



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Patología y Clínica Médicas

ALGUNOS ASPECTOS SERICOS DE LAS
BRONCOPATIAS CRONICAS OBSTRUCTIVAS

Autor: Francisco Javier Rodríguez-Piñero Bravo-Ferrer

Director: Sánchez Guijo, Pedro

1 de Mayo de 1973

R. 10.227

R
10



Don Pedro Sánchez Guijo, Doctor en Medicina y Profesor Adjunto de Patología y Clínica Médicas de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla:

CERTIFICO: que Don Francisco Javier Rodríguez-Piñero Bravo-Ferrer, licenciado en Medicina y Cirugía, ha realizado, bajo la dirección del Profesor Doctor Don José León Castro; y en las instalaciones de la I Cátedra de Patología y Clínica Médicas de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla el presente trabajo sobre: Algunos aspectos séricos - de las broncopatías crónicas obstructivas; con el que aspira al grado de Doctor.

Sevilla, 1 de Mayo de 1973.

A handwritten signature in dark ink, appearing to read "Pedro Sánchez Guijo". The signature is written in a cursive style and is positioned above a horizontal line that spans the width of the signature area.

El trabajo que presento, a la consideración del Ilustrísimo Tribunal, para aspirar al título de Doctor, titulado: "Algunos aspectos séricos de las broncopatías crónicas obstructivas", con el que aspiro al grado de Doctor, tiene, por supuesto, muchas lagunas y fallos numerosos; y es por lo que solicito la benignidad del Tribunal en su consideración.

Cuanto este trabajo tiene de profundo u orientado, es fruto de la maestría del Profesor León Castro, que con mano firme y cariñosa, supo siempre conducir, sin desmayar, las turbulencias e inconstancias del que escribe. El maestro nos ha dejado prematuramente, pero ha marcado a sus discípulos con huella definitiva. Sería mi deseo, que la tesis que ofrezco al digno Tribunal, llevase algún reflejo de los que han quedado, marcados de manera imborrable en mi espíritu.

Deseo hacer patente mi agradecimiento al Dr. -- Sánchez Guijo, que siempre alentó y ayudó a mi trabajo con su consejo experto y su apoyo amistoso; al Dr. Yáñez Polo, amigo incansable y exigente; a los compañeros y amigos, Carlos Ortíz, Jerónimo Pachón y José Villar Ortiz; a Concha Núñez, todos -- ellos han compartido mis tareas de laboratorio y han convivido las horas de trabajo de esta tesis.

Nuevamente me acojo a la benignidad del Tribunal, al que someto con ilusión pero con humildad este trabajo.

A mis maestros:

Manuel Rodríguez-Piñero Jiménez

José León Castro

In memoriam.

CAPITULO I

-La importancia actual de las broncopatías crónicas obstructivas: factores exógenos.

-Funciones bronquiales.

-Concepto nosológico de las broncopatías crónicas obstructivas.

-Importancia del terreno en la génesis, por alteración de la función bronquial.

CAPITULO II

-Estructura y composición de las proteínas séricas.

-Síntesis de las proteínas séricas.

-Funciones de las proteínas séricas.

-Los grupos prostéticos como condicionantes de las cualidades proteicas.

CAPITULO III

-Relaciones entre las proteínas séricas y las broncopatías --
crónicas obstructivas:

-Estado actual del problema.

-Inmunoglobulinas.

-Glicoproteínas.

RELACIONES BUSCADAS

-Comportamiento de la proteinemia y sus fracciones electrofo-
réticas.

-Comportamiento global de las gamma-globulinas y sus fraccio-
nes.

-Comportamiento de las proteínas que hemos juzgado de mayor -
interés.

-Comportamiento de las glicoproteínas.

MATERIAL Y METODOS

RESULTADOS Y DISCUSION

TABLAS

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFIA



CAPITULO I

La broncopatía crónica obstructiva, es hoy, como -
antes, una afección bastante frecuente; en realidad, se puede de-
cir, que las broncopatías crónicas, tanto las obstructivas, como
las que no lo son, están registrando un aumento considerable. --
FRANKEL encontró, en novecientas once autopsias revisadas, un 7%
de broncopatías crónicas (1). Por su parte STAHELIN (2) entre --
ocho mil cuatrocientos cuarenta y dos enfermos encontró una inci-
dencia del 2,5%. Pero estas estadísticas realizadas en su día, -
por estos autores, en la actualidad, se hubieran visto notable-
mente incrementadas. El aumento de los porcentajes de broncópá-
tas obstructivos está justificado para MAX BIDERMAN (3) por las
siguientes razones:

-La reducción, espectacular, de la incidencia de -
la tuberculosis pulmonar, en la morbilidad y en la mortalidad, -
considerando por lo menos, los países occidentales; ello motiva
una desviación de las estadísticas de las enfermedades broncopul-
monares. A la vez, este hecho, ha motivado que los medios, mate-
riales e intelectuales, higienistas y médico-sociales, desvíen -
la atención, de una endemia tan peligrosa, como suponía y supone,
la tuberculosis pulmonar a otros terrenos de la patología respi-
ratoria, con aumento de los diagnósticos, por la mayor atención
y perfeccionismo exploratorio.

-Una influencia, por lo demás demostrable, de los
fenómenos meteoro-patológicos, ya que hay que añadir, al clima y

medio ambiente, una serie de circunstancias que modifican y aumentan la responsabilidad atmosférica, en estos procesos.

-Por otra parte y desde el punto de vista higiénico-médico-social, el alargamiento de la vida, al mejorar las condiciones alimentarias y por otra parte las higiénicas; el desarrollo de la medicina diagnóstica y terapéutica, hace aumentar la posibilidad de incidencia, máxime cuando la posibilidad aumenta con la edad. Pero el alargamiento de la vida, va también acompañado, de un aumento de la vida útil; por otra parte la mayor ocupación industrial, de la mano de obra y la mayor utilización del habitat urbano, con despoblación de las zonas rurales.

Lo expuesto, ha hecho, que en la mayoría de las naciones occidentales, la mortalidad por broncopatías crónicas, alcance, e incluso sobrepase, la mortalidad, no ya de la tuberculosis, sino de la tuberculosis unida a la de las cardiopatías isquémicas coronarias.

En Inglaterra (4,5) país particularmente afectado, debido a sus peculiares condiciones climatológicas, el 10% de la mortalidad total, corresponde a broncopatías crónicas. Por su parte, en los Estados Unidos de Norteamérica, la mortalidad por bronquitis crónicas ha sufrido un notable incremento: en 1950 representaba un ocho por mil habitantes; en 1959 esta tasa se había doblado; en 1964 estas afecciones, eran responsables -

de treinta mil muertes, es decir, el veintisiete por cien mil habitantes; pero si tenemos en cuenta, que estos procesos colaboran además a cincuenta mil muertes suplementarias, se alcanza una cota, que representa el treinta y cinco por cien mil habitantes.

Se alcanza una indicación prospectiva (6), que es realmente escalofriante; debido al aumento de industrialización, el aumento de circulación motorizada y como no, al aumento de consumo de tabaco; resulta que el número de muertes por bronconeumopatías crónicas, se ha de duplicar cada cinco años.

Dentro de los factores que condicionan esta mayor incidencia de bronconeumopatías crónicas, están los factores externos. El problema de la contaminación del medio y el peligro que representa para la salud, no es un asunto sólo de hoy; aparece ya en los egipcios, 1600 años antes de nuestra era y ello, a pesar de que las industrias que pudieran polucionar el aire eran escasas y por supuesto, la circulación rodada, no planteaba este problema. En el siglo XVIII, un edicto real inglés, prohibía el uso del carbón, para las instalaciones de calefacción; llegándose incluso, al ajusticiamiento de un industrial, que ignoró la orden. Por su parte Carlos VI de Francia en 1632 prohibía producir "humos olorosos y nauseabundos". En 1661 JHON EVELYN (7) publicó una obra sobre "la supresión de humos en Londres". Un trabajo análogo apareció en Francia en 1763.

A pesar de estas pretéritas llamadas de atención, nada se ha hecho, de forma consistente, para solucionar el problema, que sigue en el tapete. Los médicos, especialmente los higienistas, han concienciado la importancia, que de manera progresiva va adquiriendo la cuestión.

Desde 1952, en que el "smog" de Londres actualizó, una vez más, el problema, se insistió, más aún, en las condiciones externas, que favorecen el desarrollo de las broncopatías crónicas. Durante el referido "smog" -mezcla de los humos industriales, de calefacción y de combustión de los automóviles, con la niebla- hubo, solo en cuatro días, un exceso de cuatro mil muertes. Episodios, sin revestir tanta gravedad, se han presentado en gran cantidad de países; como en el Valle de Meuse (Bélgica), en Yokohama, en Donora, en Los Angeles y en otros lugares. El Ejército de los Estados Unidos, por su parte, ha realizado estudios, demostrando la mayor incidencia, de procesos asmáticos, entre militares y sus familiares, que habían sido trasladados a zonas fuertemente polucionadas, sin que anteriormente hubiesen sufrido nunca, episodios asmatiformes, durante su estancia en ambientes menos polucionados.

Sirva de ejemplo, que en la ciudad de París, se calcula, que en 1963 caían ciento cincuenta gramos de polvo, anualmente y por metro cuadrado; en la misma época, en Ivry s. Seine,

zona muy industrial, que pertenece al distrito del Gran París y en donde hay una gran central térmica, caían diecinueve kilogramos de ceniza por metro cuadrado y año. En París, con una superficie de ochenta y ocho kilómetros cuadrados, se expulsan todos los años a la atmósfera, 230.000 toneladas de anhídrido sulfuroso (SO_2). Las estadísticas han calculado, que de continuar las cosas al mismo ritmo, dentro de un siglo, la concentración de anhídrido sulfuroso será del orden del 25%.

Los estudios de los investigadores ingleses y estadounidenses, han demostrado que la morbilidad pulmonar, está en relación directa con la concentración de anhídrido sulfuroso en la atmósfera. Este anhídrido sufre la transformación en anhídrido sulfúrico (SO_3) y éste a su vez, dará lugar, al combinarse con vapor de agua, al ácido sulfúrico (SO_4H_2), este último al reaccionar con diversos elementos, existentes en la atmósfera, da lugar a sulfatos activos, altamente corrosivos.

En 1960 la polución atmosférica en Inglaterra y País de Gales, era responsable, de la pérdida de veintisiete millones de días de trabajo y asimismo de la muerte de treinta -- mil individuos, más que la tuberculosis y el cáncer juntos.

Sin insistir en estos, muy conocidos datos, no podemos dejar de hacer mención, de otro de los factores predisponentes a las enfermedades de carácter broncopático: las diferen

tes formas de consumo de tabaco. El grado de perjuicio que ocasiona el tabaco, cambia desde las áreas industriales a las áreas campesinas; pudiéndose afirmar que la polución ciudadana, actúa de forma relativamente débil, si se compara cuando se ve potenciada por el tabaco (8, 9, 10, 11, 12).

Otro factor de importancia, al considerar las broncopatías crónicas obstructivas son las infecciones respiratorias; COLLEY y REID (13) en 1970 comenzaron un estudio sobre el papel que podría desarrollar el problema infectivo en las bronconeumopatías crónicas; lo realizaron en niños menores de diez años, -- puesto que en Inglaterra es bastante frecuente el uso del tabaco a partir de esta edad; descartaron por tanto el factor tabaquismo de su estudio. Concretamente en niños entre seis y once años de edad; un estudio de diez mil niños en total, repartidos igualmente para cada año de edad y a su vez subdivididos en dos ciudades fuertemente polucionadas, en dos ciudades debilmente polucionadas y en dos distritos rurales. Se encontraron diferencias, no sólo en las áreas fuertemente polucionadas, lo cual ya lo hemos considerado, sino también entre las diferentes clases sociales, siendo las más altas, las que menor incidencia presentaban. Los estamentos sociales más bajos presentaban una mayor incidencia de enfermedades respiratorias; ello es debido a que las condiciones higiénicas son inferiores, el hacinamiento mayor y por supuesto hay que tener en cuenta la ubicación de la vivienda, que en las clases sociales económicamente inferiores es notablemente --

peor.

FLETCHER (14), haciendo un estudio de mil obreros y realizado, continuadamente, durante siete años, ha llegado a las siguientes conclusiones:

-Que la primera manifestación de la bronquitis crónica es la hipersecreción mucosa.

-Que ésta es debida principalmente al hábito de fumar cigarrillos, pero con la polución atmosférica, la exposición al polvo y la infección respiratoria actuando como factores adicionales.

-Que la hipersecreción mucosa altera el drenaje ciliar, alterando las defensas de los bronquios contra las infecciones.

-Que las infecciones recidivantes dan lugar a la obstrucción bronquiolar y al enfisema.

Ante los agentes agresivos, procedentes del exterior, tanto infecciosos como químicos, los bronquios poseen un sistema defensivo específico, al margen del sistema defensivo general del organismo. F.B. MITCHEL (15) distingue los mecanismos de defensa que ante los diferentes agentes agresivos, poseen los bronquios, son de índole morfológicos, histológicos, bioquímicos, celulares e inmunológicos.

La función esencial de los bronquios es la de conducir el aire desde el exterior hasta los alveolos; en un día pasan por los bronquios entre quince y veinte mil litros de aire (16); en este sentido los grandes bronquios, los medianos e incluso los pequeños, se comportan como conductores del aire, ya que prácticamente no ejercen influencia sobre el flujo aéreo, debido a que su armadura cartilajinosa, los hace relativamente rígidos y poco deformables, con lo que no son capaces de deformar el calibre de su luz, ni por ello el paso del fluido a su través. No sucede así con los bronquiolos, que por una parte no poseen cartílago y por otra poseen una muscular (músculos de REISSEISEN), por contracción de dicha muscular, pueden ejercer importantes modificaciones en el paso del aire, tanto en la intensidad como en la cantidad del flujo.

Vemos pues, que la función esencial bronquial es la conductora de aire, modificando, según las circunstancias el paso del mismo hasta los alveolos. Pero no es con mucho la única

función bronquial.

Ya hemos comentado la posibilidad de modificación que se puede ejercer sobre el flujo aéreo, esto está en relación con la función broncomotriz: fisiológicamente, durante la inspiración, los bronquios se elongan y se dilatan; durante la espiración se acortan y se estrechan. Esto puede constatarse, de manera evidente, incluso por broncoscopia. Así tenemos, que cuando se hace aspirar un aerosol broncoconstrictor (acetilcolina), el volumen espiratorio máximo por segundo, la ventilación máxima por minuto y la ventilación alveolar disminuyen de manera ostensible, tal como ocurre en las broncopatías obstructivas; todo ello fruto de la constricción sufrida a nivel bronquiolar, como respuesta a la acetilcolina. Vemos así, claramente demostrada la función broncomotora (17).

GOTSCHLICH (18) en 1903 demuestra que el aire que llega a los alveolos es prácticamente estéril, lo que parece estar en relación con otra importante función bronquial, la mucoscretora, que consiste, en esencia, en la elaboración de un moco de características peculiares, fruto de su composición; elaborado por un fenómeno secretor celular, seguido de su excreción en la cavidad bronquial. Dentro de las características del moco, la fluidez, es una magnitud física esencial, que cuando se altera es fruto de patología. La fluidez, por su parte condiciona la capacidad absorptiva y englobadora que el moco presenta. Estas ca--

racterísticas físicas del moco vienen condicionadas por su particular composición química, fruto no sólo de la cantidad de moléculas que el moco contiene, sino por la calidad de las mismas. - Diversas técnicas de fraccionamiento, permiten separar en el moco bronquial dos partes fundamentales; por una parte las proteínas y por otra las "mucinas".

Las proteínas del moco (19), resultan de un proceso activo de secreción de las células glandulares; y en manera alguna son fruto de un mero filtraje del material ofrecido por la sangre. Las más fundamentales de estas proteínas de secreción, que encontramos en el moco son:

-La transferrina bronquial, que parece jugar un papel, aún no bien decidido en los mecanismos de defensa de la mucosa bronquial.

-La IgA de secreción, clase particular de IgA, -- constituida por el ensamblaje de dos moléculas de IgA plasmática, reunidas entre ellas por una cadena sintetizada en la propia pared bronquial. Esta inmunoglobulina, con un peso superior a su homóloga plasmática, es transferida, de manera activa, a la luz bronquial, dependiendo de la potencialidad local de la síntesis de cadena de unión entre las dos moléculas plasmáticas que la -- constituyen. Estas cadeas de unión y transferencia, fabricadas en la mucosa, estabilizan a la molécula de IgA y le confieren -- una mayor resistencia a los agentes proteolíticos.

-Otro de los productos de síntesis bronquial lo constituye la kalicreina; esta molécula ejerce una acción de proteasa sobre una alfa-2-globulina plasmática, el kininógeno, liberando las kininas, que son responsables de la vasodilatación capilar local. Esta acción se traduce por la hidratación del moco. Cuando la tasa de kininas es alta o excesiva, pueden aparecer -- los síntomas de la inflamación: entre ellas la hipertrofia glandular e incluso el mismo broncoespasmo.

-Se pueden añadir a estas proteínas fundamentales, otras de producción e importancia variable, que estarán en función de la permeabilidad capilar (seroalbúmina, fibrinógeno, etc.), según la producción de enzimas de origen celular (lisozimas, glicosidasas y proteasas), liberadas por la destrucción de células móviles, como los macrófagos, o salidas de los lisosomas de las células caliciformes.

Las llamadas "mucinas" bronquiales (20) representan el 70% de los componentes interesados en la estructura del moco fibrilar. Son sustancias, con un peso molecular alto, cercano a los 500.000. Contienen del 80 al 85% de glúcidos combinados: N-acetilglucosamina, N-acetilgalactosamina, galactosa, fucosa y ácido N-acetilneuramínico; estos glúcidos se reparten en cadenas, cerca de doscientas moléculas por cadena de glicosaminoglicanos, de peso molecular medio comprendido entre 2.000 y 4.000. Estas cadenas están, a su vez, unidas a polipéptidos ricos en serina, treonina, prolina, glicocola, alanina, que se ven oculta--

das, casi por completo, por las mucinas antedichas. Esta composición explica, la resistencia de estas moléculas a las enzimas -- proteolíticas, ya que la zona de la molécula donde pudiera actuar el substrato, se ve inmersa e inaccesible rodeada por los radicales glicídicos. Podemos decir por tanto, que la actividad funcional y biológica, descansa, casi únicamente en la estructura de los glicanos, que constituyen la periferia de las moléculas, condicionando el poder de hidratación, su punto isoeléctrico y la capacidad de fijación de otras moléculas (iones, péptidos y proteínas). Los elementos secretantes, que son las glándulas mixtas y las células secretorias caliciformes, sintetizan estas mucinas, dándoles los elementos característicos de su estructura y función:

-Distinguimos así, unos glicanos ricos en fucosa, con un punto isoeléctrico, comprendido entre 3,5 y 5,5 con características relativamente hidrófobas. Estas fucomucinas, poseen actividad de las sustancias de los grupos sanguíneos.

-Las sialomucinas, de características más ácidas, con un punto isoeléctrico entre 2,5 y 3,5, son sensibles a la acción de la neuraminidasa.

-Las sulfomucinas, representan por último, a los glicanos más ácidos, con un punto isoeléctrico próximo a 2,0 e insensibles a la neuraminidasa.

