres componentes, los cuales una vez separados se ha podido comprobar que en el más rápido y al mismo tiempo el que presenta mayor concentración, existe una actividad biológica que permite filiarle como la hormona luteinizante de la hipófisis, ya que en la rata macho da lugar a una proliferación de las células intersticiales del testículo y en las hembras hipofisectomizadas provoca el estro con aparición del cuerpo amarillo cuando se administra conjuntamente con la hormona estimulante del folículo. Posteriormente a estos trabajos, LI, SIMPSON y EVANS<sup>96</sup> señalan haber aislado electroforéticamente un producto de la hipófisis de la oveja, que tiene una actividad biológica semejante al aislado de la hipófisis del cerdo, pero que curiosamente difiere ampliamente de éste en cuanto a su pH y movilidad se refiere.

De igual manera LI, EVANS y WONDER<sup>97</sup> han aislado de la sangre de yeguas embarazadas una hormona gonadotrópica que en la electroforesis se mostró como homogénea y cuya constitución química parece ser una glicoproteína; semejantemente, pero a partir de la orina, GURIN, BACHMAN y WILSON<sup>98-99</sup> comunican el aislamiento de otra hormona con efectos gonodotrópicos, cuyo punto isoelectrico se encuentra entre pH 3,2 y 3,3.

Por último COH, IRVING y DE VIGNEAUD<sup>100</sup> han logrado aislar, valiéndose de la electroforesis, la sustancia oxiótica y presora de la hipófisis posterior y determinar que la primera tiene un punto isoelectrico de pH 8,5 y la segunda de 10,85.

#### 8. FERMENTOS.

Electroforéticamente, TISELIUS, HENSCHEN y SVENSSON<sup>101</sup> han demostrado que muchas de las muestras de pepsinas consideradas como puras, presentaban varios componentes que, sin duda alguna, corresponden a impurezas, ya que el aislamiento de la misma, valiéndose de la electroforesis, permitió obtener el producto con una actividad hasta un 69 por 100 mayor que la muestra conseguida por otros procedimientos.

La acción de la pepsina sobre las proteínas del plasma ha sido estudiada por WUNDERLY<sup>102</sup>, pudiendo demostrar que la albúmina es atacada

con mucha mayor facilidad que las globulinas de tal manera, que cuando la onda de la albúmina se encuentra reducida en casi una quinta parte, la globulina  $\gamma$ , sólo ha experimentado un ligero descenso. Este hecho tendría un valor considerable para la purificación de los sueros antitóxicos.

El fermento amarillo de WARBURG y CHRISTIAN y el citocromo C han podido ser purificados por THEORELL<sup>103-104</sup> valiéndose de la conductancia eléctrica del mismo.

#### 9. OTRAS PROTEÍNAS.

Para terminar, indicaremos que la caseína humana y de la vaca han mostrado a MELLANDER<sup>105-106</sup> la existencia electroforética por lo menos de dos componentes, cuyo contenido en nitrógeno y fósforo fué diferente.

Sometiendo el producto de la hemólisis de los eritrocitos separados del plasma al estudio electroforético, KURT y colab.<sup>107</sup> han señalado que, aparte de la onda correspondiente a la emigración de la hemoglobina, puede encontrarse en los diagramas otra, que curiosamente tiene la misma velocidad que los eritrocitos cuando son estudiados en soluciones que no alteran su estructura. Este hallazgo les lleva a considerar que tal sustancia debe de encontrarse en la membrana del hematíe y ser la responsable de la carga del mismo.

Las proteínas de los órganos son muy poco conocidas en cuanto a su conducta eléctrica, no obstante, DUCK, NIMMO y ALVAREZ TOSTADO<sup>82</sup>, trabajando con albúmina preparada del hígado de perros sometidos a una dieta de hambre, han podido demostrar tras larga electroforesis diferencias en la emigración y número de los componentes en relación con lo que ocurre en el producto tomado de un perro normal. Este hecho, aunque de gran importancia para sucesivas investigaciones, carece en la actualidad de una clara significación, en tanto no se tenga una mayor experiencia con respecto a la electroforesis de las proteínas aisladas de los órganos.

