

# 28. Proteínas

**Isaac Túnez Fiñana**

*Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Medicina, Universidad de Córdoba, Avda. Menéndez Pidal s/n, 14004 – Córdoba*

## RESUMEN

La cuantificación de proteínas presentes en los medios biológicos (sangre, orina, líquido cefalorraquídeo) es utilizada como prueba complementaria para ayuda en el diagnóstico. Esta cuantificación puede englobar al conjunto de proteínas, como es el caso de la proteinemia, proteinuria y proteinorraquia, o referirse a proteínas específicas, como albúmina, Bence Jones,  $\alpha$ -antitripsina, ceruloplasmina, etc. El presente texto tiene como objetivo exponer los conceptos básicos sobre estas moléculas, sus diferentes reacciones químicas, así como mostrarnos su implicación en la bioquímica clínica y en la medicina.

*Palabras Clave:* Proteínas, estructura, funciones, proteinuria, proteinemia

## 1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Las proteínas son polímeros complejos de aminoácidos que producen las células vivas. Cada forma de vida se define en gran parte por las proteínas que produce. Cada proteína está formada por 20 aminoácidos en diversas cantidades y secuencias (aminoácidos proteicos).

Todas las proteínas contienen carbono, hidrógeno, oxígeno, azufre y nitrógeno. Dentro de los aminoácidos existen ocho esenciales: valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, triptofano, treonina, metionina y lisina, que no pueden ser sintetizados y deben ser incorporados por la dieta. Los aminoácidos presentan característica anfotérica, pueden comportarse como ácidos o bases. Así, cuando ambos centros (ácido y básico) se encuentran ionizados de forma simultánea, el aminoácido adopta la forma de ión dipolar o zwitterion. Cada aminoácido tiene un pH en el que no experimenta carga neta, este punto se denomina punto isoeléctrico (pI).

Las proteínas pueden alcanzar diferentes niveles de configuración desde su estructura básica a la funcional:

- Primaria
- Secundaria
- Terciaria
- Cuaternaria
- Quinquenaria

Los objetivos perseguidos serán definir y describir algunas de las propiedades y funciones de las proteínas, resaltando aquellas que pueden presentar una especial relevancia en la clínica médica cotidiana. También, se pretende realizar un acercamiento a los procedimientos bioquímicos existentes para la tipificación y cuantificación de las proteínas y a la participación de éstas en procesos fisiopatológicos.

## 1.1. Metabolismo

La digestión de proteínas se inicia en el estómago, inmediatamente después de la ingestión, por acción de las secreciones gástricas, incluyendo el ácido clorhídrico y la pepsina. El ácido desnaturaliza y rompe los enlaces de la estructura secundaria, terciaria y cuaternaria, exponiendo los enlaces peptídicos a la acción de la pepsina, que es liberada como pepsinógeno y activada por el ácido clorhídrico a su forma de pepsina.

A medida que el polipéptido pasa al intestino delgado el pH cambia, haciéndose alcalino e inactivando a la pepsina. El páncreas, por su parte, secreta y libera zimógenos (precursores inactivos o proenzimas) denominados tripsinógeno, quimotripsinógeno, proelastasa y procarboxipeptidas al intestino delgado. En este tramo de tracto digestivo, los zimógenos son activados a: tripsina, quimotripsina, elastasa y carboxipeptidasa. Una vez finalizada la digestión, los aminoácidos libres se absorben a través de la pared intestinal, proceso que requiere de un transporte activo y un gasto energético.

En un proceso similar a la digestión, las proteínas de las células vivas se degradan constantemente y se resintetizan. Este proceso denominado recambio de proteínas es utilizado por el 1-2 % de las proteínas totales del organismo diariamente. Han sido observadas altas tasas de recambio en los lactantes y durante periodos de desarrollo acelerado.