La histoquímica, con sus técnicas, distingue en -- cierta medida, estas clases de mucinas utilizando colorantes, co

mo el Azul Alcian o el Azul de Toluidina, para sialo y sulfomucinas; la reacción de Hotchkiss-Mac Manus distingue las sialo y fucosinas. La incorporación de precursores marcados, revela, por otra parte, que la incorporación sulfatada es fruto del potencial secretor y de síntesis de las glándulas mixtas y células caliciformes.

La composición relativa de estos compuestos del moco, lleva a la estructura peculiar fibrilar, que es propia, no sólo de cada especie, sino incluso de cada individuo. Su producción depende: de mecanismos genéticos, de enzimas de transferencia de residuos de fucosa, de ácido N-acetilneuramínico, de grupo sulfato y, por fin, de la actividad metabólica de las diferentes líneas celulares de la glándula.

Las mucinas dan con el agua soluciones viscosas, esta viscosidad es variable, dependiendo de la composición. Sus asociaciones con las proteínas, previamente sintetizadas van a constituir las redes fibrilares.

La capacidad de hidratación, la fijación de iones, la protección de la mucosa subyacente contra los agentes agresivos (virus, Bacterias, kininas, histaminas, sulfatos, polvos de diferente composición, etc.), está ligada a esta verdadera barrera que representa la mucina sobre la mucosa epitelial (21). Se sabe, por ejemplo, que las sialomucinas, ejercen un papel inhibi

dor, sobre las kininas, mediante la formación con ellas, de complejos biológicamente inactivos, sobre los receptores. De esta manera, un déficit de las sialomucinas favorecerá la acción de las kininas y por ende el broncoespasmo; por el contrario, un ex^oceso de las mismas se traduce por una tendencia a la deshidratación del moco endobronquial.

En la estructura fibrilar, la riqueza proteica en puentes disulfuros, condiciona la formación y estructura de las redes (22). Recordemos también, que la regulación nerviosa de la secreción bronquial, se debe de una manera exclusiva, a la acción del parasimpático, a través del neumogástrico; pero seccionando todos los nervios bronquiales, las células caliciformes, siguen, a pesar de ello, secretando, como demostraron FLOREY y colaboradores (23).

Dentro de las funciones bronquiales, alcanza una magnitud considerable el papel inmunológico de defensa. Dos áreas distintas están involucradas en estos mecanismos de defensa inmunológicos, la que podríamos denominar barrera broncovascular y la que llamaríamos barrera alveolovascular. En las funciones, que estamos considerando, nos interesa, de manera particular, la barrera broncovascular, que de manera anatómica, estará constituida, por los vasos, el conectivo y el epitelio bronquial, incluyendo en este epitelio las células secretorias. El tejido conectivo consta de dos capas de distinta condensación. Una delica

da capa de substancia fundamental condensada, o verdadera membrana basal, que es sostenida por otra con elementos fibrosos colágenos. Esta membrana basal sufre alteraciones estructurales y metabólicas, de gran importancia, en diversas enfermedades pulmonares, de manera particular, en las broncopatías obstructivas. En los mecanismos de defensa también está comprometida la capa epitelial con sus células pseudoestratificadas y las células secretoras. Esta capa mucociliar descrita por ANTONIO DE HEIDE en 1684 (24), tiene como función inmunológica, la de remover las sustancias que llegan a la luz bronquial y son determinantes de anticuerpos; otra función de las células epiteliales es la de aumentar el transporte de este material antihigiénico hacia los lugares formadores de anticuerpos. Esto quizás se pueda explicar por la actividad de la inmunoglobulina IgA que se encuentra en el moco, que puede desarrollar un importante papel en la defensa contra los factores externos (25). Se ha demostrado ya la acción de anticuerpo específico de diversas IgA contra virus y bacterias. Parece que también será función de la IgA secretoria, el regular los microorganismos normales, que residen sobre la mucosa.

El tejido conjuntivo subepitelial y los vasos son considerados como los lugares, donde tienen su efecto las primeras reacciones inmunológicas: en el presente, no hay evidencia de que, en la capa mucociliar se den reacciones específicas inmunológicas. El área subepitelial, es de particular interés, porque en ella, se ha demostrado que se acumulan las inmunoglobulinas, en

las enfermedades respiratorias crónicas, muy especialmente en -- las bronquitis obstructivas. Recientemente (26) se ha demostrado que el área de la membrana basal, en estos enfermos, presenta -- acúmulos de proteínas, de manera especial IgA, IgG y fibrinóge-- nos. El que estos acúmulos se hayan encontrado en otras enferme-- dades de carácter no asmático, da idea de que es un mecanismo general de defensa inmunológica, siendo estas proteínas produc-- tos de procesos exudativos. Parece pues, que este área del teji-- do conjuntivo, es un buen lugar, con condiciones favorables, pa-- ra que se produzcan las reacciones inmunológicas iniciales.

Quando se produce la reacción antígeno-anticuerpo, se inician una serie de fenómenos cuyas características tisula-- res, pueden variar; ello es debido a la mediación de agentes quí-- micos, cuya actividad aparece como una consecuencia de la reac-- ción primaria antígeno-anticuerpo; la mediación química puede -- ser de dos formas:

-De tipo químico, que incluye sustancias como la histamina, serotonina, kininas, etc., de cuya actividad el ejem-- plo más claro, es la reacción anafiláctica (27).

-Otras reacciones, mediatizadas a través del com-- plejo mecanismo de las reacciones del complemento (28, 29, 30 y 31) que incluyen cambios tisulares debidos a una actividad líti-- ca enzimática representada por el fenómeno de ARTHUS.

Fruto de estas reacciones podemos encontrar, reacciones inmunopatológicas del tipo: funcional con hipersecreción, vasodilatación, edema y contracción muscular; también podemos encontrar infiltrados leucocitarios, incluso con necrosis fibrinoide y formación de granuloma; por último, también podemos encontrarnos hemorragias, trombosis, y fibrosis.

Naturalmente, las funciones inmunológicas pueden alterarse, dando lugar incluso, a la formación de anticuerpos, contra las propias proteínas (autoanticuerpos), que también serán fruto de patología. Diversos estudios experimentales, implican que los anticuerpos antipulmón y antibronquios, están incluidos en la clase de inmunoglobulina IgG. (32,33).

Otra, muy importante función que se ejerce en los bronquios, es la función ciliar. El epitelio ciliar, está formado por las células ciliares, que representan un tercio de las células del epitelio bronquial; tienen, cada célula, entre diez y veinte prolongaciones de seis micras de longitud por 0,3 micras de diámetro; el núcleo celular está en el polo opuesto de los cilios; las mitocondrias en la base de los cilios, en el punto de emergencia de los mismos (34).

Ya comentamos, como ANTONIO DE HEIDE describió en el siglo XVII, por primera vez, el cilio (24); se compone de una doble raíz intracelular y un extremo afilado, a su vez compuesto

de una doble serie de fibras envueltas por una gruesa membrana. El microscopio electrónico comprueba dos fibras centrales, rodeadas por nueve fibras principales y nueve secundarias periféricas (35). Cada fibra secundaria, tiene dos subfibras y una de estas dotada de unas prolongaciones en forma de brazos, orientados en el sentido de las agujas del reloj; esta estructura, presente a lo largo del cilio, desaparece en su base, desapareciendo también las fibras centrales y sólo se ven formando círculos, grupos de tres fibras o subfibras periféricas, unidas por un radio con el centro. (36, 37, 38).

Es interesante, que la estructura del cilio, se hace sobre el modelo de doce cadenas proteicas, que es la misma para todas las especies animales (39 y 40). Los cilios actúan gracias a un movimiento veloz de batido, que alcanza hasta 500 sacudidas por minuto, cada movimiento es un latigazo en dos fases, una rápida activa que moviliza el moco y otra más lenta, pasiva, de recuperación. Cada cilio se mueve con un ligero retraso con respecto al que le precede y simultáneo con los cilios colocados en su perpendicular de movimiento (movimiento metacronal). El por qué de este movimiento ciliar es mal conocido, lo único que se sabe desde GIBBONS (41) es que únicamente los "brazos" de las fibras son capaces de aprovechar el ATP, como las miofibrillas. Lo que parece seguro, es que su movimiento es independiente del sistema nervioso y aún de la integridad celular. El movimiento se comprueba incluso en células tan alteradas que

carecen de núcleo (42). Contrasta esta resistencia, con su sensibilidad a los cambios físico-químicos, del medio que los rodea.

La función, pues, de los cilios, es la de trasladar la película de moco, que se ha producido en el aparato de Golgi de las células mucosas; para esta función, el moco, se coloca en dos fases, la más externa, es más densa y la que contacta con los cilios de carácter seromucoso.

Se ha demostrado: 1º que el frío inhibe la actividad ciliar; GRAY comprueba como una velocidad de 0,4 mm./seg. a 15º se transforma en una velocidad diez veces menor, a 0º (43). 2º las cargas eléctricas del aire, influyen de manera considerable, KRUEGUER y SMITH ven aumentar los movimientos, cuando lo hacen las cargas negativas y disminuir cuando aumentan las cargas positivas (44). 3º la sequedad del ambiente inhibe la movilidad ciliar. 4º el pH tisular influye mucho, un pH alcalino acelera la movilidad mientras que un pH por debajo de 6 inmoviliza los cilios. 5º la isotomía es necesaria para una buena actividad ciliar (45).

Para terminar con las funciones bronquiales, es preciso recordar una función de defensa y emergencia: la tos. Sin entrar en enumerar ni discutir sus mecanismos, clásicamente conocidos y su semiología tradicional. Las relaciones del centro respiratorio, con el centro de la tos están sobradamente estudiadas y conocidas (46, 47, 48, 49 y 50). La tos, además, mantiene su --

flujo, de alrededor de doce litros por segundo, incluso en los --
broncópatas obstructivos, a pesar de que su espiración tiene un -
flujo muy acortado (51).

Podemos pues, resumir las funciones bronquiales, -
tal como las habíamos comenzado; la defensa bronquial, está garan-
tizada por una serie de mecanismos, entre los que se ha de desta-
car, los de carácter morfológico, histológicos, bioquímicos, celu-
lares, inmunológicos y los de la movilidad. La interrelación de -
estos factores, que son los que ejercen la función bronquial, ha-
ce posible, la integridad y defensa del árbol respiratorio (15).

Habíamos visto antes, que la incidencia de las - broncopatías crónicas, iba en aumento, creando un problema higiénico y social de primera magnitud; que incluso salía de los cauces de la medicina y de la medicina social, para entrar en el terreno de la socio-economía. Para llegar a auténticas encuestas epidemiológicas, que englobaran, si no la totalidad, al menos la mayor parte de los broncópatas, ha sido, de todo punto necesario, establecer rigurosamente, las definiciones precisas, -- que pudieran cuestionarse, bajo el punto de vista estadístico.

El Medical Research Council en 1955, estableció definiciones, que fueron posteriormente adoptadas en los simposium de 1959, 1960 y 1964 de la C.E.C.A. de la Organización Mundial de la Salud y de la American Thoracic Society; prácticamente fueron adoptadas por todos los países (52, 53, 54, 55 y 56).

De manera clásica se habían separado, tres clases de broncopatías crónicas obstructivas; la propiamente llamada -- bronquitis crónica obstructiva o asmáticoforme; el asma bronquial y el enfisema. Los comités especializados de la Organización Mundial de la Salud (1961) y de la American Thoracic Society (1962) han eliminado prácticamente de la definición de enfisema (57,58):

- El enfisema insuflado de las crisis de asma.
- El enfisema obstructivo de los grandes bronquios.
- El enfisema senil.
- La distensión compensadora.

-La distensión bronquiolar, de las neumoconiosis y de la fibrosis pulmonar intersticial.

Para el clínico, el término de enfisema, queda reservado para aquellos casos en que existe la evidencia clínica y radiológica; cuya estructura será:

-Primitiva o distrófica.

-Secundaria a una larga historia de bronquitis obstructiva. Hoy parece, que hechos clínicos atribuidos al enfisema, pueden ser determinados por la bronquitis crónica sin enfisema.

El asma bronquial, fue definida, desde el simposium Ciba de 1964 (56), como una afección disneizante, en la cual la disminución del calibre de los bronquios intrapulmonares o distales, cambia de intensidad en breve lapso de tiempo, espontáneamente o por efecto del tratamiento, sin estar en relación con enfermedad cardiovascular. La disnea del asma, es espontánea y repentina, afecta a la espiración, es intermitente, se acompaña de sibilancia expiratorias y distensión, reversible, del tórax; a menudo finaliza con una fase de hipersecreción bronquial.

Las dificultades comienzan, cuando en el asma bronquial se instaura la disnea continua y la hipersecreción permanente. Se torna entonces, al aspecto de una bronquitis crónica obstructiva, guardando, en ocasiones, su marca original por las crisis de exacerbaciones netas, sobre el fondo permanente.

La llamada bronquitis crónica obstructiva o bronquitis crónica disneizante, se define, como aquélla en la que -- ocurre una disminución, difusa y permanente, del calibre de las vías aéreas intrapulmonares; por lo menos en cuanto se refiere a la espiración, ocasionando una resistencia aumentada del flujo aéreo; que se acompaña generalmente de broncorrea. Puede variar la sintomatología, desde estar sujeta a simples fluctuaciones, o por el contrario estar sujeta a paroxismos asmáticos (59).

Realmente, como afirman ISRAEL-ASSELAIN y POCIDALO, están en el seno de las enfermedades emparentadas, cuyo diagnóstico es más conceptual que práctico (60).

Llegado pues, al estadio en el que el asma se bronquiza, en que la bronquitis crónica se asmaticiza y ambos cuadros, desembocan en el enfisema crónico; el diagnóstico nosológico se hace imposible: hemos llegado a los cuadros que calificamos de broncopatías crónicas enfisematosas.

Esta vía final común, en la que desembocan enfermedades, que de comienzo no fueron idénticas, hace pensar, que en su sentido más neto, esta forma de responder el organismo, será fruto o bien de una idiosincrasia especial del terreno en el que asienta la enfermedad; o de otra manera, que el organismo -- tiene una manera monótona de responder, ante procesos, que al menos en principio pudieron etiquetarse de diferentes.

Pero aparte de considerar en estas broncopatías una causa externa más o menos complicada, hay que recurrir también al estudio del factor terreno. Es de observación común cómo hay individuos, incluso familias, donde asientan con mayor facilidad este tipo de procesos. No había escapado, naturalmente, a los clínicos clásicos estas observaciones. Así SAUVAGES (62) al describir las anhelaciones, introduce las bronquitis asmáticas y asma bronquial entre las anhelaciones opresivas, esto en el siglo XVIII, pero este autor le supone ya un factor constitucional. Otros autores modernos, como ORIE (63) no niegan, claro es, que los factores externos no tengan importancia, pero estiman que el factor terreno es el factor primordial en la génesis productora de esta patología; pero sobre todo, además de en la génesis, en el condicionamiento y en la conservación de estos estados.

Hay procesos bronquiopulmonares, en los que la existencia de un condicionante genético para los mismos es incontrovertible, por ejemplo en la mucoviscidosis, en la que hay un déficit de la betaglucoronidasa y en los esputos ausencia total de mucinas neutras y abundancia de mucinas ácidas, por aumento de la sialoglicoproteínas. (64, 65 y 66).

En 1963 ERIKSON (67) describe la carencia de una proteína en suero de ciertos enfermos: la alfa-1-antitripsina. Este sistema de proteína, genéticamente determinada, es la res-

ponsable del 90% de la acción antitripsica del suero; y se les llamó sistemas Pi (inhibidor de proteasa). Está condicionada por un par de genes autosómicos (68) teniendo niveles normales los homocigóticos que la poseen, niveles ligeramente bajos los heterocigóticos y niveles francamente bajos los homocigóticos con gen deficitario.

Esta proteína aumenta en la inflamación, en las lesiones musculares, etc. Puede inhibir numerosos enzimas proteolíticos: tripsina, quimotripsina, plasmina, trombina, la elastasa y también ciertas proteasas que provienen de leucocitos y macrófagos. Representa esta proteína entre el 2 y el 3% de todas las proteínas séricas; es una glicoproteína, con un peso aproximado de 50.000 y desde la décima semana de vida fetal se tiene una concentración aproximada a la del adulto (67).

Los fenotipos de los sistemas Pi que conducen a una disminución, coinciden con una mayor incidencia de ciertas enfermedades: cirrosis, panarteritis nodosa, glomerulonefritis, úlceras de estómago, cromosomas sexuales en mosaico, aparte de la incidencia, altamente significativa, de broncopatías obstructivas crónicas.(70, 71, 72 y 73).

Estos cuadros parecen que puedan estar en relación con la acción de los enzimas proteolíticos no contrarrestados por la acción de la alfa-1-antitripsina; las enzimas pro

teolíticas provendrían por una parte de los leucocitos y macrófagos y por otra parte de los gérmenes infectantes.

No quiere ello decir que la carencia de alfa-1--antitripsina conduzca de manera infalible a una broncopatía obstructiva o a cualquier otra de las enfermedades remarcadas. Un individuo con su disminución genéticamente determinada, puede alcanzar una edad prolongada sin que en ningún momento se produzca patología atribuible a esta carencia específica. Pero -- sea esto como sea, lo cierto es que analizando genéticamente -- los broncópatas, se encuentra en ellos una disminución de esta proteína en el 25% de los casos (74, 75 y 76).

Es bastante subjetivo el considerar, que los esteroides, que tanto se han prodigado, en este tipo de enfermedad, por procurar un alivio sintomático, ejerzan la acción de elevar el nivel sérico de alfa-1-antitripsina, disminuyendo -- por otra parte, el número de leucocitos y macrófagos en la pared bronquial (77).

Desde luego, hay que considerar que el factor terreno, influye desde otros muchos puntos de vista, que pueden ser congénitos o adquiridos. Una deformidad de tórax, que genere una situación de hipoventilación, está abriendo un terreno abonado, para este tipo de patología. Hemos considerado ya, la composición del moco bronquial, que tan rico papel jue-

ga en la defensa del árbol respiratorio; la composición de este moco bronquial, está genéticamente determinada, como ya considerábamos, pues sobre todo la parte proteica, depende en su síntesis, de mensajes genéticos. Pues bien, en la realización de este moco, influirán las sustancias, que vehiculadas en el suero se ofrezcan a las células para la síntesis; una desnutrición, una hipoproteinemia, harán que la calidad del moco sea inferior, o por otra parte, un aumento o anomalía de los radicales glicídicos ofrecidos, como ocurre en la diabetes sacarina, hará que la composición del moco pueda variar (78), favoreciendo diversos tipos de patología broncopulmonar. Bien conocida es la influencia de las hipovitaminosis, sobre todo A y C en la composición de los epitelios (79, 80).

En la génesis de los trastornos obstructivos agudos y crónicos, es también perfectamente conocido el factor alérgico, algo realmente intrínseco con el terreno. Aunque el mecanismo de alergia, permanece aún oscuro, lo cierto es que el terreno alérgico, es asiento, en muchas ocasiones de broncopatías obstructivas (81, 82, 83 y 84); pero además, con facilidad, las broncopatías obstructivas, que primitivamente no fueron alérgicas, con facilidad acaban siendo asiento de fenómenos alérgicos acompañantes y desencadenantes de crisis. Tanto es así, que TRINQUET (85), llega a afirmar, que es muy probable que la alergia, cree las condiciones, para que posteriormente se desarrolle una enfermedad autoinmune, que origine una autodestruc-

ción pulmonar (enfisema); es decir, que un alérgeno, en principio exógeno, acabaría transformándose en endógeno.