Estos son los resultados que, expuestos sucintamente, ha logrado el estudio electroforético de las proteínas humanas. Es indiscutible que en el terreno de las proteínas plasmáticas queda aún mucho por hacer, ya que hasta el presente los estudios de la mayoría de los autores se han limitado a hacer una mera descripción de lo encontrado en estos plasmas, pero sin tener en cuenta ni el estado del enfermo ni el curso evolutivo del mismo, con el objeto de ver si muchos de los síntomas o complicaciones que se presentan en algunas de estas enfermedades podrían ser mejor explicados en virtud del conocimiento de las alteraciones de las proteínas de su plasma. Como antes decíamos, es muy ve-



rosímil que las complicaciones infecciosas que frecuentemente presentan los nefróticos puedan tener su explicación en la disminución de la globulina  $\gamma$ , que no rara vez puede ser demostrada en los mismos. No cabe duda que un mejor conocimiento del papel fisiológico de cada una de las fracciones proteicas contribuirá a aclarar muchos problemas. Por el momento es indiscutible que el antiguo esquema del cociente A/G empieza a desmoronarse, ya que no es lo mismo una inversión del mismo por aumento de una globulina  $\beta$  que por una globulina  $\gamma$ .

En otro sentido, el método electroforético permite aislar al estado de gran pureza muchas proteínas, contribuye a la facilitación de su reconocimiento químico, como hemos visto que ocurre en el caso de las hormonas. Estudios posteriores podrán decirnos si las fracciones obtenidas por este método son especies químicas bien individualizadas, ya que si bien es verdad que la fórmula química de cada una de las fracciones globulinicas tiene que ser diferente, lo que nos falta por saber es si dentro de cada grupo que logra la electroforesis la constitución es homogénea, ya que bien pudiera ocurrir que aun con carga eléctrica idéntica su fórmula fuera diferente.

Queremos expresar aquí nuestro agradecimiento al Prof. A. STOLL, por habernos suministrado todos los medios necesarios para estudiar la técnica de la electroforesis de las proteínas, así como también al Tribunal Calificador de la beca "Sandoz" (Profesores JIMÉNEZ DÍAZ y S. HERRADOR y Dr. VIEDMA) al habernos elegido para realizar dichos estudios.

