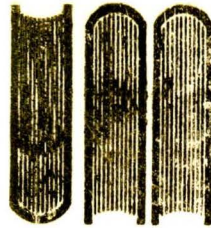


\$500.00
DCNE

18 FEB. 1983

UNIVERSIDAD DE MONTERREY
DIVISION DE CIENCIAS NATURALES
Y EXACTAS



UNIVERSIDAD
DE MONTERREY

folio
801400

Título
DETERMINACION CUANTITATIVA DE
INMUNOGLOBULINA G. SERICA HUMANA
POR LA TECNICA DE
ELECTROINMUNOENSAYO

Clasif.
040.54
6643d
1982
c.1

REPORTE DEL PROGRAMA DE
EVALUACION FINAL
QUE PRESENTA
autor
ELVIRA CECILIA GONZALEZ FLORES

EN OPCION AL TITULO DE
LICENCIADO EN QUIMICA CON
ESPECIALIDAD EN ANALISIS CLINICOS

Vo. Bo.
[Signature]

BIBLIOTECA
UNIVERSIDAD DE MONTERREY

MONTERREY, N. L.

DICIEMBRE DE 1982

A DIOS NUESTRO SEÑOR

A MIS PADRES

A MIS MAESTROS

A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS

Mi más sincero agradecimiento a la
Señerita Q.F.B. Maricela Ramírez B.
per su apoyo durante la realizaci3n
de este trabajo, per su confianza y
su amistad.

Tambi3n quiere agradecer a mis maes
tras: Q.F.B. Ma. de Lourdes Mart3nez
Q.F.B. Laura E. Garc3a T. y
Q.F.B. Teresa Jaramillo.

I N D I C E

INTRODUCCION -----	1
MATERIALES Y METODO -----	12
RESULTADOS -----	19
DISCUSION Y CONCLUSIONES -----	27
RESUMEN -----	35
BIBLIOGRAFIA -----	36

I N T R O D U C C I O N

El sistema inmunológico se define como el conjunto de fenómenos o procesos fisiológicos capaces de proporcionar al huésped una resistencia a configuraciones extrañas de naturaleza endógena o exógena, con o sin lesión en los tejidos, entendiéndose por resistencia un mecanismo de detección, metabolización y eliminación.

Para que se lleven a cabo las funciones de inmunidad, existe en los vertebrados un sistema celular ubicuo llamado sistema linforreticular. Comprende células que se encuentran en sangre, tejidos, timo; ganglios linfáticos, bazo y sistemas de órganos. (2)

El sistema inmune puede activarse por distintas sustan

cias con la característica común de ser identificadas por el huésped como extrañas.

La noción de especificidad es el punto cardinal en -- nuestro conocimiento sobre la naturaleza de la inmunidad adquirida, sin embargo, la completa interpretación de tales ideas no pudo llevarse a cabo hasta que se estableció la teoría microbiana de las enfermedades infecciosas. En primer lugar, se conoció que una determinada bacteria causaba cierta enfermedad; en segundo lugar, se advirtió la existencia de una resistencia específica frente a la bacteria o sus toxinas que prevenía recaídas de la misma enfermedad; en tercer lugar, se produjo el hallazgo en la sangre del hombre y de algunos animales recuperados de alguna enfermedad infecciosa, sustancias protectoras. A la sustancia protectora se le llamó Anticuerpo, porque actuaba contra el cuerpo extraño perjudicial; a su vez, al cuerpo extraño se le llamó Antígeno, porque conseguía elevar la producción de Anticuerpo. (2)

Los anticuerpos son proteínas séricas especializadas llamadas también inmunoglobulinas, éstas fueron reconocidas por Tiselius y Kabat en 1936 como "globulinas gamma", ya que migraban más lentamente hacia el ánodo en un campo eléctrico a un pH de 8.6 que las denominadas globulinas "alfa" y "beta". (7)

Al reunirse conocimientos adicionales, se descubrió -- que la fracción globulina "gamma" del suero consistía por lo menos, en cinco globulinas cuya actividad de anticuerpo podía diferenciarse por análisis antigénico. Estas globulinas se denominan como 'clases de inmuno--

globulinas' con las siguientes abreviaturas: IgG, IgA, IgM, IgD e IgE, que corresponden a la inmunoglobulina G, inmunoglobulina A, inmunoglobulina M, inmunoglobulina D e inmunoglobulina E respectivamente. (3)

Como se mencionó anteriormente, el análisis antigénico ha permitido detectar diferencias relativamente menores entre las moléculas de una clase dada de inmunoglobulina. De esta manera, han sido encontradas cuatro subclases para la IgG denominadas: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4; así como dos subclases para la IgA y dos para la IgD. (4)

A continuación se presenta una breve explicación de cada clase de inmunoglobulina.

