

Uso del Método del Biuret en la Determinación de Proteínas Séricas y sus Fracciones *

II. VALORES EN LA POBLACION NORMAL Y EN EL EMBARAZO

JOSE MENDEZ, EDUARDO CASTELLANOS ** Y GUILLERMO ARROYAVE

Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP)

Guatemala, C. A.

Se ha observado frecuentemente que los valores de proteína sérica reportados por diferentes laboratorios varían de acuerdo con el método empleado (1-7). Esto presenta un serio problema en la interpretación clínica de dichos resultados.

Los métodos que emplean el reactivo de biuret son comúnmente utilizados en los laboratorios clínicos para la determinación cuantitativa de las proteínas totales del suero y de sus fracciones. Por tal motivo los autores publicaron anteriormente una revisión de este método (8), el que incluye su adaptación a la determinación de albúmina, alfa, beta y gamma globulinas separadas por precipitación con soluciones de sulfato de sodio en forma similar a la descrita por Kibrick y Blonstein (9).

Debido al uso generalizado que se está dando a esta técnica, se consideró de importancia la investigación de los valores de la proteína sérica y de sus fracciones en un grupo de personas adultas de ambos sexos y en un grupo de niños de la Ciudad de Guatemala, así como en otro integrado por mujeres embarazadas sin complicaciones clínicas y en un pequeño número de mujeres embarazadas que presentaban un cuadro sintomático de pre-eclampsia.

MATERIALES Y METODOS

El primer grupo sujeto a estudio estaba constituido por 36 hombres y 40 mujeres adultas, libres de afec-

ciones clínicas detectables al examen médico. Lo integraban miembros del personal del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), estudiantes de la Universidad de San Carlos de Guatemala y familiares de estas mismas personas, todas ellas con edades comprendidas entre los 18 y los 40 años. Además, se incluyeron 25 niños escolares de 7 a 12 años de edad, en buen estado de salud, los cuales fueron seleccionados de un colegio privado de la Ciudad de Guatemala.

El segundo grupo estaba constituido por 15 mujeres embarazadas sin complicaciones clínicas y 3 mujeres embarazadas que presentaban un cuadro sintomático de pre-eclampsia. Este último grupo fué investigado en la Sala de Maternidad del Hospital General de Guatemala.

Las muestras de sangre se obtuvieron en ayunas por punción venosa, y en los grupos de mujeres embarazadas, éstas se tomaron en los últimos días del embarazo.

El método utilizado en la determinación de proteínas (8) está basado en la precipitación de las fracciones proteicas por medio de soluciones de sulfato de sodio (9) y la determinación de proteínas por medio del reactivo de biuret (10).

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla I se presentan los promedios y desviaciones «standard» obtenidos en el estudio de los grupos de población normal. El grupo de mujeres presentó una distribución de proteínas que en el contenido de albúmina, beta globulina y relación A/G, difiere del presentado por los hombres. Estas diferencias fueron altamente significativas (nivel de probabilidad del 1%). Las mujeres presentaron un nivel de albúmina menor que el de los

* El presente estudio se llevó a cabo con la valiosa asistencia financiera prestada por la Nutrition Foundation, Inc., de la Ciudad de Nueva York, Estados Unidos de América.

** Licenciado en Química y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala. Publicación Científica INCAP E-141.

hombres (4.32 y 4.54, respectivamente), así como una beta globulina mayor (0.96 y 0.88). La relación A/G fué también menor en el grupo de mujeres (1.33 y 1.47). Alha (1) obtuvo resultados similares en un grupo de 40 mujeres en buen estado de salud («normales») con edades comprendidas entre los 20 y 35 años, y en un grupo de 40 hombres (2) también considerados como «normales» y dentro de los mismos límites de edad.

En los 25 niños que se incluyen en la Tabla I se obtuvieron resultados que únicamente difieren de los valores observados en los grupos de adultos en su contenido de gamma globulina, cuya diferencia es también significativa. Los niños presentaron valores más elevados de gamma globulina que los adultos. Esto se puede interpretar como el efecto de una fase activa de inmunización por la que el niño atraviesa, ya que la gamma globulina es la fracción proteica que está íntimamente relacionada con los anticuerpos y con el proceso de inmunización.

Las diferencias observadas entre los valores absolutos de las fracciones también pueden apreciarse cuando se comparan los valores relativos expresados en porcentaje de proteína sérica total.