El exceso de aminoácidos que se consume durante la dieta o se produce durante el recambio de proteínas, sufre la eliminación de su grupo amino (por enzimas específicas para cada aminoácido). Asimismo, el amoníaco que se produce por la desaminación oxidativa es transformado en urea en el hígado y posteriormente excretado al exterior a través del sistema uro-excretor. La cadena de carbonos restante es transformada en grasa o utilizada para producir energía mediante procesos análogos a los utilizados en el metabolismo de los hidratos de carbono.

El metabolismo de las proteínas se encuentra regulado de forma parcial por diferentes hormonas:

- Tiroxina
- Triyodotironina
- Cortisol
- Aldosterona
- Somatotropina
- Hormona del crecimiento (GH)

## 1.2. Procesos analíticos generales de las proteínas

Las proteínas pueden ser estudiadas por diversos y muy diferentes métodos analíticos, algunos de los cuales se citan a continuación:

- Turbidimetría
- Nefelometría
- Electroforesis
- Electroforesis bidimensional
- Electroforesis capilar
- Cromatografía
- Enfoque isoeléctrico
- Inmunolectroforesis
- SDS PAGE

## 1.3. Aplicaciones clínicas

Las proteínas que se analizan con mayor frecuencia son las plasmáticas. Sin embargo, también es posible analizarlas en otros líquidos del organismo:

- Orina
- Líquido cefalorraquídeo
- Líquido Pleural
- Etc.

La mayoría de las proteínas plasmáticas son sintetizadas en el hígado y la principal excepción son las inmunoglobulinas, que son producidas por las células plasmáticas.

## 1.4. Proteínas sanguíneas

### 1.4.1. Proteínas totales

Se miden en suero como parte de casi todos los análisis de química sanguínea. Su rango de referencia es de 6,4 a 8,2 g/dL. Su función es mantener la presión osmótica coloidal del plasma. Esta presión evita las pérdidas de líquidos hacia los tejidos. El contenido en proteínas totales del suero depende del estado nutricional, funcionamiento hepático, funcionamiento renal, errores metabólicos y afecciones como mieloma múltiple.

La deshidratación hace que todas las fracciones de proteínas aumente dando lugar a hiperproteinemia. La deshidratación puede ser resultado del descenso en el consumo o aumento de la pérdida de líquidos en enfermedades como el mal de Addison, acidosis diabética, diarrea grave o deshidratación por exposición a altas temperaturas.

La hipoproteinemia se debe a un aumento de las pérdidas proteicas o a un bajo consumo de proteínas por inanición o malabsorción. Aumento de pérdidas: síndrome nefrótico (pérdida de albúmina a través de los túmulos renales dañados), hemorragias por traumatismos o extensas quemaduras.

### 1.4.2. Albúmina

Constituye más de la mitad de todas las proteínas séricas y gran parte de la presión oncótica depende de ella. Transporta sustancias menos solubles como ácidos grasos, bilirrubina, hormonas, calcio, metales, fármacos y vitaminas. Su concentración es de 3,4- 5,0 g/dL.

Sufre una reducción en procesos como afecciones hepáticas, glomerulonefritis o nefrosis, afectaciones gastrointestinales e inanición. También existe analbuminemia hereditaria, aunque se trata de un proceso poco común. Por su parte, su aumento puede ser indicativo de deshidratación.

#### **1.4.3. Alfa-1-antitripsina**

También llamada alfa-1-antiproteasa. Su función es inactivar proteasas como las elastasas y colagenasas. Mediante este proceso evita la descomposición del tejido conjuntivo. Su deficiencia provoca alteraciones hepáticas en el lactante y enfisema en pacientes de 20 a 30 años.

Se encuentra elevada en infecciones, infarto de miocardio, desarrollo de tumores, intervenciones quirúrgicas o traumatismos.

#### **1.4.4. Ceruloplasmina**

Proteína transportadora del cobre. Presenta un color ligeramente azulado. Sus concentraciones pueden encontrarse elevadas durante procesos inflamatorios, cirrosis, leucemias agudas, enfermedad de Hodgkin y artritis reumatoide. También se eleva durante el embarazo y con los anticonceptivos. Por el contrario, sus concentraciones se reducen en procesos como desnutrición y hepatitis crónica.