La IgG constituye aproximadamente el 75% del total de las inmunoglobulinas del suero, y es, probablemente la más importante para el hombre. La IgG en el humano, pasa a través de placenta y desempeña un papel importante en la defensa de los neonatos contra la infección. La IgG puede actuar como anticuerpo frente a la mayor parte de las bacterias, virus y anticuerpos precipitantes. Los receptores del tipo IgG se encuentran en los monocitos y en algunos linfocitos. (3,4,5)

La IgA es la inmunoglobulina predominante en las secreciones corporales. La IgA secretoria proporciona el mecanismo de defensa primaria contra la infección local. Constituye el 15% del total de las inmunoglobulinas. -- El predominio de la IgA en las secreciones de las membranas, ha conducido a la especulación de que su principal función puede no ser la destrucción de los antígenos (por ejemplo, organismos microbianos extraños o cé-

lulas) sino más bien, la de impedir el acceso de estas sustancias extrañas al sistema inmunitario general.

(4)

La IgM constituye aproximadamente el 10% de las inmunoglobulinas séricas normales y por lo general, existe - como un pentámero con un peso molecular de 900,000 por lo que se considera como la de mayor tamaño. Es el - primer anticuerpo en aparecer cuando un antígeno se introduce por vez primera en un huésped, también es el - primero en aparecer en la filogenia y ontogenia, y el último en desaparecer en la vejez. Es un poderoso activador del complemento y molarmente es mucho más eficaz en las reacciones serológicas. (4,5)

La IgD es una inmunoglobulina relativamente lábil a la degradación por el calor y a las enzimas proteolíticas. Existen reportes aislados sobre la actividad de la IgD contra ciertas sustancias como la penicilina, las proteínas de la leche, el toxoide diftérico, los antígenos nucleares y los antígenos tiroideos. No obstante, la función principal de la IgD no ha sido aún determinada. (3)

La IgE representa a una clase importante de anticuerpos en el que se incluye a las reaginas. La caracterización de esta clase de inmunoglobulinas marcó un mayor avance en el estudio de los mecanismos involucrados en las enfermedades alérgicas. Tiene gran afinidad por la piel humana, leucocitos y otras células. Comprende el 0.044 % del total de las inmunoglobulinas. (4,5)

Para explicar la estructura de las inmunoglobulinas se utilizará a la IgG como modelo.

La molécula de inmunoglobulina está formada por cuatro cadenas polipeptídicas: dos cadenas pesadas (peso molecular 50,000) y dos cadenas ligeras (peso molecular 25,000) y están unidas entre sí por puentes disulfuro (S-S). (6)

Existen cinco variedades de cadenas pesadas las cuales designan cada clase de inmunoglobulina y se han denominado: gamma, alfa, miu, delta y epsilon, para la IgG, IgA, IgM, IgD e IgE respectivamente.

Así mismo existen dos tipos de cadenas ligeras llamadas kappa y lambda que son las mismas para cada clase de inmunoglobulina. (5)

Gracias a estudios llevados a cabo por Edelman y Porter, el conocimiento de la estructura de las Inmunoglobulinas progresó notablemente. Ellos emplearon enzimas proteolíticas que desdoblaron a la molécula en subunidades. Se vió que la papaína rompe a las cadenas pesadas de la IgG a nivel de los enlaces disulfuro entre las cadenas formándose dos fragmentos Fab y un fragmento Fc. Los fragmentos Fab (fracción anticuerpo) poseen un foco de fijación con el antígeno. El fragmento Fc (fracción cristalizante) ha perdido su capacidad de fijar el antígeno pero conserva muchas propiedades biológicas y antigénicas de la IgG. La digestión de la molécula de IgG con la enzima pepsina produce una molécula de $F(ab')_2$ y péptidos pequeños. Los fragmentos $F(ab')_2$ conservan dos focos de fijación del antígeno.

Cada molécula de inmunoglobulina contiene regiones - que poseen una secuencia variable de aminoácidos, es

tas regiones están localizadas en las porciones N-terminal de las cadenas pesadas y ligeras, el sitio activo del anticuerpo reside en esta área. Las regiones variables de la cadena pesada se designan como V_H y la región en la cadena ligera como V_L . También existen regiones constantes en las cadenas ligeras y en las pesadas denominadas así por la secuencia constante de aminoácidos, los dominios constantes en las cadenas pesadas se designan C_H y están divididos en dominios llamados C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} y C_{H4} , los dominios en las cadenas ligeras se designan como C_L .

La región C_H es específica para cada clase de inmunoglobulina.

Por otra parte, existe en las inmunoglobulinas la denominada región "bisagra" que se encuentra en la zona de las cadenas H en la región C entre el primero y el segundo dominio de la región C (C_{H1} y C_{H2}). Es más flexible y está más expuesta a las enzimas y a las sustancias químicas. La papaína actúa aquí produciendo los fragmentos Fab y Fc. (6)

En la actualidad, los métodos para la cuantificación de las inmunoglobulinas han tomado parte importante en los estudios inmunológicos. Estos métodos inmunquímicos están basados en la precipitación de los complejos antígeno- anticuerpo (Ag-Ac) sobre agar gel.

Feinberg implantó la técnica de difusión en gel con anticuerpo incorporado al agar, después este método fue modificado por Mancini.

Además del método anterior, existen otros, siendo el de especial interés el descrito por Laurell, en el año de 1966. En esta técnica, la reacción Ag-Ac ocurre durante la migración electroforética de una mezcla que contiene el antígeno en una placa de agarosa con anticuerpo. Tanto el antígeno como el anticuerpo presentan movibilidades electroforéticas específicas y reaccionan el uno con el otro, resultando zonas de precipitación en forma de flama de los complejos Ag-Ac.