En la Tabla II se presentan los resultados obtenidos en el grupo de mujeres embarazadas «normales» y en el grupo de pre-eclámpticas. Las mujeres con embarazo normal presentan una proteína sérica más baja que las mujeres no embarazadas, pudiendo apreciarse que el factor responsable de estos niveles proteicos más bajos, es una disminución de la albúmina. Las diferencias fueron altamente significativas. Las fracciones de globulinas alfa y beta aparecen también aumentadas en el embarazo, aun cuando solamente es significativo el cambio en la globulina alfa.

En el caso de las mujeres con pre-eclampsia, la proteína sérica disminuyó aún más que en el grupo de mujeres embarazadas «normales». La albúmina

también arrojó niveles mucho más bajos que los encontrados tanto en las mujeres «normales» no embarazadas como en las mujeres «normales» embarazadas. A pesar del pequeño número de casos que formaron el grupo de pre-eclámpticas las diferencias en proteína total y en albúmina son estadísticamente muy significativas al compararse con el grupo de mujeres normales. El significativo descenso en el nivel de albúmina, así como la disminución de la relación A/G han sido observados con anterioridad (11), constituyendo así factores que pueden ser empleados en el diagnóstico de la pre-eclampsia.

Los valores de proteína sérica presentados en este trabajo podrían juzgarse como relativamente altos al compararlos con otros promedios obtenidos con diferentes métodos de laboratorio en otras poblaciones (3, 4, 7). Sin embargo, los valores obtenidos por medio de la reacción de biuret no difieren significativamente de los valores encontrados al emplear el método de Kjeldahl (12). Además, en repetidas ocasiones otros investigadores han obtenido valores similares de proteína sérica por medio de la reacción de biuret. Así Robinson y sus asociados (5) en un estudio practicado en 439 personas normales habitantes de la Ciudad de México, obtuvieron un promedio de 7.75 g.%, mientras que Wolfson y Cohn (6) reportaron 7.70 g.% y Alha (1, 2) 7.51 ± 0.46 g.%.

En un estudio de valores de fracciones proteicas determinadas electroforéticamente en un grupo de 48 adultos de la Ciudad de Guatemala (13), los porcentajes relativos encontrados fueron: albúmina, 55.69 ± 3.92 ; alfa₁ globulina, 5.88 ± 1.45 ; alfa₂ globulina, 9.70 ± 1.73 ; beta globulina, 14.54 ± 2.44 ; gamma globulina, 14.18 ± 4.28 y relación A/G, 1.27 ± 0.22 . Los valores de albúmina, de alfa, beta y gamma globulinas y de la relación A/G obtenidos en el curso de esta investigación concuerdan bien con estas cifras.

TABLA I
DISTRIBUCION DE PROTEINAS EN SUEROS NORMALES

Nº de observaciones	Hombres 36		Mujeres 40		Niños 25	
	$\bar{x}$	D.S.	$\bar{x}$	D.S.	$\bar{x}$	D.S.
Proteína Total g. %	7.70	± 0.32	7.60	± 0.49	7.77	± 0.33
Albumina g. %	4.54	± 0.37	4.32	$\pm 0.20^*$	4.40	± 0.22
relativo Porcentaje	59.08	± 4.20	56.87	± 3.55	56.70	± 2.61
Alfa Globulina g. %	1.08	± 0.17	1.10	± 0.17	1.11	± 0.17
Porcentaje relativo	14.08	± 2.23	14.53	± 1.46	14.32	± 1.63
Beta Globulina g. %	0.88	± 0.14	0.96	$\pm 0.13^*$	0.91	± 0.14
Porcentaje relativo	11.38	± 1.94	12.60	± 1.95	11.75	± 1.36
Gamma Globulina g. %	1.20	± 0.31	1.22	± 0.33	1.34	$\pm 0.17^*$
Porcentaje relativo	15.46	± 3.78	15.99	± 3.56	17.23	± 1.89
Relación A/G	1.47	± 0.24	1.33	± 0.22	1.32	± 0.10

* Significativo al nivel del 1% de probabilidad.