## BIBLIOGRAFIA

1. BLACK y SORENSSEN.—Cit. JIMÉNEZ DÍZ, Lec. Pat. Méd. Tomo III. 1940.
2. SVENBERG y SJOCREN.—J. Am. Chem. Soc., 52, 2875, 1930.
3. TISELIUS, A.—Nova Acta Reg. Soc. Sci. Upsallensis, 4, 7, 1930.
4. TISELIUS, A.—Trans. Faraday Soc., 33, 524, 1937.
5. TISELIUS, A., PEDERSEN, K. O. y col.—Nature, 139, 546, 1937.
6. LONGSWORTH, L. G.—Ann. N. Y. Acad. Sci., 30, 103, 1939.
7. LONGSWORTH, L. G. y MCINNES, D. A.—J. Amer. Chem. Soc., 62, 705, 1940.
8. PHILIPOT, J. S. L.—Nature, 141, 283, 1938.
9. SVENSSON, H.—Kolloid. Z., 87, 180, 1940.
10. SVENSSON, H.—Kolloid. Z., 90, 141, 1940.
11. MICHAELIS, L.—Biochem. Z., 234, 139, 1931.
12. LEWIS, G. N. y RANDALL, M.—J. Am. Chem. Soc., 43, 1112, 1921.
13. HARDY.—Cit. ABRAMSON y col. Electrophoresis of proteins. N. Y., 1942.
14. BENNHOLD, H.—Ergeb. inn. Med. Kinderheilk., 42, 273, 1932.
15. TISELIUS, A.—Thesis Upsala, 1930.
16. TISELIUS, A.—Biochem. J., 31, 313, 1937.
17. TISELIUS, A.—Biochem. J., 31, 1464, 1937.
18. STENHAGEN, E.—Biochem. J., 32, 714, 1938.
19. DEUTSCH, H. F. y GOODLOE, M. B.—J. Biol. Chem., 161, 1, 1945.
20. JAMESON, E. y ALVAREZ TOSTADO, C.—J. Phys. Chem., 43, 1165, 1939.
21. JAMESON, E. y ALVAREZ TOSTADO, C.—Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 40, 476, 1939.
22. ZELDIN, L. J. y ALLING, E. L.—J. Exp. Med., 81, 515, 1945.
23. STENHAGEN, E. y RIDEAL, E. K.—Biochem. J., 33, 1391, 1937.
24. WIEDEMANN, E.—Schweiz. med. Wschr., 76, 241, 1946.
25. ADAIR y TAYLOR.—Nature, 135, 307, 1935.
26. MCKEIKIN, T. L.—J. Am. Chem. Soc., 61, 2884, 1939.
27. SORENSSEN, S. P. L.—Compt. rend. trav. Lab. Carlsbar., 50, 3318, 1928.
28. LUETSCHER, J. A.—J. Am. Chem. Soc., 52, 2875, 1930.
29. MOYER, L. S. y MOYER, E.—J. Biol. Chem., 132, 373, 1940.
30. HOCH, H. y MORRIS, C. J. O. R.—Nature, 156, 234, 1945.
31. SMETANA, H.—J. Biol. Chem., 124, 667, 1938.
32. ROYD, M. J.—Biol. Chem., 103, 249, 1933.
33. GILDEMEISTER, H.—Z. ges. exp. Med., 102, 58, 1937.
34. JAMESON, E. y ALVAREZ TOSTADO, C.—Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 51, 163, 1942.
35. COOLIDGE, T. B.—J. Biol. Chem., 127, 551, 1939.
36. COOLIDGE, T. B.—J. Biol. Chem., 132, 119, 1940.
37. PEDERSEN, K. O. y WALDESTROM, J.—Z. Physiol. Chem., 245, 112, 1937.
38. LUNBLUM, P. D., TAFF, A. E. y NEGENT, R. L.—J. Phys. Chem., 35, 269, 1931.
39. TISELIUS, A.—Kolloid. Z., 85, 129, 1938.
40. LONGSWORTH, L. G. y MCINNES, D. A.—J. Exp. Med., 71, 77, 1940.
41. BLIX, G., TISELIUS, A. SVENSSON, H.—J. Biol. Chem., 137, 485, 1941.
42. BLIX, G.—J. Biol. Chem., 137, 495, 1941.
43. QUICK, A. J.—Am. J. Physiol., 317, 115, 1936.
44. QUICK, A. J.—Am. J. Med. Sci., 201, 495, 1941.
45. CHARGAFF, E., OLSON, K. B.—J. Biol. Chem., 122, 153, 1937.
46. CHARGAFF, E., ZIFF, M. y MOORE, D. H.—J. Biol. Chem., 139, 383, 1941.
47. JIMÉNEZ DÍAZ, C., CASTRO MENDOZA, H. y colaboradores.—Prox. publicación.
48. LUETSCHER, J. A.—J. Clin. Invest., 19, 313, 1940.
49. WIEDEMANN, E.—Schw. med. Wschr., 74, 566, 1944.
50. WIEDEMANN, E.—Schw. med. Wschr., 75, 229, 1945.
51. WUHRMANN, F. y WUNDERLY, CH.—Schw. med. Wschr., 76, 251, 46.
52. THORN, G. W. y col.—J. Clin. Invest., 25, 304, 1946.
53. LUETSCHER, J. A.—J. Clin. Invest., 20, 99, 1941.
54. LONGSWORTH, L. C., SHEDLOVSKY, TH. y MCINNES, D. A.—J. Exp. Med., 70, 399, 1939.
55. HAVENS, W. P. y PAUL, J. R.—Journ. Am. Med. Ass., 129, 270, 1945.
56. JIMÉNEZ DÍAZ, C. y CASTRO MENDOZA, H.—Rev. Clin. Esp., 15, 405, 1944.
57. JIMÉNEZ DÍAZ, C., LORENTE, L., MARINA, C., ORTIZ, E. y RODA, E.—Rev. Clin. Esp., 6, 238, 1942.
58. HESSELVIK, L.—Act. Med. Scand., 101, 461, 1939.
59. GUTMAN, B. A., MOORE, D. H., GUTMAN, E. B., McLELLAN, V. y KABAT, E. A.—J. Clin. Invest., 22, 161, 1943.
60. KEKWICK, R. A.—Biochem. J., 34, 1248, 1940.
61. WUHRMANN, F. y WUNDERLY, CH.—Schw. med. Wschr., 75, 234, 1945.
62. MAGNUS LEVY, A.—Biochem. Z., 30, 200, 1900.
63. PACKALEN, T.—Act. Med. Scand., 100, 1, 1939.
64. SVEDBERG, T. y PEDERSEN, K. O.—The ultracentrifuge. Clarendon Press, Oxford, 1940.
65. GUNN, F. D. y MALE, A. E.—Arch. Pathol., 26, 377, 1938.
66. TISELIUS, A. y KABAT, E. A.—J. Exp. Med., 69, 119, 1939.
67. VAN DER SCHERER, J., WYCKOFF, R. W. G. y LAGSDIN, J. B.—J. Immunol., 41, 209, 1941.
68. VAN DER SCHERER, J., y WYCKOFF, R. W. G.—Science, 91, 495, 1940.
69. VAN DER SCHERER, J. y CLARKE, F.—J. Immunol., 39, 65, 1940.
70. VAN DER SCHERER, J. y CLARKE, F.—J. Immunol., 40, 173, 1941.
71. VAN DER SCHERER, J. y col.—J. Immunol., 40, 39, 1941.
72. VAN DER SCHERER, J. y WYCKOFF, R. W. G.—Proc. Soc. Expt. Biol. a. Med., 45, 634, 1940.
73. KEKWICK, R. A. y RECORD, B. R.—British. J. Exp. Path., 22, 29, 1940.
74. DEUTSCH, H. F., ALBERTY, R. A. y GOSTING, L. G.—J. Biol. Chem., 165, 21, 1946.
75. SCHOENHEIMER, R., RATNER, S., RITTENBERG, D. y HEIDELBERG, M.—J. Biol. Chem., 144, 541, 1942.
76. SCHOENHEIMER, R., RATNER, S., RITTENBERG, D. y HEIDELBERG, M.—J. Biol. Chem., 144, 545, 1942.
77. SCHOENHEIMER, R., RATNER, S. y RITTENBERG.—J. Biol. Chem., 144, 555, 1942.
78. JIMÉNEZ DÍAZ, C., CASTRO DE MENDOZA, H. y colab.—Rev. Clin. Esp., 6, 383, 1942.
79. ENDERS, J. F.—J. Clin. Invest., 23, 510, 1944.
80. STOKES y colab.—J. Clin. Invest., 23, 531, 1944.
81. MOORE, D. H.—J. Biol. Chem., 161, 21, 1945.
82. DUCK, J. M., NIMMO, C., ALVAREZ TOSTADO, C.—Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 45, 171, 1941.
83. PAYNE, S. A. y PETERS, J. P.—J. Clin. Invest., 11, 101, 1932.
84. McCULLACH, E. P. y LEVIE, L. A.—Journ. Am. Med. Ass., 124, 801, 1945.
85. LEVIE, L. A., SCHNEIDER, R. W. y McCULLACH.—J. Clin. Endocrinol., 11, 735, 1944.
86. SEIBERT, F. B., PEDERSEN, K. O. y TISELIUS, A.—J. Exp. Med., 68, 413, 1938.
87. SEIBERT, F. B.—Bact. Rev., 5, 69, 1941.
88. KABAT y colab.—Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 49, 260, 1942.
89. BLIX, G.—Ztschr. f. d. ges. exper. Med., 105, 1939.
90. MEYER, K. SMITH, M. E. y DAWSON, M. H.—J. Biol. Chem., 128, 319, 1939.