El precipitado en forma de flama se obtiene porque la concentración de anticuerpo es menor que la de antígeno cuando éstos inician la migración desde los orificios hasta el interior del gel. (7)

Los inmunocomplejos migran hacia el ánodo y su concentración aumenta durante la electroforesis, así hasta alcanzar el punto de equivalencia para la precipitación. La distancia final recorrida por el pico depende del exceso relativo de antígeno sobre el anticuerpo y puede ser usada como medida de la cantidad del antígeno presente.

La electroforesis en un medio que contiene el anticuerpo se puede aplicar al estudio de los sitios antigénicos.

La técnica de Laurell se usa para la determinación cuantitativa de antígenos en soluciones que contienen de 500 a 12.5 ul/ml siempre y cuando el punto isoeléctrico del antígeno difiera con el del anticuerpo. (7)

Estudios sistemáticos de la velocidad de migración en un medio de agarosa que contiene anticuerpo han reve-

lado empíricamente que dentro de ciertos límites se puede establecer una relación lineal entre la distancia final de migración del frente de precipitación y la concentración del antígeno. Este método es apropiado para la determinación de proteínas del suero o de otros antígenos en diferentes líquidos corporales.

En general, solamente aquellas proteínas que tienen una gran velocidad de migración electroforética anódica queden cuantificarse por estas técnicas. Las velocidades de migración anódica pueden aumentarse para muchas proteínas por acetilación, formilación o por carbamilación. Estos procedimientos reducen el valor del pK para todas las proteínas, de tal modo que aumenta su carga neta negativa a un pH de 8.6. (8)

El método de carbamilación hace posible que la velocidad de migración anódica de muchas proteínas se vea incrementada durante la electroforesis.

La reacción es la siguiente:



En este proceso los grupos amino son convertidos a grupos carbamilamino, en contraste con los grupos amino son virtualmente no básicos. La proteína carbamilada es estable y puede someterse a la electroforesis sin mostrar cambios a 20°C. (8)

En lo que se refiere a el área de medicina diagnóstica, existen datos de gran importancia que pueden llevar a utilizar los resultados de la cuantificación de la IgG como herramienta diagnóstica para coadyubar con el médico a establecer el origen de una cierta enfermedad.

Los valores normales sanguíneos de las inmunoglobulinas se ven alterados si el individuo presenta algún estado patológico. Se ha visto que también influyen entre otros factores, la raza, el sexo y la zona geográfica - en que habita el individuo. (9)

Por otra parte, se ha observado una alteración en la síntesis de gammaglobulinas debido a infecciones causadas - por microorganismos y parásitos, así como por deficiencias vitamínicas y por ciertos tipos de fenómenos auto-inmunes. (9, 10)

En los países tropicales, la desnutrición es la causa -- principal de la muerte en los niños, si éstos sobreviven tendrán a lo largo de su vida, una alta predisposición a enfermedades de tipo inmunológico, ya que el bazo y el - timo sufren atrofia debido a la desnutrición. (10)

Esto ha llevado a los investigadores a realizar estudios que determinen el grado de variación de los valores normales de las inmunoglobulinas en individuos de distintas partes del mundo.

En poblaciones europeas de individuos normales, la síntesis de IgG varía de 23 a 36 mg/Kg/día, mientras que en - poblaciones africanas los valores corresponden de 50 a 169 mg/kg/día. También se demostró este incremento en - niños.

En otro estudio realizado en hombres y mujeres blancos y negros, se observó que los valores de IgG difieren entre ellos. Para los hombres blancos la concentración de IgG es de un 37.9% menor que para los negros y para las muje - res, la concentración es de un 23.5% menor con relación a las mujeres negras. (9)

Por otra parte, en estudios llevados a cabo en distintas regiones, se observó que los niveles de IgG aumentan al doble o al triple de lo normal en época lluviosa, mientras que estos niveles se incrementan sólo en un 1% durante la época de sequía. (9)

La altitud sobre el nivel del mar también hace variar la concentración de la IgG, se ha visto que los residentes de la Ciudad de México tienen un nivel significativo bajo de esta inmunoglobulina en relación con los residentes del puerto de Acapulco. (9,10)

La síntesis de inmunoglobulinas se ve alterada en enfermedades parasitarias. En pacientes con paludismo se observa hipergammaglobulinemia, en Leishmaniasis no hay cambios aparentes, lo mismo ocurre en la Filariasis, aunque puede manifestarse un ligero aumento.

En la Enfermedad del Sueño (Trypanosoma gambiense y T. rhodesiense) y en la Enfermedad de Chagas (T. cruzi) hay un aumento significativo de los niveles sanguíneos de la IgG en las etapas crónicas de dichas enfermedades. (9)

Cuando hay parasitosis por Ascaris lumbricoides se presentan alteraciones en los patrones de concentración de las inmunoglobulinas séricas, específicamente de IgG.

Por otra parte, en Triquinosis existe un incremento relativo de las células con capacidad sintetizadora de IgG.