Otro tipo de factor que no debemos olvidar, al considerar el terreno, está constituido por las influencias psicológicas. Ya desde la primitiva descripción del "mal de la rosa" (86), se hizo notar, como el terreno neuropático, era con frecuencia la norma, en las broncopatías obstructivas.

No podríamos afirmar, de cualquier forma, quién preside estos trastornos; es decir, si primitivamente hay un factor neuropático en este tipo de enfermos, o por el contrario, este tipo de enfermedades, condiciona con facilidad un desequilibrio antropológico, que es génesis de neurosis.

Se puede afirmar, sin pretender agotar el tema - que la broncopatía crónica obstructiva, reúne un conjunto de enfermedades, que incide, más frecuentemente, en terreno abonado; sobre todo, cuando las circunstancias ambientales o hábitos personales, favorecen la presentación de patología.

CAPITULO II

El organismo se esfuerza por mantener el equilibrio entre los líquidos corporales y las células -es la homeostasis, la constante del medio interno de C. BERNARD-. Para ello, el organismo, pone en juego un sinnúmero de mecanismos, todavía no bien conocidos. Cuando aparece la enfermedad, el equilibrio se rompe. Por ello, el estudio de los líquidos extracelulares, tanto el que cubre los grandes espacios intercelulares, como aquellos fluidos intravasculares, reviste un particular interés; no sólo desde el punto de vista de los ténues cambios que han de producirse en función de la conservación de este llamado medio interno, sino también porque traduce, con precocidad y en ocasiones con especificidad, los procesos patológicos que se están desarrollando en el interior del organismo.

Dentro de la sangre, la porción líquida, el plasma, vehicula una enorme cantidad de sustancias, que, o van a ser la base de procesos metabólicos, o en otro caso, van a ser los condicionantes de procesos metabólicos. Pero en el plasma, no encontramos un cajón de sastre, donde las sustancias se encuentran englobadas de una manera casual; el plasma, como el organismo todo, responde a la ley general de la homeostasis; su composición, se mantiene relativamente constante, de hecho, entre límites bastantes estrechos, ya que las sustancias vehiculadas, no son arrastradas, desorganizadamente, por un flujo continuo de plasma. La mayoría de las moléculas han de ir coaptadas a macromoléculas portadoras, que algunas veces las protegerán en su paso hemático; en otras ocasiones, les imprimirán una

huella, fundamental, desde el punto de vista metabólico.

El conocimiento, hoy, más exacto, de la composición proteica del plasma merced a la aplicación de técnicas precisas, ha hecho posible el estudio, no sólo de las variaciones cuantitativas, que se registran en el caudal proteico sérico, sino también, las variaciones cualitativas de las proteínas, de manera tal, que se han podido separar las alteraciones de las fracciones proteicas, más o menos homogéneas; el fraccionamiento electroforético, que ha llegado a límites muy amplios, ha hecho asequible para la clínica, un más íntimo conocimiento del espectro proteico plasmático y de sus alteraciones patológicas (87). Pero técnicas aún más desarrolladas, de mayor meticulosidad, como la ultracentrifugación, las técnicas inmunológicas y el marcado con materiales radioactivos, asociados o no a las referidas técnicas inmunológicas, ha permitido el reconocimiento y cuantificación de proteínas aisladas e incluso la identificación de subgrupos, dentro de una misma proteína; todo ello hace posible, la medición de variaciones, incluso de proteínas individualizadas, en diversos estados patológicos, o en diferentes condiciones experimentales.

Desde el punto de vista de su composición, las proteínas son compuestos carbonados, cuyas moléculas elementales son los aminoácidos, porcentualmente, los elementos que encontramos en las proteínas séricas son los siguientes, medidos en peso

(88, 89 y 90):

Carbono	50-55 %
Hidrógeno	6,5-7,3 %
Nitrógeno	15-17,6%
Oxígeno	19-24 %
Azufre	0,3-2,4 %

Estos átomos, asociados, forman los aminoácidos; los más importantes aminoácidos que participan en la composición de las proteínas plasmáticas y corporales, podemos dividirlos - en aromáticos y alifáticos (91):ellos son:

ALIFATICOS:

-Monoamino carbónicos: glicina, alanina, serina, fisteina, treonina, isoleucina, metionina, valina, leucina.

-Monoamino dicarboxílicos: ácidos asparagínico y glutámico.

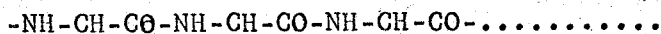
AROMATICOS:

-Isocíclicos: fenilalanina, tirosina.

-Heterocíclicos: histidina, triptófano, prolina, oxiprolina.

Desde el punto de vista esteroquímico, son todos alfa-aminoácidos levógiros.

Químicamente, puede haber unión entre los radicales amino y los radicales carboxilo, su ionización, es de signo inverso; esto hace posible la unión de unos aminoácidos con otros. Las uniones entre aminoácidos, dan lugar a los péptidos; de tal manera, que de la unión de dos aminoácidos, obtenemos un dipéptido; de la unión de tres, un tripéptido; de cuatro, un tetrapéptido, etc. Pero las proteínas séricas y sus polipéptidos constituyentes, no están formados por unidades de aminoácidos idénticos; la unión se hace, entre todos los aminoácidos citados. Esto hace que podamos llegar a una cantidad, realmente inmensa, de posibles combinaciones. Si sólo consideráramos cuatro aminoácidos, las posibilidades serían de hasta 24 polipéptidos; pero si disponemos, como el organismo dispone, de 20 aminoácidos, las combinaciones pueden llegar a $2,4 \times 10^{18}$ posibles polipéptidos isómeros. Si consideramos, como ya decíamos, que los enlaces se hacían entre los grupos amino y carboxilo, tendremos, que la cadena fundamental de un polipéptido, estará formada por un esqueleto, que en síntesis será como sigue:



las porciones diferentes, están ligadas, como cadenas laterales al eslabón -CH- de la cadena principal y presenta una significación determinada para la estructura y las propiedades -- que van a manifestar las diferentes proteínas (92).

En las proteínas, podemos distinguir, en orden a complicación estructural, tres tipos de estructuras: la primaria, la secundaria y finalmente la terciaria.

La estructura primaria comprende:

- a) El número de cadenas de polipéptidos.
- b) El número y secuencia de aminoácidos.
- c) El tipo y situación de las ramificaciones, -- así como la existencia de posibles anillos.

Siguiendo las técnicas de hidrólisis fraccionada (93), podemos conocer la secuencia de aminoácidos que constituyen las cadenas de polipéptidos integrantes de las proteínas, -- así como su especificidad, que varía con respecto a la especie. Siempre encontramos un aminoácido terminal con grupo amino libre y otro aminoácido terminal con grupo carboxilo libre.

Por medio de uniones covalentes, fuera de los enlaces peptídicos, pueden formarse, los llamados enlaces transversales, los más frecuentes de los cuales, son los puentes disulfuro, entre dos radicales cisteínicos, las porciones variables de los aminoácidos, se colocan como cadenas laterales de la cadena principal, condicionando, las características peculiares de cada individualidad proteica.

Los portadores de carga eléctrica de una molécula proteica, son, junto a los aminoácidos terminales, los grupos amino y carboxilo de las cadenas laterales; se tratará de --

los grupos amino de los ácidos diaminomonocarboxílicos y los -- grupos carboxilo de los ácidos monoaminodicarboxílicos, que no forman unión peptídica. La carga eléctrica, así condicionada, - influye de modo determinante, en el punto isoeléctrico y la solubilidad de la proteína. Los grupos amino y carboxilo libres, son los portadores de las propiedades anfóteras de las protei-- nas y con ello, de su capacidad como "puffer" (94).

Las cadenas laterales de las proteínas, son las que les confieren, su carácter hidrófilo, liófilo o hidrófobo, el cual determina, a su vez, la solubilidad de la proteína en - el medio acuoso del plasma.

Para el conocimiento de la estructura secunda-- ria de las proteínas, fue fundamental el descubrimiento de PAU LING (95) de los puentes de hidrógeno, merced a los cuales, un átomo de hidrógeno, puede actuar de puente, uniendo dos átomos de carbono; para ello el hidrógeno, ha de estar en forma ióni-- ca, ya que de manera covalente, el hidrógeno sólo puede acep-- tar un enlace. Los puentes de hidrógeno, entre los radicales - NH y los radicales CO de los aminoácidos, son de importancia - esencial, para la constitución de la estructura secundaria de las proteínas. Los puentes de hidrógeno, son enlaces moderada-- mente fuertes, con un contenido energético de 5 Kcal. por mol,

mientras que las uniones covalentes, poseen una cantidad de -- energía de 40 a 100 Kcal. por mol. La relativamente baja energía de activación de los puentes de hidrógeno, es de una importancia de primera magnitud, para las reacciones bioquímicas a temperatura fisiológica.

La representación espacial de la estructura de las proteínas y en particular de las cadenas de polipéptidos, debe considerar, que los átomos participantes en un puente de hidrógeno, están ordenados linealmente, ya que el contenido -- energético del enlace, sufre importantes regresiones, cuando - se desvía de la posición lineal, haciendo inestable el enlace.

Por otra parte, la considerable densidad de los cristales de proteínas, hace presuponer una disposición estructural en el mínimo espacio posible, con los átomos agrupados - en el sentido de mayor densificación. También el grupo amino - adopta una disposición plana dentro de las cadenas de los polipéptidos.

Partiendo de lo anteriormente dicho, PAULING y CORAY (95) calcularon varias estructuras helicoidales, con disposición espiral de la cadena de polipéptidos, cuyas espirales se mantienen unidas gracias a los puentes de hidrógeno; esta es la estructura llamada alfa-helis, que contiene 3,7 amino-- ácidos por giro. En esta estructura, cada aminoácido, está li-

gado al que ocupa el tercer lugar más próximo, por puentes de hidrógeno. La estructura alfa-helix puede demostrarse por estudio radiográfico, en las proteínas fibrilares y en los polipéptidos sintéticos. En las proteínas globulares, se ha demostrado también, esta estructura, en la hemoglobina y en la mioglobina. No es absolutamente definitivo, si esta estructura helicoidal se da solo en el estado cristalino, o si también se mantiene en una disolución acuosa como el plasma, o si bien como parece probable, se pierden algunos puentes hidrógenos al solubilizarse la proteína.

La necesidad de la estructura terciaria de la proteína, viene demostrada, por el tamaño de las moléculas de albúmina o globulina, tienen un diámetro entre 30 y 50 A. (97), por ello, tienen también por su parte, que estar replegadas. Es pues, una formación apretada y densa, que llena casi por completo el espacio que delimita; aproximadamente el 10% de este espacio, es lo que queda, solamente, sin rellenar. La distribución de este espacio vacío, es de tal suerte, que no pueden penetrar en él, ni aun las moléculas de agua. Por tanto, se puede deducir, lo que por otra parte ya es un hecho perfectamente demostrado, que la estructura secundaria alfa-helix, que anteriormente hemos comentado, también se pliega sobre si misma, haciendo que la molécula de proteína ocupe un espacio mínimo.

Por ultracentrifugación, se ha demostrado, que -

la síntesis de las proteínas, tiene lugar en los ribosomas (98) y que conforme se va produciendo la síntesis ribosómica, se van vertiendo en el retículo endoplásmico o ergastoplasma.

La síntesis de las proteínas, tiene lugar siempre en el interior de las células, pero in vitro puede conseguirse también esta síntesis de las proteínas, pero disponiendo siempre de los siguientes elementos:

- Acido adenosín trifosfórico.
- Sistema regenerador del ácido adenosín trifosfórico.
- Guanosín trifosfato o difosfato.
- Microsomas.
- Extracto celular soluble.

Con ellos la biosíntesis de las proteínas se completa en los siguientes cuatro fases:

- Activación de los aminoácidos.
- Adición de los aminoácidos activados a partículas de RNA.
- Transferencia de los aminoácidos desde las partículas de RNA a los ribosomas.
- Desprendimiento de la cadena de péptidos de los ribosomas.

La biosíntesis de las proteínas conduce a estruc

turas específicas determinadas hereditariamente; parece que esta función genéticamente determinada va inducida por el DNA, lo que parece demostrarse considerando los hechos siguientes (99):

a) En todas las células del organismo se encuentra la misma cantidad de DNA.

b) El DNA es una sustancia estable.

c) Los agentes mutágenos reaccionan con el DNA.

d) En las bacterias pueden introducirse variaciones genéticas, que posteriormente se heredarán con la introducción de DNA. En los organismos superiores también se han conseguido cambios hereditarios, pero aún no se han conseguido con la pura adición de DNA.

e) Los virus bacteriófagos, que sólo introducen en el interior de las bacterias partículas de DNA, hacen reproducir, por completo, su estructura proteica.

Dentro de las proteínas séricas las albúminas -- son sintetizadas exclusivamente en el interior del protoplasma de las células del parénquima hepático. Las gammaglobulinas ven unida su síntesis a los linfocitos y células plasmáticas así como a los llamados timocitos. Gran parte de las proteínas alfa y betas también realizan su síntesis en el hígado, aunque alguna de manera específica, puede estar sintetizada en algún tejido.

Los procedimientos de separación y aislamiento y cuantificación de las proteínas se han desarrollado, desde los

primitivos procedimientos de separación salina, por medio de precipitaciones fraccionadas, (100) hasta los modernos procedimientos radioinmunológicos, pasando por los de ultracentrifugación y por el fraccionamiento electroforético (101, 102, 103, y 104). El uso de la electroforesis, ha consagrado la división de las proteínas plasmáticas para el uso clínico, incluso en terminología de investigación, todo ello bajo flujo eléctrico bajo y tampón alcalino, obteniéndose las ya clásicas fracciones: albúmina, alfa-1, alfa-2, beta y gammaglobulinas. Se han usado infinidad de soportes para la electroforesis: papel, agar, gelatina, acetato de celulosa, poliacetato de celulosa, almidón, poliatrilamida.

Dejando aparte al fibrinógeno, que es la proteína plasmática que juega más importante papel en la coagulación y que se separa con los elementos formes, en el coagulo, desprendiéndose en el suero, encontramos entre las proteínas séricas muchas y variadas proteínas, de las que destacaremos las de mayor importancia, siguiendo en prelación un criterio puramente electroforético.

-La prealbúmina, representa la banda electroforética que desplaza por delante cuando se trabaja a un pH de 8,6; se designa también con el nombre de fracción X, fracción V o componente S; se encuentran sueros normales y patológicos. Su contenido parece corresponder a una lipoproteína y una glicoproteína; su cantidad es bastante escasa y su componente principal es una proteína rica en triptofano portadora de la tiroxina.

-La seroalbúmina, que alcanza una cuantificación superior al 50% de todas las proteínas séricas, es la segunda -- fracción electroforética, donde está casi exclusivamente englobada. Tiene un relativo bajo peso molecular, próximo a los 69.000, está muy poco contaminada por hidratos de carbono y diversas observaciones, hablan a favor de que no sea una proteína absolutamente unitaria, sino que exista en ella una microheterogeneidad. Al margen de su papel, capital, en el mantenimiento de la presión oncótica, ejerce fundamentales funciones de transporte (105).

La fracción electroforética alfa-1, engloba, de manera fundamental a la alfa-1-glicoproteína ácida, también llamada orosomucoide de WINZLER (106) y seromucoide-ácido-alfa-1. Va también vehiculada en esta fracción la 4.6 S-postalbúmina; la alfa-1-glicoproteína pobre en triptófano; la alfa-1-X-glicoproteína. También se engloba en esta fracción la alfa-1-antitripsina, llamada alfa-1-glicoproteína, alfa-1-seromucoide de SCHULTZE; tiene esta proteína, fundamentalmente una acción antitripsina, esta proteína es responsable del 95% de la acción antitripsina del plasma. No es la alfa-1-antitripsina una proteína homogénea, lo que se demostró por electroforesis ácida, en gel de almidón, describiéndose entonces también los sistemas Pi (proteasa-inhibidor) (68).

En la fracción alfa-2, encontramos una serie de proteínas, de las que podemos destacar a la ceruloplasmina, tam-

bién llamada métalo-seromucoide-alfa, proteína con actividad de oxidasa y portadora de cobre, contiene el 8% de hidratos de carbono y se ha comprobado su heterogeneidad. Marcha también en esta fracción la alfa-2-macroglobulina, proteína descubierta por MUTZENBECHER (108), que constituye del 3 al 4% de las proteínas séricas, parece ser homogénea. Encontramos también una serie de proteínas, como son la alfa-2-glicoproteína, la alfa-2-lipoproteína, la alfa-2-neuraminoglicoproteína, la Zn-alfa-2-glicoproteína, la colinesterasa y también a la alfa-2-haptoglobina, también llamada seromucoide-alfa-2-proteína que tiene su heterogeneidad determinada genéticamente y que se une a la parte globínica de la hemoglobina.

La fracción beta de la electroforesis engloba al plasminógeno o profibrinolisisina. La hemopexina o betaglobulina -- portadora del Hem. La transferrina o sidrofilina, que porta selectivamente, el hierro trivalente; existen, por lo menos, ocho tipos diferentes de transferrinas, que no varían en su tamaño, sino en su carga eléctrica. También en esta fracción, viaja, el sistema properdina-complemento.

En la fracción gamma marcha la beta-2-glicoproteína además de las inmunoglobulinas: la IgG que se encuentra en mayor cuantía, la IgA; la IgM, que es la de mayor peso molecular; y la IgB e IgE que se encuentran en muy pequeñas cantidades.

Entre las funciones capitales, que ejercen las --
proteínas del suero, tenemos la del mantenimiento del espacio --
plasmático, que está separado del espacio intersticial, por la -
pared capilar. El agua y los electrolitos, pueden, sin problema
ninguno, atravesar la pared capilar; en consecuencia, la concen-
tración de agua y electrolitos debería ser igual, a ambos lados -
de la membrana capilar. Esto no ocurre exactamente así, debido al
equilibrio DONNAN. La cantidad de proteínas intra y extravascular
es muy dispar; como bien se conoce, la cantidad de proteínas séri-
cas, es de alrededor de 7 gramos por 100 c.c. de suero; mientras
que en el intersticio la cifra no llega más que a 1 gramos por --
100 c.c. Así considerado el líquido intersticial, se puede consi-
derar, como un ultrafiltrado plasmático. La presión osmótica del
plasma, viene dada por la siguiente ecuación:

$$P = P_o + P_k + Q - P_d$$

en la que P_o es la presión osmótica de los cristaloides disuel-
tos, P_k es la presión osmótica de las partículas coloides, Q la
presión de impregnación y P_d la presión opuesta del equilibrio --
DONNAN. Al ser la presión osmótica debida a los cristaloides, prác-
ticamente se reparte por igual en el compartimento intra y extra
plasmático, la importancia la toma de inmediato, las substancias
coloides, de las que las proteínas, son las genuinamente represen-
tadas en el plasma. Como el fibrinógeno existe en muy pequeña can-
tidad, prácticamente no influye sobre la presión oncótica, por lo
que se puede decir, que la presión oncótica del plasma es similar

a la presión oncótica del suero y alcanza, en condiciones fisiológicas los 30 a 40 centímetros de agua (109).

El juego de la presión capilar y la coloidosmótica, hace posible, el intercambio de líquidos a nivel capilar.- Al comienzo de la rama arterial capilar la presión capilar es, aproximadamente de 43 centímetros de agua y al final de la rama venosa tan solo de 16. La presión oncótica media es de 35 centímetros, ello hace, que al principio de la zona capilar -- salga líquido hasta que se igualan las presiones; posteriormente, hay una reabsorción o reentrada de líquido.