TABLA II
DISTRIBUCION DE PROTEINAS EN MUJERES EMBARAZADAS
NORMALES Y PRE-ECLAMPTICAS

Nº de observaciones	Mujeres Embarazadas Normales 15		Mujeres Embarazadas Pre-eclámpticas 3	
	$\bar{x}$	D.S.	$\bar{x}$	D.S.
Proteína Total g. %	6.78	$\pm 0.37^*$	6.03	$\pm 0.76^*$
Albumina g. %	3.21	$\pm 0.14^*$	2.51	$\pm 0.18^*$
Porcentaje relativo	47.31	± 2.77	41.87	± 4.34
Alfa Globulina g. %	1.33	$\pm 0.22^*$	1.21	± 0.29
Porcentaje relativo	19.65	± 2.41	19.94	± 2.20
Beta Globulina g. %	1.01	± 0.14	0.97	± 0.18
Porcentaje relativo	14.92	± 1.94	16.13	± 1.69
Gamma Globulina g. %	1.23	± 0.24	1.34	± 0.21
Porcentaje relativo	18.12	± 2.82	22.05	± 1.47
Relación A/G	0.90	$\pm 0.14^*$	0.72	$\pm 0.12^*$

* Significativo al nivel de probabilidad del 1% comparado con el grupo de mujeres normales.

RESUMEN

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos en la determinación de proteína sérica total y de las fracciones, albúmina, alfa, beta y gamma globulinas separadas por precipitación con soluciones de sulfato de sodio y estimadas colorimétricamente por medio del reactivo de biuret. Estos estudios incluyen grupos normales de población de la Ciudad de Guatemala, así como mujeres embarazadas «normales» y un pequeño grupo de embarazadas que presentaran un cuadro sintomático de pre-eclampsia. Las cifras finales concuerdan con las obtenidas previamente por el método electroforético en estos laboratorios.

SUMMARY

Total serum protein, albumin, alpha, beta and gamma globulins were determined by sodium sulfate precipitation and colorimetric estimation with the biuret reagent. These studies included normal subjects from Guatemala City, normal pregnant women and a small number of pregnant women presenting a clinical picture of pre-eclampsia. The values found agree with results obtained previously by free microelectrophoresis in these laboratories.

REFERENCIAS

- Alha, A. L. Albumin and globulin fractions of serum of normal women determined by methanol precipitation method. *Ann. med. exper. et biol. Fenniae*, 27: 189-192, 1949.
- Alha, A. L. On proportion of albumin and globulin fractions of serum of normal men determined by methanol precipitation method. *Ann. med. exper. et biol. Fenniae*, 28:33-36, 1950.
- Myers, V. C. y E. Muntwyler. Chemical changes in the blood and their clinical significance. *Physiol. Rev.*, 20: 1-37, 1940.
- Peters, J. P. y A. J. Eisenman. The serum proteins in diseases not primarily affecting the cardiovascular system or kidneys. *Am. J. M. Sc.*, 186:808, 1933.
- Robinson, W. D., G. C. Payne y J. Calvo de la Torre. A study of the nutritional status of a population group in Mexico City. *J. Am. Dietet. Ass.*, 20:289-297, 1944.
- Wolfson, W. Q. y C. Cohn. Rapid chemical micromethods for the analytic fractionation of serum proteins. The Overbeck Co. Publishers, Ann Arbor, Michigan, 1951.
- Youmans, J. B., E. White Patton, W. R. Sutton, R. Kern y R. Steinkamp. Surveys of the nutrition of the populations. 2. The protein nutrition of a rural population in Middle Tennessee. *Am. J. Pub. Health*, 33:955-964, 1943.
- Castellanos, E. y J. Méndez. Uso del método de biuret en la determinación de proteínas séricas y sus fracciones. *Boletín Sanitario de Nicaragua*, 4:85-89, 1954.
- Kibrick, A. C. y M. Blonstein. Fractionation of serum into albumin and alpha, beta and gamma-globulin by sodium sulfate. *J. Biol. Chem.*, 176:983-987, 1948.
- Gornall, A. G., C. J. Bardawill y M. M. David. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.*, 177: 751-766, 1949.
- Alha, A. L. Serum protein fractionation in normal and in toxæmic pregnancy. *Ann. chir. et Gynaec. Fenniae*, 39 (Supplement 4): 1-108, 1950.
- Castellanos, E. Estudio de las proteínas del suero y sus fracciones en grupos normales de la Ciudad de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis de Farmacéutico Químico. 1951.
- Escobar, C. y J. Méndez. Estudios microelectroforéticos de las proteínas séricas en grupos normales de la Ciudad de Guatemala y en diversos casos patológicos. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, 35:551-562, 1953.