En amibiasis causada por Entamoeba histolytica se observó un incremento de IgG igual a 32.00 mg/100ml de suero. También en abscesos hepáticos amibianos y en colitis amibiana aguda hay un aumento considerable de la IgG sérica. (9, 10)

En infecciones bacterianas también se altera la concentración de la IgG, las meningitis causadas por estafilococos y por el Bacilo de la Tuberculosis presentan un considerable aumento en la concentración de -- IgG. En la sífilis, la gonorrea y el cólera los niveles de IgG aumentan pero no de una manera significativa. (10)

Otras enfermedades en las que los valores de la IgG se ven alterados son: el Mieloma Múltiple, la Macroglobulinemia de Waldenström, el Linfoma de Burkitt, - el Sarcoma de Ewing, el Linfomasarcoma, la Leucemia Linfática Crónica y el Síndrome Nefrótico. (10)

El objetivo de este trabajo es determinar la concentración de la IgG en suero sanguíneo humano por la Técnica de Electroinmunoensayo desarrollada por Laurell.

M A T E R I A L E S Y M E T O D O S

En este estudio se llevó a cabo la cuantificación de la IgG sérica por el Método de Electroinmunoensayo de Laurell, realizándose en el Laboratorio de Análisis - Clínicos de la División de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Monterrey.

Para cuantificar la IgG en el suero sanguíneo de un grupo de personas escogidas al azar, se usaron estándares de concentración conocida con los cuales se -- construyó una gráfica para relacionar la concentra- -- ción de los estándares contra la altura de los precipitados y de esta manera, se determine la concentra- -- ción de las muestras.

Los estándares que se utilizaron para construir la gráfica fueron los siguientes:

Estándar No. 1: 44mg/100ml

Estándar No. 2: 98mg/100ml

Estándar No. 3: 194mg/100ml

Fue necesario diluir las muestras de suero en relación (1:10) ya que la concentración de los estándares anteriores no corresponde a los valores normales de la IgG en suero humano. Para obtener el valor real de la IgG, se multiplica la concentración de la muestra por el factor de dilución.

MATERIALES.

1.0 Aparatos.

1.1 Cámara Electroforética:

Consta de una cámara plástica que protege de un posible contacto accidental con el aparato durante la electroforesis. Dentro de esta cámara se colocan dos recipientes en los cuales se deposita el buffer adecuado (B.1), estos recipientes tienen una capacidad de un litro cada uno, volúmen que se necesita para prevenir cambios en el pH durante la electroforesis. Se utilizan también electrodos de Platino, los cuales van sumergidos en el buffer que con los pliegos de papel filtro cierran el circuito. Otra parte del aparato es la plataforma enfriadora, sobre la cual se colocan las placas de agarosa, a esta plataforma se le conecta un reciclador de agua que permite mantener constante la temperatura en el gel durante la electroforesis.

1.2 Fuente de poder:

La fuente de poder proporciona la corriente que debe aplicarse. El voltage debe mantenerse estable, se mide por medio de un voltímetro, se colocan los electrodos en los extremos de la placa de agarosa, estos electrodos están separados por una distancia de 4 cm, por lo que el voltage en la placa podrá tener un rango de variación de 0-25 V/cm.

2.0 Accesorios.

2.1 Perforador de gel:

Son unos tubos de acero inoxidable con los cuales se hacen los orificios en el gel. Tienen diferentes diámetros, los cuales corresponden al volumen de la muestra que deberá aplicarse. En este trabajo se utilizó el perforador de 2.5 mm que corresponde a un volumen de 5 ul de muestra.

2.2 Plantilla:

Consiste en una placa base en la que se colocan las placas conteniendo agarosa. Tiene una especie de puente en el que están marcados una serie de orificios que sirven para guiar el momento de hacer las perforaciones en la agarosa.

2.3 Placas de vidrio:

Sobre estas placas se coloca la agarosa y su tamaño puede variar, así pueden usarse placas de 10 x 10 para 15 ml de agarosa y de 10 x 5 cm para 8 ml de agarosa.

2.4 Mesa horizontal:

Es una placa de vidrio grueso que debe nivelarse

antes de su uso, ya que se utiliza para vertir la agarosa sobre las placas de vidrio. De esta forma la agarosa debe quedar uniformemente distribuida sobre la placa.

Las placas y todo el material de vidrio que se utilice deberá de lavarse perfectamente con jabón y después con extrán y enjuagarse con agua destilada. Las placas deben de estar secas antes de usarse.

En este trabajo las placas utilizadas son de 10 x 10 cm que corresponden a 15 ml de agarosa a las que previamente se les añadió el antisuero necesario para obtener una concentración de 1.5% a una temperatura de 56°C para evitar la inactivación de la proteína.

MÉTODOS.

a) Carbamilación.

La carbamilación es necesaria para aumentar la velocidad de migración anódica de la proteína. Se lleva a cabo colocando un volumen de muestra o estándar con -- dos volúmenes de Cianato de Potasio 2M preparado recientemente y dejándolo reaccionar por un periodo de 18-24 horas.

b) Electroforesis.

Después de haber preparado las placas con agarosa y antisuero específico, éstas se colocan inmediatamente en la plataforma enfriadora y se cierra el circuito con pliegos de papel filtro.