91. HESSELVIK, L.—Acta Med. Scand., 105, 173, 1940.
92. BLIX, G.—Acta Phys. Scand., 101, 461, 1939.
93. LI, CH. y EVANS, H. M.—Science, 92, 355, 1940.
94. SHEDLOVSKY, T., ROTHEN, A., GREEP, R. O. y colab.—Science, 92, 178, 1940.
95. GREEP, R. O., v. DYKE, H. B. y CHOW, B. F.—J. Biol. Chem., 135, 289, 1940.
96. LI, CH., SIMPSON, M. E. y EVANS, H. M.—Science, 92, 355, 1940.
97. LI, CH., EVANS, H. M. y WONDER, D. H.—J. Gen. Physiol., 23, 735, 1940.
98. GURIN, S., BACHMAN, C. y WILSON, D. W.—J. Am. Chem. Soc., 61, 2251, 1939.
99. GURIN, S., BACHMAN, C. y WILSON, D. W.—J. Biol. Chem., 133, 467, 1940.
100. COH, M., IRVING, G. W. y VIGNEAUD, V.—J. Biol. Chem., 137, 635, 1941.
101. TISELIUS, A., HENSCHEN, G. E. y SVENSSON, H.—Biochem. J., 32, 1814, 1938.
102. WUNDERLY, CH.—Nature, 158, 556, 1946.
103. THEORELL, H.—Biochem. Z., 278, 263, 1935.
104. THEORELL, H.—Biochem. Z., 279, 463, 1935.
105. MELLANDER, O.—Biochem. Z., 300, 240, 1939.
106. MELLANDER, O.—Nature, 155, 604, 1945.
107. KURT G. SLERN, REINER, M. y SILBER, R. H.—J. Biol. Chem., 161, 731, 1945.
108. KOHLSTAEDT, K. G., HELMER, O. M. y PAGE, I. H.—Proc. Soc. Exp. Biol. y Med., 39, 214, 1938.
109. KOHLSTAEDT, K. G., HELMER, O. M. y PAGE, I. H.—Am. Heart. J., 19, 92, 1940.
110. PLENTL, A. A., PAGE, I. H. y DAVIS, W. W.—J. Biol. Chem., 147, 135, 1943.
111. PLENTL, A. A., PAGE, I. H. y DAVIS, W. W.—J. Biol. Chem., 147, 143, 1943.
112. JIMÉNEZ DÍAZ, C. y CASTRO DE MENDOZA, H.—Rev. Clin. Esp., 15, 251, 1944.
113. DOLE, V. P., WATSON, R. F. y ROTHBARD, S.—J. Clin. Invest., 24, 648, 1945.
114. GJESSING, S. C. y CHANUTIN, A.—J. Biol. Chem., 161, 413, 1946.
115. CHANUTIN, A. y GJESSING, E. C.—J. Biol. Chem., 161, 421, 1946.