Se encuentra íntimamente relacionada con la enfermedad de Wilson, donde su déficit provoca cúmulos tóxicos de cobre en hígado, cerebro, riñón y eritrocitos.

#### **1.4.5. Transferrina**

Proteína encargada del transporte de hierro. Se encuentra disminuida en procesos como quemaduras graves, infecciones, neoplasias, afecciones hepáticas y renales y en la transferrinemia hereditaria. Se eleva durante el embarazo, debido a la mayor demanda de hierro, y cuando se utilizan los estrógenos.

#### **1.4.6. Proteína C reactiva**

Denominada así por su reacción con el polisacárido C de la pared celular de los neumococos. Se encuentra elevada en infecciones, daños agudos o necrosis celular asociada con infarto y en enfermedades malignas.

#### **1.4.7. Fibrinógeno**

Se fabrica en el hígado. Sirve de sustrato para la trombina, que es una enzima de coagulación. Se reduce en la coagulación intravascular diseminada (CID), afecciones hepáticas o en la afibrinogenemias hereditarias.

#### **1.4.8. Inmunoglobulinas**

Son el principal grupo de proteínas séricas no producidas en el hígado. Existen diferentes tipos:

- Ig G
- Ig A
- Ig M
- Ig D
- Ig E

La mayor parte de ellas alcanza sus tasas completas en torno a los 16 años de edad.

### **1.5. Proteínas en otros líquidos**

#### **1.5.1. Orina**

Habitualmente no se aprecian proteínas en la orina. Cuando aparecen proteínas en la orina (proteinuria) generalmente son albúminas y si persiste la albuminuria es indicativa de afectación renal.

#### **1.5.2. Líquido cefalorraquídeo**

Los niveles de proteínas en este medio suelen ser bajos (15-45 mg/dL). Éstos se elevan en trastornos como traumatismos, neoplasias, infecciones y esclerosis múltiple.

### **1.6. Determinación cuantitativa de proteínas**

#### **1.6.1. Prueba de Biuret**

Basada en la formación de un complejo de color magenta con el  $\text{CuSO}_4$  en un medio alcalino. Reacciona con compuestos que contienen dos o más enlaces peptídicos.

#### **1.6.2. Reacción de Folin-Ciocalteu**

Basado en la formación de un color a consecuencia de la formación de un complejo de cobre y la reducción de fosfomolibdato y fosfowolframato presente en el reactivo. Reacciona con compuestos fenólicos tales como la tirosina.

### 1.6.3. Reacción de Bradford

Basado en la reacción con Commassie Brilliant Blue G-250 en un medio de ácido fosfórico y metanol. Su reacción produce cambios en la intensidad de coloración que pueden ser leídos entre 465 y 595 nm.

## 2. LISTADO DEL MATERIAL NECESARIO

- Ácido fosfórico
- Agua destilada
- Baño maría
- Calculadora
- Commassie Brilliant Blue G-250
- Cubeta de vidrio
- Espectrofotometría
- Etanol
- Gradillas
- Hidróxido sódico
- Pipetas 1 – 5 mL
- Puntas desechables
- Sulfato cúprico
- Tubos de ensayo
- Vasos de precipitado
- Yoduro potásico

## 3. PROTOCOLOS A REALIZAR

### 3.1. Método de Biuret

Tubo Nº	Reactivos		
	Patrón (Estándar)	Agua	Biuret
B	0 mL	1 mL	3 mL
1	0,1 mL	0.9 mL	3 mL
2	0,5 mL	0.5 mL	3 mL
3	1 mL	0	3 mL
M1 (Muestra)	1 mL	0	3 mL
M2 (Muestra)	1 mL	0	3 mL

Solución patrón de proteínas 20 mg/mL. Leer a 545 nm de  $\lambda$ .