Se conecta el sistema enfriador y se aplica el voltaje requerido durante el tiempo que sea necesario.

c) Desproteínización.

Se colocan las placas de agarosa en una solución buffer (R.5) durante el tiempo necesario para remover las proteínas no deseadas.

d) Coloración.

Las placas se colocan en una solución colorante (R.6) por un período de 20 minutos.

e) Decoloración.

Las placas se colocan en una solución decolorante (R.7) durante 20 minutos, finalmente, se lavan con agua destilada.

Después de haber realizado los procedimientos anteriores, se evalúan los precipitados obtenidos en la electroforesis. Se miden desde el centro del orificio -- donde se colocó la muestra o el estándar hasta la altura máxima alcanzada por el precipitado en forma de flama.

Con lo cual se construye una gráfica que relacione la concentración de antígeno con la altura alcanzada por el precipitado.

REACTIVOS.

(R.1) Buffer barbital.

Barbital de sodio (5,5-dietilbarbiturato de Sodio)	-----	41.2 g
Barbital (ácido 5,5-dietilbarbitúrico)	--	8.2 g

Se mezclan los reactivos anteriores con agua destilada y se afora a 10 litros. Se ajusta el pH a 8.6 si es necesario con HCl 0.1N o con NaOH 0.1N.

La solución se conserva en frasco ámbar.

(R.2) Agarosa al 1%.

Agarosa -----	1.0 g
Buffer barbital -----	100 ml

Se disuelve la agarosa por calentamiento -
en el buffer barbital.

(R.3) Agarosa Conteniendo antisuero IgG.

Antisuero IgG -----	0.5 ml
Agarosa al 1% c.b.p. -----	32 ml

El antisuero se mezcla con la agarosa a -
una temperatura de 56°C.

(R.4) Cianato de Potasio.

KOCN -----	4.05 g
Agua destilada c.b.p. -----	25 ml

Se disuelve el KOCN en agua destilada.

(R.5) Buffer de fosfatos. (PBS)

Cloruro de Sodio -----	8.0 g
Cloruro de Potasio -----	0.2 g
Fosfato de Sodio dibásico -----	1.15 g
Fosfato de Potasio dibásico -----	0.2 g

Se afora a 1000 ml con agua destilada.

(R.6) Solución colorante Kenacid Blue R.

Kenacid Blue R -----	1.0 g
Acido acético -----	100 ml
Etanol -----	450 ml
Agua destilada -----	450 ml

Se disuelve el Kenacid Blue R en la mezcla
de solventes.

(R.7) Solución decolorante.

Acido acético ----- 100 ml
Etanol ----- 250 ml
Agua destilada ----- 650 ml

Se conserva en frasco ámbar con tapón esmerilado.

R E S U L T A D O S

Se estandarizó el método de Electroinmunoensayo de -
Laurell en base a los trabajos llevados a cabo con -
anterioridad para la determinación de la concentración
de IgG sérica en 120 individuos seleccionados al azar.

Las condiciones logradas fueron las siguientes:

Voltage: 280 Volts
Amperage: 60 miliamperes
Campo de Fuerza: 8.5 V/cm
Tiempo de corrida : 45 minutos
Temperatura: 6°C
Papel filtro: Whatman #1 (4 pliegos)

Bajo estas condiciones se obtuvo una curva de calibración promedio que relaciona la concentración de IgG sérica de los estándares con la altura alcanzada por el precipitado, como se muestra en la Tabla #1.

Los resultados de dichas determinaciones se presentan en la Tabla #2, la cual relaciona la concentración de la IgG con la edad y el sexo de cada individuo.

Por otra parte, en las Tablas #3 y #4 se muestran los resultados de la concentración de la inmunoglobulina en relación al sexo y al rango de edad, respectivamente.

TABLA 1

CURVA DE CALIBRACION DE LA IgG SERICA

ESTANDARES	ALTURA DEL PRECIPITADO (mm)										CONCENTRACION (mg/100ml)	
	1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°	8°	9°	10°	\bar{X}	
1	13	15	13	12	15	15	15	13	16	16	14	44
2	15	16	15	14	17	17	17	15	17	17	16	98
3	16	17	18	16	18	19	19	18	19	19	17	194