## ORIGINALES

### IMPORTANCIA ETIOLOGICA DE LOS ESPIROQUETES EN ALGUNOS PROCESOS Y MANIFESTACIONES RESPIRATORIAS

F. TELLO VALDIVIESO, A. DUPLA ABADAL,  
R. MARTÍNEZ-PÉREZ,  
Catedrático de Histopatología,  
y M. I. ARIJA.

Dispensario Central Antituberculoso de Zaragoza.  
Director: Dr. F. TELLO-VALDIVIESO.

Una de las cuestiones que han aparecido hasta ahora como más dudosas en la patología respiratoria es el papel que pueden desempeñar como productores de enfermedades los espiroquetes encontrados en la expectoración o sobre las mucosas respiratorias. La discusión se mantiene desde la aparición de los trabajos de CASTELLANI de 1906 a 1909, que había señalado la existencia de espiroquetes en cierta abundancia en la expectoración de bronquitis hemorrágicas en la isla de Ceilán. Los describió como un tipo especial con cierta especificidad dentro de los espiroquetes. Por bastantes autores ya fué dudado, sin embargo, que tuvieran una importancia patogénica, teniendo en cuenta que se encontraban especialmente en la boca de personas que padecen alteraciones gingivales y otras bucales, y en las de personas normales, espiroquetes con los mismos caracteres.

El mismo CASTELLANI ayudó a sostener la duda, pues en trabajos posteriores describió distintos tipos de espiroquetes bronquiales con significaciones distintas. La semejanza de los tipos descritos como espiroquetes bronquiales con las formas encontradas en la boca con cierta fre-

cuencia es tan grande, que su diferenciación es totalmente imposible. Hoy día nadie ya, prácticamente, pretende seguir manteniendo a los espiroquetes encontrados en la tráquea y bronquios o en sus productos como un tipo especial. Sin embargo, por muchos investigadores se sostiene el criterio de que los espiroquetes, muchas veces saprofitos de la boca, pueden en ocasiones producir alteraciones patológicas de las vías respiratorias y del pulmón.

Sin remontarnos a trabajos de hace muchos años, queremos recoger brevemente la opinión de algunos calificados médicos y observadores en esta cuestión.

DELAMARE, en 1924, en su pequeño, pero importantísimo libro, opina que la presencia de un número elevado de espiroquetes en la expectoración constituye una anomalía innegable, ya que no son huéspedes habituales. Cree que su presencia allí es debida a una contaminación de las vías respiratorias. Divide las broncoespiroquetosis en exótica o tropical y en cosmopolita. En esta última no cree tenga influencia el terreno y el clima en su desarrollo. La gripe, la tuberculosis, la sífilis, piorrea alveolar dentaria y los cánceres bucales jugarían un papel importante en la invasión del tronco bronquial por la fauna espirilar, pareciendo en estas condiciones dudosas la importancia etiológica de los espiroquetes. De todos modos, experimentalmente le parece que son relativamente patógenos para el mono, por lo menos por vía traqueal. En cambio, parecen inofensivos para los conejos. La noción de su patogenicidad radicaría principalmente en su correlación con la enfermedad. Su aparición coincidiría con el principio de ésta, y su desaparición, con la curación. El carácter esencial de la espiroquetosis respiratoria radi-