Otro papel, de primordial importancia, corresponde a las proteínas en su función de transporte, aportándose -- uniones con diferentes sustancias, según las cuales, estos enlaces serán más o menos fuertes, soltándose convenientemente -- en los lugares precisos. Los grupos alcalinos tienen la propiedad de ligar ácidos y los grupos ácidos ligarán sustancias alcalinas; los hidróxilos alcohólicos son los idóneos para ligar ésteres y los hidróxilos fenólicos, lo son para formar puente de hidrógeno. Los grupos imidazol, constituyen complejos metálicos y los grupos sulfihidrilos ligan a los metales pesados -- (110).

Pero en el plasma viajan sustancias derivadas -- del metabolismo intermediario y sustancias, que como los medicamentos, también van a parar al plasma, entonces interesa, --

no sólo el mecanismo de unión, sino también el mecanismo de -- desunión de las sustancias fijadas a las proteínas. Esto puede realizarse, bien por sustancias metabólicas, que desplacen las moléculas transportadas o bien porque se suelte el enlace de unión debido a que esta sustancia actuante varíe alguna condición como el pH. También sería posible, que en la periferia tisular, existieran sustancias proteicas con mayor apetencia que las proteínas del suero. De igual forma, pueden las sustancias ejercer un efecto de proteínasa, desdoblado la proteína, con lo que se consigue el efecto de liberación.

Otro efecto de la unión con las proteínas es el de solubilizar moléculas, dada la anfotericidad proteica, moléculas, que de otra manera, no podrían ser vehiculadas en el -- plasma, en concreto los lípidos. Las proteínas plasmáticas, especialmente la albúmina, tienen como característica, la de ligar los cationes en forma no difusible, sirva de ejemplo el -- calcio (111).

El mantenimiento del pH, se conserva por la capacidad "puffer" de las sales de los ácidos débiles, de los -- cuales existen cuatro sistemas: el ácido carbónico-bicarbonato; el sistema hemoglobina reducida-hemoglobina oxidada; el sistema fosfato primario-fosfato secundario; y por último, las proteínas séricas, que representan el 8% de la capacidad "puffer" del plasma.

Otra función de las proteínas, es la de protección de los eritrocitos, frente a los diversos agentes hemolíticos, de manera muy especial la albúmina, se manifiesta como imprescindible en esta función.

Las proteínas y en especial el fibrinógeno, mantienen la viscosidad del plasma, lo cual garantiza, la suspensión homogénea de los elementos formes vehiculados en el torrente circulatorio.

La albúmina, es directamente responsable del 75% de la presión coloidosmótica del suero; es también la proteína que manifiesta una superior función de transporte.

Parece ser que las alfa-1-globulinas influyen, no sólo en la acción, anteriormente comentada, antitripsina; sino que juegan un papel, no totalmente desentrañado en la función y estructura de las fibras de colágeno.

Dentro de las proteínas, aquéllas que emigran -- electroforéticamente en la fracción gamma, se han identificado con los anticuerpos. Estas proteínas, se diferencian de las restantes del plasma, por su alta especificidad de función; de aquí se deducen diversos problemas, con respecto a estructura y síntesis, que en parte, difieren de los puntos de vista ya expuestos: la especificidad de las reacciones antígeno-anticuerpo, se

atribuyen a una íntima unión entre las dos moléculas, unión que será, desde el punto de vista, de la configuración espacial y desde el punto de vista químico. Las estructuras espaciales complementarias, tendrían que estar adaptadas para aproximarse a - menos de 1 A., ligándose así por medio de las fuerzas WAAL y los puentes de hidrógeno, la porción de superficie unida entre antígeno y anticuerpo alcanzaría hasta los 700 A.², es decir, entre el 1 y el 3% de la superficie del anticuerpo. La magnitud de un antígeno proteico, en su zona antigénica, alcanza 10 aminoácidos y en los casos de polisacáridos 5 a 6 unidades de glucosa. Fuera del grupo activo, el resto de la molécula no tiene especificidad, comportándose como mero portador de los antígenos (113).

La estructura primaria de los anticuerpos, no está del todo determinada, pero se conoce gran parte de su cadena y sobre todo los lugares activos. Lo que parece seguro, es que la actividad de anticuerpo, está determinada por una configuración espacial dada de las cadenas de polipéptidos, con isomería configurativa complementaria con el antígeno, esto hace, que en su estructura tome importancia, no sólo la estructura proteica primaria, sino también la secundaria y terciaria que son las que dan configuración espacial a la molécula (114).

La cantidad de anticuerpo formado y la estructura de su grupo de acción, está regida, por los antígenos, los

cuales deben llegar a las estructuras celulares, encargadas de la síntesis, sin sufrir reacciones de degradación y eliminación del metabolismo intermediario. Esta condición, se cumple sobre todo en los antígenos de elevado peso molecular, pues son más resistentes; o en los ligados a sustancias portadoras. Las estructuras determinantes séricas están ancladas, exclusivamente, en la fracción proteica, los grupos prostéticos, hidrocarbonados polipoideos, no contienen determinantes antigénico.

La formación de anticuerpo, cursa en dos fases: - la primera, más sensible a la acción de las radiaciones y de los esteroides más prolongada, esta fase no es reproducible in vitro; la segunda fase, es una fase secretoria de anticuerpo y es capaz de proseguir en un cultivo experimental.

La formación de anticuerpo, parece responder a la teoría de matrices para formación de anticuerpo de HAUROWITZ (115), el cual sostiene, que el antígeno, como un cuño, conforma el grupo de acción específica del anticuerpo. Contra esta teoría se opuso, que ella exigía, la presencia continua de antígeno durante el proceso de formación de anticuerpo y que no explicaba el más rápido y poderoso efecto de una inyección de antígeno. - Como objeción más fuerte, puede aducirse, que no deja explicación, para el fenómeno de la tolerancia inmunológica.

La "Clonal Selection Theory" de BURNET (116), intenta explicar el fenómeno de la inmunotolerancia a los propios

antígenos. Según esta teoría, existiría una cepa inicial de células idénticas, las cuales, por mutación en el período embrionario, darían lugar a clonias nuevos de células, capaces de reaccionar contra determinadas estructuras.

De este modo, acabarían habiendo tantas estirpes celulares, como radicales antigénicos que fueran capaces de formar anticuerpos; en la vida postnatal, el antígeno, no tendría más misión, que la de seleccionar el clon celular capaz de formar anticuerpo. Durante la vida fetal, no habría posibilidad de formar anticuerpos capaces de salir al exterior de las células, con lo que si se llega a producir una reacción antígeno-anticuerpo, se daría siempre en el interior de las células, con la correspondiente lisis de la misma; quedaría explicada de esta manera la tolerancia inmunológica a las propias proteínas, ya que las células capaces de formar anticuerpo contra las proteínas del propio organismo, estarían destruidas, desde la vida fetal. Es decir, lo que comenzaría después del nacimiento sería la secreción de anticuerpo, ya que desde antes del nacimiento, la formación estaría hecha.

Hemos hecho una revisión, por lo demás sumaria, de lo que son y representan las proteínas séricas; pero no nos hemos referido a la parte no proteica que toda molécula de esta estirpe lleva en su composición, dejando para estudiar aparte, el llamado grupo prostético o grupo no proteico de todas las --

proteínas. Hay que tener siempre presente, que si bien la división de los principios inmediatos en grasas, hidratos de carbono y proteínas, está basada en la bioquímica real, no siempre esta división se encuentra estanco en la biología. La interrelación molecular, es la regla común; si bien es verdad, que alcanzamos, compuestos puramente grasos o hidrocarbonados o incluso proteínicos, no es fruto de una "destilación biológica", sino más bien de un aprovechamiento de propiedades convenientes. Los grupos prostéticos esenciales, son las grasas y las sustancias glicídicas, que imprimen carácter a las proteínas, que en ocasiones, ven su importancia somertida a la mayor trascendencia del grupo prostético.

Las lipoproteínas, tienen como grupo prostético a los triglicéridos, fosfolípidos, esteroles y esteroides, insolubles en medio acuoso, pero que son perfectamente solubles, cuando están unidos a las proteínas. Constituyen, aproximadamente, el 10% de las proteínas séricas.

Los glicidos, constituyen el grupo prostético de las llamadas glicoproteínas, que tienen particular interés para los estudios que hemos realizado.

La denominación de glicoproteínas, es una denominación genérica que engloba a diferentes proteínas que no son siempre superponibles.

Los complejos proteina-hidrato de carbono se --
vienen clasificando, desde los trabajos de JEANLOZ y GOTTSCHALD
(117, 118) en dos grupos fundamentales:

-Las glicoproteinas, que tienen como caracterís-
tica definitoria los siguientes rasgos:

a) su cadena hidròcarbonada está formada por un
heteropolisacárido, del que forman parte osas neutras (D-galac-
tosa, D-manosa, D-glucosa y L-fucosa); osaminas (D-glucosamina
y D-galactosamina, en forma de sus radicales N-acetilados) y -
uno o más derivados del ácido siálico.

b) como segunda característica, presentan una -
porción de hidratos de carbono inferior a la proteica.

c) el enlace entre las dos porciones es de tipo
covalente.

d) finalmente no poseen ácidos urónicos en sus
moléculas.

-Los complejos mucopolisacáridos-proteinas, tie-
nen como características definitorias:

a) poseen unidades disacáridas integradas por una
hexosamina y un ácido urónico, que se repite de manera lineal pa-
ra formar el grupo prostético del complejo.

b) su porción hidròcarbonada es superior a la --
proteica.

c) su tipo de enlace, puede ser covalente, o co-
mo sucede en la mayoría de las veces, electrostático, es decir,

por puentes de atracción eléctrica.

d) como ya se ha dicho, contienen grupos de ácidos urónicos en sus moléculas.

De forma general, se puede afirmar, que estos complejos proteína-hidratos de carbono, se sintetizan en dos fases:

-En la primera fase, se forman las porciones proteicas que responden al orden general de formación de proteínas, o sea, el RNA-m induce en los ribosomas la formación de las cadenas proteicas, que conforme se van formando, pasan al retículo endoplásmico y allí:

-En una segunda fase, se van insertando, paso a paso, los diferentes azúcares, sobre la proteína; ello es debido a acciones enzimáticas específicas (acetil-gluosamín-transferasa, galactosil-transferasa, NAN-transferasa, etc.) constituyéndose así las cadenas de heteropolisacáridos, que como ya sabemos p han de formar parte del complejo proteína-hidrato de carbono.

Todos los radicales hidrocarbonados, proceden del ciclo metabólico de la glucosa, nutriéndose de sus procesos catabólicos. La glucosa, como es bien conocido, puede seguir dos vías:

-La primera de ellas, que supone de un 70 a un 98%, sigue los caminos, bien conocidos del ciclo de EMBDEN-MEYERHOFF

y su conexión, con la rueda de los tricarboxílicos, descrita -
por KREBS-

-La segunda vía, la que sigue entre el dos y el 30% de la glucosa metabolizada, va a subvenir, las necesidades hidrocarbonadas de las glicoproteínas; siguiendo la vía de la formación de derivados nucleótidos de osas, que darán lugar a la formación de osaminas, por la inserción de radicales aminos, teniendo en cuenta que cada eslabón metabólico sirve de mecanismo de contrarregulación del eslabón anteriormente formado (120). Esta vía puede dar lugar a la formación de derivados del ácido N-acetilneuramínico, aunque este metabolito, en circunstancias normales deriva con más facilidad del entronque -- que la fructosa hace con el ciclo de las pentosas. (121).

CAPITULO III

Es incuestionable el papel de las inmunoglobulinas en un sinnúmero de procesos; su papel defensivo ante los antígenos, a los que se enfrentan y bloquean es perfectamente conocido. Por otra parte, están actualmente sobre el tapete las enfermedades que pueden producirse al reaccionar las inmunoglobulinas con proteínas propias del organismo, dando esta autoinmunidad origen a una florida patología, hoy muy en boga debido al más exacto conocimiento de las técnicas inmunológicas.

En diversos procesos pulmonares, se ha estudiado, la variación de las inmunoglobulinas, debido a la estrecha relación que en ocasiones presentan la patología broncopulmonar por los agentes infecciosos y también al primordial papel que la alergenización juega no sólo como causa primordial sino como complicante y mantenedora de muchos procesos bronconeumopáticos. Encontrándonos desde fenómenos autoinmunes, presentes en la patología respiratoria, sirva de ejemplo la granulomatosis de WEGENER donde hallamos complejos fenómenos inmunitarios (122, 123); o la respuesta a alérgenos, generalmente extraños, tal como ocurre en el asma bronquial, induciéndose cambios en el perfil de las inmunoglobulinas, que varían su tasa hemática en función de la producción de los fenómenos reaccionales.

Así R. FROUCHMAN y col. (124), entre nosotros, estudia las variaciones de las inmunoglobulinas circulantes en el asma bronquial; realmente encuentra variaciones poco significa-

tivas. En otro tipo de procesos respiratorios como la tuberculosis, también se han desarrollado estudios en busca de las posibles variaciones del nivel sérico de las inmunoglobulinas, encontrándose variaciones especialmente a expensas de la IgA (125). En las broncopatías crónicas obstructivas hay estudios también tratando de encontrar alteraciones de estas proteínas precitadas, especialmente la IgA, tratando de sacar conclusiones que hagan conocer mejor el íntimo mecanismo inmunitario de estas enfermedades y también su repercusión en el organismo (126, 127).

Se han analizado, anteriormente, la importancia de una proteína responsable de la mayor parte, de la capacidad antitripsina del plasma: la alfa-1-antitripsina; la literatura en este sentido, es amplia y profusa (68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 128, 129, 130).

Según esto, nos hemos planteado el problema, -- por una parte, de las variaciones que sufre el espectro proteico, como resultado del proceso general, inflamatorio e inmunológico en las broncopatías crónicas obstructivas. Por la misma razón, hemos buscado el posible trastorno de las inmunoglobulinas circulantes, como eco sérico, del trastorno general inmunológico que se produce en el organismo. Este trastorno, en manera alguna, se limita al sistema respiratorio; -- por una parte, las inmunoglobulinas se producen en diferentes

lugares orgánicos y por otra parte, es la síntesis, o en otro caso, el material de síntesis de las inmunoglobulinas, lo que se ofrece al aparato respiratorio, pulmón y bronquios, para que este aparato, realice en él, los fenómenos inmunológicos. Además, ya hemos comentado, la importancia de la IgA secretoria, que no es más, que el resultado de la fusión de dos cadenas de IgA sérica en las células bronquiales (25), pero sin olvidar que esto es un fenómeno activo, que se realiza en el bronquio, siendo necesario, para que se produzca, que el suero pueda ofrecer la IgA necesaria, para su conjunción a nivel bronquial. Lo antedicho, nos lleva a considerar, que el espectro plasmático de las inmunoglobulinas, ha de verse alterado, en función de la necesidad de las alteraciones inmunológicas, que en el bronquio se producen y como resultado de las mismas.

Al considerar las broncopatías crónicas obstructivas, también nos hemos planteado, el estudio de las glicoproteínas séricas. Ya hemos comentado, con anterioridad, su composición (117, 118, 119, 120). La distribución, de estas proteínas unidas a hidratos de carbono, se hace en tres compartimentos: el compartimento sérico, las glicoproteínas de los tejidos y aquellas que encontramos en las secreciones mucosas; pero estos tres compartimentos, no son compartimentos estancos, en manera alguna. La fracción proteica, como sabemos, responde a un código genético preformado (99), como se comentaba; este código genético, está en relación con el DNA;

por tanto, las glicoproteínas de las tres fracciones, tanto séricas, como tisulares y secretorias, responden a una misma ordenación genética y por ello serán, proteicamente, similares.

Quando la fracción proteica está formada en el ribosoma, por orden que ha transmitido el RNAm, esta matriz proteica se secreta al retículo endoplásmico, merced a una actividad de acción enzimática ya referida (119); pero esta incorporación al retículo endoplásmico es necesaria, para que en éste se produzca la incorporación del grupo prostético; la incorporación no depende sólo de la configuración de la matriz proteica, ya que ésta ofrece los "enganches", pero las cadenas de polisacáridos han de formarse sobre este primer eslabón. Serán, las cadenas, variables, dependiendo del material que se ofrezca al retículo formador; así, cuando esté alterada la formación de azúcares, bien por defecto metabólico hormonal (diabetes mellitus), o bien por dificultad metabólica por alteración de las células responsables (hepatopatía difusa) el material sacárido que se ofrece a los "enganches" proteicos, habrá variado su calidad y también su cantidad (131); todo esto, se reflejará igualmente como una alteración en la cantidad y en la cualidad de las glicoproteínas. Otros procesos que alteran la producción proteica y en ocasiones incluso el material glucídico, tal cual ocurre en mielomas, inflamaciones, dislipoproteinemias y arterioesclerosis, también repercuten de manera particular, sobre el espectro de las glicoproteínas.

Las glicoproteínas, todas ellas, tanto las de estructura, como las séricas y como las secretorias, variarán de calidad según su composición, no sólo proteica, sino como comentábamos, también en función del grupo prostético, que en muchas ocasiones, marcará las características físico-químicas y biológicas del comportamiento y función de las glicoproteínas.

Es de sobra conocido, como el moco endobronquial, influye, de manera decisiva, en la patología respiratoria. La mayoría de las veces, la alteración del moco, tiene una repercusión sobre los propios caracteres macroscópicos de la secreción, motivados por la alteración de la calidad de este moco. Sabemos, como el moco, está compuesto de manera primordial -- por glicoproteínas y que éstas, son las responsables de las propiedades y caracteres organolépticos del moco.

La submucosa bronquial, está constituida, por tejido conjuntivo y éste debe su calidad a su constitución y composición de glicoproteínas. La tendencia al enfisema de -- los broncópatas crónicos obstructivos, presupone una alteración estructural, que suponemos, tiene que estar, obligadamente, reflejada en el cuadro general del organismo y por ello, aproximándonos a este organismo, por la ventana más asequible, que representa el suero, podremos encontrar la repercusión, -- por una parte de las alteraciones de la calidad del moco for-

mado y por otro, la repercusión de las alteraciones estructurales en estos enfermos condicionada.

Hemos, de esta manera, tratado de buscar las alteraciones generales del espectro sérico proteico de los broncopatas obstructivos crónicos, siempre en relación de correlación con series de patrones formados por individuos normales; buscando sacar conclusiones que contribuyan a esclarecer el obscuro problema de esta particular patología.

Los interrogantes se centran pues, en que hemos pensado, que los fenómenos que dan lugar a la patología obstructiva bronquial, se ha de reflejar, en el cuadro general e cuantitativo y cualitativo de las inmunoglobulinas y por tanto, la repercusión sérica de las mismas, ello nos ha llevado a la búsqueda del comportamiento de la proteinemia y del fraccionamiento por técnicas electroforéticas del proteinograma. Investigamos el comportamiento global de las inmunoglobulinas y -- sus fracciones, concretamente, las fracciones IgA, IgG e IgM, sin poder, por no ser asequibles a nuestros medios, en el momento de comenzar nuestro estudio, las inmunoglobulinas IgD e IgE.

De igual forma, hemos buscado el comportamiento de las proteínas, individualizadas, que siéndonos asequibles, hemos estimado más demostrativas en la patología que nos ocu-

pa; así hemos determinado, cuantitativamente:

-La alfa-1-antitripsina, sobre la que no es necesario insistir, al margen, de lo anteriormente dicho.