CURVA DE CALIBRACION
PARA LA IgG

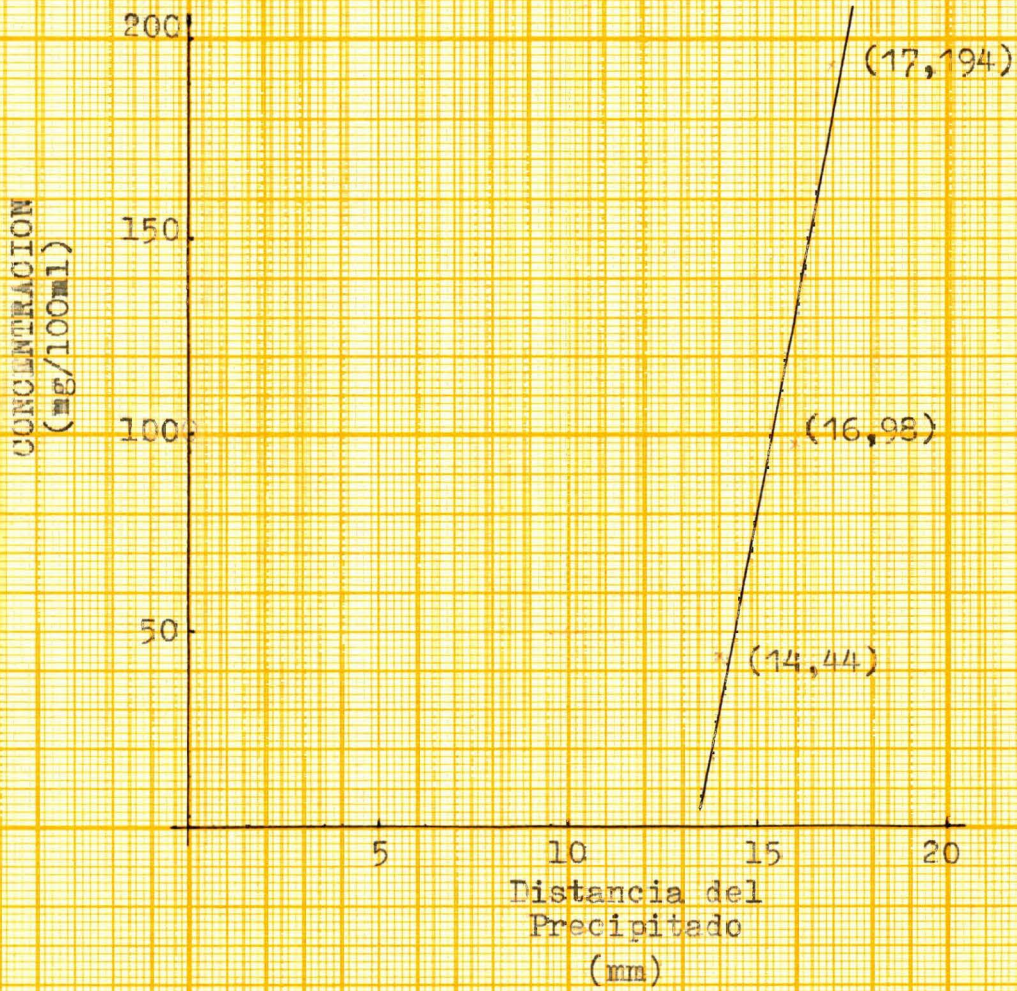


TABLA 2
 CONCENTRACION DE IgG SERICA EN
 RELACION A EDAD Y SEXO

NUMERO DE MUESTRA	CONCENTRACION DE INMUNOGLOBULINA (mg/100ml)	EDAD (AÑOS)	SEXO
1	1840	38	Masculino
2	110	45	Femenino
3	110	35	Femenino
4	110	53	Masculino
5	660	28	Masculino
6	110	35	Masculino
7	660	35	Masculino
8	660	25	Femenino
9	1240	43	Masculino
10	660	23	Femenino
11	1240	33	Femenino
12	1240	25	Masculino
13	1240	55	Masculino
14	660	41	Femenino
15	1240	48	Masculino
16	660	45	Masculino
17	110	33	Femenino
18	1840	27	Masculino
19	110	33	Masculino
20	110	30	Femenino
21	110	36	Femenino
22	660	39	Femenino
23	110	51	Femenino
24	110	42	Femenino
25	110	53	Masculino
26	1240	40	Masculino
27	110	45	Femenino

CONTINUACION TABLA 2

NUMERO DE MUESTRA	CONCENTRACION DE INMUNOGLOBULINA (mg/100ml)	EDAD (AÑOS)	SEXO
28	1240	32	Femenino
29	1840	10	Masculino
30	1240	43	Femenino
31	1840	26	Femenino
32	660	44	Femenino
33	1240	38	Masculino
34	1840	12	Masculino
35	1240	65	Femenino
36	1240	26	Masculino
37	1840	28	Femenino
38	1240	28	Masculino
39	1240	55	Masculino
40	660	16	Femenino
41	1840	52	Femenino
42	1240	15	Femenino
43	660	25	Femenino
44	1240	43	Masculino
45	1840	38	Masculino
46	1240	12	Femenino
47	1840	27	Masculino
48	1840	33	Femenino
49	1240	45	Masculino
50	1840	43	Femenino
51	1840	38	Femenino
52	1840	23	Femenino
53	1840	40	Femenino
54	1840	55	Femenino

CONTINUACION TABLA 2

NUMERO DE MUESTRA	CONCENTRACION DE INMUNOGLOBULINA (mg/100ml)	EDAD (AÑOS)	SEXO
55	1240	12	Masculino
56	110	52	Masculino
57	660	28	Femenino
58	660	37	Femenino
59	110	35	Masculino
60	1240	55	Masculino
61	1240	40	Masculino
62	110	28	Femenino
63	660	40	Femenino
64	110	12	Femenino
65	660	18	Femenino
66	1240	48	Femenino
67	660	3	Femenino
68	1240	20	Masculino
69	1240	55	Masculino
70	1240	23	Femenino
71	1840	28	Femenino
72	1240	37	Femenino
73	660	25	Femenino
74	110	28	Masculino
75	110	22	Femenino
76	1240	15	Femenino
77	1840	23	Masculino
78	1240	28	Masculino
79	1840	37	Femenino
80	1840	25	Masculino
81	1840	48	Masculino
82	1240	45	Masculino