### 3.2. Método de Bradford

Tubo N°	Reactivos		
	Patrón (Estándar)	Agua	Bradford
B	0 mL	1 mL	3 mL
1	0,1 mL	0,9 mL	3 mL
2	0,5 mL	0,5 mL	3 mL
3	1 mL	0	3 mL
M1 (Muestra)	1 mL	0	3 mL
M2 (Muestra)	1 mL	0	3 mL

Solución patrón de proteínas 0,1 mg/mL

#### Preguntas:

- Representar la curva patrón
- Calcular la concentración de proteínas en las muestras M1 y M2
- Calcular el coeficiente de extinción

### 3.3. Caso clínico

Mujer de 65 años de edad que consulta al médico de urgencias por insuficiencia respiratoria. Éste en la historia clínica recoge:

- Antecedentes de disnea progresiva durante 7 años
- No fuma
- No bebe

En el examen físico se aprecia:

- Lechos ungueales y mucosas cianóticas

Se indica y realiza análisis de bioquímica sanguínea y hematimetría, resaltando los siguientes datos de interés:

Recuento de leucocitos	7000 / mm <sup>3</sup>	(4300 – 10800 /mm <sup>3</sup> )
Recuento de eritrocitos	7,0 millones/mm <sup>3</sup>	(4,2 – 5,9 millones/mm <sup>3</sup> )
Hematocrito	60%	(43-52%)
Hemoglobina	21 g/dL	(13 – 18 g/dL)
Proteínas totales	7,3 g/dL	(6-8,4 g/dL)
Albúmina	5,6 g/dL	(3,5-5,8 g/dL)
Bilirrubina	0,5 mg/dL	(0,1-1 mg/dL)
AST	24 U/L	(7 – 27 U/L)
ALP	30 U/L	(13-39 U/L)
BUN	13 mg/dL	(5-29 mg/dL)

Gases:

pO <sub>2</sub>	63 mmHg	(80-90 mmHg)
pCO <sub>2</sub>	72 mmHg	(35-45 mmHg)
pH	7,28	(7,35-7,45)

### **Preguntas:**

1. Identifique las observaciones anormales de laboratorio y otros signos o síntomas de anormalidad

2. Clasifique el desequilibrio ácido-base

Acidosis respiratoria. Debido a falta de intercambio gaseoso

3. Explique el incremento de la masa de los eritrocitos

La reducción de la tensión de O<sub>2</sub> provoca una respuesta en el organismo que produce más eritrocitos (estimulación de la eritropoyesis)

4. ¿Qué valores de laboratorio indican que este paciente no tiene síndrome nefrótico?

Valores normales de proteínas totales, albúmina y nitrógeno ureico sanguíneo

### **4. BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA**

Borque de Larrea L, González de Buitrago JM (1998): Proteínas del plasma sanguíneo. En González de Buitrago JM, Arilla E, Rodríguez-Segade M, Sánchez A (eds): Bioquímica Clínica, 1ª Ed. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana (Madrid, España), pp. 191 – 204.

Christensen SE (1995): Proteínas. En Anderson SC, Cockayne (eds): Química Clínica, 1ª Ed. Editorial Interamericana McGraw-Hill (México D.F., México), pp. 190 – 212.

D'Ocon MD, García MJ, Vicente JC (1998): Estudio general del metabolismo de las proteínas. En D'Ocon MC, García MJ, Vicente JC: Fundamentos y Técnicas de Análisis Bioquímico, 1ª Ed. Editorial Paraninfo (Madrid, España), pp. 89 – 100.

Muñoz E (1988): determinación cuantitativa de proteínas. En Lozano JA, Tudelo J (eds): Prácticas de Bioquímica. Experimentación y Simulación, 1ª Ed. Editorial Síntesis (Madrid, España), pp. 101 – 102.

## **ANEXO I. REACTIVOS**

### **Biuret**

- $\text{CuSO}_4$  1,5 g
- Tartrato sódico potásico 6g
- NaOH 30 g
- IK 1 g
- Hasta 1L de agua destilada

### **Bradford**

- Commassie Brilliant Blue G-250 10 mg
- 10 mL de ácido fosfórico 88%
- 4,7 mL de etanol
- Agua destilada hasta 100 mL