-Otra proteína, que hemos considerado de particular interés, ha sido, la alfa-2-macroglobulina, debido, a que al ser de fabricación tisular, se comporta, por tanto, como un reactante de fase aguda.

-El complemento, es un sistema de indudable interés, que actúa condicionando los fenómenos inmunológicos; su actuación se extiende, sobre las defensas inespecíficas del organismo e influyendo, por otra parte, en las reacciones inmunológicas específicas; ello también nos ha llevado a la búsqueda de las posibles alteraciones de su espectro plasmático.

-Hemos considerado interesante el estudio de la transferrina hemática, ya que en diversos procesos respiratorios, se ha encontrado alterada, en la secreción bronquial, no sabiéndose, la génesis y consecuencias de esta alteración, ignorándose también, si es causa o efecto patológico.

-Como representante general de las proteínas, hemos elegido una, que por ser además rica en ácido siálico,

podiera alterarse, al alterarse el cuadro general de las glicoproteínas; concretamente nos referimos, a una metalo-sialoglicoproteína: la ceruloplasmina.

Por último, para buscar el espectro de las glicoproteínas, hemos tratado de buscar los parámetros fundamentales que pueden darnos idea de su estado:

-Así hemos buscado medir las glicoproteínas totales, es decir, la cantidad total de osas unidas a proteínas dentro del suero.

-Las llamadas mucoproteínas o proteínas perclóricosolubles, que engloban, justamente, a las proteínas más ricas en radicales hidroxycarbonados, pues son precisamente estos, los que defienden a las proteínas de la acción precipitante, del ácido perclórico; son por ello, reflejo de las proteínas que tienen, un grupo prostético glicídico, más importante y que además pueden sufrir también, mayor número de alteraciones en el contexto general de las glicoproteínas.

-Las hexosaminas, que son ellas las que entran en relación directa con los "enganches" de las matrices proteicas, como cabezas de puente, que unen las proteínas con todos los demás radicales azucarados, siendo sobre ellas donde se insertan las ramificaciones de las cadenas glicídicas.

-El ácido siálico, que tiene la característica, de ser siempre terminal, con lo que en parte, refleja, el número de ramificaciones de las cadenas; si bien es cierto, -- que hay cadenas, que no terminan por ácido siálico y pueden terminar en osa neutra u osamina.

-También, nos hemos planteado, el fraccionamiento electroforético, de estas glicoproteínas, ya, que suponíamos, que las alteraciones, se verían reflejadas en el espectro electroforético, de manera más fiel y sensible, que en las determinaciones globales de las glicoproteínas y sus radicales.

MATERIAL Y METODOS

Para nuestras determinaciones, hemos estudiado, a setenta y un enfermos, de la I Cátedra de Patología y Clínica Médica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla, que dirige el Profesor Dr. D. José León Castro. Todos los enfermos estaban diagnosticados de broncopatía crónica -- obstructiva, agudizada en el momento de realizar las determinaciones y antes de ser sometidos a terapéutica, para su proceso agudizado y en ningún caso se les estaba administrando esteroides suprarrenales. El diagnóstico se estableció siempre por la clínica, la analítica y las pruebas espirográficas correspondientes.

La extracción de las muestras, se realizó siempre tras un ayuno, de al menos doce horas. Los enfermos han sido divididos en tres series:

Primera serie de cuarenta enfermos, en los que se han determinado, los siguientes parámetros:

-Proteínas totales

-Fraccionamiento electroforético de las proteínas del suero.

-Cálculo de las inmunoglobulinas por reacción de inmunoprecipitación.

Segunda serie de veintiun enfermos, en los que

correlacionamos, las siguientes determinaciones:

- Proteínas totales
- Fraccionamiento electroforético de las proteínas del suero.
- Cálculo de las inmunoglobulinas, por inmunodifusión radial.
- Alfa-1-antitripsina.
- Alfa-2-macroglobulina.
- Transferrina.
- Fracción beta₁C del complemento.
- Ceruloplasmina.

Tercera serie de diez enfermos, en los que se ha determinado:

- Proteínas totales.
- Fraccionamiento electroforético de las proteínas del suero.
- Glicoproteínas totales.
- Mucoproteínas (perclóricosolubles).
- Hexosaminas totales.
- Ácidos siálicos totales.
- Fraccionamiento electroforético de las glicoproteínas séricas.

Todas las series, han sido comparadas, con series de patrones normales, en los que, en las mismas condiciones, se han realizado también, idénticas determinaciones.

Antes de pasar a la descripción de los métodos, seguidos en nuestra valoración, hemos de insistir en la necesidad de utilizar siempre un material de laboratorio perfectamente limpio. De igual manera, es preciso significar que los reactivos han de ser de absoluta garantía.

PROTEINAS TOTALES

En la determinación de las proteínas totales del suero, hemos utilizado el método del biuret. Este método se encuentra fundamentado, en la reacción, de color violeta, que dan las proteínas con iones de cobre, en medio alcalino.

El reactivo necesario, de manera primordial, es el reactivo biuret, compuesto por 36 mM, de tartrato de sodio y potasio; 20mM de yoduro de potasio; 24 mM de sulfato de cobre; 400 mM de hidróxido sódico; estas sustancias disueltas hasta un litro de agua bidestilada, conservando siempre el frasco bien cerrado y a temperatura ambiente.

Como reactivo de referencia, se utiliza una solución que solo contiene el tartrato y la sosa.

La técnica a seguir, es bastante simple; se utiliza un patrón de referencia, con una cantidad de proteína, perfectamente conocida; se añaden una décima de centímetro cúbico a 5 cc. de reactivo biuret y otra décima, a otros 5 cc., de reactivo de referencia, se procede igual con el patrón. -- Una vez mezclados, suero y reactivo, se deja reposar durante treinta minutos, al abrigo de la luz y a la temperatura ambiente. Pasado este tiempo, se efectúan las lecturas, midiendo -- las extinciones o absorbancias, las del problema y patrón contra el reactivo biuret y las de reactivo de referencia contra blanco de agua. Se utiliza una longitud de onda de 546 milimicras.

Puede utilizarse un merckotest de E. Merck, de Darmstadt Alemania, que surte los reactivos preparados. (133, 134, 135, 136).

FRACCIONAMIENTO ELECTROFORETICO

Desde 1937 (137), se conocía el papel de filtro, como medio de soporte para la electroforesis. A pesar de exis

tir, algunos millares de publicaciones con respecto a este medio de soporte, realmente, es un medio difícil de manejar y que precisa 16 horas para el desarrollo electroforético. El proceso de teñido tampoco es sencillo, empleándose una 6 horas y la cuantificación de las fracciones obtenidas, tampoco es excesivamente fiable (138, 139, 140, 141).

Otro soporte para electroforesis, utilizado es el gel de agar; el agar es un polisacárido, que en estado puro, se presenta como un polvo blanco, que se obtiene de las paredes celulares de las algas rojas marinas. Forma geles coloidales firmes, que mantienen su cohesión, incluso al 1%. Al secarse, forma delgadas membranas, transparentes e incoloras. Su principal inconveniente, es su relativamente escaso poder resolutorio para proteínas, formándose solo cuatro bandas, en vez de cinco, en los desarrollos unidimensionales simples; separándose muy mal la globulina alfa-1 de la albúmina y separándose mal la alfa-2 de la beta. Por estos motivos, se prefiere dejar el uso del agar, para la inmunolectroforesis e inmunodifusión, donde se presenta como medio idóneo, dada su excelente difusibilidad (142, 143).

El almidón, parcialmente hidrolizado, fue introducido como medio electroforético, por SMITHIES (144), su poder resolutorio, se mostró superior a todos los medios utilizados hasta el momento. Por desgracia, el trabajo analítico -

con almidón, es difícil de reproducir, gastándose gran cantidad de tiempo y energía; su tinción igualmente es difícil. En la actualidad parece preferirse la utilización de este medio, para la separación de proteínas aisladas y para el estudio de heterogeneidad dentro de una misma proteína.

Otro medio, descrito inicialmente por DAVIS y ORNSTEIN en 1962,(145), es el gel de poliacrilamida, que tiene como ventaja, la resolución sin precedente, de bandas proteicas; pero en la actualidad presenta el inconveniente, de no poder comparar diferentes muestras sobre el mismo gel y la ausencia de un método práctico de cuantificación y de identificación de las bandas. Por ello, es todavía un procedimiento no absolutamente generalizado (146, 147).

Con la introducción, en 1957, por J. KOHN (148) del acetato de celulosa, se introdujo un soporte electroforético, que tenía un poder de resolución superior al papel y al agar y que además, sus resultados podían obtenerse, en menos de dos horas. Una ventaja, importante, del acetato de celulosa, es la eliminación del fenómeno de arrastre, que es una de las características molestas de la electroforesis sobre papel. En 1964 (149), se introdujo el uso del acetato de celulosa gelatinizado "cellogel", que presentaba la ventaja, de poder transparentarse completamente tras su teñido; aunque es más laboriosa, tanto la tinción como la decoloración, su poder de

resolución, se muestra algo superior y su valoración, es más exacta. Todas las formas de acetato de celulosa, poseen unos poros de entre 0,5 y 3 micras. Es este tipo de electroforesis el que hemos preferido utilizar.

Las tiras de "cellogel", fabricadas por Chemetron de Milán y servidas en España por Atom de Barcelona, se presentan humedecidas en metanol al 40% en agua; las tiras se sumergen durante, por lo menos diez minutos, con un máximo de veinticuatro horas, en un tampón de veronal sódico, de un pH 8,6; este tampón se obtiene disolviendo 8,24 gramos de veronal sódico, hasta un litro de agua bidestilada. Se secan las tiras, entre papel de filtro y se montan sobre un puente de electroforesis de catorce centímetros; se hace una aplicación de suero, en forma de banda, de entre 4 y 6 microlitros. Se desarrolla la electroforesis, con corriente continua, a un voltaje constante de 210 voltios, mejor que los 200 voltios que recomienda la casa fabricante; el tiempo, medido muy exactamente, debe ser de 75 minutos; terminada la migración electroforética, se sumergen, inmediatamente, las tiras en una solución colorante. Entre los diferentes colorantes utilizados, rojo Ponceau, Nigrosina, verde de lisamina y negro amido, que son los más frecuentes, hemos preferido, por obtener, en nuestras manos, mejores resultados, el negro amido; haciendo una disolución de negro amido, cinco gramos, en una mezcla de agua y metanol a partes iguales hasta un litro.

Una vez, que se han teñido las tiras, durante cinco minutos exactos, se pasan a un baño de decoloración, -- consistente en 475 cc. de agua destilada, 475 cc. de metanol y 50 cc. de ácido acético glacial. Se mantienen en baño rotatorio, durante dos horas, haciendo un cambio de decolorante -- cada quince minutos; si se carece de baño rotatorio puede hacerse la decoloración en veinticuatro horas, haciendo el cambio cada dos horas. Se obtienen así, líquidamente separadas, las bandas de: prealbúmina, albúmina, alfa-1-globulina, alfa-2-globulina, beta-1-globulina, beta-2-globulina y gammaglobulinas. Una vez en este punto, se puede proceder al transparentado, para posterior densitometría o, y es el método que hemos seguido, a la elución de las bandas obtenidas, con ácido acético glacial al 80% en agua y posterior lectura.

La lectura, la hemos realizado, a 620 milimicras, leyendo juntas las fracciones prealbúmina y albúmina; y leyendo juntas las dos fracciones beta; siempre frente a un blanco constituido por una banda blanca de la tira; aplicamos entonces la ley de BEER:

$$\% F = \frac{D.O. \times V}{\sum (D.O. \times V) \text{ de todas las fracciones}} \times 100.$$

donde % F representa el tanto por ciento que queremos averiguar; D.O. la densidad óptica obtenida y V el volumen de elu-

ción.(150, 151, 152, 153, 154).

La absorción de colorante, por parte de las globulinas, es, prácticamente igual, para todas ellas; siendo el valor, por tanto, perfectamente utilizable. Pero la absorción de la albúmina, es muy superior, debido al menor tamaño molecular de esta proteína, es por ello, por lo que ha de calcularse un factor de corrección. Mezclas conocidas, aproximadamente del mismo cociente albúmina/globulinas del suero normal, son preparadas, a partir de proteínas altamente purificadas, en estas mezclas se hace un desarrollo electroforético similar al expuesto, procediéndose en todo como anteriormente y calculándose el factor de corrección:

$$\text{Factor corrección} = \frac{\frac{\% \text{ de albumina en la mezcla}}{(\text{D.O.} \times \text{V.})^{\text{alb.}}}}{(\text{D.O.} \times \text{V.})^{\text{alb.}} \dagger (\text{D.D.} \times \text{V.})^{\text{glob.}}}$$

Con la aplicación de este factor de corrección, se obvian, los más importantes factores de error que pueden darse en estas tinciones, De cualquier forma, dado que los colorantes son mezclas, algo impuras, aparte de manejar siempre un colorante de garantía, es preciso, la medición del factor de corrección, cada vez, que se realice una nueva solución de tinción. De cualquier forma, se debe hacer, como hemos hecho,

las determinaciones por duplicado y por supuesto, con suero fresco y nunca refrigerado, ya que la conservación de las proteínas, desnaturaliza las mismas, disminuyendo el poder de resolución del soporte (155, 156).

CALCULO DE LAS INMUNOGLOBULINAS

En nuestra primera serie, hemos utilizado un método de titulación de las inmunoglobulinas, por un método de difusión única en dos dimensiones, haciendo diluciones progresivas de suero, que se depositaban, previamente, en pocillos que se efectúan sobre un gel de agar, conteniendo antisuero -monovalente. La titulación era para la máxima dilución de suero con la que obteníamos halo de precipitación a las cuarenta y ocho horas exactas (157).

INMUNODIFUSION RADIAL

MANGINI (158), adaptó el método de difusión única en dos dimensiones, para la determinación cuantitativa de antígeno. Para determinar las concentraciones de antígeno por este método, se añaden cantidades constantes de antígeno a --

los pozos y se las deja difundirse durante dos días. El diámetro del anillo de precipitina formado por una solución de antígeno de concentración desconocida, se compara con los -- diámetros formados, siempre difundiendo en un agar, en el -- que se ha disuelto el anticuerpo; comparádo, decíamos, con los diámetros formados con una serie de soluciones de antígeno de concentración desconocida. Los diámetros guardan con las concentraciones, una relación logarítmica. Por este método de inmunodifusión radial, hemos calculado las inmunoglobulinas de nuestra segunda serie; e igualmente, hemos cuantificado, la alfa-1-antitripsina, alfa-2-macroglobulina, transferrina, complemento, y ceruloplasmina.(159).

GLICOPROTEINAS TOTALES

Para la determinación, de las glicoproteínas - totales, hemos seguido el método del triptófano (160), modificado por BADIN (161). El principio de la reacción, se basa, en que los polisacáridos, no amínicos, unidos a las proteínas, reaccionan con el ácido sulfúrico, en caliente, dando una coloración verde oscura, que sigue la ley de las concentraciones. La modificación propuesta por BADIN, consiste principalmente, en utilizar una combinación de ácido bórico con ácido sulfúrico, obteniendo, con ello, un color más nítido y estable.

Tomando 0,5 cc. de suero fresco, obtenido por desfibrinación, se le añaden 10 cc. de alcohol etílico absoluto, se mezcla, dejándolo reposar cinco minutos, pasados los cuales, se centrifuga, durante quince minutos a 3.000 r.p.m., se prepara el precipitado, que se disuelve en un centímetro cúbico de agua destilada.

Llegado este momento, se comienza también, a proceder con un standar y un blanco comparativo; el standar está constituido por 1 cc. de una solución de manosa al 5 mg. % y el blanco con 1 cc. de agua destilada.

A los tubos de ensayo, sometidos a baño de hielo, se les va añadiendo 7 cc. de ácido borosulfúrico, dejándolo reposar durante cinco minutos; en este momento, se les añade 1 cc. de una solución de triptófano al 1%, se mezcla y se pasa a un baño maría, con agua hirviente, durante veinte minutos, agitando a los diez minutos. Se pasan los tubos, a baño de hielo, durante cinco minutos, dejando, posteriormente en reposo, a temperatura ambiente, durante treinta minutos. A continuación, se hace una lectura a 520 milimicras. Cuando se obtengan concentraciones superiores a 200 mg. %, hay que proceder a la deducción a la mitad, tanto del problema como del blanco, para que la lectura pueda realizarse en los límites de sensibilidad del método.

MUGOPROTEINAS (GLICOPROTEINAS PERCLORICOSOLUBLES)

Para esta determinación, hemos seguido la técnica de WINZLER, (162), descrita ya en 1948 y que la práctica, - ha sancionado por su exactitud. El método, se basa, en la obtención de las proteínas perclórico-solubles, despues de precipitación del suero con ácido perclórico; estas proteínas, - son a su vez precipitadas con ácido fosfotúngstico y reaccionan, en medio alcalino, con reactivo de fenol, dando una coloración azul, estable durante algunas horas.

El proceder es como sigue: 0,5 cc. de suero, recién obtenido, por desfibrinación, se le añaden a 4,5 cc. de cloruro de sodio al 0,85 %, a esta mezcla se le añaden, gota a gota, 2,5 cc. de ácido perclórico 1,8 M, agitando continuamente. Se deja reposar durante 10 a 15 minutos, filtrando posteriormente con papel Watman 50, volviendo a filtrar nuevamente, si el filtrado no fuera absolutamente limpio.

A 5 cc. del filtrado, se le añaden 1 cc. del filtrado de ácido fosfotúngstico, obteniéndose por centrifugación un precipitado, que vuelve a lavarse, con 1 cc. de la solución de ácido fosfotúngstico. Se añade al precipitado 2 cc. de carbonato sódico al 15% y 6,5 cc. de agua destilada. Se le añade 0,5 cc. del reactivo de fenol de Folin-Cicalteau, se tapa y se mantiene en baño maría a 37° durante quince minutos, reali

zándose la lectura, frente a blanco de agua y 630 mMicras, - de longitud de onda.

La curva de tirosina, que ha de emplearse, se obtiene, disolviendo 0,5, 1, 2, 3, 4 cc. de una solución de - tirosina al 0,02 mg./cc. y una cantidad de agua de 6, 5,5, 4,5, 3,5, y 2,5 respectivamente, prodediendo en todo como para el problema.

HEXOSAMINAS

Para la valoración de este parámetro, hemos seguido el método de ELSON y MORGAN (163), que se basa, en la reacción, que en medio alcalino caliente, da las osaminas, - previamente liberadas por hidrólisis ácida, con la acetilacetona, dando lugar a unos cromógenos que se condensan con el reactivo de Erlich.

A una décima de centímetro cúbico, se añaden e 5 cc. de etanol al 95%, se mezcla centrifugando posteriormente durante cinco minutos, se disuelve el precipitado con 2 cc de ácido clorhídrico 3N, dejándolo en baño hirviente durante cuatro horas, teniendo en cuenta, que la solución no debe perderse, por lo que ha de usarse o condensador de reflujo o am-

pollas cerradas, como en nuestro caso.

Tras la hidrólisis, se neutraliza el ClH sobrante, con NaOH 3N. Se completa el volumen hasta 10 cc., con etanol. A 1 cc. de esta mezcla, se añade 1 cc. de reactivo de acetil-acetona, preparado inmediatamente antes (se disuelve 1 cc. de acetil-acetona, con 50 cc. de ácido carbónico al 0,5N). En este mismo momento, se prepara un blanco con 1 cc. de agua, más 1 cc. de acetil-acetona. Igualmente se prepara un standar con 1 cc., de una solución de glucosamina a 0,06 mg/cc. Se colocan los tubos en agua hirviente, durante quince minutos, se enfría la mezcla al chorro de agua, se le añaden 5 cc. de etanol y seguidamente 1 cc. de reactivo de Ehrlich (paradietilaminobenzaldehido: 0,8 g.; metanol puro: 30 cc.; ClH concentrado: 30 cc.) la lectura se ha de realizar a 530 milimicras.