CONTINUACION TABLA 2

NUMERO DE MUESTRA	CONCENTRACION DE INMUNOGLOBULINA (mg/100ml)	EDAD (AÑOS)	SEXO
83	1240	40	Masculino
84	1240	56	Femenino
85	1840	8	Femenino
86	1840	22	Femenino
87	1240	35	Femenino
88	1840	65	Femenino
89	1840	30	Femenino
90	1240	23	Femenino
91	1840	21	Femenino
92	1840	22	Femenino
93	110	40	Femenino
94	110	8	Masculino
95	110	12	Masculino
96	2000	18	Masculino
97	110	20	Femenino
98	2000	45	Femenino
99	110	48	Masculino
100	110	35	Masculino
101	110	53	Masculino
102	2000	55	Masculino
103	2000	28	Femenino
104	2000	55	Masculino
105	2000	13	Femenino
106	2000	25	Femenino
107	2000	23	Femenino
108	2000	55	Masculino

CONTINUACION TABLA 2

NUMERO DE MUESTRA	CONCENTRACION DE INMUNOGLOBULINA (mg/100ml)	EDAD (AÑOS)	SEXO
109	2000	42	Femenino
110	110	50	Femenino
111	110	35	Masculino
112	2000	55	Masculino
113	2000	10	Masculino
114	2000	3	Femenino
115	2000	20	Femenino
116	2000	45	Femenino
117	2000	39	Femenino
118	2000	37	Femenino
119	2000	39	Femenino
120	110	44	Masculino

MUJERES			HOMBRES		
NUMERO DE MUESTRAS	CONCENTRACION (mg/100ml)	%	NUMERO DE MUESTRAS	CONCENTRACION (mg/100ml)	%
8	<110	9.63	6	<110	12.24
9	110	10.84	7	110	14.28
13	660	15.84	3	660	6.12
21	1240	25.30	19	1240	38.77
20	1840	24.09	9	1840	18.36
12	>2000	14.45	5	>2000	10.20

TABLA 3

CONCENTRACION DE LA IgG SERICA
EN RELACION CON SEXO

T A B L A 4
 CONCENTRACION DE LA INMUNOGLOBULINA
 G EN RELACION AL RANGO DE EDAD

RANGO DE EDAD	EDAD (AÑOS)	NUMERO DE MUESTRAS	CONCENTRACION DE IgG (mg/100ml)
0 - 10	3	1	660
		1	>2000
	8	1	<110
		1	1840
	10	2	1840
	11 - 20	12	1
1			110
1			1240
1			1840
13		2	>2000
15		1	1240
16		1	660
18		1	2000
20		1	<110
		1	1240
		1	>2000

CONTINUACION

TABLA 4

21 - 40	21	1	1840
	22	2	1840
		1	110
	23	1	660
		2	1240
		2	1840
		1	>2000
	25	3	660
		1	1240
		1	1840
		1	>2000
	26	1	1240
		1	1840
	27	1	110
2		1840	
28	2	110	
	1	660	
	2	1240	
	2	1840	
	1	>2000	
30	1	110	
	1	1840	
32	1	1240	
33	1	110	
	1	1240	
	1	1840	

CONTINUACION TABLA 4

21 - 40	35	2	<110
		3	110
		1	660
		1	1240
	36	1	110
	37	1	660
		1	1240
		1	1840
		1	>2000
	38	1	1240
3		1840	
39	2	2000	
	1	110	
	1	660	
40	3	1240	
	1	1840	
41 - 60	41	1	660
	42	1	110
		1	>2000
	43	3	1240
		1	1840
	44	1	660
		2	110
	45	1	660
2		1240	
48	2	>2000	
	2	1240	
	1	1840	

CONTINUACION TABLA 4

41 - 60	51	1	110
	52	1	<110
		1	110
	53	2	110
		4	1240
	55	1	1840
		3	>2000
	56	1	1240
65	1	1240	
	1	1840	

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Para relizar la estandarización del método, se tomaron en cuenta las recomendaciones de los trabajos realizados anteriormente, pero fue necesario modificar algunos parámetros en base, principalmente, a la adquisición de reactivos de distinta procedencia.

Las recomendaciones de la estandarización anterior correspondientes al método de desproteínización de las placas indicaban que el tiempo óptimo era alrededor de 24 horas en el Buffer de Fosfatos pH=8.6, la realización de este método a dichas condiciones dió como resultado la deformación de los precipitados, lo que llevó a disminuir el tiempo de exposición hasta un período de 4 horas.

Para obtener la curva de calibración se utilizaron estándares de concentración conocida que no correspondían a los valores normales de IgG en suero por lo que fue necesario diluir cada muestra en relación de 1:10.

La curva de calibración promedio es el resultado de una serie de determinaciones cuantitativas de la concentración de los estándares.

Por otra parte, en este trabajo se encontró que de un total de 120 muestras a las que se les cuantificó la IgG sérica, 48(40%) presentaron concentración dentro del rango de los valores normales de la inmunoglobulina, 44(36.66%) corresponden a concentraciones mayores de lo normal y 28(23.33%) mostraron una disminución de la concentración bastante considerable.

Los resultados generales demuestran que el porcentaje de individuos con la concentración de IgG por encima de los valores normales es mayor que el de los individuos con concentración menor que los valores normales; con lo que pueden corroborarse dos características generales de la población analizada, los cuales corresponden a un bajo nivel socio-económico y a una alta incidencia de parasitosis. La primera implica desde luego a la hiponutrición como principal factor, así como también una completa falta de higiene lo que trae como consecuencia la parasitosis.

Otro factor importante que se consideró en este estudio es el sexo, por lo que se agrupó a los individuos por separado como se muestra en la Tabla 3.

Los resultados que muestra dicha tabla indican una incidencia mayor del rango de los valores normales en los hombres que en las mujeres, pero si se considera que las muestras no son representativas y - que además las características de la población analizada están muy lejos de las de una población normal, no es posible llegar a establecer de qué forma influye el factor sexo en la concentración de esta inmunoglobulina.

De las cinco inmunoglobulinas presentes en el suero humano, la IgG viene a ser una de las más importa^{ntes} si se toma en cuenta que es una de las primeras en alcanzar los niveles normales de concen--tración después del nacimiento y éstos se mantie--nen constantes a lo largo de la existencia del in--dividuo con una tendencia a ser la última en desa--parecer durante la vejez. Con lo cual podemos concluír que el factor edad no influye en forma signi--ficativa en la concentración de esta inmunoglobuli--na; sin embargo en este trabajo se consideró importante el agrupar a la población de acuerdo a rangos de edad relacionándolos con la concnetración, como se muestra en la Tabla 4, encontrándose una inci--dencia muy parecida de los valores normales en ca--da uno de los rangos de edad.

Por otra parte, se está consciente de que definiti--vamente para poder llegar a concluír que el factor edad influye, es necesario que la población analizada no presente ningún estado patológico que in--fluya en la concentración de la inmunoglobulina. Así como también de que para llegar a una conclu--sión aceptable se debe de tomar en cuenta una po--

blación representativa.

Por último, es importante hacer notar que la cuantificación de la IgG constituye un arma de diagnóstico sobre la cual influyen una serie de factores que van a determinar cada uno de ellos la concentración de la inmunoglobulina en algún estado patológico que -- presente el individuo. Por lo tanto se consideró de gran importancia la cuantificación de la IgG para -- proveer al médico de una completa información que lo lleve a establecer un diagnóstico preciso.

R E S U M E N

Se determinó la concentración de IgG sérica por el método de Electroinmunoensayo de Laurell en 120 - individuos seleccionados al azar.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Bier, D., Dias da Silva, Gotze, M., 1978. Fundamentals of Immunology. Board Editors. -- EUA.
- 2.- Weiser, R. S., Myrvik, Q. N., Pearsall, N. N. 1970. Inmunología. Editorial Interamericana. México..
- 3.- Alexander, J. W., Good, R. A. 1972. Inmunología Clínica. Salvat Editores. México.
- 4.- Fundenberg, H., Stites, D., Caldwell, J. 1980 Inmunología Clínica. 2a. Ed. Manual Moderno, S. A. México.

- 5.- Bellanti, J. A. 1980. Inmunología II. 2a. Edición. Interamericana. México.
- 6.- Gold, E. R., Peacock, D. B. 1973. Inmunología Básica. Editorial Científico-Médica. Barcelona.
- 7.- Clausen, B. 1975. Técnicas Inmunoquímicas para la Identificación y Estimación de Macromoléculas. Editorial Manual Moderno. México.
- 8.- Nuño, M. 1978. Electro e Inmuno-electroforesis. Internacional Científica, S. A. México.
- 9.- McFarlane, H. 1973. Advances in Clinical Chemistry. Academic Press. Inglaterra.
- 10.- Waldmann, T. A. Strober, W. 1973. Clinical Immunobiology. Academic Press. Inglaterra.
- 11.- Weir, D. M.; eds; 1974. Handbook of Experimental Immunology. Toronto.
- 12.- Grabar, P., Burtin, B. 1964. Inmuno-electro-phoretic Analysis. Applications to Human Biological Fluids. UANL. México.
- 13.- Rojas, William. 1978. Inmunología. FEI. Colombia.
- 14.- Gordon, B. L. 1975. Lo Esencial de la Inmunología. Editorial Manual Moderno. México.

- 15.- Hudson, L., Hay, F.C. 1978 Practical Immunology. Blackwell Scientific Publications. Inglaterra.
- 16.- Weeke, B. 1968. Quantitative Estimation - of Human Immunoglobulins Following by Electrophoresis in Antibody Containing Agarose. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 22: 107-111.
- 17.- Weeke, B. 1968. Carbamylated Human Immunoglobulins Tested by Electrophoresis in Agarose and Antibody Containig Agarose. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 351-354.

801400