ACIDOS SIALICOS

Esta determinación la realizamos por el método del resorcinol, modificado por CABEZAS y VAZQUEZ PORTO (164). El método se basa en el hidrolizado de proteínas, precipitadas por etanol, reaccionando el N-acetilneuramínico con el

reactivo de ClH-cúprico-resorcinol, extracción del compuesto coloreado, con acetato de butilo y lectura en espectro fotómetro.

Se disuelve el suero sanguíneo, a la cuarta parte con suero salino fisiológico; a 0,4 cc. de esta solución, se le añaden 20 cc. de etanol al 95%, en baño de agua helada. Se agita, se deja reposar durante cinco minutos y se centrifuga a 3.000 r.p.m. Se lava el precipitado, con 20 cc. de etanol, volviendo a centrifugar; se espera que el precipitado se deseque, disolviendo con 4 cc. de agua destilada.

En este momento, se prepara un blanco, con 4 cc. de agua destilada y un standar de 15 microgramos por cc. de ácido N-acetilneuramínico. A todos los tubos se les añade 4 cc. de la solución de resorcinol (ClH concentrado: 80 cc.; $\text{SO}_4\text{Cu} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,01M: 0,25 cc.; 10 cc. de resorcinol al 2%; agua destilada hasta 100 cc.). Se agita la mezcla, se coloca al baño maría a 108°C . durante once minutos, luego de agitar, se enfría en baño de hielo. Se añaden a todos los tubos, 10cc. del reactivo de acetato de butilo (es una mezcla, de 85 partes de acetato de butilo y 15 partes de n-butanol). Se agita por inversión, cincuenta veces, dejando los tubos en baño de hielo durante quince minutos en la obscuridad. Se retira el acetato de butilo, que se lee a 580 milimicras de longitud de onda.

FRACCIONAMIENTO ELECTROFORETICO DE LAS GLICOPROTEINAS

Las glicoproteinas, son proteínas, que emigran por tanto, electroforeticamente. Se puede aprovechar esta condición, para aplicando posteriormente un colorante, para estas glicoproteinas, valorar la variación del espectro electroforético de las mismas.

La separación electroforética, es idéntica, a la ya comentada en la valoración de las proteínas, lo que es diferente es el proceso de tinción. Hemos seguido la técnica de PAS (ácido periódico Schiff) para poner de manifiesto las glicoproteinas totales, que acompañan a las fracciones electroforeticamente separadas. En principio, los polisacáridos son oxidados, para dar polialdehidos, que se tiñen, intencionalmente, de rojo con el reactivo de Schiff.

Después de la migración electroforética, se sumergen las tiras en un baño de ácido periódico al 0,5% durante cinco minutos, se lava posteriormente con tres baños de agua destilada, para eliminar el exceso de ácido periódico. Se sumergen, durante veinte minutos, las tiras con el reactivo de Schiff, cuya preparación es engorrosa, pero necesaria,

ya que los resultados que se obtienen con los preparados comerciales, son de mucha menor calidad y rendimiento:

se añaden 1 g. de fucsina básica y 1,9 g. de metabisulfito sódico a 400 cc. de agua a 50°, posteriormente se añaden 10 cc. de ClH 2N, dejando, herméticamente cerrado y en la obscuridad, durante veinticuatro horas. Se le añaden 500 mg. de carbón activado y se mezcla; se filtra, La solución obtenida, absolutamente transparente, se conserva en frigorífico, tirándose inmediatamente que adquiera el más ligero tinte rosado.

Después de la tinción, se lava el schiff sobrante con ácido nítrico 0,4 N; por lo menos ocho lavados de cinco minutos cada uno en baño rotatorio.

Una vez concluido este proceso, se lavan las tiras con agua destilada y se eluyen en ácido acético al 80%, leyendo a una longitud de onda de 540 milimicras (165, 166, 167, 168, 169).

Todas las lecturas se han realizado en un espectrofotómetro modelo Unicam S.P. 600 serie 2.

Los datos se han procesado, averiguando las medias, varianzas, desviación standar, error standar y studentización, como se refleja en los cuadros.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos, fruto de la investigación que justifica la tesis propuesta, están debidamente reflejados y desarrollados en las tablas; y esquemáticamente, son los que siguen:

PRIMERA SERIE

Proteínas totales: en esta primera serie, existe una normoproteínemia, por parte de los enfermos; sin que encontremos ningún tipo de significación. Mientras que la serie de testigos presenta unos valores medios de 6,91 g.%, la serie de cuarenta enfermos, presenta unos valores de 6,93 g. %.

Proteinograma: en el proteinograma, solo encontramos con significación biológica (p menor de 0,01), el descenso de las albúminas; lógicamente hay un aumento de las globulinas, pero que al distribuirse entre todas las fracciones globulínicas no llega a alcanzar la significancia necesaria, si bien, es justo decir, que el aumento de la alfa-2 roza el límite de la significación biológica; de hecho, algunos trabajos llegan a admitir estas p como significativas.

Inmunoglobulinas: el estudio de las inmunoglobulinas de la primera serie, no ha reflejado datos, que nos permitan sacar conclusiones; probablemente, porque el método analítico utilizado, que era el que al principio de nuestro estudio disponía

mos, no revista finura suficiente, para mesurar las variaciones de las inmunoglobulinas, en estos procesos; y no porque estas fracciones no se encuentren alteradas. Concretamente, los valores normales que obtenemos, por el método utilizado en esta primera serie, son de una titulación para la inmunoglobulina IgG de 1/256, para la IgA 1/32 y para la IgM 1/4. En la IgG, tenemos ocho valores por encima de esta normalidad y dos por debajo; en la IgA obtenemos ocho valores por encima y seis por debajo; con respecto a la IgM, encontramos cuatro por debajo y uno por encima. Parece pues, que hay un cierto aumento en la titulación de la IgG, pero que no alcanza significación biológica.

SEGUNDA SERIE

Proteínas totales: de manera similar, a la primera serie, no encontramos una variación significativa en este parámetro, que alcanza una media de 7,19 g.%, frente a los referidos 6,91 de los testigos.

Proteinograma: al igual que en la primera serie, pero aún más significativo, encontramos un descenso de la albúmina; hay el subsiguiente aumento porcentual de las globulinas, no significativo y que en esta serie, de veintiun enfermos, parece repartirse de preferencia entre la alfa-2 y la gamma.

Inmunoglobulinas: el estudio de las inmunoglobulinas de esta serie, en la que se han utilizado, la técnica más precisa de la determinación semicuantitativa, por inmunodifusión radial, nos ofrece a la consideración un aumento, con fuerte significancia estadística de la IgG (media de 1.427 mg., frente a -- 1.032,1 mg. de los testigos). La inmunoglobulina IgA se encuentra ligeramente elevada, pero sin significancia.

Proteínas cuantificadas: hemos hallado un descenso significativo, de la alfa-1-antitripsina (118,3 mg. frente a 155,3 mg.). La alfa-2-macroglobulina no ofrece variación. El complemento, la ceruloplasmina y la transferrina se encuentran aumentadas, sin que su aumento, alcance significación biológica.

Proteínas totales: no hay variación estadísticamente medible.

Proteinograma: al igual que en los casos anteriores, nos ofrece una disminución de las albúminas, con aumento global de las globulinas.

Glicidograma: en este parámetro, encontramos una disminución, de significación biológica, de la fracción prealbumínica. Las otras cuatro fracciones (MP1-MP2-MP3-gamma) se encuentran aumentadas, si bien, al estar repartido, entre todas ellas, no alcanza significación.

Glicoproteínas: hay un aumento, de esta fracción, pero la p - es mayor de 0,01.

Mucoproteínas: igualmente esta fracción, se encuentra elevada, pero sin significación.

Hexosaminas: hemos hallado, un aumento biológico, importante, de las hexosaminas.

Acido siálico: también se encuentra aumentado con significación estadística.

Consideradas todas las series, el punto común, es el descenso de las albúminas.

También hemos realizado, el cálculo de los cocientes, que resulta de dividir los parámetros de ácido siálico, hexosaminas, y mucoproteínas, por las glicoproteínas totales y las percloricosolubles; ello, porque estimamos, que puede ser índice, del aumento que experimenta, los radicales glicídicos y concluir, si los aumentos son paralelos o por el contrario, hay un mayor aumento de radicales por unidad de peso. Realizados estos cocientes, encontramos, que están todos aumentados (ácido siálico/glicoproteína; hexosamina/glicoproteína; mucoproteína/glicoproteína; hexosamina/ácido siálico). Queremos recordar, que los ácidos siálicos, son siempre termi

nal, aunque no sea obligadamente el radical, en el que terminen, todas las ramificaciones. Por su parte, las hexosaminas, recordamos también, que son siempre el engarce con la proteína y que por otra parte, son siempre el lugar, donde se producen las ramificaciones.

TABLAS

TESTIGOS

P A T R O N E S:

	P.Totales	Albumina	Alfa-1	Alfa-2	Beta	Gamma
C.N.	---	53'43	4'26	12'12	10'16	19'99
O.L.	7'3	57'72	3'25	5'69	13'00	16'26
S.G.	6'9	45'88	1'83	12'45	17'62	21'88
V.O.	6'8	59'35	4'67	11'51	12'22	12'22
T.G.	6'3	55'55	2'89	8'69	14'48	18'35
M.C.	6'9	58'29	2'51	8'04	12'06	19'09
R.P.	7'3	60'32	2'03	12'53	12'20	12'87
F.V.	---	53'06	3'44	9'54	12'72	18'82
J.N.	---	62'92	4'33	10'26	11'85	10'48
J.P.	---	52'71	2'33	7'27	12'46	25'19
F.M.	---	56'36	4'36	15'43	12'74	11'07
A.M.	---	65'42	1'67	7'04	7'38	18'45
\bar{x}	6'9166	56'7508	3'1308	10'0475	12'4075	17'0558
S	0'3709	5'1940	1'0797	2'8386	2'3905	4'5679
C.V.	5'3624	9'1522	34'4863	28'3513	19'2665	26'7820
E.S.	0'1513	1'4993	0'3116	0'8223	0'6900	1'3186
n	6	12	12	12	12	12

PROTEINAS CUANTIFICADAS.

Nº	Nombre	Alfa ₁ -ant.	Alfa ₂ -M.	Cerulopl.	Complemt.	Transf.
1	F.B.	145	145	28	85	250
2	C.M.	169	199	24	115	245
3	J.M.	138	110	20	81	215
4	C.N.	212	130	19	69	205
5	J.G.	145	155	39	80	268
6	A.A	---	164	---	76	270
7	Y.A.	109	148	22	76	144
8	J.L.	138	156	25	101	262
9	P.A.	152	149	28	95	240
10	C.M.	190	149	26	100	245

PROTEINAS CUANTIFICADAS.

	Alfa ₁ -ant.	Alfa ₂ -M	Cerulopl.	Complemt.	Transf.
Media	155'3333	150'5000	25'6666	87'8000	234'4000
Varianza	946'5000	520'7222	35'2500	206'8444	1.452'2666
Desviacion standard	30'7652	22'8193	5'9371	14'3820	38'1086
Coefficiente varianza	19'8059	15'1623	23'1316	16'3804	16'2579
Varianza / n	105'1666	52'0722	3'9166	20'6844	145'2266
Error standard	10'2550	7'2161	1'9790	4'5480	12'0509
n	9	10	9	10	10

I N M U N O G L O B U L I N A S .

Nº	Nombre	IgG	IgA	IgM
1	F.B.	995	230	88
2	C.M.	796	175	74
3	J.M.	1.049	284	95
4	C.N.	1.116	207	80
5	J.G.	1.074	310	99
6	A.A.	986	248	104
7	Y.A.	1.460	220	82
8	J.L.	1.001	190	69
9	P.A.	895	260	77
10	C.M.	949	199	96

I N M U N O G L O B U L I N A S :

	IgG	IgA	IgM
Media	1.032'000	232'3000	86'4000
Varianza	30.899'211	1.855'7888	138'0444
Desv.Standard	175'781	43'0788	11'3492
Coef.Varianza	17'031	15'4440	13'5986
Varianza/n	3.089'921	185'5788	13'8044
Error Standard	55'587	13'6227	3'7164
n	10	10	10

P A T R O N E S:

	Ac.Sialico	Hexosm.	MucoPrt.	GlicoPrt.	Prealb.	MP ₁	MP ₂	MP ₃	Gamma
C.N	59'58	45'00	42'36	122'00	3'458	14'36	49'34	18'62	13'56
O.L.	66'69	49'40	95'20	159'00	3'789	12'63	41'46	30'31	26'94
S.G.	52'35	49'40	71'40	122'20	5'670	8'69	39'31	30'24	15'87
V.O.	45'60	47'45	74'82	125'00	2'364	11'22	40'77	24'82	20'68
T.G.	39'33	91'50	51'50	116'00	7'107	18'62	31'37	26'47	16'42
M.C.	41'61	59'00	47'60	133'50	6'341	17'56	34'14	26'82	17'07
R.P.	65'83	90'00	78'65	127'00	6'664	11'90	34'27	26'67	20'11
F.V.	56'14	62'55	47'60	103'00	9'755	14'85	36'08	25'23	15'21
J.N.	47'02	53'15	57'12	165'00	4'515	8'60	45'58	29'34	11'61
J.P.	47'59	74'50	59'50	159'25	6'357	12'38	31'94	25'26	23'96
F.M.	63'84	84'00	61'90	153'60	---	---	---	---	---
A.M.	55'29	76'50	49'98	140'00	3'990	12'18	40'95	22'89	15'33
\bar{x}	53'4062	65'2041	62'3025	135'4625	5'4554	13'0026	38'6593	26'0644	17'8901
-	9'3546	17'2874	14'8432	19'8094	2'0897	3'1811	32'4467	11'5734	21'0302
C.V.	17'5159	26'5127	23'8244	14'6235	38'3051	24'4651	14'7343	13'0519	25'6331
E.S.	2'7004	4'9904	4'2848	5'7184	0'6300	0'9591	1'7174	1'0257	1'3826

PRIMERA SERIE

PROTEINAS TOTALES Y PROTEINOGRAMAS.

Nº	Nombre	P.T.	Alb.	Alfa ₁	Alfa ₂	Beta	Gamma
1	C.M.	6'5	50'0	3'5	11'9	13'6	20'3
2	A.G.	5'7	59'2	3'5	9'6	15'3	12'4
3	J.F.	6'4	56'0	4'2	11'1	10'9	17'8
4	A.M.	6'8	56'2	3'2	9'7	12'8	18'1
5	J.C.	5'8	54'5	4'3	11'3	11'6	18'4
6	M.B.	5'2	55'2	4'1	9'6	14'8	16'2
7	A.Z.	7'0	54'2	3'1	9'5	12'6	20'4
8	A.C.	7'1	51'7	3'6	13'1	12'8	17'9
9	C.D.	6'5	46'7	4'5	13'1	14'2	21'5
10	J.Z.	6'8	55'6	4'4	10'8	12'9	17'3

PROTEINAS TOTALES Y PROTEINOGRAMAS.

Nº	Nombre	P.T.	Alb.	Alfa ₁	Alfa ₂	Beta	Gamma
11	M.M.	5'8	54'5	3'2	10'9	13'6	17'8
12	L.T.	6'9	59'5	3'6	10'1	8'3	18'5
13	F.F	7'6	55'6	3'4	10'6	12'3	18'1
14	F.T.	7'9	53'2	3'1	11'4	12'0	20'3
15	V.N.	6'5	55'5	4'2	11'8	10'6	17'9
16	M.R.	7'3	54'4	3'5	13'2	12'1	16'8
17	F.M.	7'8	55'0	3'4	13'2	10'3	18'1
18	M.J.	7'9	53'9	3'4	10'9	11'6	20'2
19	M.M.	7'6	50'5	5'9	11'8	12'7	19'1
20	M.N.	7'3	43'7	3'6	13'8	11'6	27'3

PROTEINAS TOTALES Y PROTEINOGRAMAS.

Nº	Nombre	P.T.	Alb.	Alfa ₁	Alfa ₂	Beta	Gamma
21	J.J.	7'2	45'3	3'2	14'6	13'8	23'1
22	F.I.	6'8	38'1	3'3	12'1	11'8	26'8
23	E.C	6'1	53'5	3'6	10'2	13'1	19'6
24	F.T.	8'1	54'0	3'3	10'6	15'8	16'1
25	M.C.	7'5	53'5	3'2	13'8	11'2	18'3
26	P.R.	7'1	54'2	3'8	10'3	13'7	18'1
27	A.M.	7'5	55'7	3'4	10'2	12'6	18'1
28	P.M.	6'7	53'8	5'2	10'9	11'6	18'5
29	J.F.	7'2	53'9	3'4	12'3	13'6	16'8
30	A,G.	6'5	48'5	5'9	10'6	12'6	22'4

PROTEINAS TOTALES Y PROTEINOGRAMAS.

Nº	Nombre	P.T.	Alb.	Alfa ₁	Alfa ₂	Beta	Gamma
31	M.P.	7'8	43'0	3'1	11'2	11'6	17'1
32	L.G.	7'2	56'5	3'7	11'1	10'6	18'1
33	L.L.	5'8	54'4	3'6	13'3	11'8	16'9
34	M.C.	7'2	52'1	1'2	12'5	11'4	17'8
35	A.M.	6'5	56'9	2'5	10'6	12'5	17'5
36	I.F .	7'4	54'2	4'1	10'5	12'1	18'1
37	R.S.	6'3	61'0	2'4	9'2	12'6	13'8
38	J.C.	6'4	55'7	3'6	10'2	12'8	17'7
39	J.I.	7'9	54'2	3'2	9'8	9'8	14'8
40	A.G.	7'8	54'0	4'6	11'6	9'2	19'7

PROTEINAS TOTALES Y PROTEINOGRAMA.

	P.T	Alb.	Alfa ₁	Alfa ₂	Beta	Gamma
Media	6'9350	53'1900	3'6500	11'3250	12'2700	18'5925
Varianza	0'5095	20'4511	0'7082	1'8675	2'3436	7'9007
Desviacion tipica	0'7137	4'5222	0'8415	1'3665	1'5308	2'8108
Coeficiente varianza	10'2912	8'5019	23'0547	12'0662	12'4759	15'1179
Varianza/n	0'0127	0'5112	0'0177	0'0466	0'0585	0'1975
Error satandard	0'1126	0'7149	0'1330	0'2158	0'2418	0'4444
n	40	40	40	40	40	40
P	0'5875 0'475	0'0125 0'01	0'05 0'025	0'025 0'0125	0'45 0'40	0'10 0'05

I N M U N O G L O B U L I N A S .

Nº	Nombre	IgG	IgA	IgM
1	C.M.	1/512	1/32	1/4
2	A.G.	1/128	1/16	1/2
3	J.F.	1/256	1/32	1/4
4	A.M	1/256	1/64	1/4
5	J.C.	1/256	1/32	1/4
6	M.B.	1/256	1/32	1/4
7	A.Z	1/256	1/32	1/4
8	A.C.	1/512	1/16	1/4
9	C.D.	1/512	1/32	1/4
10	J.Z.	1/256	1/32	1/4

I N M U N O G L O B U L I N A S .

Nº	Nombre	IgG	IgA	IgM
11	M.M.	1/256	1/64	1/4
12	L.T.	1/256	1/64	1/4
13	F.F.	1/256	1/32	1/4
14	F.T.	1/256	1/32	1/4
15	V.N.	1/256	1/32	1/4
16	M.R.	1/256	1/32	1/4
17	F.M.	1/256	1/32	1/4
18	M.J.	1/256	1/32	1/4
19	M.M.	1/256	1/32	1/4
20	M.N.	1/256	1/64	1/4

I N M N O G L O B U L I N A S .

Nº	Nombre	IgG	IgA	IgM
21	J.L.	1/512	1/64	1/1
22	F.I.	1/256	1/64	1/4
23	E.C.	1/512	1/64	1/4
24	F.T.	1/256	1/32	1/2
25	M.C.	1/256	1/32	1/4
26	P.R.	1/256	1/64	1/4
27	A.M.	1/256	1/32	1/4
28	P.M.	1/256	1/32	1/4
29	J.F.	1/512	1/32	1/2
30	A.G.	1/512	1/32	1/4

I N M U N O G L O B U L I N A S

Nº	Nombre	IgG	IgA	IgM
31	M.P.	1/256	1/32	1/4
32	L.G.	1/256	1/32	1/4
33	L.L.	1/256	1/16	1/4
34	M.C.	1/256	1/16	1/4
35	A.M.	1/256	1/32	1/4
36	I.F.	1/256	1/32	1/4
37	R.S.	1/64	1/32	1/8
38	J.C.	1/256	1/16	1/4
39	J.I.	1/512	1/32	1/4
40	A.G.	1/256	1/16	1/4

SEGUNDA SERIE

PROTEINAS TOTALES Y PROTEINOGRAMA.

Nº	Nombre	P.T.	Alb	Alfa ₁	Alfa ₂	Beta	Gamma
1	C.M.	6'8	51'1	3'4	9'7	12'6	22'8
2	M.C.	7'1	54'4	1'2	8'7	14'2	20'1
3	M.R.	7'9	50'5	2'7	12'9	16'4	16'4
4	J.R.	6'8	56'5	3'1	12'3	10'8	17'5
5	A.V.	7'2	40'9	3'1	14'2	8'8	25'0
6	A.R.	7'7	49'4	3'1	12'5	13'2	22'8
7	C.D.	7'6	49'7	3'4	12'3	13'6	19'8
8	R.S	7'6	49'2	2'6	10'8	12'3	15'9
9	P.R.	6'5	48'0	2'1	11'4	11'4	22'3
10	E.G	7'7	49'9	3'1	11'4	16'1	20'0

PROTEINAS TOTALES Y PROTEINOGRAMAS.

Nº	Nombre	P.T.	Alb.	Alfa ₁	Alfa ₂	Beta	Gamma
11	V.C.	7'6	54'1	1'7	8'9	11'4	23'2
12	F.T.	8'0	48'0	3'0	10'0	19'0	20'0
13	M.P.	7'2	57'8	2'9	9'7	9'1	19'8
14	F.F.	7'0	45'4	3'3	13'1	15'2	23'1
15	A.M.	7'5	53'2	4'1	14'5	9'2	20'0
16	L.T.	6'9	59'5	2'6	11'1	8'3	17'5
17	A.Z.	6'2	53'9	3'2	10'5	13'8	18'6
18	J.C.	7'3	54'5	5'2	10'1	10'8	19'4
19	J.F.	6'3	54'2	3'6	10'2	15'8	16'2
20	J.R.	7'0	52'3	2'9	12'4	11'9	14'4
21	F.B.	7'1	49'4	4'7	14'2	14'6	17'2

PROTEINAS TOTALES Y PROTEINOGRAMA.

	P.T.	Alb.	Alfa ₁	Alfa ₂	Beta	Gamma
Media	7'1904	51'5190	3'0952	11'4714	12'7857	19'6190
Varianza	0'2509	18'2286	0'7884	2'9911	7'9982	8'0546
Desviacion standard	0'5008	4'2694	0'8879	1'7294	2'8281	2'8380
Coefficiente varianza	6'9648	8'2870	28'6863	15'0757	22'1192	14'4655
Varianza / n	0'0119	0'8680	0'0375	0'1424	0'3808	0'3835
Error standard	0'1090	0'9316	0'1936	0'3773	0'6170	0'6192
n	21	21	21	21	21	21
P	0'15 0'10	0'0025 0'0005	0'475 0'45	0'05 0'025	0'35 0'30	0'05 0'025

PROTEINAS CUANTIFICADAS.

Nº	Nombre	Alfa ₁ -ant.	Alfa ₂ -M	Cerulopl.	Complemt.	Transf.
1	C.M.	152	170	---	---	200
2	M.C.	62	135	---	88	270
3	M.R.	---	140	---	83	288
4	J.R.	140	205	39	---	250
5	A.V.	127	160	50	---	190
6	A.R.	132	235	47	210	250
7	P.R.	83	150	---	70	---
8	R.S.	83	215	32	94	220
9	C.D.	126	120	--	99	295
10	E.G.	115	135	---	85	275

PROTEINAS CUANTIFICADAS.

Nº	Nombre	Alfa ₁ -ant.	Añfa ₂ -M.	Cerulopl.	Complemt.	Transf.
11	V.C.	84	230	26	---	170
12	F.T.	137	76	35	60	290
13	M.P.	100	---	---	75	---
14	F.F.	175	---	---	55	225
15	A.M.	169	170	61	97	240
16	L.T.	94	115	---	85	223
17	A.Z.	119	110	25	70	301
18	J.C.	---	180	---	---	---
19	J.F.	140	88	19	---	214
20	J.R.	92	123	---	200	195
21	F.B.	---	95	38	96	---

PROTEINAS CUANTIFICADAS

	Alfa ₁ -ant.	Alfa ₂ -M	Cerulopl.	Complment	Transf.
Media	118'3333	150'1052	37'2000	97'8000	240'9411
Varianza	1.000'1176	2.223'5438	163'0666	2.073'0285	1.654'6838
Desviacion standard	31'6246	47'1544	12'7697	45'5305	40'6778
Coeficiente varianza	26'7250	31'4142	34'3271	46'5547	16'8828
Varianza / n	55'5620	117'0286	16'3066	138'2019	97'4343
Error standard	7'4539	10'8179	4'0381	11'7559	9'8658
n	18	19	10	15	17
P	0'005 0'0025	0'495 0'49	0'0125 0'01	0'30 0'25	0'35 0'30

I N M U N O G L O B U L I N A S .

Nº	Nombrê	IgG	IgA	IgM
1	C.M.	1.375	206	85
2	M.C.	1.280	295	65
3	M.R.	1.320	100	88
4	J.R.	890	250	190
5	A.V.	1.330	440	50
6	A,R.	1.250	430	65
7	C.D.	880	210	117
8	R.S.	980	250	65
9	P.R.	1.670	210	74
10	E.G.	1.730	190	80

I N M U N O G L O B U L I N A S .

Nº	Nombre	IgG	IgA	IgM
11	V.C.	1.250	220	85
12	F.T.	1.830	295	88
13	M.F.	1.775	440	64
14	F.F.	1.250	165	150
15	A.M.	1.970	107	78
16	L.T.	2.640	217	96
17	A.Z.	1.128	460	71
18	J.C.	960	315	92
19	J.F.	899	136	79
20	J.R	1.220	190	66
21	F.B.	1.540	200	78

I N M U N O G L O B U L I N A S .

	IgG	IgA	IgM
Media	1.427'000	253'6190	86'9523
Varianza	208.691'300	11.834'7476	1.004'2476
Desviacion standard	456'827	108'7876	31'6898
Coefficiente varianza	32'013	42'8941	36'4450
Varianza / n	9.937'680	563'5594	47'8213
Error standard	99'687	23'7394	6'9152
n	21	21	21
P	0'01 0'005	0'30 0'25	0'4875 0'475

TERCERA SERIE

PROTEINAS TOTALES Y PROTEINOGRAMA.

Nº	Nombre	P.T.	Alb.	Alfa ₁	Alfa ₂	Beta	Gamma
1	J.S.	7'0	45'12	4'60	10'13	14'12	25'78
2	F.T.	6'6	48'80	7'65	12'55	13'40	19'00
3	M.R.	6'3	42'27	4'94	14'82	21'41	16'47
4	A.S.	7'4	41'47	5'42	14'03	15'63	26'47
5	P.P.	6'9	46'33	5'01	12'35	16'98	19'30
6	E.G.	7'1	65'92	2'98	7'51	11'21	12'35
7	C.S.	6'5	44'15	4'25	14'36	17'02	19'95
8	F.L.	6'7	62'95	2'65	10'01	11'84	12'52
9	M.R.	5'68	55'90	3'87	10'75	15'48	13'33
10	J.R.	6'5	56'90	2'70	10'50	8'70	16'70

PROTEINAS TOTALES Y PROTEINOGRAMA.

	P.T.	Alb.	Alfa ₁	Alfa ₂	Beta	Gamma
Media	6'6600	50'9810	4'4070	11'7010	14'5790	18'1870
Varianza	0'2471	77'7116	2'2865	5'4003	12'8131	25'1338
Desviacion standard	0'4970	8'8154	1'5121	2'3228	3'5795	5'0133
Coeficiente varianza	7'4624	17'2915	34'3113	19'8598	24'5594	27'5652
Varianza / n	0'0247	7'7711	0'2286	0'5400	1'2813	2'5133
Error standard	0'1571	2'7876	0'4781	0'7348	1'1319	1'5853
n	10	10	10	10	10	10
P	0'15	0'05	0'025	0'10	0'10	0'30
	0'10	0'025	0'0125	0'05	0'05	0'25

FRACCIONES GLICIDICAS DE LAS PROTEINAS

Nº	Nombre	GlicoP.	MucoP.	Hexosam.	Ac.Sialico
1	J.S.	174'32	72'59	112'75	62'13
2	F.T.	157'50	151'50	80'00	103'17
3	M.R.	147'00	102'70	90'50	68'68
4	A.S.	134'00	40'35	126'25	-- --
5	P.P.	138'00	72'59	116'25	45'03
6	E.G.	153'30	97'58	101'25	74'10
7	C.S.	145'00	48'79	114'75	95'63
8	F.L.	106'40	58'80	99'75	78'66
9	M.R.	120'80	88'06	64'65	64'12
10	J.R.	133'20	113'05	126'00	83'50

F R A C C I O N E S G L I C I D I C A S .

	GlicoP.	MucoP.	Hexosam.	Ac.Sialico
Media	145'3520	84'6010	103'2150	75'0022
Varianza	682'0892	1.109'7348	405'2650	17'7755
Desviacion standard	26'1168	33'3126	20'1311	17'7755
Coeficiente varianza	17'9679	39'3761	19'5040	23'6999
Varianza / n	68'2089	110'9734	40'5265	35'1077
Error standard	8'2588	10'5343	6'3670	5'9251
n	10	10	10	9
p	0'20	0'025	0'0005	0'0025
	0'15	0'125		0'0005

GLICIDOGRAMA.

Nº	Nombre	PreAlb.	MP ₁	MP ₂	MP ₃	Gamma
1	J.S.	0'43	13'36	44'82	25'42	15'94
2	F.T.	5'29	12'00	47'75	19'06	15'88
3	M.R.	2'87	23'81	34'90	28'74	9'85
4	A.S.	0'00	18'59	46'48	22'65	12'20
5	P.P.	5'32	13'91	39'36	27'52	13'91
6	E.G.	1'25	19'22	45'98	21'31	12'12
7	C.S.	1'35	9'26	46'10	21'92	21'24
8	F.L.	0'34	13'18	43'37	29'49	12'14
9	M.R.	4'86	14'04	42'12	22'14	15'12
10	J.R	1'14	7'60	57'00	17'10	17'10

GLICIDOGRAMA.

	PreAlb	MP ₁	MP ₂	MP ₃	Gamma
Media	2'2850	14'4970	43'7880	23'5350	14'5500
Varianza	4'5462	23'4002	16'2263	17'0789	10'5557
Desviacion standard	2'1321	4'8373	4'0281	4'1326	3'2492
Coefficiente varianza	93'3085	33'3675	9'1990	17'5593	22'3312
Varianza / n	0'4546	2'3400	1'6226	1'7078	1'0557
Error standard	0'6742	1'5297	1'2738	1'3068	1'0274
n	10	10	10	10	10
P	0'0025	0'25	0'025	0'10	0'05
	0'0005	0'20	0'0125	0'05	0'25

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos, en nuestras determinaciones, nos permiten sacar las siguientes conclusiones:

1ª.- Las alteraciones del espectro proteico, no llegan a alterar la proteinemia total.

2ª.- Existe una disproteinemia, fruto del fenómeno inflamatorio, que se refleja, en el descenso albumínico. Dicha disminución porcentual, se reparte por igual, entre todas las globulinas; aunque quizás, de manera más marcada, entre la alfa-2 y la gamma.

3ª.- La disminución de la alfa-1-antitripsina, nos lleva a suponer, que existe una predisposición, congénita o adquirida, en relación con esta proteina, que favorece la producción de broncopatías obstructivas. De cualquier forma, no puede descartarse, la posibilidad, de que este tipo de enfermedades sean las productoras de la disminución individual, de esta proteina.

4ª.- No obstante, la disminución anteriormente citada, de la alfa-1-antitripsina, la fracción alfa-1-globulina, del proteinograma, no se halla disminuida, sino incluso aumentada, debido a los reactantes de fase aguda.

5ª.- Se operan fenómenos de importancia, fruto

de las reacciones inmunológicas; encontramos así, variaciones en las inmunoglobulinas IgG e IgA, que aumentan de manera difusa. El aumento, es especialmente a expensas de la IgG, que como sabemos, aumenta durante los fenómenos en que se hace necesaria, una inmunidad específica y mantenida. Ello es fruto, -- pues, de los continuos fenómenos inmunológicos que en el bronquio se producen.

6a.- Hay un aumento de las glicoproteínas totales, si bien no alcanza significancia estadística, debido a -- que a la par de aumentar una serie de proteínas, otra se inhibe.

7a.- Las glicoproteínas percloricosolubles, que son aquellas más ricas en hidrato de carbono, también tienden a aumentar, pero sin significación.

8a.- El aumento del ácido siálico, refleja un mayor aumento de finales de cadenas glicídicas, y/o, que hay un mayor número de cadenas que terminan en ácido siálico.

9a.- La gran significación del aumento de las hexosaminas, denota, que aumentan también los "enganches" con las proteínas y/o los "nudos" donde se hacen las ramificaciones de las cadenas hidrocarbonadas.

10ª.- Consideradas las variaciones de las fracciones glicídicas, nos permiten suponer, una alteración en la fracción de las glicoproteínas, que correría pareja con la alteración, de la constitución, de las glicoproteínas secretorias y tisulares de estos enfermos, que condicionaría su particular manera de reaccionar. Según esto, la alteración tisular pulmonar, que conlleva al enfisema y las alteraciones del moco (viscosidad, solubilidad, etc.) son fruto de dichas alteraciones.

BIBLIOGRAFIA

- (1) FRANKEL: citado por Stahelin (2).
- (2) STAHELIN: Die erkzankungen der trachea der bronchien der Lungen; der pleuren. Handb d. in. Med.: 2-II, 1930.
- (3) BIDERMAN, M.: Comunicación a la IV Reunión Anual de la S. E. P. A. R. Zaragoza, 1971.
- (4) STWART-HARRIS, D.H.: Patogénesis de la bronquitis crónica y del enfisema. Scott. Med. J.: 10-93, 1965.
- (5) JANGIK y cols.: Pneumopathies chroniques non spécifiques. Enquête épidémiologique à Brno.: Les bronches.: XIX-2, 1969.
- (6) Informe del Real Colegio de Médicos de Londres.: "El tabaco y la salud hoy", 1971.
- (7) EVELYN, J.: citado por Max Biderman (3).
- (8) Informe del Colegio de Médicos de Gran Bretaña.: "La bronquitis crónica en Gran Bretaña". Brit. Med. J.: 2-973, 1961.
- (9) Real Colegio de Médicos: "Tabaquismo y salud". Putman. Londres, 1961.
- (10) HERNANDEZ, J.A. y cols.: Defectos parenquimatosos pulmonares en perros despues de una exposición prolongada al humo del tabaco. : An. Rev. Resp. Dis.: 93-78, 1966.
- (11) TIFFENAU, R.: "Les bronchites croniques et emphyseme. Définitiones, mesures, relation". Les Bronches.: 4-146, 1969.
- (12) SIMONSSON, B.G.: "Bronchial reactivity". Thorax.: 12-315, 1969.
- (13) COLLEY y REID.: citados por Max Biderman (3).
- (14) FLETCHER y cols.: Síntomas respiratorios de la bronquitis

- crónica en una población trabajadora.: Brit, Med. J.: -
2-257, 1959.
- (15) MITCHEL, F.B.: Le poumon et le coeur.: 24, 1969.
- (16) SADOUL, P., METZ, J. et SAUMIER, C.: Intérêt des èpreu-
ves fonctionnelles dans le diagnostic et le traitement
des bronchites chroniques. J. Fr. Med. Chir. Thor.: 11-
664, 1957.
- (17) AMIOT, C.: Le test quantitatif acetylcholinique utilisè
dans l'exploration de la ventilation pulmonaire. Resul-
tates obtenus dans 1000 èpreuves. Etude critique de la
mèthode. Thèse Paris, 1967.
- (18) GOTSCHLICH, citado en "Traité de Phtisiologie clinique.
Vigot Freres ed., Paris, 1953.
- (19) HAVEZ, R., DEGAND, P, ROUSSEL, P. et RANDOUX, A.: "Dèfi-
nition Biochimique dy mucus bronchique". Le poumon et -
le coeur.: 26-1, 1970.
- (20) CRAGG, J. et SMITH, S.G.: Some properties of respirato-
ry tract mucus. Arch. Inter. Med.: 107-81, 1961.
- (21) HAVEZ, R. and ROUSSEL, P.; Etude des structures fibri--
llaires de secretion bronchique humaine. Clin. Chim. Ac-
ta.: 17-281, 1961.
- (22) BURGI, H., REGLI, J. et MEDICI, T.: L'examen des differen-
tes systemes de fibres dans l'expectoration. Med. Hyg.
23-1169, 1965.
- (23) FLOREY y cols.: citado por Havez (21).
- (24) HEIDE, A. citado por E. López y J. Merino: El sistema de
excreción bronquial y sus alteraciones.: Archiv. de Bronc.
3-223, 1971.

- (25) GERNES-RIEUX, Ch., BISERTE, G., HAVEZ, R., OISIN, C. - ROUSSEL, P. et DEGAND.: Datos bioquímicos sobre el moco bronquial de la expectoración. *Pren. Med. Argent.*: 53-426, 1966.
- (26) STARPIN, A.S.: "Les immunoglobulines et le secretion des bronchies". *Le Bronch.*: 4-229, 1971.
- (27) BROCKLEHURST, W.E. y HAHIRI, S.C.: Formation and destruction of bradykinin in anaphylaxis. *J. Physiol.* : 180-39, 1963.
- (28) DIAZ DA SILVA, W. y LEPOW, I.H.: "Complement as a mediator of inflammation". *J. Exp. Med.*: 125-921, 1967.
- (29) MULLER-EBERHARD, H.J. y cols.: "Formation and functional significance of a molecular complex derived from the second and the fourth component of human complement. *J. Exp. Med.* : 125-339, 1967.
- (30) JENSEN, J.: Anaphylatoxin in its relation to the complement system. *Science.*: 155-1122, 1967.
- (31) SANCHEZ GUIJO, P.: La autoinmunidad en las conectivopatías. Publicación de la Universidad de Sevilla, 1971.
- (32) HELYER, B.J. y HOWES, S.B.: "Spontaneous autoimmune disease". *Brit. J. Haemat.*: 9-119, 1963.
- (33) BURNET, F.M.: "Role of the thymus and related organs in immunity". *Brit. Med. J.* : 2-807, 1972.
- (34) POLIGARD, A. y GALY, P.: L'appareil broncho-pulmonaire. Structures et mécanismes à l'état normal et pathologique. Masson ed., 1970.
- (35) LOPEZ, E. y MERINO, J.: ver cita 24.

- (36) BOYD, E.M.: Expectorants and respiratory tract fluid. - Pharmacol. Rev.: 6-521, 1954.
- (37) CARSON, S., GOLDHAMER, R. et CARPENTIER, R.: "Mucus transport in the respiratory tract. Amer. Rev. Resp. Dis.: - 94-86, 1966.
- (38) NUN, J.F.: Applied respiratory physiology. Butterworth ed. London, 1969.
- (39) NIETO, P. y CABRERA, M.: "Funciones de los bronquios y 9 sus alteraciones (1ª Parte). Pren. Med. Argent.: 53-461, 1966.
- (40) NIETO, P. y CABRERA, M (ver 39) II Parte. Pren. Med. Argent.: 54-480, 1967.
- (41) GIBSONS, citado por Policard (34).
- (42) BARIETY, M.; Bronchites chroniques. Intèret actuel. Etiologie. Le poumon.: 20-651, 1964.
- (43) GRAY, citado por López Boquet (24).
- (44) KRUEGER y SMITH, citados por López Boquet (24).
- (45) SADOUL: "Definition et limites de la bronchite chronique. La Revue du Practicien.: 13-22, 1966.
- (46) WHITWELL.: Etude de la pathologie et de la pathogenie de la bronchectasie.: Thorax.: 3-213, 1952.
- (47) PASTEUR VALLERY-RADOT, WOLGROM, R., CHAPIN, J. et HALPERN: Maladies allergiques. Flammarion Ed., Paris, 1963.
- (48) BABE, A.: Semiologie respiratoire. Revue du Pract.: 12-412, 1962.

- (49) BRILLE, A., VAST, C. y ATLANG, G.: Discussion: 2º Symposium Internationell de Gronigen. Bronchites II von. Goucum Ed., 1964.
- (50) ATLAN, G.: La toux; Semiologie. Jour. F. de Med. et Chir. Thor. XXV-729, 1964.
- (51) ARNAUD, J., TULOU, P. y MERIGOT, R.: L'exploration de la fonction respiratoire. Masson Ed. Paris, 1967.
- (52) American Thoracic Society.: Chronic bronchitis asthma -- and pulmonary emphyseme: statement by Comitte on Diagnostic. Standards for Non-Tuberculous Respiratory Disease. Amer. Rev. Resp. Dis.: 85-762, 1962.
- (53) FLETCHER, G.M.: Bronchiteechronique: predominance, nature et pathogenie. Amer. Rev. Resp. Dis.: 80-482, 1959.
- (54) CHARPIN, J., BOUTIN, C. et ONRESSER, P.H.: Asthme. Encyclopedie Médico-Chirurgicale, 1967.
- (55) Medical Research Council Comitte on Etiology of Chronic Bronchites. Lancet: 1-775, 1965.
- (56) Reunión de la C.E.C.A., 1964, citado por Max Biderman (3).
- (57) American Thoracic Society (ver nota 52).
- (58) Informe de la O.M.S. referido por American Thoracic Society (52).
- (59) DADDI, G.: Rapports entre l'asthme et le bronchite chronique. Le Bronche.: 4-207, 1966.
- (60) ISRAEL-ASSCLAIM et POCIDALO, J.J.: Respiration Maladies respiratoires. Flammarion, Paris, 1971.
- (61) D.A.B. Diccionario de Medicina y Cirugia. Madrid, 1800.

- (62) SAUVAGES: Nosología, citado por D.A.B. (81).
- (63) ORIE: citado por Parash WE. Lancet, 1970.
- (64) BISERTE, G. y cols.: Les glycoproteides des secretions - bronchiques. Expos. Ann. Biochim. Med.: 24-85, 1963.
- (65) QUEVAUVILLER, A.-Vu NGOL HUYEN et GARGET, S. : Methodes d'etude experimentales des modificateurs des secretions bronchiques. Poumon: 26-71, 1970.
- (66) DEGAND, P., ROUSSEL, P., RAIDOME, A., MOSCHETTO y HAVEZ, R.: "Etude des glycopeptides du mucus fibrillaire de la secretion bronchique. 16^e Colloque Bruge, 1968.
- (67) ERIKSSON, S.: Studies in alpha-1-antitrypsin deficiency. Acta. Med. Scand, 432 (Supplement): 1, 1965.
- (68) FALK, G.A. y SMITH, J.P.: Chronic Bronchitic: Manifestation of homocigous alpha-1-antitrypsin deficiency. Chest.: 166, August, 1971.
- (69) LARSON, R. K. y cols.: Genetic and enviromental determinant of chronic obstructive pulmonary disease. Annals. - of Intern. Med.: 72-627, 1970.
- (70) PORTER, G.A. y cols.: Alpha-1-antitrypsin deficiency and neonatal hepatitis. Brit. Med. J.: 3-435, 1972.
- (71) STEVENS, B.M. y cols.: Pathophysiology of hereditary emphysema. Annals. of Intern. Med.: 74-672, 1971.
- (72) STEIN y cols.: Pathophysiology of the pulmonary Circulation in emphysema associated with alpha-1-antitrypsin deficiency. Circulation: 43-227, 1971.
- (73) Symposium International sobre la Proteolisis y el Enfise ma pulmonar. Pasadema, 1972.

- (74) KUEPPERSF, F.; BEARNAG.: Science: inherited variations - of human serum alpha-1-antitrypsin. 154-407, 1966.
- (75) KUEPPERSF, F.: Obstructive lung Disease and antitrypsin deficiency gene heterozigoty. Science: 165-899, 1969.
- (76) MASSARO, D. y cols.: Racial difeerences in incidentes of chronic Bronchitis: Priliminary repport. Amer. Rev. Resp. Dis.: 92-94, 1965.
- (77) MUÑOZ DIAZ, L.: Los glucocorticoides en el tratamiento - del asma bronquial. Rev. Clin. Esp.: 120-469, 1971.
- (78) VILLAR, J.: Comunicación personal (ver nota 138).
- (79) SYLLA, A.: Patología y Clínica de las enfermedades del - aparato respiratório. Ed. Marín, Barcelona, 1947.
- (80) HOUSSAY y cols.: Fisiología humana. Ed. Ateneo. Buenos - Aires, 1960.
- (81) AGUSTI VIDAL, A.: Relaciones entre asma bronquial y enfi - sema. Primera Ponencia del VIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Alergia, 1969.
- (82) JIMENEZ DIAZ, C.: Rev. Ibys. XXIV-4, 1966.
- (83) VANE, J.R. CIBA Foundation, 1971.
- (84) CHARPIN, J. y cols.: Le Poumon et le coeur. 20-691, 1964.
- (85) TRINQUET, G.: Factores alérgicos en la bronquitis crónica. Arch. de Bron.: 3-227, 1971.
- (86) LAENEC, citado por J. Díaz (ver cita 82).

- (87) GUTMAN, A.B.: Advances in protein Chemistry. T. 4; Acad. Press, Inc. New York, 1948.
- (88) PEDERSEN, K.O.: Ultracentrifugal studies on serum and serum fractions. Almqvist a. Wilsells. Upsala, 1945.
- (89) ROBERT, B., and ROBERT, L.: Protides of the Biol. Fluids Elsevier ed. Amsterdam, 1960.
- (90) MCFARLANE, H.S.: Biochem. J.: 29-407, 1935.
- (91) MACKAY, I.R.: J. Clin. Invest.: 33-855, 1954.
- (92) DUAGHADAY, W.H.: J. Clin. Invest.: 35-1428, 1956.
- (93) CECIL, R. and WAKE, R.G.: Biochem, J.: 82-401, 1962.
- (94) HOCH, H. and CHANUTIN, A.: Arch. Biochem. Biophys.: 51-271, 1954.
- (95) PAULING, L. and COREY, R.B.: Two Hydrogen-bounded spiral configuration of the polypeptide-chain.: J. Amer. Chem. Soc.: 72-5349, 1950.
- (96) PAULING, L. and COREY, R.B.: The configuration of polypeptide chains in protein. Conseil de Chimie.: 9-63, 1953.
- (97) CRICK, F.H.C.: Acta Cryst.: 6-698, 1953.
- (98) KELLER, E.B.: J. Histochem. Cytochem.: 2-376, 1954.
- (99) WATSON, J.D. and CRICK, F.H.C.: Structure and function of cromosomal DNA. Nature.: 171-737, 1953.
- (100) HOFMEITSTER, 1886. Citado por Rimington. Según J. Gras -- (Proteinas plasmáticas, Ed. Jims, 1967).
- (101) TISELIUS, A.: Trans Faraday Soc.:33-524, 1937. Biochem. J.: 31-1464, 1937.

- (102) WUNDERLY, G.H.: La electroforesis en papel.:Ed. Científico Médica, 1960.
- (103) JAHNKE, K. and SCHOLTAN, W.: Die Bluteiweisskörper in - der Ultrazentrifuge.: Georg. Thieme. Stuttgart, 1960.
- (104) GRABAR, P. y BURTIN, P.: Analyse Immuno-electroforetique.: Masson ed. Paris, 1960.
- (105) SCHULTZE, H.E. and HEREMANS, J.F.: Molecular Biology of human proteins. Vol. 2. Elsevier Ed. Amsterdam, 1966.
- (106) WINZLER, R.J.: Glycoproteins. En "The Plasma Proteins"; Ed. F.W. Putman V.L.: Acad. Press. New York, 1960.
- (107) Ver cita 105.
- (108) MUTZENBECHER, P. von.: Biochem. Z.: 266-259, 1933.
- (109) GOVAERTS, P.: Presse Med. : 32-950, 1924. Citado por J. Gras (100).
- (110) WUHRMANN, F. y MARKI, H.H.: Disproteinemias y Paraprotei_{nemias}. EB. Científico-Médica, 1966.
- (111) Ver cita 110.
- (112) WINZLER, R.J. and PUTNAM, F.W.: The Plasma Proteins.: - Academic. Press. New York, 1960.
- (113) HEREMANS, J.F. y COLS.: Studies on the immunoglobulins - of human serum.: J. Immunol.: 91-11, 1963.
- (114) MISCHER, P.A. and MÜLLER-EBERHARD, H.J.: Tratado de inmu_{nopatología}.: Ed. Científico-Médica, 1971.
- (115) HAURGWITZ, F.: Chemistry and Biology of Proteins. Academic Press. New York, 1950.

- (116) BURNET, F.M.: The Clonal Selection Theory of acquired Immunity. Cambridge University Press. 1958.
- (117) GOTTSCHALK, A.: Glycoproteins their composition, structure and function. Elsevier Ed. Amsterdam, 1966.
- (118) SPIRO, R.: Glycoproteins: their Biochemistry, Biology - and role in human disease. New Engl. J. Med.: 281-19, - 1961.
- (119) SMIKMI, J.L.: Biosynthesis of Plasma Glycoproteins. Expose annuels de Biochemie Medicale. Masson Ed. 1970.
- (120) LABAT, J.: Exploration des glycoproteins seriques. Problemes actuels de Biochemie Appliquées. Masson Ed. 1970.
- (121) ROBERT, L. et ROBERT, B.: La biosynthesis des glycoproteines du tissue conjontif et sa regulation. Exposé annuels de Biochemie Medicale, Masson Ed., 1970.
- (122) GODMAN, G.C. y CHURG, J.: Wegener's granulomatosis. Pathologie and review of the literature.: Arch. Path. 58-533, 1954.
- (123) WALTON, E.W.: Giant-Cells granuloma of the respiratory tract (Wegener granulomatosis). Brit. Med. J.: 5-267, - 1958.
- (124) FROUTCHMAN, R., VIÑAS, J., RODRIGUEZ, J.L. y GARCIA, P.: Inmunoglobulinas en el asma bronquial. Rev. Clin. Esp. 4-122, 1971.
- (125) BLANCO GARCIA, J., ARRIBAS GASTRILLO, J.M., MARAÑÓN CABE LLO, A. y ROMERO, E.: Comportamiento de las inmunoglobulinas séricas en la T.B.C.: Enf. del torax, 82-193, 1972.
- (126) VIDAL, J. MICHEL, F.B. y ROBINET, LEVY, M.: Etude des IgA seriques au cours des bronchites chroniques de l'emphyse

me pulmonaire. Poumon et Coeur.: 10-1183, 1970.

- (127) FALK, G.A., SISKIND, G.W. y SMITH, J.P.Jr.: Inmunoglobulin elevations in the serum of patients with chronic -- bronchitis and emphyseme. J. Immunol. USA.: 6-1559, 1970.
- (128) VIDAL, J., GAZAL, P., ROBINET-LEVY, M. et MICHEL, F.B.: Presse. Méd.: 78-783, 1970.
- (129) Jornadas Montpellerianas de Neumología.: Presse Méd., - 38-1069, 1971.
- (130) HEPPEL, N.G., BLACK, L.F., GLEICH, G.J. et al.: The Prevalence of Alpha-1-antitrypsina deficiency in selected groups of patients with chronic obstructive lung disease. Mayo Clin. Proc.: 44-697, 1969.
- (131) RODRIGUEZ-PIÑERO, J., VILLAR, J. ORTIZ, G., PACHON, J. , NUÑEZ, C. y SANCHEZ GUIJO, P.: An. de Med. de Sevilla, - 1973.
- (132) VILLAR, J.: Comunicación personal (Tesis en desarrollo).
- (133) HENRY, R.J.: Clinical. Chemistry, Harper & Row Publishers, New York, 1964.
- (134) JOSEPHSON, G. and GYLLENSWÄRD, C.: Scand. J. Clin. Lab. Invest. 9-29, 1957.
- (135) WEICHSELBAUM, T.E.: Amer. J. Clin. Path., Techn. Bull.: 10-40, 1946.
- (136) SUNDERMAN, F.W.: Amer. J. Clin. Path.: 30-112, 1958.
- (137) TISELIUS, A.: Ver cita 101.
- (138) BLOCK, R.J., DURROM, E.L. and ZWEIG, G.: A Manual of Pa

per Chromatography and Paper Electrophoresis.: Acad. Press
New York, 1955.

- (139) CONNERTY, H.V. et al.: Simplified rapid method for the -
fixation of paper electrophoretograms. Amer. J. Clin. --
Path.: 30-343, 1958.
- (140) GRIFFITHS, L.L.: The electrophoresis of serum and other
body fluids in filter paper.: J. Lab. Clin. Med.: 41-188,
1953.
- (141) JENCKS, W.P. et al.: Paper Electrophoresis as a quantita
tive method.: Biochem. J.: 60-205, 1955.
- (142) WUNDERLY, C.: Immunoelectrophoresis, interpretation, re-
sults.: Adv. in Clinical Chemistry.: 4-207, 1961.
- (143) BRISHAMMAR, S. et al.: Immunological precipitates in aga
rose gels. Biochem. Biophys. Acta.: 53-518, 1961.
- (144) SMITHIES, O.: Molecular size and starch-gel electrophore
sis. : Biochem. Biophys. Acta. Suppl.: 1-125, 1962.
- (145) DAVIS y ORSTEIN. Citado por Schultze & Heremans (105).
- (146) NAKAMICHI, M. and RAYMOND, S.: Acrylamide gel electropho
resis of hemoglobin. Clin. Chem.: 9-135, 1963.
- (147) RAYMOND, S. and WANG, Vi-Ju.: Preparation of a properties
of acrylamide gel for use in electrophoresis.: Anal. Bio-
chem.: 1-391, 1960.
- (148) KOHN, J.: A cellulose acetate suporting medium for elec-
trophoresis.: Clin. Chem. Acta.: 2-297, 1957.
- (149) NERENBERG, S.T.: Electroforesis. Ed. Jims, 1968.
- (150) GRUNBAUM, B.W. y cols.: Microelectrophoresis cellulose -

- acetate membrane. Anal. Chem.: 32-361, 1960.
- (151) GRUNBAUM, B.W. y cols.: Densitometric evaluation of microelectrophoresis serum, proteins patterns on cellulose acetate membrane. Anal. Chem.: 33-860, 1961.
- (152) BRACKENRIDGE, C.J.: Variable dye uptake in the quantitative analysis of abnormal globulins by cellulose acetate electrophoresis. Anal. Chem.: 32-1359, 1960.
- (153) GRUNBAUM, B.W., LYONS, M., CARROL, N and ZEC, J.: Quantitative analysis of normal human serum proteins on permanently transparentized cellulose acetate membranes.: Microchemical J.: 7-54, 1963.
- (154) KOHN, J.: Cellulose acetate: 1) A micro-electrophoretic method. Nature.: 181-839, 1958.
- (155) KOHN, J.: A rapid small-scale electrophoresis and immunoelectrophoresis. Clin. Chem. Acta.: 3-450, 1958.
- (156) BRACKENRIDGE, C.J.: Optimal staining conditions for the quantitative analysis of human serum proteins fractions by cellulose acetate electrophoresis. Anal. Chem.: 32-1353, 1960.
- (157) OAKLEY, G.L. y FULTHORPE, A.J.: Antigenic analysis by diffusion. J. Path. Bact.: 65-49, 1953.
- (158) MANCINI, G., CARBONARA, A.O. and HEREMANS, J.F.: Immunological quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. Immunochem.: 2-35, 1965.
- (159) LAURELL, C.B.: Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies. Anal. Biochem.: 15-45, 1966.

- (160) SHETLAR, M.R. y cols.: Determination of serum polisaccharides by the triptofano reaction. Proc. Soc. Exp. - Biol. Med.: 67-125, 1948.
- (161) BADIN et JACKSON.: Ann. Biol. Clin.: 12-80, 1954.
- (162) WINZLER, R.J. y cols.: J. Clin. Invest.: 27-609, 1948.
- (163) MORGAN, W.T.J. and ELSON, L.A.: A colorimetric method for the determination of N-Acetylglucosamine and N-Acetylchondrosamine.: J. Biochem.: 988-1934.
- (164) CABEZAS, J.A. y VAZQUEZ PORTO, J.: Clinical Chemistry.: 10-11, 1964.
- (165) WINZLER, R.J.: Studies of the mucoproteins of human plasma. Determination and isolation.: J. Clin. Invest.: 27-609, 1948.
- (166) WINZLER, R.J.: Metabolism of Glycoproteins.: Clin. Chem. 11-339, 1965.
- (167) BOTTIGER, L.E. and CARLSSON, L.A.: Serum glycoproteins in normal man.: Clin. Chim. Acta.: 5-644, 1960.
- (168) SPIRO, R.G.: Glycoproteins, structure, metabolism and biology. New Engl. J. Med.: 269-566, 1963.
- (169) BOTTIGER, L.E. and HOLMSTROM, A.: Serum proteins bound carbohydrates in normal women.: J. Lab. Clin. Med.: 64-772, 1964.